

POTENCIAL DA DESLORELINA COMO AGENTE INDUTOR DA OVULAÇÃO EM VACAS PRIMÍPARAS *Bos taurus indicus* NA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO

Laisa Sincero Rabelo de Oliveira¹
André Luiz Bastos de Souza²
Luiz Ernandes Kozicki¹
Marcio Segui¹
Victor Breno Pedosa³
José Antonio Dell'Aqua Junior⁴
Romildo Romualdo Weiss⁵
Ana Claudia Machinski Rangel de Abreu⁵

RESUMO

O objetivo do estudo foi verificar a eficiência da deslorelina (DES) como indutora da ovulação em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) sobre as taxas de prenhez (TP) de vacas primíparas *Bos taurus indicus*. Foram utilizados 176 animais, distribuídos em três grupos: GNDES (Grupo Não DES; n= 59), que recebeu no dia 0 (d0) um dispositivo intravaginal com 0,558 g de progesterona (P4) + 2,0 mg de benzoato de estradiol (BE) (IM); no d8 remoção da P4 + 0,5 mg de cipionato de estradiol (CE) + 150 µg de cloprostenol + 400 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG); em d10 foi executada a IATF; GDES (Grupo DES; n=60) o mesmo que GNDES porém 1,0 mg (IM) de DES no momento da IATF; GDES6 (Grupo Deslorelina 6 horas; n=57) o mesmo que GDES, porém com a DES aplicada 6 horas antes da IATF. Os dados foram submetidos à análise estatística mediante o Programa SAS (2014). O estudo resultou em taxa de prenhez (TP) na IATF e no final da estação de monta, respectivamente para GNDES, GDES e GDES6 em 40,6; 53,3; 43,8 % e 72,9; 81,7; 70,2 %. Concluiu-se que a DES proporcionou em números absolutos indicativo de melhoria na TP à IATF nos grupos tratados frente ao controle; o ECC, dias abertos e o *status* reprodutivo (anestro ou ciclicidade) não influenciaram a TP à IATF, aos 60 dias e ao final da estação de monta.

Palavras-chave: Deslorelina intramuscular, IATF, protocolo hormonal, bovino, primíparas.

POTENTIAL OF DESLORELIN AS INDUTOR OF OVULATION FOR TIMED-ARTIFICIAL INSEMINATION IN PRIMIPAROUS *Bos taurus indicus* COWS

ABSTRACT

The aim of the study was to verify the efficiency of deslorelin (DES) as inductor of ovulation in timed-artificial insemination (TAI) protocols on pregnancy rate (PR) in primiparous *Bos taurus indicus* cows. Hundred seventy six animals were divided into three groups (G): GNDES (Group No Deslorelin; n = 59) which received on day 0 (d0) an intravaginal device with 0.558 g of progesterone (P4) + 2.0 mg estradiol benzoate (EB) (IM); d8 P4 removal + 0.5 mg of estradiol cypionate (EC) + 150 µg of cloprostenol + 400 IU of equine chorionic

¹ Pontifícia Universidade Católica do Paraná - Escola de Ciências da Vida, Campus Curitiba, Paraná, Brasil.
Correspondência: lasincero@hotmail.com

² Vet, Maxi Consultoria Pecuária - Curitiba - PR, Brasil.

³ Departamento de Zootecnia - Universidade Estadual de Ponta Grossa.

⁴ Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de Botucatu, São Paulo, Brasil.

⁵ Setor de Ciências Agrárias - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil.

gonadotropin (eCG); in d10 TAI was proceeded; GDES (DES group; n = 60) the same as GNDES + 1.0 mg (IM) DES acetate in TAI day; GDES6 (DES applied 6 hours before TAI, n = 57) the same as GDES, but DES injected 6 hours before TAI. The pregnancy rate (PR) in TAI and at the end of the breeding season (BS) was respectively 40.6; 53.3; 43.8% and 72.9; 81.7; 70.2% in GNDES, GDES and GDES6. In conclusion, the DES brought an indicative of improvement in the PR for TAI, in the treated groups (3.2 to 12.7 % more) than control, however without significance; the BCS, open days and the reproductive status of anestrus or cyclicity, did not influenced the PR in TAI at 60 days or at the end of the BS.

Keywords: Intramuscular deslorelin, TAI, protocol hormone, bovine, primiparous.

POTENCIAL DE LA DESLORELINA COMO AGENTE INDUCTOR DE LA OVULACIÓN EN VACAS PRIMÍPARAS *Bos taurus indicus* EN LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN TIEMPO FIJO

RESUMEN

El objetivo del estudio ha sido verificar la eficiencia de la deslorelina (DES) como inductora de la ovulación en protocolos de inseminación artificial en tiempo fijo (IATF) sobre las tasas de preñez (TP) en vacas primíparas *Bos taurus indicus*. Se han utilizado 176 animales, distribuidos en tres grupos: GNDES (Grupo No DES; n= 59), que recibió en el día 0 (d0) un dispositivo intra vaginal con 0,558 g de progesterona (P4) + 2,0 mg de benzoato de estradiol (BE) (IM); en el d8 remoción de la P4 + 0,5 mg de cipionato de estradiol (CE) + 150 mg de cloprostenol + 400 UI de gonadotropina coriónica equina (eCG); en el d10 fue ejecutada la IATF; GDES (Grupo DES; n=60) el mismo que GNDES pero 1,0 mg (IM) de DES en el momento de la IATF; GDES6 (Grupo Deslorelina 6 horas); n=57) el mismo que GDES, con la diferencia que la DES ha sido aplicada con 6 horas de antelación relación a la IATF. Los datos han sido sometidos a un análisis estadístico, a través del Programa SAS (2014). El estudio resultó en tasa de preñez (TP) en la IATF y al final del ciclo estral, respectivamente para GNDES, GDES y GDES6 en 40,6; 53,3; 43,8 % y 72,9; 81,7; 70,2 %. Concluyese que la DES proporcionó en números absolutos un indicativo de mejoría en la TP y en la IATF en los grupos tratados frente al controle; el ECC, días abiertos y el status reproductivo (anestro o ciclicidad) no influenciaron la TP ni la IATF, ni a los 60 días ni al final del ciclo estral o periodo de celo.

Palavras chave: Deslorelina intramuscular, IATF, protocolo hormonal, bovino, primíparas.

INTRODUÇÃO

As falhas na identificação do estro e do anestro pós-parto prolongado são os dois principais fatores que afetam o desempenho reprodutivo de bovinos (1). O método tradicional para a detecção de estro é a observação visual, sendo altamente dependente da intensidade de estro, da experiência do observador, e da frequência de observações (2).

Visando maximizar as probabilidades das taxas de concepção (TC) e taxas de prenhez (TP), com número reduzido de inseminações artificiais (IA), vários protocolos de sincronização de estro foram desenvolvidos, sendo o objetivo da maioria a não-necessidade de detecção de estro (3), ou seja, protocolos hormonais direcionados à inseminação artificial em tempo fixo (IATF). Estreitamente relacionada aos protocolos de IATF encontra-se a

sincronização da ovulação (SO), visando a otimização das TP. Esta biotécnica constitui-se em uma ferramenta importante na eficiência reprodutiva de rebanhos comerciais (4).

Os protocolos clássicos de IATF utilizam associações de implantes (intravaginais ou subcutâneos) de P4, BE, prostaglandina F2 α (PGF2 α), e gonadotrofina coriônica equina (eCG) para sincronização do estro (5,6,7).

Se por um lado observam-se os efeitos benéficos da exposição dos animais à P4, por outro a eCG atua como estimulante do crescimento folicular (sobretudo do folículo dominante - FD) e produção de P4 pelo corpo lúteo (CL) do ciclo subsequente (5). Seu uso tem-se mostrado promissor em vacas com baixa taxa de ciclicidade (animais no puerpério, por exemplo) ou em animais com baixo escore da condição corporal (ECC) (5). Sá Filho et al. (8), verificaram que o uso de eCG pode resultar em aumento da taxa de crescimento folicular, aumento do diâmetro do FD, além da elevação da taxa de ovulação (TO) em vacas não cíclicas.

Por sua vez, o uso de GnRH ou estradiol no início do protocolo de IATF pode alterar a dinâmica folicular do ovário visando sincronizar o surgimento de um novo FD. O uso do estradiol, GnRH ou hCG durante o proestro pode reduzir a variação do intervalo à ovulação (10). Kozicki et al. (11) testaram a DES (potente agonista do GnRH) intramuscularmente em vacas mestiças, visando à indução da ovulação após prévio tratamento de P4 intravaginal, obtendo taxa de ovulação de 100,0% após 22,3 horas da aplicação.

Indutores da ovulação em vacas como o GnRH (9) e a DES (12) em búfalas, foram empregados em protocolos de IATF, visando incrementar as taxas de concepção e de prenhez. Estudo em búfalas no anestro sazonal demonstrou que a DES foi significativamente mais eficiente na TO e na TP que o GnRH em protocolo de IATF (12). Estudos utilizando a DES injetável intramuscularmente, visando à indução da ovulação em vacas são escassos. Padula e Macmillan (13), utilizaram a DES com implante subcutâneo em vacas leiteiras, concluindo que o agonista do GnRH possui um potencial para controlar as funções reprodutivas no puerpério e manipular a fertilidade de vacas. Relacionado a isso, a hipótese no presente estudo é a de que a administração de DES como indutora da ovulação em protocolos de IATF otimize a eficiência reprodutiva em vacas zebuínas primíparas, não obstante esta categoria animal constitua uma classe especial de animais. As vacas primíparas detêm frequentemente, atraso do início da ciclicidade no período pós-parto, em função da primeira lactação, pois são recém-saídas do estado de novilhas, mas ainda, não são vacas totalmente constituídas, devendo garantir a produção de leite para sua prole, assim como finalizar o seu próprio crescimento (14).

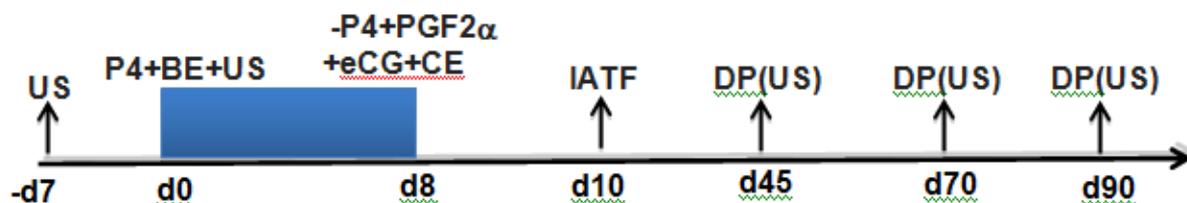
O objetivo do estudo foi verificar a eficiência do acetato de deslorelina injetável intramuscularmente, como indutor da ovulação em protocolos de IATF, sobre as taxas de prenhez em vacas *Bos taurus indicus* primíparas na reprodução em escala comercial.

MATERIAL E MÉTODOS

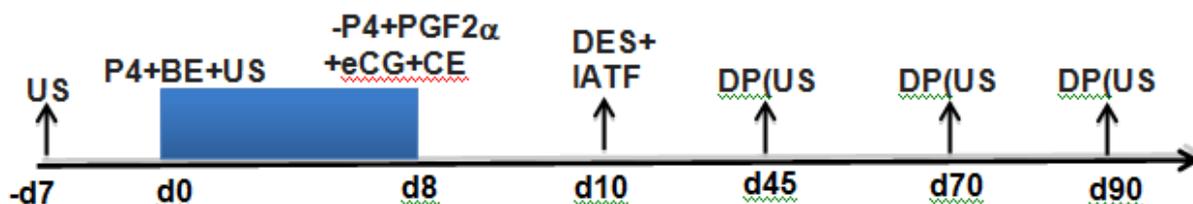
O presente estudo utilizou 176 vacas primíparas da raça Nelore de uma Fazenda Comercial de bovinocultura de corte, situada na Latitude 23° 53' 34", Longitude 55° 25' 52", (altitude de 429 metros) sob pastejo rotacionado de piquetes com *Brachiaria brizantha* (var. Marandú). Adicionalmente foi oferecido sal mineral e água *ad libitum*. O escore da condição corporal (ECC) apresentou a média de 3,5, sendo 1= magra e 5= obesa (15), e o peso médio foi de 340 kg. Os animais encontravam-se entre 37 e 53 dias após o parto (média de 43,5 dias). As vacas foram distribuídas aleatoriamente em 3 grupos: o GNDES (Grupo Não-Deslorelina; n = 59) que recebeu um dispositivo intravaginal de progesterona (P4) longa-ação + benzoato de estradiol (BE) no dia 0 (d0) do protocolo; em d8 ocorreu à remoção da P4 + administração de prostaglandina F2 alfa (PGF2 α) + gonadotrofina coriônica equina (eCG) +

cipionato de estradiol (CE); em d10 efetuou-se a IATF; o GDES (Grupo Deslorelinea; n = 60) foi submetido a idêntico protocolo, exceto que em d10 foi aplicado 1,0 mg de acetato de deslorelinea (IM) (musculo *Longissimus dorsi*); o GDES6 (Grupo com Deslorelinea aplicada 6 horas antes da IATF; n = 57), o mesmo que GDES exceto a administração de acetato de deslorelinea (IM) 6 horas antes da IATF (Figura 1). As inseminações artificiais foram executadas com sêmen descongelado sabidamente fértil. O diagnóstico de prenhez (DP) foi feito aos 35 dias, aos 60 pós a IATF e ao final da estação de monta (EM = 90 dias). Vacas não prenhes após a IATF, permaneceram com touros de repasse até o d90. As avaliações ovarianas foram executadas mediante aparelho portátil de ultrassom, equipado com um transdutor linear bifrequencial de 5/7,5 MHz (Concept LC, Dynamic Imaging, Scotland). Mediante exames ultrassonográficos as vacas foram classificadas em anestro (ausência de Cl ou folículos < que 8 mm de diâmetro) ou cíclicas (presença de Cl ou folículos > que 8 mm) (16). Os folículos ovarianos eram identificados e o diâmetro (mm) foi mensurado no dia menos 7, d0 e d8. A proporção de touros de repasse para as vacas foi de 1:25.

GNDES (Grupo Não-Deslorelinea; n = 59);



GDES (Grupo Deslorelinea; n = 60);



GDES6 (Grupo Deslorelinea 6 horas antes da IATF; n = 57);

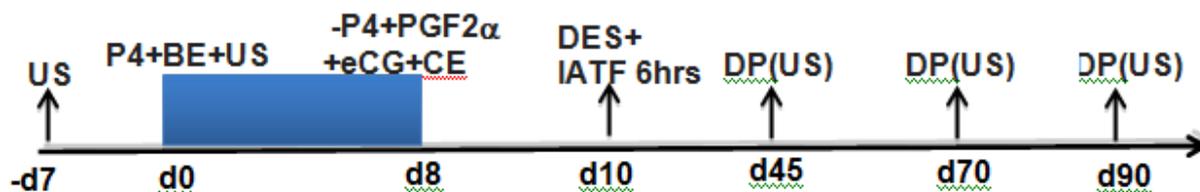


Figura 1. Diagrama do protocolo dos três grupos de vacas.

Legenda: P4: Dispositivo Intravaginal (0,558 g Progesterona = Cronipress, Biogenesis Bago, Curitiba, Brasil); BE: (1 mg Benzoate de estradiol IM, Cronibest, Biogenesis Bago); PGF2 α (0.075 mg / ml Cloprostenol = Croniben, Biogenesis Bago); eCG (400 IU Gonadotrofina coriônica equina = Novohormon, Coopers); Deslorelinea (1 mg IM)(substancia ainda não comercializada; cedida graciosamente); CE (1,0 mg IM, cipionato de estradiol), Zoetis - Pfizer, São Paulo); DP= Diagnóstico de prenhez; US= Ultrassonografia.

Os modelos estatísticos foram ajustados utilizando o Statistical Analysis System (SAS, versão 9.1 para Windows; SAS Inst, Cary, NC, EUA, 2014). A taxa de prenhez, que é uma variável binária, tem distribuição Bernoulli e foi analisada por regressão logística mista, utilizando o procedimento GLIMMIX. As variáveis independentes inicialmente consideradas no modelo estatístico foram: efeito de tratamento (Grupos GNDES; GDES; GDES6), o escore corporal (ECC) e suas interações para a taxa de prenhez. Para obtenção do modelo estatístico final, as variáveis explicativas foram sequencialmente removidas com base no critério estatístico de Wald, aplicando o valor de corte de $P > 0,2$. Seguindo este critério, a variável explicativa incluída no modelo final para a taxa de prenhez foi o efeito do tratamento.

Além desses aspectos, o ECC foi dividido em três categorias, a saber: $ECC < 3,5$; $ECC = 3,5$ e $ECC > 3,5$ e avaliada sua relação com Anestro, Prenhez x IATF, Prenhez x Touro e Prenhez x Total. Adicionalmente, foi analisada a relação entre Anestro x Prenhez (IATF), bem como, Prenhez x Touro. Finalmente, os dados foram apresentados como valores médios e porcentagens, considerando-se um nível de significância de 5% para todos os testes estatísticos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados de ECC, Dias Abertos, Anestro ou Ciclicidade e Taxas de Prenhez encontram-se na tabela 1.

Tabela 1. Escore da condição corporal (ECC), dias abertos no pós-parto, ciclicidade, taxa de prenhez oriunda de IATF e do repasse dos touros nos grupos de vacas *Bos taurus indicus* submetidas a protocolos hormonais sem deslorelina (GNDES), com DES no dia da IATF(GDES) e com DES 6 horas antes da IATF (n=176).

Grupos	ECC ($\bar{x} \pm s$)	Dias abertos ($\bar{x} \pm s$)	Anestro n (%)	Cíclicas n (%)	TP IATF n (%)	TP Touros 60 dias n (%)	TP ao Final EM n (%)
GNDES (n=59)	3,4 \pm 0,2	45,5 \pm 8,1	31/59 (52,5)	28/59 (47,5)	24/59 (40,6)	19/35 (54,2)	43/59 (72,9)
CV (%)	5,8	17,8					
GDES (n=60)	3,5 \pm 0,3	43,7 \pm 8,4	28/60 (46,6)	32/60 (53,3)	32/60 (53,3)	17/28 (60,7)	49/60 (81,7)
CV (%)	8,5	19,2					
GDES6 (n=57)	3,5 \pm 0,3	41,5 \pm 7,0	31/57 (54,3)	26/57 (45,6)	25/57 (43,8)	15/32 (46,9)	40/57 (70,2)
CV (%)	8,5	16,8					
Valor de	-	-	0,34		0,35	0,58	0,33

P

Não houve diferença significativa entre os grupos para nenhuma das variáveis estudadas, tendo como os valores de *P*: Categorias de ECC x Anestro ($P=0,80$), Categorias de ECC x Prenhez na IATF ($P=0,56$); Categorias de ECC x Prenhez de Touros ($P=0,93$); Categorias de ECC x Prenhez Total ($P=0,80$); Anestro x Prenhez IATF ($P=0,70$) e Anestro x Prenhez Touro ($P=0,97$).

Desde o desenvolvimento do protocolo Ovsynch (um dos primeiros para a IATF em bovinos) (17), inúmeros outros foram desenvolvidos e testados. Muitos dos protocolos incluíram os hormônios indutores da ovulação administrados no dia da IATF (17) ou 24 horas (18) ou 48 horas antes da IATF (19). O uso de indutores da ovulação, tornou-se fundamental para a melhoria das taxas de prenhez em bovinos (20), sendo o GnRH (21), o BE (22) e o CE (8), os mais utilizados.

No presente estudo, utilizou-se o acetato de deslorelina injetável via intramuscular profunda (IM), substância empregada anteriormente (23,24,25) sob a forma de implantes subcutâneos. Contudo, os relatos conclusivos destes autores não esclareceram suficientemente os potenciais efeitos da DES, principalmente como indutora da ovulação e os resultados não alcançaram a repercussão necessária para a continuidade de outros estudos sequenciais. Os resultados mostraram-se pouco consistentes, principalmente em relação à indução da ovulação em vacas de leite em programas de IATF (23).

No presente experimento o GDES recebeu a DES no dia da IATF e o GDES6 seis horas antes, e os dados foram confrontados com o grupo não recebedor da DES (GNDES). Nossa hipótese era de que a DES atuaria como potente indutora da ovulação em bovinos, de acordo com relatos de Kozicki et al.(11), os quais conduziram estudo em vacas mestiças de corte e de Frases et al.(12) em búfalas de leite, no anestro sazonal. Basicamente o protocolo administrado no presente estudo já contemplava o uso de CE no d8 do protocolo (=dia da retirada da P4), com a função de indutor da ovulação. Por conseguinte, a DES injetada no dia da IATF, poderia segundo nossa hipótese, proporcionar ainda maior precisão nas horas e no percentual de animais com ovulações. De fato, no presente estudo os grupos tratados com DES (GDES e GDES6) evidenciaram maior eficiência na TP na IATF em números absolutos, quando confrontados com o GNDES, não se mostrando, contudo significativa ($P>0,05$) (Tab. 1). O GDES foi superior aos demais grupos na TP na IATF, mantendo a superioridade aos 60 dias e ao final da EM. As TP dos grupos na IATF resultaram em 40,6; 53,3 e 43,8 % respectivamente para GNDES, GDES e GDES6, com TP ao final da EM de 72,9; 81,7 e 70,2 %. Isto posto, observa-se um indicativo para o uso da DES como indutora da ovulação, em protocolos de IATF.

Na análise comparativa entre os grupos recebedores de DES, não detectou-se diferença nas TP entre o GDES (53,3%) e o GDES6 (43,8%) à IATF, ($P>0,05$). A priori o GDES6 poderia resultar em melhor TP que o GDES, pois a DES foi aplicada 6 horas antes, que seria consistente com os relatos de Kozicki et al.(11). A DES injetável foi utilizada por Kozicki et al.(11), os quais obtiveram 100,0 % de TO em vacas mestiças, dentro de 22,3 horas após a aplicação, significativamente mais precoce que o grupo não recebedor da DES (ovulação após 33,6 horas) naquele estudo. Hipoteticamente, a administração da DES seis horas antes da IATF poderia resultar em maior TP que a aplicação da DES no dia da IATF, o que na realidade não ocorreu. Contudo, deve-se salientar que Kozicki et al.(11) executaram estudos em vacas multíparas e mestiças (*Bos taurus/Bos indicus*), diferentemente das utilizadas no presente estudo, que foram unicamente primíparas *Bos indicus*, redundando por conseguinte em diferenças na TP entre os estudos. Na análise dos dados da variável dias abertos entre os grupos, observou-se moderado valor para o coeficiente de variação, porém não acreditamos que isso tenha influenciado os resultados.

Frares et al. (12) trabalhando com protocolo para IATF em búfalas de leite no anestro sazonal, compararam dois indutores da ovulação, a busarelina (GnRH) e a DES, aplicada intramuscularmente 24 horas antes da IATF, visando otimizar a TP. Os autores verificaram respectivamente para DES e busarelina, melhores TO (37,0 e 16,6%) e melhores TP (41,0 e 20,0%), em favor da DES. Bartolome et al. (25), utilizaram DES sob a forma de implante subcutâneo em vacas leiteiras no puerpério, e verificaram indução da ovulação, ao estimular o desenvolvimento de CL fisiológico. Ambrose et al. (23), verificaram que o implante de DES proporcionou 40,0% de TO (próxima da obtida no presente estudo) e 60,0% das vacas leiteiras falharam em ovular, aumentando contudo as TP em vacas com baixo ECC. Um implante subcutâneo com 700 mcg de DES aumentou a concentração de LH e de P4, prolongando porém a emergência do terceiro FD após sua retirada (24).

Aspecto ainda a ser considerado, refere-se à dose ideal a ser administrada em vacas de corte. No presente estudo foi injetado 1,0 mg de DES (IM) por animal, 6 horas antes ou no dia da IATF. Bartolome et al. (25), administraram doses de 750 e 1000 mg de DES (sob a forma de implante subcutâneo) em vacas, concluindo que houve redução das dimensões do maior folículo e até falhas nas ovulações dos folículos dominantes no dia 28 após o início do estudo. Estes autores afirmaram que a DES, induziu à ovulação, estimulou o desenvolvimento de um CL normal e prolongou o crescimento folicular no diestro subsequente. Face aos efeitos, tipo pulverizados (esparços), é oportuno comentar que as doses utilizadas no implante subcutâneo foram elevadas, abrindo a possibilidade de influenciar as ações da DES no eixo hipotálamo-hipófise-gônadas. Consideramos oportuna a sugestão de que em futuros estudos, a DES possa ser utilizada, ajustando-se porém a dose nos protocolos de IATF (25).

Visando impactar os melhores efeitos sobre a ovulação e aumento consequente da TP, parece-nos portanto, que a DES deva ser administrada 24 horas da IATF em vacas primíparas *Bos indicus*, mesmo nos protocolos com emprego de BE ou de CE. Recomenda-se outras pesquisas a respeito da DES injetável em protocolos de IATF, em função da escassez de dados que significativamente concedam suporte aos efeitos da DES em bovinos de corte. O presente estudo, reveste-se de caráter inovatório e inédito, uma vez que a DES foi administrada intramuscularmente, revelando-se uma substância indutora da ovulação nos protocolos de IATF, reiterando que novas pesquisas devam ser encetadas com esta droga.

Outro ponto relevante a ser considerado, refere-se ao uso da DES em vacas primíparas, as quais, destacam-se por apresentarem maiores dificuldades à ciclicidade fisiológica no puerpério (26). Muito embora o uso da DES no GDES e GDES6 não tenha resultado em diferença significativa sobre o GNDES, observou-se uma TP em 3,2 e 12,7 % respectivamente maior que a do grupo controle.

Adicionalmente, foram executadas análises estatísticas da possível influência do ECC com anestro sobre as TP na IATF, da TP dos touros, assim como a TP total, não se verificando diferenças, resultados estes não consistentes com os de Ferreira et al. (27), os quais trabalharam com animais cujo ECC foi nitidamente inferior ao do presente estudo. As não-diferenças na TP no presente estudo poderiam ser atribuídas a que os animais encontravam-se com ECC entre 2,7 a 4,0, diferentemente do ECC verificado nos animais estudados por Ferreira et al.(27). Adicionalmente, confrontou-se a condição de anestria nos animais versus TP na IATF, e TP dos touros, não se constatando diferenças.

CONCLUSÕES

O uso da DES como indutora da ovulação no dia da IATF ou 6 horas antes, mostrou melhoria na TP em números absolutos nos grupos tratados com a DES frente ao controle dadas as taxas de prenhez; as variáveis ECC, dias abertos e as condições de anestro ou ciclicidade verificadas não influenciaram as TP à IATF, aos 60 dias e ao final da EM.

REFERÊNCIAS

1. Lee MS, Rahman MS, Kwon WS, Chung HJ, Yang BS, Pang MG. Efficacy of four synchronization protocols on the estrus behavior and conception in native Korean cattle (Hanwoo). *Theriogenology*. 2013;80:855-61.
2. Chanvallon A, Coyral-Castel S, Gatien J, Lamy JM, Ribaud D, Allain C, et al. Comparison of three devices for the automated detection of estrus in dairy cows. *Theriogenology*. 2014;82:734-41.
3. Lane EA, Austin EJ, Crowe MA. Oestrous synchronization in cattle – Current options following the EU regulations restricting use of oestrogenic compounds in food-producing animals: a review. *Anim Reprod Sci*. 2008;109:1-16.
4. Johnson, SK. Possibilities with today's reproductive technologies. *Theriogenology*. 2005;64:639-56.
5. Baruselli PS, Reis EL, Marques MO, Nasser LF, Bo GA. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. *Anim Reprod Sci*. 2004;82-83:479-86.
6. Butler SAA, Phillips NJ, Boe-Hansen GB, Bo GA, Burns BM. Ovarian responses in *Bos indicus* heifers treated to synchronize ovulation with intravaginal progesterone releasing devices, estradiol benzoate, prostaglandin F_{2α} and equine chorionic gonadotrophin. *Anim Reprod Sci*. 2011;129:118-26.
7. Souza ALB, Kozicki LE, Pereira JFS, Segui MS, Weiss RR, Bertol MAF. Eficiência da gonadotrofina coriônica equina (eCG) e do desmame temporário (DT) em protocolos para a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) em vacas Nelore, previamente tratadas com progesterona (P4) e Benzoato de Estradiol (BE). *Arch Vet Sci*. 2015;20:22-9.
8. Sá Filho OG, Meneghetti M, Peres RFG, Lamb GC, Vasconcelos JLM. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows II: strategies and factors affecting fertility. *Theriogenology*. 2009;72:210-8.
9. Sá Filho MF, Ayres H, Ferreira RM, Marques MO, Reis EL, Silva ECP, et al. Equine chorionic gonadotropin and gonadotropin-releasing hormone enhance fertility in a norgestomet-based, timed artificial insemination protocol in suckled Nelore (*Bos indicus*). Cows. *Theriogenology*. 2010;73:651-8.
10. Macmillan KL, Burke CR. Effects of estrus cycle control on reproductive efficiency. *Anim Reprod Sci*. 1996;42:307-20.
11. Kozicki LE, Lopes HB, Feroldi TM, Cordeiro CG, Foltran GB, Segui MS, et al. Deslorelin as inductor of ovulation in *bos taurus* x *bos indicus* after previous exposure to intravaginal progesterone. *Acad J Agric Res*. 2013;1:36-8.

12. Frares LF, Weiss RR, Kozicki LE, Santangelo RP, Abreu RA, Santos IW, et al. Estrus synchronization and Fixed Time Artificial Insemination (FTAI) in dairy buffaloes during seasonal anestrus. *Braz Arch Biol Technol.* 2013;56:575-80.
13. Padula AM, Macmillan KL. Reproductive responses of early postpartum dairy cattle to continuous treatment with a GnRH agonist (deslorelin) for 28 days to delay the resumption of ovulation. *Anim Reprod Sci.* 2002;70:23-36.
14. Öztürk OA, Cirit Ü, Baran AK. Is Doublesynch protocol a new alternative for timed artificial insemination in anestrus dairy cows. *Theriogenology.* 2010;73:568-76.
15. Lowman BG, Scott N, Somerville S. Condition scoring beef cattle. Edingburgh: East of Scotland College of Agriculture; 1976. (Bulletin 6).
16. Ginther OJ, Wiltbank MC, Fricke PM, Gibbison JR, Kot K. Selection of the dominant follicle in cattle. *Biol Reprod.* 1996;55:1187-94.
17. Pursley JR, Mee MO, Wiltbank MC. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2alpha and GnRH. *Theriogenology.* 1995;44:915-23.
18. Gaievski FR, Lamb GC, Weiss RR, Bertol MAF, Segui MS, Abreu ACMR, et al. Gonadotropin releasing hormone (GnRH) and equine chorionic gonadotropin (ECG) improve the pregnancy rate on protocols for timed-artificial insemination in beef cattle. *Vet Zootec.* 2015;22:471-80.
19. Sá Filho OG, Vasconcelos JLM. Treatments to optimize the use of artificial insemination and reproductive efficiency in beef Cattle under tropical environments. *Vet Med Int.* 2011:1-10.
20. Wiltbank MC, Pursley JR. The cow as an induced ovulator: timed AI after synchronization of ovulation. *Theriogenology.* 2014;81:170-85.
21. Demeterco D, Henry DD, Mercadante VRG, Lamb GC, Gaievsi FR, Weiss B, et al. The effects of intramuscular or intravenous injections of gonadotropin releasing hormone at fixed-time artificial insemination on pregnancy rates of *Bos indicus* beef cows. *Braz Arch Biol Technol.* 2014;57:361-6.
22. Barreiros TRR, Blaschi W, Santos GMG, Morotti F, Andrade ER, Baruselli PS, Seneda MM. Dynamics of follicular growth and progesterone concentrations in cyclic and anestrus suckling Nelore cows (*Bos indicus*) treated with progesterone, equine chorionic gonadotropin, or temporary calf removal. *Theriogenology.* 2014;81:651-6.
23. Ambrose JD, Pires MFA, Moreira F, Diaz T, Binelli M, Thatcher WW. Influence of deslorelin (GnRH-Agonist) implant on plasma progesterone, first wave dominant follicle and pregnancy in dairy cattle. *Theriogenology.* 1998;50:1157-70.
24. Rajamahendran R, Ambrose JD, Schmitt EJP, Thatcher MJ, Thatcher WW. Effects of buserelin injection and deslorelin (GnRH-Agonist) implants on plasma progesterone, LH, accessory CL formation, Follicle and corpus luteum dynamics in Holstein cows *Theriogenology.* 1998;50:1141-55.

25. Bartolome JA, Santos JEP, Pancarci SM, Melendez P, Arteche ACM, Hernandez O, et al. Induction of ovulation in nonlactating dairy cows and heifers using different doses of a deslorelin implant. *Theriogenology*. 2004;61:407-19.
26. Mossman DH, Hanly GJ. A theory of beef production. *N Z Vet J*. 1977;25:96-100.
27. Ferreira MCN, Miranda R, Figueiredo MA, Costa OM, Palhano HB. Impacto da condição corporal sobre a taxa de prenhez de vacas da raça nelore sob regime de pasto em programa de inseminação artificial em tempo fixo (IATF). *Semina Cienc Agrar*. 2013;34:1861-8.

Recebido em: 31/03/2016

Aceito em: 15/01/2017