

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

CLAUDINÉIA SILVA MENDES

**SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO UTILIZANDO ACETATO DE LECIRELINA EM
SUBSTITUIÇÃO À GONADORELINA EM PROTOCOLO *COSYNCH* PARA VACAS
DE CORTE**

CRUZ DAS ALMAS – BAHIA

2014

CLAUDINÉIA SILVA MENDES

**SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO UTILIZANDO ACETATO DE LECIRELINA EM
SUBSTITUIÇÃO À GONADORELINA EM PROTOCOLO COSYNCH PARA 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: Prof^a Dr^a. Larissa Pires Barbosa

CRUZ DAS ALMAS – BAHIA

2014

FICHA CATALOGRÁFICA

M538s	<p>Mendes, Claudinéia Silva. Sincronização da ovulação utilizando acetato de lecorelina em substituição à gonadorelina em protocolo cosynch para vacas de corte / Claudinéia Silva Mendes. _ Cruz das Almas, BA, 2014. 31f.; il.</p> <p>Orientadora: Larissa Pires Barbosa.</p> <p>Monografia (Graduação) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas.</p> <p>1.Reprodução animal – Bovino de corte. 2.Hormônios – Análise. 3.Veterinária – Pesquisa. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Título.</p>
	CDD: 636.0824

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 DE

CLAUDINÉIA SILVA MENDES

SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO UTILIZANDO ACETATO DE LECIRELINA EM
SUBSTITUIÇÃO À GONADORELINA NO PROTOCOLO COSYNCH EM VACAS DE
CORTE



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



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



Profa. MSc. Cláudia Kazumi Kiya
Instituto Federal Bahiano

Cruz das Almas, 21 de fevereiro de 2014.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, à DEUS por está sempre presente em minha vida, sem ele nada seria possível ou teria existido.

Aos meus pais, EDELILTON e NIVANDY, que trabalharam arduamente para possibilitar minha formação profissional. Amo vocês!

À minha irmã EVANÉIA, pela amizade e apoio em minha trajetória. Eu te amo, Binha!

Ao meu noivo BIANOR, pelos ensinamentos, companheirismo e paciência, me incentivou a realizar esta monografia. Eu te amo, Meu Bem!

À minha orientadora, Prof^a LARISSA, pelas orientações, confiança e contribuição técnico-científica na realização desta monografia. Obrigada, Pró.

Ao Med. Vet. CARMO, pelos conselhos, pela contribuição técnico-científica e participação ativa nesta jornada. Valeu, CARMINHO!

À Med. Vet. ROSILÉIA, pela contribuição nas análises estatísticas dos dados.

À Med. Vet. CLÁUDIA e a Zootec. ANA LÚCIA, pelo carinho e contribuição nesta monografia.

Aos amigos MONNA, MARIANA, ANDERSON E VINÍCUIS, pelo convívio durante a graduação e pelo trabalho em equipe para realização desse experimento.

À ASSESORIA TÉCNICA DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL da UFRB pelo apoio, colaboração e contribuição nesse experimento.

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

Aos estagiários da reprodução, agregados e amigos, FERNANDO, RAÍSA, 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. Valeu galera!

Aos DOCENTES, SERVIDORES e DISCENTES da UFRB, pelo convívio e pelas oportunidades de aprendizado oferecidas durante a graduação.

Enfim, só tenho a agradecer a todos que me apoiaram e contribuíram neste trabalho. OBRIGADA A TODOS!!!

*“O futuro pertence àqueles que acreditam na
beleza de seus sonhos.”*

(Eleanor Roosevelt)

RESUMO

Avaliou-se a eficiência do acetato de lecirelina em substituição à gonadorelina em protocolos *Cosynch* para vacas de corte. Doze vacas foram distribuídas em dois tratamentos (T), sendo T1 (n=6): 100µg de gonadorelina, no D0; 150µg de d-cloprostenol, no D7 e 100µg de gonadorelina, no D9 e o T2 (n=6): 25µg de acetato de lecirelina, no D0; 150µg de d-cloprostenol, no D7 e de 25µg de acetato de lecirelina, no D9. Todos os hormônios foram aplicados via intramuscular (IM). As inseminações artificiais em tempo fixo foram realizadas no D9 do protocolo, após aplicação hormonal. O acompanhamento ultrassonográfico foi realizado a partir do D0 do protocolo até o D7, de 24 em 24 horas. A partir do D8 do protocolo, as avaliações foram realizadas a cada 12 horas, finalizando 12 horas após a detecção da ovulação. Os parâmetros de dinâmica folicular avaliados foram: intervalo da 2ª aplicação do GnRH à ovulação, taxa de ovulação à 1ª aplicação de GnRH, taxa de ovulação à 2ª aplicação de GnRH, taxa de crescimento folicular, diâmetro do maior folículo no D0 e D9 do protocolo, diâmetro do folículo dominante e do subordinado após a 2ª aplicação de GnRH e a determinação da população folicular do período de -D1 até D13 do protocolo. Houve diferença para taxa de ovulação à 2ª aplicação de GnRH ($P<0,05$), com médias de 33%, para T1 e de 100%, para T2; para o número de folículos pequenos no D10 e D11, folículos médios no D3, D6 e D11B e para grandes folículos no D4, D11A e D12 do protocolo ($P<0,05$). Não houve diferença para os outros parâmetros avaliados. Desta forma, a aplicação de 100µg de gonadorelina pode ser substituída por 25µg acetato de lecirelina em protocolos *Cosynch* para vacas de corte, com base na taxa de ovulação obtida após a segunda aplicação de GnRH e no número de folículos grandes no D11 e D12 do protocolo.

Palavras-chave: Inseminação artificial , dinâmica folicular, ultrassonografia.

ABSTRACT

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Protocolos <i>Cosynch</i> utilizados e intervalos das avaliações ultrassonográficas realizadas nos tratamentos experimentais.....	18
Gráfico 1- População de folículos pequenos de vacas de corte submetidas ao protocolo <i>Cosynch</i> utilizando acetato de lecirelina em substituição à gonadorelina.....	23
Gráfico 2- População de folículos médios de vacas de corte submetidas ao protocolo <i>Cosynch</i> utilizando acetato de lecirelina em substituição à gonadorelina.....	24
Gráfico 3- População de folículos grandes de vacas de corte submetidas ao protocolo <i>Cosynch</i> utilizando acetato de lecirelina em substituição à gonadorelina.....	25

.

.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Crescimento folicular de vacas de corte submetidas ao protocolo <i>Cosynch</i> utilizando acetato de lecirelina em substituição à gonadorelina.....	20
Tabela 2- Taxa de ovulação de vacas de corte submetidas ao protocolo <i>Cosynch</i> utilizando acetato de lecirelina em substituição à gonadorelina.....	22

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BE	Benzoato de estradiol
D	Dia
CIDR	Dispositivo intravaginal de liberação controlada
E ₂	Estrógeno
hCG	Gonadotrofina Coriônica Humana
FSH	Hormônio Folículo Estimulante
GnRH	Hormônio Liberador de Gonadotrofinas
LH	Hormônio Luteinizante
IA	Inseminação Artificial
IATF	Inseminação Artificial em Tempo Fixo
µg	Micrograma
P	Nível de significância
n	Número de animais
P ₄	Progesterona

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
2.1 Protocolos de IATF livre de P4	12
3 MATERIAL E MÉTODOS	17
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
5 CONCLUSÃO	25
6 REFERÊNCIAS	27

1 INTRODUÇÃO

Visando contornar os desafios da observação de estro, otimizar o manejo e o uso da mão-de-obra, foram desenvolvidos protocolos de sincronização da ovulação, que além de auxiliarem na indução da ciclicidade, permitem a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) (VASCONCELOS; MENEGHETTI, 2006).

O primeiro protocolo hormonal de sincronização de ovulação, que viabilizou o uso da IATF em bovinos, foi desenvolvido por Pursley et al. (1995). Este protocolo denominado *Ovsynch* consiste na aplicação de uma dose do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) no D0 do protocolo, seguida da aplicação de uma dose de PGF_{2α} no D7 e de uma segunda dose de GnRH, no D9; com a realização da IATF 16hs após a segunda aplicação de GnRH.

Após o desenvolvimento do protocolo *Ovsynch*, houveram várias tentativas de adequação e modificação desse protocolo, um deles foi denominado de *Cosynch*, onde a IATF é realizada no mesmo momento da segunda aplicação de GnRH, objetivando otimizar ainda mais o uso da mão-de-obra (GEARY; WHITTIER, 1998).

O controle preciso do momento da ovulação é fundamental para bons resultados com a IATF. Em bovinos, os indutores de ovulação mais utilizados são o GnRH e benzoato de estradiol (BE) (SIQUEIRA et al., 2008). Contudo, pesquisas estão sendo desenvolvidas na tentativa de definir o protocolo hormonal mais adequado para IATF, considerando principalmente as dosagens e combinações hormonais e a relação custo/benefício de cada protocolo (BARUSELLI et al, 2002).

As estratégias para controle da ovulação têm sido baseadas no tempo de vida do corpo lúteo com a utilização da PGF_{2α}; na indução do desenvolvimento folicular e sincronização da ovulação com a associação de PGF_{2α} e agonistas do GnRH ou na prevenção do estro, usando protocolos com progestágenos (THATCHER et al., 2006).

Para o sucesso no desenvolvimento de protocolos eficientes de IATF, estudos de dinâmica folicular são fundamentais para determinar o momento ideal de inseminação, aumentando a probabilidade de ocorrência de concepção (OLIVEIRA et al., 2007).

Desta forma, objetivou-se avaliar a eficiência do acetato de leirelina em substituição a gonadorelina em protocolos *Cosynch* para vacas de corte.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Protocolos de IATF livre de progesterona para bovinos

Visando viabilizar a IATF, foi desenvolvido por Pursley et al. (1995) o primeiro protocolo de sincronização de ovulação para bovinos, denominado de *Ovsynch*, baseado na associação de GnRH e PGF_{2α}. Esse protocolo consiste de uma injeção intramuscular (IM) de 100µg de GnRH numa fase aleatória do ciclo estral (D0), seguida da aplicação sete dias depois (D7), de 35mg de PGF_{2α}. Após 48hs, as vacas recebem uma segunda aplicação de 100µg de GnRH (D9) e são IA 24hs depois da última aplicação hormonal.

O uso do GnRH no início do protocolo objetiva induzir a ovulação do folículo dominante e sincronizar a emergência de uma nova onda folicular. No sétimo dia, a aplicação de PGF_{2α} tem objetivo de regredir o corpo lúteo do ciclo anterior ou recém- formado, seguida por uma segunda dose de GnRH, tem como papel induzir a sincronização da ovulação no intervalo de 24 a 32h depois (THATCHER et al., 2006). Porém, para não comprometer a fertilidade, a aplicação do indutor de ovulação deve ser realizada na presença de um folículo pré-ovulatório (CAVALIERI et al., 2006; SIQUEIRA et al., 2008).

Para determinar o melhor intervalo para aplicação da última dose de GnRH, Peters e Pursley (2003) afirmaram que quando é utilizado um intervalo inferior a 24h para a última aplicação hormonal, apresenta uma diminuição da fertilidade que pode ser causada pela regressão lútea precoce.

Após o surgimento do *Ovsynch* vêm sendo propostas algumas modificações desse protocolo, como o *Cosynch*, com a IA realizada no mesmo momento da segunda administração de GnRH, testado inicialmente em vacas de corte (GEARY; WHITTIER, 1998). Este protocolo apresenta como principal vantagem, a redução do número de manipulação, diminuindo o estresse, principalmente em bovinos de corte (BRUSVEEN et al., 2008).

Apesar da alteração do protocolo, a fim de diminuir o estresse e melhorar o desempenho reprodutivo, a taxa de concepção do protocolo *Cosynch* encontra-se

inferior à encontrada com o *Ovsynch* (GEARY; WHITTIER, 1998). Na tentativa de melhorar os resultados, Portaluppi e Stevenson (2005) desenvolveram o protocolo *Cosynch-72*, onde a aplicação do GnRH e a IA formam realizadas 72h após à aplicação de PGF_{2α}. O objetivo deste protocolo foi fornecer um dia a mais para maturação do oócito e a ovulação de um folículo de melhor qualidade.

Posteriormente, Walker et al. (2005) conduziram um estudo em vacas de corte em lactação para avaliar o melhor momento para a realização da IATF usando um protocolo *Cosynch-48* (tradicional) ou 72, com ou sem GnRH no momento da inseminação, associado a mamada interrompida do D7 ao D9 (48hs). A taxa de prenhez foi superior com o uso do *Cosynch-72* (53,5%), quando compara ao *Cosynch-48* (33,0%).

Com base em pesquisas anteriormente desenvolvidas com o protocolo *Cosynch-72*, Brusveen et al. (2008) propuseram o protocolo *Ovsynch-56*, onde as vacas receberam a segunda administração do GnRH 56 horas depois da administração da PGF_{2α} e a IATF foi realizada 16 horas após à administração do GnRH, com taxa de concepção superior, quando comparado ao protocolo *Cosynch* e o *Cosynch-72*.

A PGF_{2α} é o hormônio luteolítico produzido pelo endométrio uterino de várias espécies de mamíferos, tem a função de controlar a vida útil do corpo lúteo, que em contra partida, regula a extensão do ciclo estral (WAITE et al., 2005).

A partir da descoberta da função da PGF_{2α}, estudos foram realizados envolvendo o uso desta substância ou análogos para a sincronização do estro (LAUDERDALE et al., 1974; BORGES et al., 2003; CHACUR et al., 2010; FERNANDES et al., 2012). Este hormônio passou a ser utilizado no controle do ciclo estral em bovinos devido à sua capacidade em induzir a regressão do corpo lúteo (CAVALIERI et al., 2006).

Segundo Cavalieri et al. (2006) para se obter bons resultados com uso de PGF_{2α}, ou seja, induzir a luteólise, é necessário administrar estrategicamente o hormônio após a detecção de um corpo lúteo responsivo. Pode ser feita a administração de uma ou múltiplas doses para sincronizar o estro no intervalo de até 7 dias. Porém, o intervalo do tratamento à ovulação depende do estágio de

desenvolvimento do folículo dominante no momento do tratamento (BORGES et al., 2003).

A reprodução em mamíferos é controlada pelas interações entre o hipotálamo, hipófise e gônadas. O hipotálamo libera pulsos do GnRH, um decapeptídeo fundamental para a regulação da reprodução. O GnRH liga-se com alta afinidade aos seus receptores na hipófise para estimular a liberação do hormônio luteinizante (LH) e em menor grau do hormônio folículo estimulante (FSH) (RISPOLI; NETT, 2005).

Levando em consideração a origem, o GnRH pode ser dividido em dois grupos: GnRH natural e análogos sintéticos de GnRH. A gonadorelina é um análogo sintético do GnRH natural, existe os análogos de GnRH sintéticos, muitas vezes denominados de superanálogos (ZAPLETAL; 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).

O GnRH ou seus agonistas promovem a liberação de LH hipofisário em quantidades suficientes para provocar a ovulação ou a luteinização do folículo dominante presente no momento da sua aplicação, induzindo em sequência a emergência de nova onda folicular dois dias após sua administração (TWAGIRAMUNGU et al., 1994).

O acetato de lecirelina, agonista de GnRH, tem demonstrado eficiência na sincronização da ovulação de Búfalas (BARUSELLI et al., 2001; 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.

Anjum et al. (2010) avaliaram a utilização de 50ug de acetado de lecirelina no momento da IA convencional sobre a taxa de concepção de vacas mestiça e demonstraram diferença para esta variável, com 37,50% para IA e 68,75%, quando a IA foi associada à aplicação hormonal.

Os resultados obtidos como os protocolos de IATF livres de P₄ são bastante variáveis. Segundo Siqueira et al. (2008) os resultados variam de acordo com a porcentagem de animais acíclicos no rebanho, as condições ambientais e nutricionais em que estes animais se encontram, além das associações hormonais utilizadas.

Os primeiros resultados com protocolo de IATF foram publicados por Pursley et al. (1995), onde avaliou a eficiência do *Ovsynch* em novilhas e vacas leiteiras. Verificou que as vacas apresentaram maior taxa de ovulação ao 1º GnRH (90%) que as novilhas (50%), conseqüentemente uma nova onda folicular foi recrutada.

Em seguida, Geary e Whittier (1998) avaliaram taxa de gestação e observaram diferença para o protocolo *Cosynch* (49%) e o *Ovsynch* (57%) em vacas de corte e que os melhores resultados foram obtidos com a condição corporal igual ou superior a 6 (escala 1 a 9).

Vasconcelos et al. (1999) avaliaram se o dia do ciclo estral no início do protocolo interfere na eficiência no protocolo *Ovsynch* em vacas leiteiras lactantes. Verificou-se que a porcentagem de vacas que ovularam após aplicação do 1º GnRH foi influenciada pelo fase do ciclo, sendo que maior taxa foi observada nos animais que estavam entre o 5º a 9º (97%). Porém, a taxa de ovulação ao 2º GnRH variou de acordo a resposta ao 1º GnRH (92% ovularam; 79% não ovularam).

No experimento conduzido por Atkins et al. (2010), em vacas de corte submetidas a protocolo *Cosynch*, verificou-se que o dia do ciclo estral no iniciou da sincronização não afetou o tamanho do folículo ovulatório, nem a taxa de ovulação à 1ª e 2ª aplicação de GnRH. O diâmetro do folículo ovulatório apresentou correlação positiva ($r=0,335$) com as concentrações séricas de estradiol.

Vários experimentos foram conduzidos por diferentes pesquisadores comparando a taxa de gestação do protocolo *Cosynch*, *Ovsynch* e suas modificações. Dentre esses estão o estudo realizado por Portaluppi e Stevenson (2005), que obtiveram taxa de prenhez superior com o protocolo *Cosynch-72* (31,4%), quando comparado ao protocolo *Cosynch* (22,8%) e o *Ovsynch* (23,5%).

Walker et al. (2005) avaliaram a eficiência do protocolo *Cosynch-72* em vacas de corte em lactação e verificaram taxa de gestação de 62,7%, quando comparado ao *Cosynch* (39,3%).

Brusveen et al. (2008) trabalhando com vacas em lactação obtiveram taxa de gestação superior com o *Ovsynch*-56 (38,6%), comparado ao *Cosynch* (29,2%) e ao *Cosynch*-72 (25,4%). Alnimer et al., (2009) recomendam a utilização do protocolo *Cosynch*-72 em vacas primíparas.

Visando melhorar a sincronização do desenvolvimento folicular e o estro, aumentar as taxas de gestação até então obtidas com os protocolos *Cosynch* em vacas de corte, alguns experimentos foram conduzidos propondo a associação com uma fonte de P₄ (CIDR). Dobbins et al. (2009) avaliaram o momento ideal para IATF em vacas de corte lactantes (*Bos taurus*) utilizando *Cosynch* + CIDR : 48 , 56, 64 ou 72 h. Concluíram que os melhores momentos foram 56 e 64h, obtiveram taxa de prenhes de 61,1% e 51,85, respectivamente, quando comparado a 38,2%(48h).

Echternkamp e Thallman (2011) verificaram que a taxa de gestação não deferiu quando as vacas apresentavam concentração de progesterona >1ng/mL (*Cosynch* (52,1%); *Cosynch* + CIDR (50,0%)). Porém, para as vacas com progesterona plasmática ≤ 1ng/mL, o *Cosynch* + CIDR obteve uma taxa de gestação de 65,2% e 30,8% com o *Cosynch*.

As avaliações de protocolos livres de progestágenos são importantes, apesar do incremento na taxa de gestação com a utilização de protocolos hormonais a base de progestágenos, principalmente devido a questionamentos que estão sendo feitos sobre o uso de hormônios esteroide em animais destinados ao consumo humano, sendo que nos países da União Europeia sua utilização no manejo reprodutivo já é limitada (LANE et al., 2008).

3 MATERIAL E MÉTODOS

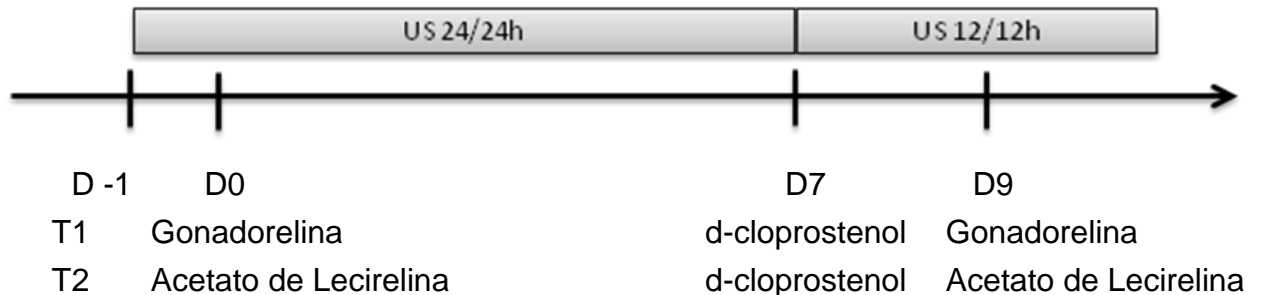
O estudo foi realizado no Setor de Bovinocultura da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, no campus de Cruz das Almas, Bahia, compreendendo o período de Novembro de 2013 a Janeiro de 2014.

Foram utilizadas 12 vacas, solteiras, anelradas, idade média de $5,0 \pm 2,0$ anos, condição corporal (escala de 1 a 9) de $5,17 \pm 1,02$ segundo Nicholson e Butterworth (1986), previamente selecionadas quanto à atividade ovariana, por meio de avaliação ginecológica com ultrassonografia. Os animais foram submetidos a regime semi-intensivo de produção. Durante o dia, os animais tiveram livre acesso à pastagem (*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 dois tratamentos (T) e as aplicações hormonais foram realizadas por via intramuscular no membro posterior, sendo T1 (n=6): 100µg de gonadorelina (Profertil®, Tortuga, Brasil), no D0; seguida de 150µg de d-cloprostenol (Prolise®, Tecnopec, Brasil), no D7 e 100µg de gonadorelina (Profertil®, Tortuga, Brasil), no D9 e o T2 (n=6): 25µg do acetato de lecirelina (Gestran®, Tecnopec, Brasil), no D0; seguida de 150µg de d-cloprostenol (Prolise®, Tecnopec, Brasil), no D7 e de 25µg do acetato de lecirelina (Gestran®, Tecnopec, Brasil), no D9. As IATFs foram realizadas no D9 do protocolo, após aplicação hormonal (Figura 1).

As avaliações de dinâmica folicular ovariana foram iniciadas no dia anterior ao D0 do protocolo até o D7 de 24 em 24 horas. A partir do D8 do protocolo, as avaliações foram realizadas a cada 12 horas, finalizando 12 horas após a detecção da ovulação (Figura 1). As imagens dos ovários foram obtidas por via transretal utilizando um ultrassom (Áquila Vet, Pie Medical, Holanda) acoplado a um transdutor linear de 8,0 MHz. Os exames foram realizados por um único operador e os diâmetros, a posição e características das estruturas ovarianas foram anotadas e desenhadas em fichas individuais.

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



Fonte: Próprio autor

Os parâmetros de dinâmica folicular avaliados foram: intervalo da 2ª aplicação do GnRH à ovulação, taxa de ovulação à 1ª aplicação de GnRH, taxa de ovulação à 2ª aplicação de GnRH, taxa de crescimento folicular, diâmetro do maior folículo no D0 e D9 do protocolo, diâmetro do folículo dominante e do subordinado após a 2ª aplicação de GnRH e a avaliação da população folicular durante todo o período de avaliação (D -1 à D13).

O intervalo da 2ª aplicação do GnRH à ovulação foi mensurado em horas. A ovulação foi calculada pela média entre o horário da última visão do folículo ovulatório e o horário onde se detectou a ovulação. A taxa de crescimento do folículo ovulatório (mm/dia) foi obtida por meio da diferença dos diâmetros final e inicial, dividido pelo número de horas e multiplicando por 24, a fim de alcançar a taxa de crescimento diário.

O diâmetro folicular foi obtido através do maior comprimento da cavidade antral. O folículo dominante foi o que possuía o maior diâmetro e excedia o de todos os demais, sendo seu diâmetro determinado pela média das duas maiores distâncias. Considerou-se apenas um folículo subordinado, sendo classificado como um dos que apareceram simultaneamente com o folículo dominante, porém com menor diâmetro.

Para determinação da população folicular, os folículos ovarianos foram identificados e o diâmetro (mm) determinado por meio de dispositivos do aparelho de ultrassom, e classificados por tamanho em três categorias: de 3 a 5mm (folículos

pequenos), de 6 a 8mm (folículos médios) e iguais ou superiores a 9mm (folículos grandes), segundo Ferreira et al. (2004).

Para análise estatística dos dados, utilizou-se o programa *Statistical Package for Social Science* (SPSS, versão 19). Primeiro foi verificado a normalidade das variáveis por meio do teste de Shapiro-Wilk. Para as variáveis taxa de ovulação ao 1º GnRH, taxa de ovulação ao 2º GnRH e o intervalo do 2º GnRH a ovulação, os dados não apresentaram distribuição normais, sendo necessário a utilização de testes não paramétricos (teste de Mann-Whitney). Para o restante das variáveis a distribuição foi utilizado a ANOVA ao nível de 5% de significância.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve diferença ($P>0,05$) entre os tratamentos para os parâmetros avaliados de crescimento folicular e ovulação (Tabela 1).

Tabela 1- Crescimento folicular de vacas de corte submetidas ao protocolo *Cosynch* utilizando acetato de lecirelina em substituição à gonadorelina

Parâmetros	T1	T2	Média
TMF D0 (mm)	9,49±2,57	9,25±2,00	9,37±2,20
TMF D9 (mm)	11,60±4,92	11,55±2,23	11,58±3,65
TFD (mm)	13,98±4,97	12,56±2,18	13,28±3,74
TFS (mm)	8,05±2,92	5,73±1,64	6,89±2,56
TCF (mm/d)	0,64±0,32	0,66±0,21	0,66±0,26

TMF D0=tamanho do maior folículo no D0 do protocolo; TMF D9=tamanho do maior folículo no D9 do protocolo; TFD=tamanho do folículo dominante; TFS=tamanho do folículo subordinado; TCF=taxa de crescimento folicular. Não houve diferença entre os tratamentos pela ANOVA ($P>0,05$).

O tamanho do maior folículo no momento da aplicação dos indutores da ovulação, no D0 e D9, não diferiu entre os tratamentos, apresentaram média geral de 9,37±2,20 (D0) e de 11,58±3,65 (D9) ($P>0,05$; Tabela 1). Os resultados desta pesquisa corroboram com os encontrados por Saldarriaga et al. (2007), com tamanho do maior folículo no D0, de 9,6±0,2mm e no D9, de 11,1±0,2mm. Valor semelhante (10,8±0,14mm) foi observado por Vasconcelos et al. (2009), utilizando benzoato de estradiol no D9 do protocolo. Segundo Baruselli et al. (2003), o tamanho folicular no momento do tratamento apresenta considerável importância na taxa de ovulação de animais tratados com GnRH, independentemente da concentração plasmática de P_4 apresentada pelos animais.

O tamanho do folículo dominante não foi influenciado pelos protocolos hormonais utilizados ($P > 0,05$; Tabela 1). O tamanho do folículo dominante ao final do tratamento foi de $13,98 \pm 4,97$ mm, para T1 e de $12,56 \pm 2,18$ mm, para T2. Valor inferior ($11,9 \pm 1,6$ mm) foi encontrado em novilhas submetidas ao protocolo *Ovsynch* (BARUSELLI et al., 2003). Atkins et al. (2010) constataram que vacas de corte submetidas ao protocolo *Cosynch* que ovularam folículos ≤ 11 mm levou a concentrações reduzidas de P_4 sérica 12 dias após o protocolo, em comparação a vacas que ovularam folículos > 11 mm de diâmetro, sendo que este hormônio é responsável pela manutenção da gestação.

A dominância folicular é definida como a capacidade de um folículo em inibir o crescimento dos demais, através do aumento de sua capacidade de produzir E_2 e inibina, levando a atresia dos folículos subordinados (BINELLI et al., 2006). No presente trabalho, não houve diferença quanto ao tamanho do folículo subordinado ($P > 0,05$; Tabela 1), com médias de $8,05 \pm 2,92$ mm e $5,73 \pm 1,64$ mm, para T1 e T2, respectivamente. Valor semelhante foi encontrado por Borges et al. (2004a) em vacas da raça Gir (*Bos indicus*) com 56 dias pós parto, com média $6,4 \pm 0,7$ mm.

Os folículos dominantes cresceram numa taxa média de $0,66 \pm 0,26$ mm/dia, até atingirem o tamanho máximo. A taxa de crescimento folicular não foi influenciada pelos tratamentos, com médias de $0,64 \pm 0,32$ (T1) e $0,66 \pm 0,21$ (T2) ($P > 0,05$; Tabela 1). Estes valores encontram-se abaixo do encontrado na literatura, como observado por Borges et al. (2004a), que avaliaram o desenvolvimento folicular no pós parto de vacas Gir tratadas com acetado de buserelina ou hCG obtiveram uma taxa de $1,6 \pm 0,6$ e $1,5 \pm 0,6$, respectivamente.

A taxa de ovulação ao 1º GnRH não diferenciou entre os tratamentos, apresentando uma média de 33,33% (T1) e 66,66% (T2) ($P > 0,05$; Tabela 2). O resultado obtido no T1 foi inferior ao encontrado por Atkins et al. (2010), utilizando vacas em diferentes dias do ciclo estral, observaram uma média de 50% de ovulação ao 1º GnRH. Pursley et al. (1995) obtiveram uma menor taxa de ovulação ao 1º GnRH em novilhas (54%) do que em vacas (90%). Segundo Baruselli et al. (2003), a baixa taxa de ovulação ao 1º GnRH e conseqüentemente a emergência de uma nova onda de crescimento folicular, pode comprometer a sincronização da ovulação após o 2º GnRH.

Tabela 2- Taxa de ovulação de vacas de corte submetidas ao protocolo *Cosynch* utilizando acetato de lecirelina em substituição à gonadorelina

Parâmetros	T1	T2	Total
Taxa ovulação 1° GnRH (%)	33,33 (2/6)	66,66 (4/6)	50,00 (3/3)
Taxa ovulação 2° GnRH (%)	33,33 (2/6) ^a	100 (6/6) ^b	66,66 (4/6)
Intervalo 2° GnRH-ovulação (h)	35,99±32,98	29,79±29,69	29,92±29,71

Médias de uma mesma linha com letras distintas indicam diferença estatística ($P < 0,05$) pelo teste de Mann-Whitney. Fonte: Próprio autor

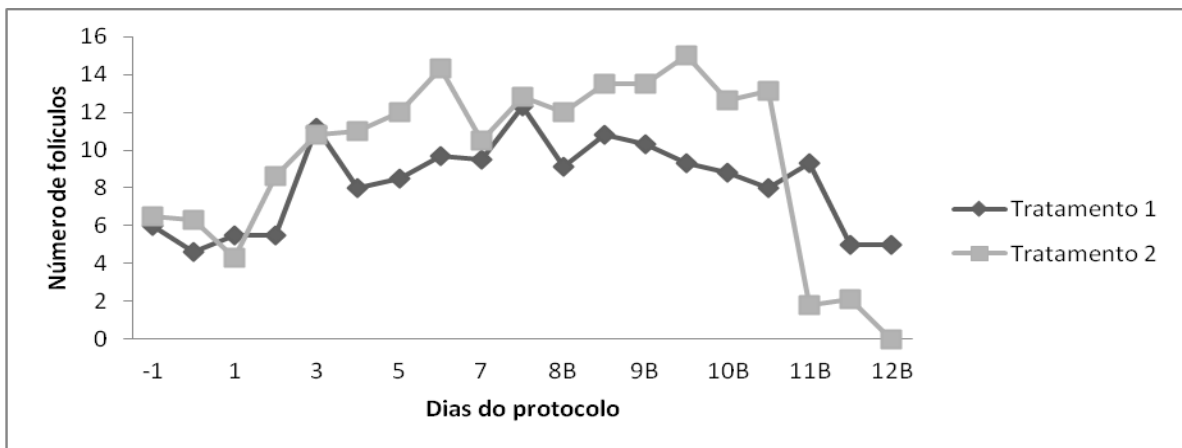
A taxa de ovulação ao 2° GnRH foi influenciada pelo tratamento ($P < 0,05$; Tabela 2). Observou-se médias de 33% para T1 e de 100% de ovulação para T2, quando utilizou-se o acetato de lecirelina como indutor da ovulação. Valores encontrados por Atkins et al. (2010) de 76% de taxa de ovulação ao 2° GnRH, encontra-se inferior ao obtido no T2 presente experimento. A taxa de ovulação com a aplicação de acetato de lecirelina colaboram com resultados obtidos por Pursley et al. (1995), onde a 2ª aplicação de GnRH foi eficiente em induzir a ovulação em 100% das vacas.

O intervalo do 2° GnRH à ovulação, é um dado importante para determinar o momento ideal para realização da IATF. No presente trabalho não houve diferença entre os tratamentos ($P > 0,05$; Tabela 2), com média de 35,99 (T1) e 29,79 (T2). Entretanto, observou-se maior sincronização do momento da ovulação no T2 (5/6) que no T1 (1/6), ambos dentro do intervalo de 24 a 32hs observado por Pursley et al. (1995). Resultado semelhante (28,5±9,6h) foi encontrado por Baruselli et al. (2003), em trabalho realizado com novilhas mestiças *Bos taurus indicus x Bos taurus taurus* submetidas ao protocolo *Ovsynch*.

Houve diferença entre os tratamentos para o número de folículos pequenos no D10 e D11 do protocolo ($P < 0,05$; Figura 2), sendo que A e B equivale a 1ª e 2ª avaliação ultrassonográfica do dia.

Segundo Twagiramungu et al. (1994) uma nova onda emerge 2 dias após o aplicação do GnRH, devido uma estimulação rápida da liberação FSH, pelo GnRH. Porém, este folículos pequenos entram em atresia pela liberação de hormônios pelo folículo dominante (BINELLI et al., 2006), como pode ser observado no D11B do protocolo.

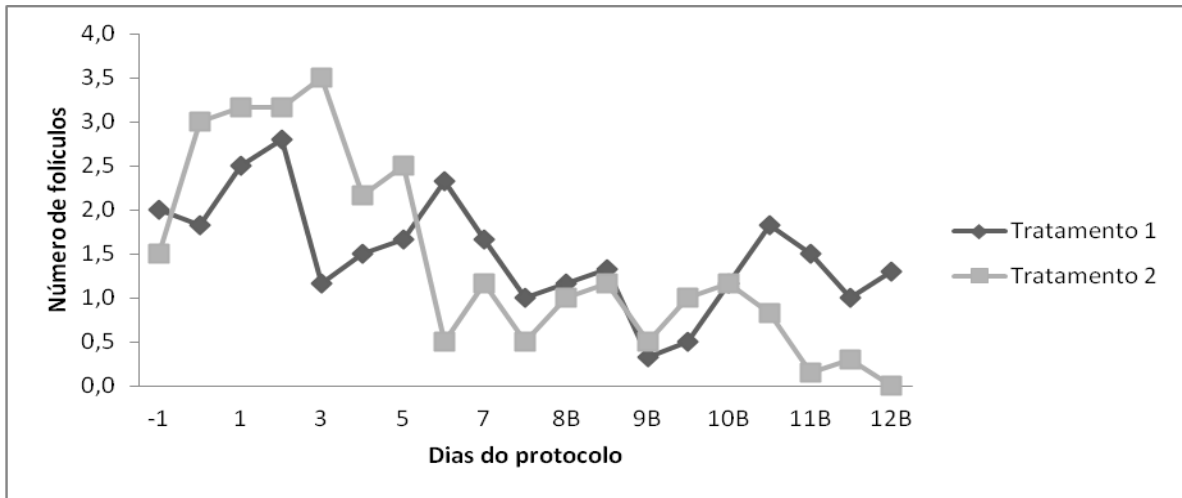
Figura 2- População de folículos pequenos de vacas de corte submetidas ao protocolo *Cosynch* utilizando acetato de lecirelina em substituição à gonadorelina



B = 2ª avaliação ultrassonográfica. Houve diferença entre os tratamentos ($P > 0,05$), pela ANAVA. Fonte: Próprio autor

Houve diferença entre os tratamentos para população de folículos médios no D3, D6 e D11B do protocolo ($P < 0,05$; Figura 3). Os resultados obtidos neste experimento colaboram com os encontrados por Twagiramungu et al. (1994), em estudo utilizando acetato de buserelina no pós-parto de vacas, observaram diminuição no número de folículos médios no D3 e D6 em vacas, podendo ter sido causado pelo aumento na concentração de estradiol levando a um maior grau de atresia folicular.

Figura 3- População de folículos médios de vacas de corte submetidas ao protocolo *Cosynch* utilizando acetato de lecirelina em substituição à gonadorelina



B = 2ª avaliação ultrassonográfica. Houve diferença entre os tratamentos ($P > 0,05$), pela ANAVA. Fonte: Próprio autor

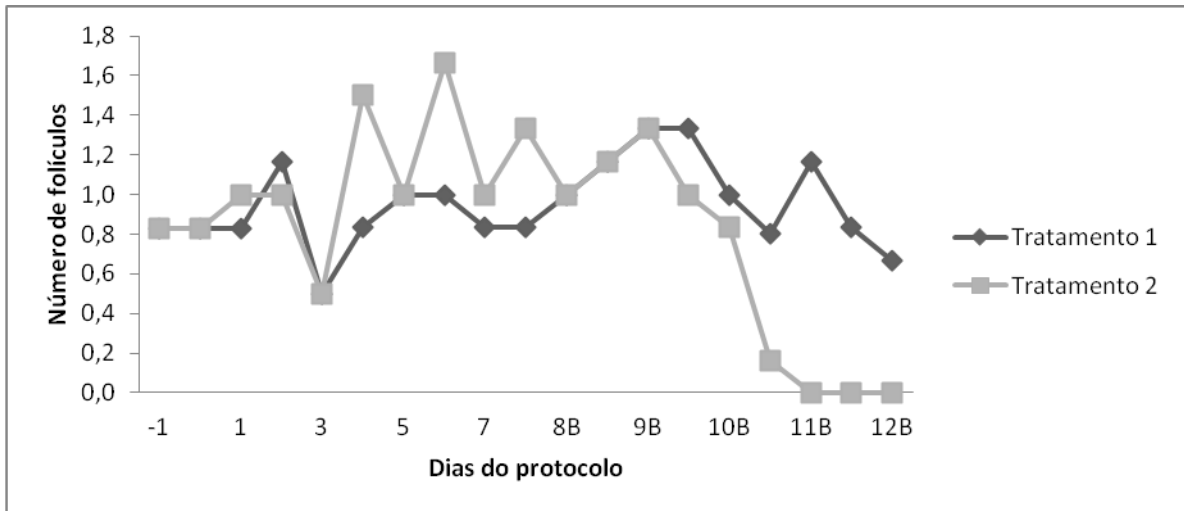
A diminuição significativa no número de folículos médios a partir do D6 faz parte do andamento do processo de seleção do folículo dominante e diminuição no aporte do hormônio folículo estimulante (FSH) a esta classe de folículo (TWAGIRAMUNGU et al., 1995). No estudo realizado por Ferreira et al. (2004), avaliando a população folicular de vacas Gir durante um ciclo estral, verificou-se correlações negativas significativas entre o diâmetro do maior folículo e o número de folículos pequenos e médios.

A redução da população folicular pode ser observada no D11 do protocolo no presente trabalho, principalmente para o T2, que obteve taxa de ovulação de 100%, demonstrando presença do folículo dominante funcional. Porém, no T1 com taxa de ovulação de 33,33% demonstra presença de folículos dominantes inovulatórios, justifica a presença de o número maior de folículos médios neste tratamento.

Houve diferença entre os tratamentos para número de folículos grandes no D4, D11A, D12A, D12B do protocolo ($P < 0,05$; Figura 4). Segundo Twagiramungu et al. (1994) o uso de agonista de GnRH resulta na sincronização do surgimento de uma nova onda folicular dentro de 3 a 4 dias e a seleção de um grande folículo, que torna-se o folículo pré-ovulatório depois de induzida a luteólise do corpo lúteo. Esta

onda de crescimento folicular pode ser verificada neste experimento, a partir D4 com o aumento no número de folículos pequenos, médios e grande.

Figura 4- População de folículos grandes de vacas de corte submetidas ao protocolo *Cosynch* utilizando acetato de lecirelina em substituição à gonadorelina



B = 2ª avaliação ultrassonográfica. Não houve diferença entre os tratamentos ($P > 0,05$), pela ANAVA. Fonte: Próprio autor

Diminuição significativa no número de folículos grandes a partir do D11, decorrente da ovulação dos folículos dominantes. A ovulação do folículo dominante foi eficientemente induzida pelo acetato de lecirelina (T2), com taxa de 100% de ovulação.

5 CONCLUSÃO

A ovulação pode ser eficientemente sincronizada utilizando acetato de lecorelina em substituição à gonadorelina no protocolo *Cosynch* em vacas de corte, com base na taxa de ovulação obtida após a segunda aplicação de GnRH e no número de folículos grandes no D11 e D12 do protocolo.

6 REFERÊNCIAS

ALNIMER, M. A. et al. Applying variations of the Ovsynch protocol at the middle of the estrus cycle on reproductive performance of lactating dairy cows during summer and winter. *Theriogenology*, v. 72, n. 5, p. 731-740, 2009.

ATKINS, J. A. et al. Factors affecting preovulatory follicle diameter and ovulation rate after gonadotropin-releasing hormone in postpartum beef cows. Part I: Cycling cows. *Journal of Animal Science*, v. 88, n.7, p. 2300-2310, 2010.

BARUSELLI, P. S. et al. Dinâmica folicular e taxa de prenhez em novilhas receptoras de embrião (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*) tratadas com o protocolo Ovsynch para inovação em tempo fixo. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 40, . supl. 2, p. 96-106, 2003.

BARUSELLI, P. S. et al. Lecirelin and Buserelin (Gonadotrophin releasing hormone agonists) are equally effective for fixed time insemination in buffalo. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 38, n. 3, p. 142-145, 2001.

BARUSELLI, P. S. et al. Efeito de diferentes protocolos de inseminação artificial em tempo fixo na eficiência reprodutiva de vacas de corte lactantes. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 26(3), p. 218-221, 2002.

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*, v. 34, Supl. 1, p. 1-7, 2006.

BORGES, A. M. et al. Características da dinâmica folicular e regressão luteal de vacas das raças Gir e Nelore após tratamento com cloprostenol sódico. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 32, n. 1, p. 85-92, 2003.

BORGES, A. M. et al. Desenvolvimento folicular no pós-parto de vacas da raça Gir tratadas com Acetato de Buserelina (GnRH) ou Gonadotrofina coriônica humana (hCG). *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 33, p. 1396-1404, 2004a.

BORGES, A. M. et al. Dinâmica folicular e momento da ovulação em vacas não lactantes das raças Gir e Nelore durante duas estações do ano. *Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 56, n. 3, p. 346-354, 2004b.

BRUSVEEN, D. J. et al. Altering the time of the second gonadotropin-releasing hormone injection and artificial insemination (AI) during Ovsynch affects pregnancies per AI in lactating dairy cows. *Journal of dairy science*, v. 91, n. 3, p. 1044-1052, 2008.

CAVALIERI, J. et al. Manipulation and control of the estrous cycle in pasture-based dairy cows. *Theriogenology*, v. 65, n. 1, p. 45-64, 2006.

CHACUR, M. G. M. et al. Efeitos de baixas doses de cloprostenol via intramuscular ou submucosavulvar na indução do estro e taxas de prenhez em vacas Nelore. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 31, n. 2, p. 451-458, 2010.

DOBBINS, C. A. et al. Insemination timing affects pregnancy rates in beef cows treated with CO-Synch protocol including an intravaginal progesterone insert. *Theriogenology*, v. 72, n. 7, p. 1009-1016, 2009.

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, C. A. et al. Efeito de diferentes doses de cloprostenol sódico no período pós-parto de vacas de corte. *Ciência Animal Brasileira*, v. 13, n. 3, p. 346-352, 2012.

FERRAZ, P. A. et al. Dinâmica folicular e taxa de concepção de vacas nelore sincronizadas com diferentes protocolos de indução da ovulação. *Archives of Veterinary Science*, v.18, n.4, p.31-39, 2013.

FERREIRA, A. M. et al. População folicular ovariana durante o ciclo estral em vacas da raça Gir. *Revista Brasileira Zootecnia*, vol.33, n.6, p. 1689-1694, 2004.

GEARY, T. W.; WHITTIER J.C. Effects of a Timed Insemination Following Synchronization of Ovulation Using the Ovsynch or CO-Synch Protocol in Beef Cows. *The Professional Animal Scientist*.14: 217-220, 1998.

LANE, E. A.; AUSTIN, E. J.; CROWE, M. A. Oestrous synchronisation in cattle- Current options following the EU regulations restricting use of oestrogenic compounds in food-producing animals: A review. *Animal Reproduction Science*, v. 109, n. 1, p. 1-16, 2008.

LAUDERDALE, J. W. et al. Fertility of cattle following PGF₂ α injection. *Journal of Animal Science*, v. 38, n. 5, p. 964-967, 1974

MONAHAN, M. W. et al. Synthetic analogs of the hypothalamic luteinizing hormone releasing factor with increased agonist or antatolist 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.

OLIVEIRA, A.F. et al. Dinâmica folicular na sincronização de ovulação associado à administração de FSH-p em vacas da raça Nelore. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 35, Supl. 3, 2007.

PORTALUPPI, M. A.; STEVENSON, J. S. Pregnancy rates in lactating dairy cows after presynchronization of estrous cycles and variations of the Ovsynch protocol. *Journal of dairy science*, v. 88, n. 3, p. 914-921, 2005.

PETERS, M.W.; PURSLEY, J.R. Tempo de GnRH final do protocolo Ovsynch afeta o tamanho ovulatório folículo, função lútea subsequente, e da fertilidade em vacas leiteiras. *Theriogenology*, v. 60, n. 6, p. 1197-1204, 2003.

PURSLEY, J.R.; MEE, M. O.; WILTBANK, M. C. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2 α and GnRH. *Theriogenology*, v. 44, p. 915-923, 1995.

RISPOLI, L. A.; NETT, T. M. Pituitary gonadotropin-releasing hormone (GnRH) receptor: structure, distribution and regulation of expression. *Animal reproduction science*, v. 88, n. 1, p. 57-74, 2005.

SALDARRIAGA, J. P. et al. Ovarian, hormonal, and reproductive events associated with synchronization of ovulation and timed appointment breeding of *Bos indicus*-influenced cattle using intravaginal progesterone, gonadotropin-releasing hormone, and prostaglandin F2 α . *Journal of animal science*, v. 85, n. 1, p. 151-162, 2007.

SIQUEIRA, L. C. et al. Sistemas de inseminação artificial em dois dias com observação de estro ou em tempo fixo para vacas de corte amamentando. *Ciência rural*, v. 38, n. 2, p. 411-415, 2008.

THATCHER, W. W. et al. Strategies for improving fertility in the modern dairy cow. *Theriogenology*, v. 65, n. 1, p. 30-44, 2006.

TWAGIRAMUNGU, H. et al. Histological populations and atresia of ovarian follicles in postpartum cattle treated with an agonist of gonadotropin-releasing hormone. *Journal of animal science*, v. 72, n. 1, p. 192-200, 1994.

TWAGIRAMUNGU, H.; GUILBAULT, L. A.; DUFOUR, J. J. Synchronization of ovarian follicular waves with a gonadotropin-releasing hormone agonist to increase the precision of estrus in cattle: a review. *Journal of Animal Science*, v. 73, n. 10, p. 3141-3151, 1995.

ANJUM, R. H. et al. Improvement of conception rate in crossbred cattle by using GnRH analogue therapy. *Agricultura Tropica et Subtropica*, v. 43, p. 1, 2010.

VASCONCELOS, J. L. M. et al. Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows. *Theriogenology*, v. 52, n. 6, p. 1067-1078, 1999.

VASCONCELOS, J. L. M.; MENEGHETTI, M. Sincronização de ovulação como estratégia para aumentar a eficiência reprodutiva de fêmeas bovinas, em larga escala. V Simpósio de produção de gado de corte e simpósio internacional de produção de gado de corte, Viçosa, p. 529-541, 2006.

VASCONCELOS, J. L.; VILELA, E. R.; SÁ FILHO, O. G. Remoção temporária de bezerros em dois momentos do protocolo de sincronização da ovulação GnRH-PGF2 α -BE em vacas Nelore pós-parto. *Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 61, n. 1, p. 95-103, 2009.

WALKER, R. S. et al. Evaluation of gonadotropin-releasing hormone and insemination time using the CO-Synch protocol in beef cows. *The Professional Animal Scientist*, v. 21, n. 3, p. 190-194, 2005.

WAITE, A.L.; HOLTAN, D.W.; STORMSHAK, F. Changes in bovine luteal progesterone metabolism in response to exogenous prostaglandin F₂alpha. *Domest Anim Endocrinol*, v.28, p.162-171. 2005.

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* v. 19, n. 4, p. 531-538, 2012.

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