

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA**

Manipulação do ciclo estral de fêmeas bovinas

Autora: Vanessa Silva Fernandes

PORTO ALEGRE

2022/2

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA**

Manipulação do ciclo estral de fêmeas bovinas

Autora: Vanessa Silva Fernandes

**Trabalho apresentado à Faculdade de
Veterinária como requisito parcial
para a obtenção da graduação em
Medicina Veterinária**

**Orientador: Dr. André Gustavo
Cabrera Dalto
Coorientadora: M.V. Msc. Gabriella
dos Santos Velho**

PORTO ALEGRE

2022/2

FOLHA DE APROVAÇÃO

Vanessa Silva Fernandes

MANIPULAÇÃO DO CICLO ESTRAL DE FÊMEAS BOVINAS

Aprovado em 06 ABR 2023

APROVADO POR:

Prof. Dr. André Gustavo Cabrera Dalto

Orientador e Presidente da Comissão

Prof. Dr. Fernando Caetano de Oliveira

Membro da Comissão

Prof^a. Dra. Fabiane Pereira de Moraes

Membro da Comissão

AGRADECIMENTOS

Esse trabalho vai para as múltiplas pessoas que já me viram chorar e surtar. Agradeço primeiro aos meus pais, Tânia e Nestor, que sempre com muita paciência e compreensão me apoiaram em qualquer empreitada, por mais louca que fosse. Às minhas irmãs, Cecília e Eduarda, que foram essenciais para desenvolver a minha paciência, por menor que ela seja, me ajudou durante a faculdade. Aos meus tios, Julio e Luiz, sem vocês eu não teria feito o vestibular da UFRGS e muito menos teria uma casa para morar em Porto Alegre. Aos meus avós, Dolina, Solange, Odacílio e Heitor, levo sempre um pedacinho de vocês comigo.

Não posso esquecer dos presentes que a vida me deu. À Marília e a Yasmin, que sempre tiveram tempo para me ouvir, em qualquer momento, qualquer lugar. À Nati que o momento no qual mais estivemos longe uma da outra foi quando mais nos aproximamos. Aos estagiários mais que especiais do Setor de Grandes Ruminantes, e em particular à Kelly, sempre pronta pra me mandar parar de ser negativista e pra me lembrar de tomar água.

Por fim, mas não menos importante, aos meus orientadores (sim, os três mesmo!): André, Monique e Gabriella. Tive muita sorte de encontrar vocês, que nunca mediram esforços para me ajudar, ensinar, aconselhar e ouvir. Sendo presencial, online, mensagem, áudio ou sinal de fumaça. Espero me tornar uma profissional que vocês tenham orgulho de dizer que fui orientada por vocês.

RESUMO

A inseminação artificial (IA) promove a evolução genética, e com aumento do rebanho bovino brasileiro houve a necessidade de buscar o aprimoramento de programas de IA foram visando aumentar o controle do ciclo estral das fêmeas bovinas. Os protocolos mais utilizados no gado de corte no Brasil são baseados em progesterona e estradiol, com o uso do cipionato de estradiol como indutor da ovulação. A partir disso, para aumentar a fertilidade das fêmeas submetidas a protocolos de IA em tempo fixo (IATF), buscou-se estudar da associação do GnRH como indutor de ovulação. Portanto, o objetivo desta revisão bibliográfica foi fazer um levantamento de assuntos pertinentes a estratégias de controle do ciclo estral, servindo de base para dois estudos experimentais. E a partir disso, foi avaliar em um experimento o o efeito do tratamento com GnRH no momento da IATF em vacas que não manifestaram estro (Grupo Controle) ou em todos os animais independente do estro (Grupo GnRH). Na primeira parte do buscou-se determinar a influência do GnRH sobre a o desenvolvimento folicular, taxa de ovulação e função luteal. O momento e taxa de ovulação não diferiram entre os grupos, e não foi observada diferença na área, diâmetro e circunferência do corpo lúteo (CL), indicando que não há modulação da função luteal. A partir desses resultados, buscou-se explicar qual o efeito do GnRH sobre a taxa de concepção (P/IA). Não foi observada diferença na P/IA entre grupos, portanto são obtidas mesmas taxas de P/IA utilizando GnRH em todos os animais submetidos ao protocolo de IATF ou somente naqueles não identificados em estro, sem prejuízo na taxa de ovulação e função luteal.

Palavras-chave: ciclo estral, estro, folículos, vacas de corte, GnRH

ABSTRACT

Artificial insemination (AI) promotes the genetic evolution of the herd, and with the increase in the Brazilian cattle herd, there was a need to seek the improvement of AI programs aiming to increase the control of the estrous cycle of bovine females. The protocols most used in beef cattle in Brazil are based on progesterone and estradiol, with the use of estradiol cypionate as an ovulation inducer. Therefore, to increase the fertility of females submitted to fixed-time AI protocols (FTAI), we aimed to study the association of GnRH as an ovulation inducer. The objective of this bibliographical review was to make a survey of subjects related to estrous cycle control strategies, being the basis for two experimental studies. The aim of the study was to evaluate the effect of GnRH treatment at the time of FTAI in cows that did not show estrus (Control Group) or in all animals regardless of estrus (GnRH Group). In the first experiment, we sought to determine the influence of GnRH on follicular development, ovulation rate and luteal function. The time and rate of ovulation did not differ between groups, and no difference was observed in the area, diameter and circumference of the corpus luteum (CL), indicating that there was no modulation of luteal function. And the second experiment aimed to evaluate the conception rate (P/IA). No difference was observed in P/AI between groups, therefore, the same P/AI rates are obtained using GnRH in all animals submitted to the FTAI protocol or only in those not identified in estrus, without impairing the ovulation rate and luteal function.

Keywords: estrous cycle, estrus, follicles, beef cows, GnRH

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** – Fases do ciclo estral da fêmea bovina, momento da ovulação e alterações das concentrações de progesterona (P4) e estradiol (E2). 9
- Figura 2** – Desenvolvimento folicular de uma fêmea bovina com três ondas foliculares ao longo do ciclo estral. 10
- Figura 3** - Efeito da aplicação única de prostaglandina F2 alfa (PGF) em relação ao momento do ciclo, e à presença ou não de folículo dominante (FD). 13

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	8
1 REVISÃO DE LITERATURA	9
1.1. Aspectos gerais do ciclo estral da fêmea bovina	9
1.2. Uso de hormônios para a manipulação do ciclo estral.....	12
1.2.1. Prostaglandina.....	12
1.2.2. Hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH).....	14
1.2.3. Progesterona.....	15
1.1.1. Ésteres de estradiol: benzoato (BE) e cipionato (CE) de estradiol	16
1.1.2. Gonadotrofina coriônica equina (eCG).....	16
1.2. Relação entre CL e produção de progesterona	17
REFERÊNCIAS	19
2 MANUSCRITO	23
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS	39

INTRODUÇÃO

O rebanho bovino brasileiro cresce a cada ano, tanto para suprir a demanda por carne bovina do mercado externo quanto interno. Cerca de 25,5% da produção é exportada, ou seja, 2,4 milhões toneladas carcaça equivalente, e 74,5% representam a quantidade da produção que fica para o mercado interno (ABIEC, 2022). Portanto, para suprir a demanda do mercado consumidor é necessário buscar a melhoria da eficiência produtiva na bovinocultura, o que pode ser atingido através da inseminação artificial (IA), que permite a produção de uma maior quantidade e qualidade de bezerros, disseminação de genética e diminuição da transmissão de doenças (BARUSELLI *et al.*, 2018).

Programas de IA foram desenvolvidos e aprimorados para buscar o maior controle do ciclo estral das fêmeas bovinas. O uso de protocolos que controlam a onda folicular, desenvolvimento e ovulação do folículo dominante oferecem a vantagem de inseminar um grande número de fêmeas sem a necessidade de detecção de estro. Essa estratégia facilita o trabalho dentro da fazenda, além de ser uma ferramenta interessante para aumentar a taxa de concepção (BÓ; BARUSELLI; MAPLETOFT, 2013).

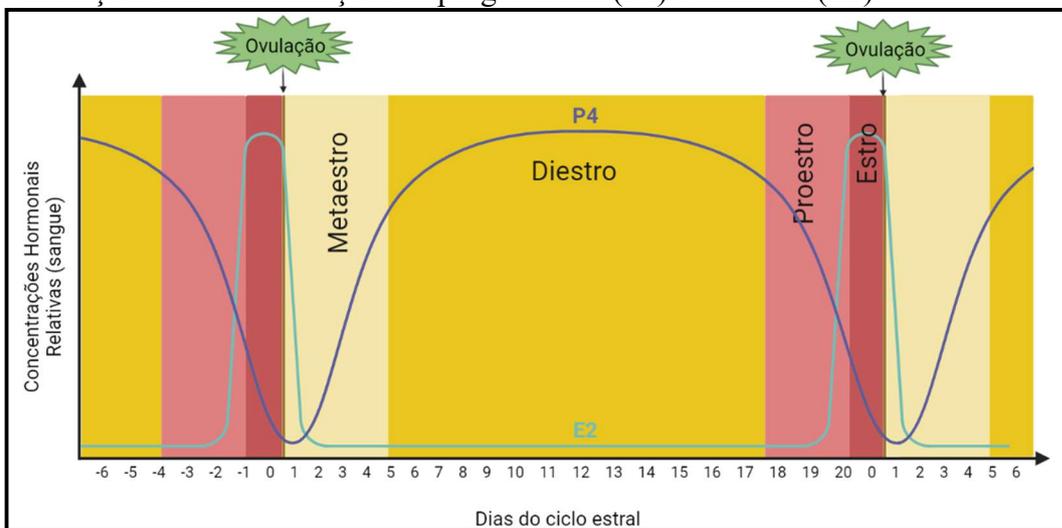
Tem-se discutido estratégias para melhorar a fertilidade das fêmeas submetidas a protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) e, de forma mais recente, estudos exploram o uso do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) como aliado para buscar incremento na fertilidade do rebanho (MADUREIRA *et al.*, 2020; PRATA *et al.*, 2020; CEDEÑO *et al.*, 2021; BARBOSA *et al.*, 2022). Portanto, o objetivo da presente revisão bibliográfica foi fazer um levantamento de assuntos pertinentes ao crescimento folicular, opções disponíveis para manipulação do ciclo estral de fêmeas bovinas e aspectos gerais da funcionalidade do corpo lúteo bovino. Essa revisão serve de base para a realização do manuscrito intitulado “GnRH concomitante à inseminação artificial em tempo fixo em vacas taurinas e sintéticas”.

1 REVISÃO DE LITERATURA

1.1. Aspectos gerais do ciclo estral da fêmea bovina

Fêmeas bovinas são poliéstricas não estacionais, ou seja, têm uma distribuição de ciclos estrais durante o ano em intervalos de 21 dias em média (Figura 1). O ciclo é dividido em duas fases: lútea (dia 1 até o 18 do ciclo) e folicular (do dia 19 até a ocorrência do estro), sendo que varia de acordo com o número de ondas foliculares que a fêmea apresenta (YOUNGQUIST; THRELFALL, 2007). Na fase lútea, a principal estrutura do ovário é o corpo lúteo (CL) e o hormônio predominante é a progesterona (P4), compreendendo o metaestro e o diestro. Na fase folicular é quando ocorre o desenvolvimento do folículo dominante (FD) e a lise do CL. Na fase folicular, as principais estruturas do ovário são os folículos em desenvolvimento e o FD, sendo que o hormônio predominante é o estradiol (E2) e compreende o proestro e o estro (SENGER, 2003).

Figura 1 – Fases do ciclo estral da fêmea bovina, momento da ovulação e alterações das concentrações de progesterona (P4) e estradiol (E2).



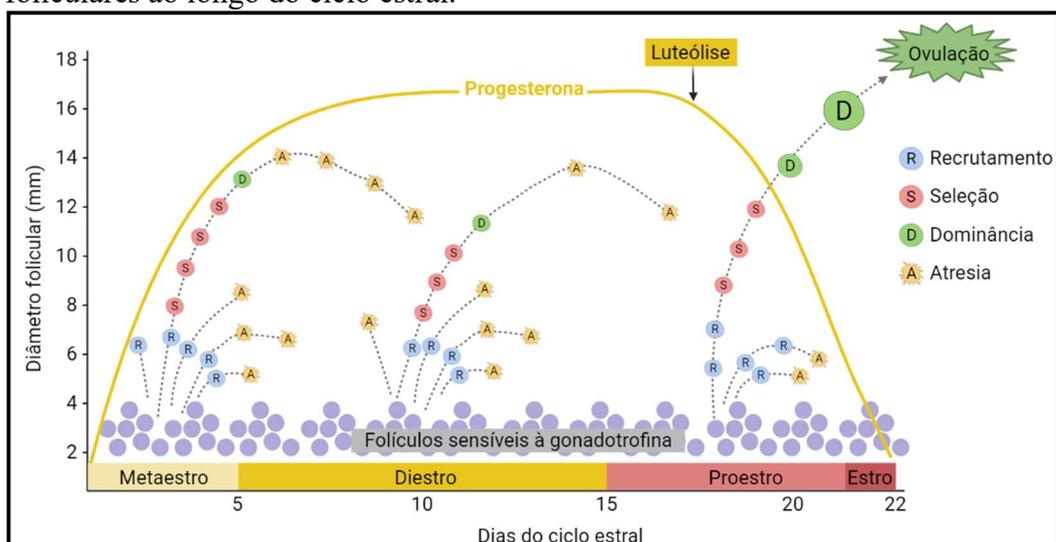
FONTE: adaptado de SENGER, 2003.

O estro, que dura em média 15 horas e marca o dia 0 do ciclo, é o momento que o E2 produzido pelo FD tem sua maior concentração, o que reflete na receptividade da fêmea ao macho. Além disso, a P4 tem sua menor concentração (<1ng/mL) durante o ciclo estral devido à luteólise do CL. Isso, somado ao alto nível de E2, estimula o hipotálamo a liberar uma grande quantidade de GnRH, o que leva a um pico de hormônio luteinizante (LH), em média 28h antes da ovulação

(GORDON, 2002). No metaestro ocorre a maturação final e a ovulação do FD, o CL começa o seu processo de maturação e passa a secretar P4 de forma crescente. O diestro começa quando o CL se torna totalmente funcional (SENGER, 2003) e se encerra quando começa a luteólise, com a secreção de prostaglandina F2 α (PGF), o que leva a uma diminuição rápida de P4 a níveis basais em um período de 6 a 10 horas (GORDON, 2002). Após a fase luteal, inicia-se o proestro, quando ocorre rapidamente a seleção e crescimento de um novo folículo dominante reiniciando-se o ciclo (SENGER, 2003).

As fêmeas bovinas podem ter de duas a quatro ondas foliculares por ciclo estral (Figura 2). Contudo, na fase lútea, a alta quantidade de P4 presente não permite o crescimento de um FD, fazendo com que o mesmo entre em atresia, que leva ao surgimento de uma nova onda folicular (GORDON, 2002; YOUNGQUIST; THRELFALL, 2007). Atresia é definida pelo processo de degeneração no qual ocorre o desaparecimento da cavidade de um folículo antral, podendo ser de diversos diâmetros, e ocorre de forma contínua durante a foliculogênese. O processo de crescimento folicular e degeneração é denominado de dinâmica folicular (SENGER, 2003).

Figura 2 – Desenvolvimento folicular de uma fêmea bovina com três ondas foliculares ao longo do ciclo estral.



FONTE: adaptado de SENGER, 2003.

Cada onda folicular é precedida por um pico de FSH e, durante o aumento de FSH, novos folículos são recrutados, a seleção do FD coincide com o decréscimo

do FSH (ADAMS, 1999; GORDON, 2002). A concentração de FSH permanece em níveis basais até que ocorra outro pico de FSH, marcando o início da próxima onda folicular (GORDON, 2002).

Conforme acontece o recrutamento folicular, baixas concentrações de E2 e inibina são produzidas e aumentam com o passar do tempo, o que causa um *feedback* negativo à síntese e liberação de FSH no lobo anterior da hipófise. Com a diminuição do FSH, o LH se torna imprescindível para que o folículo continue a se desenvolver (SENGER, 2003). Quando se evita o declínio do FSH através da administração de FSH exógeno, o crescimento do FD sofre atraso e prolonga-se o crescimento dos FS. Ou seja, o diâmetro máximo do FD e a atresia dos FS acontece mais tarde, o que comprova que o decréscimo do FSH tem um papel importante no estabelecimento da dominância de um folículo (ADAMS *et al.*, 1992).

A seleção do folículo dominante está associada a um desvio na taxa de crescimento entre o folículo dominante (8,5 mm de diâmetro) e o maior subordinado, um evento denominado divergência folicular. A divergência folicular está relacionada principalmente à expressão de receptores de LH nas células da granulosa, aumento do estradiol circulante, aumento de IGF-1 (Fator de crescimento semelhante a insulina tipo 1) livre e diminuição no FSH plasmático (GINTHER *et al.*, 1996; MIHM *et al.*, 2006).

O padrão de desenvolvimento folicular varia entre fêmeas *Bos taurus* e *Bos indicus*. Por exemplo, fêmeas da raça Brahman (*Bos indicus*) possuem o desenvolvimento folicular iniciando na emergência de folículos de 3-5 mm e se desenvolvendo até 6-7 mm de diâmetro, ao longo de 2 a 4 ondas (RHODES; DE'ATH; ENTWISTLE, 1995). Um padrão de 2 a 3 ondas foliculares foi descrito em fêmeas da raça Nelore (*Bos indicus*), com a divergência ocorrendo em folículos com 6mm de diâmetro (SARTORELLI *et al.*, 2005), e diâmetro do folículo pré-ovulatório, 11 mm, tanto para vacas quanto para novilhas (FIGUEIREDO *et al.*, 1997). Além disso, em novilhas da raça Nelore, a divergência folicular se dá 2,8 dias após a ovulação, com diâmetro do folículo de 5,7 mm; em vacas, inicia 2,4 dias após a ovulação com diâmetro de 6,1 mm (SARTORELLI *et al.*, 2005).

Já em fêmeas da raça Holandês (*Bos taurus*), a divergência é observada quando o diâmetro folicular atinge 8,5 mm (2,8 dias após a emergência folicular), e os outros FS apresentam um tamanho de 7,2 mm (GINTHER *et al.*, 1996). O mais comum é que apresentem ciclos de 3 ondas foliculares (SIROIS; FORTUNE, 1988).

Além disso, mostram-se responsivas ao estímulo com alta dose de LH para induzir a ovulação apenas quando têm folículos de no mínimo 10 mm (SARTORI *et al.*, 2001), sendo que o maior tamanho do FD resultante de qualquer uma das três ondas de crescimento pode chegar a 12,3 mm (SIROIS; FORTUNE, 1988). O diâmetro de 8,5 mm no momento da divergência (5 dias após a ovulação) se repete em vacas da raça Hereford (*Bos taurus*), com ciclo de 2 a 3 ondas foliculares (JAISWAL; SINGH; ADAMS, 2004). Murphy, Boland e Roche (1990) avaliaram vacas de corte *Bos taurus* a partir do quinto dia pós-parto até a primeira ovulação pós-parto, e observaram que houve o desenvolvimento folicular e até mesmo de um FD, contudo não houve a ovulação. Concluíram que o tempo entre parto e o primeiro estro está relacionado com a ovulação do FD, não necessariamente com a ausência do desenvolvimento de FD.

1.2. Uso de hormônios para a manipulação do ciclo estral

É possível controlar o ciclo estral através do prolongamento ou encurtamento da fase lútea (GORDON, 2002). O controle exógeno da função luteal e folicular facilita a aplicação de biotecnologias para aumentar a eficiência reprodutiva ao eliminar a detecção de estro (BÓ *et al.*, 2001).

Protocolos para controle do ciclo estral podem se basear em três finalidades: sincronização das ondas foliculares, redução da fase lútea através da utilização de agentes luteolíticos (PGF) e a simulação de um CL através do uso de P4 (BALL; PETERS, 2007; GORDON, 2002).

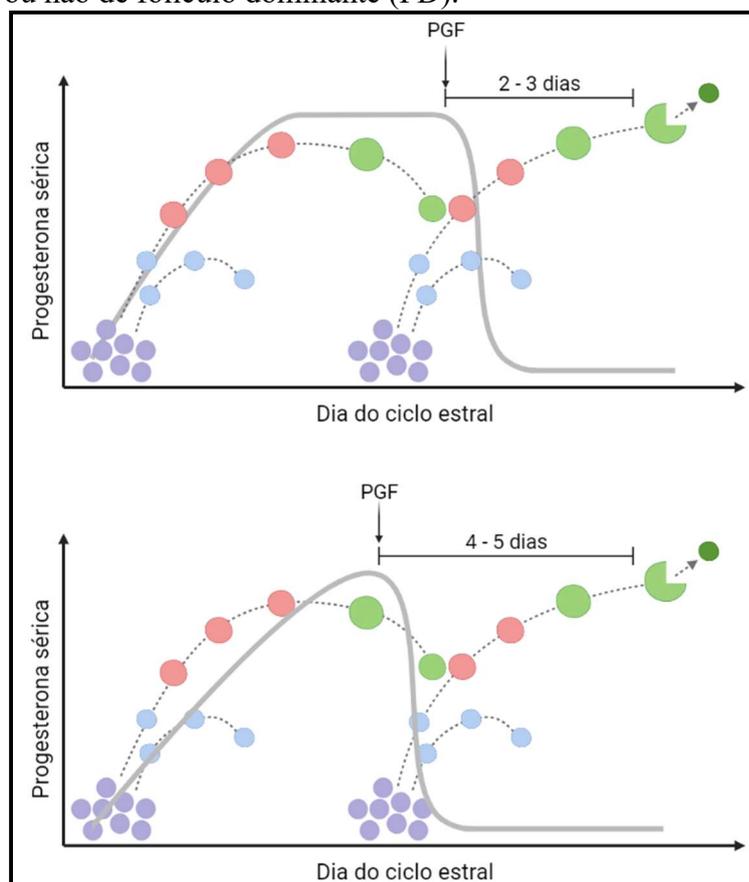
1.2.1. Prostaglandina

A aplicação de PGF e seus análogos é utilizada para reduzir a duração do ciclo estral através da luteólise (ROCHE, 1974); dessa forma, deve apenas ser utilizada em vacas cíclicas (YOUNGQUIST; THRELFALL, 2007). Quando feita no meio da fase lútea, causa a queda da P4, chegando a níveis basais no sangue em torno do 30 horas após. Contudo, o momento da ovulação é incerto e depende do estágio de desenvolvimento folicular FD (BALL; PETERS, 2007) (Figura 3). Além

disso, é necessário que as células luteais tenham receptores de PGF (YOUNGQUIST; THRELFALL, 2007).

Fêmeas com um folículo que já atingiu a dominância no momento da aplicação de PGF apresentam estro dentro de 2-3 dias em média, enquanto que aquelas com folículos em pré-dominância demoram de 3-4 dias até o estro (KASTELIC; KNOF; GINTHER, 1990; PTASZYNSKA, 2013) (Figura 3). Isso ocorre porque a presença da P4 impede que o FD termine seu crescimento e ovule. Portanto, quando a PGF é administrada no momento que o folículo já entrou em atresia, é necessário que ocorra o desenvolvimento de um novo FD, retardando a ovulação (BALL; PETERS, 2007).

Figura 3 - Efeito da aplicação única de prostaglandina F2 alfa (PGF) em relação ao momento do ciclo, e à presença ou não de folículo dominante (FD).



FONTE: adaptado de PTASZYNSKA, 2013.

A aplicação de duas doses de PGF pode ser utilizada quando não se sabe o *status* dos ovários, sendo que alguns animais estarão responsivos (entre os dias 6 e 16 do ciclo) no momento da primeira aplicação. Na segunda aplicação, 11 dias depois, as vacas que tinham CL na primeira aplicação estarão por volta do dia 8 do

ciclo e as não responsivas estarão entre os dias 8 e 15 do ciclo (BALL; PETERS, 2007). Roche (1974) mostrou que a fertilidade de fêmeas sincronizadas com PGF e depois inseminadas é equivalente às fêmeas que apresentaram estro natural, que resultou em P/IA de 70% e 73% respectivamente.

1.2.2. Hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH)

Análogos do GnRH são utilizados como indutores da ovulação, ligando-se a receptores na hipófise e estimulando a produção de gonadotrofinas (LH e FSH). A dose única de GnRH em vacas em diferentes estágios do ciclo estral leva à liberação de LH, causando a sincronização da ovulação ou luteinização da maioria dos folículos dominantes (YOUNGQUIST; THRELFALL, 2007).

O GnRH foi utilizado em um dos primeiros protocolos de sincronização do ciclo estral de fêmeas bovinas (Ovsynch), sendo utilizado em conjunto com PGF, uma forma de potencializar o efeito do GnRH. A primeira dose de GnRH é utilizada para ovular um possível FD e iniciar uma nova onda folicular, ou ainda prolongar a viabilidade de um CL, para que ele seja responsivo à PGF, que será administrada 7 dias depois. A segunda aplicação de GnRH, dia 9-10, é utilizada para concentrar a ovulação, induzindo uma elevação do LH, para então realizar a inseminação (BALL; PETERS, 2007).

Quando foi comparada a administração de três análogos do GnRH (gonadorelina, lecirelina e buseralina) em vacas da raça Holandês nos dias 6 a 7 do ciclo estral, mostrou-se que o pico de LH ocorre 1h após a aplicação da gonadorelina, e 2h após aplicação da lecirelina e buseralina. No mesmo estudo, a ovulação (independente do produto administrado) ocorreu entre 23h e 54h após a aplicação para 85% dos FD presentes. Sendo que o percentual de folículos que foram ovulados ou luteinizados foi de 72,7%, 81,8%, 100% e 100%, para 100µg de gonadorelina, 25µg de lecirelina, 50µg de lecirelina e 10µg de buseralina, respectivamente. (PICERD-HAGEN, 2015) Em comparação à utilização do GnRH (cistorelina) em protocolo de sincronização da ovulação baseado em PGF e duas doses de GnRH, mostrou-se que as vacas ovularam de 24h a 32h após a aplicação de GnRH (PURSLEY; MEE; WILTBANK, 1995).

Atkins *et al.*, (2008) demonstraram que vacas em diferentes momentos do ciclo estral apresentaram um aumento na concentração sérica de E2 e LH liberado

em resposta à aplicação de GnRH (gonadorelina). O mesmo acontece quando é realizada a aplicação de 200 µg de GnRH em fêmeas pré-púberes, em que ocorre o aumento significativo do LH dentro de 20 min até 4 h após a aplicação (BARNES *et al.*, 1980).

Além disso, ao comparar o efeito da indução da ovulação, Nogueira *et al.*, (2017) concluíram que fêmeas zebuínas (*Bos indicus*) são menos responsivas ao GnRH que taurinas (*Bos taurus*) para promover um pico de LH. Além disso, o nível de P4 sérica exerce uma grande influência na amplitude do pico de LH, sendo que fêmeas zebuínas possuíram maior quantidade de P4 circulante em comparação com taurinas.

1.2.3. Progesterona

O uso de dispositivos intravaginais de P4 (DIV) melhora a sincronização se comparado ao uso da PGF (YOUNGQUIST; THRELFALL, 2007). Ao utilizar a P4, simula-se a presença de um CL, causando a supressão do GnRH endógeno, portanto diminuindo a secreção de gonadotrofinas (FSH e LH) e por consequência o desenvolvimento final do FD. Para que ocorra a sincronização da ovulação com apenas P4, as fêmeas devem ficar com fonte exógena de P4 durante o mesmo período que o CL fica viável, ou seja, em torno de 16 dias (BALL; PETERS, 2007). Contudo, se uma baixa concentração de P4 for mantida por um período prolongado, ocorrerá a manutenção da dominância do FD, o que pode comprometer a fertilidade do oócito, resultando em menores taxas de prenhez (GORDON, 2002).

Monteiro *et al.* (2015) avaliaram a influência da suplementação de P4 exógena após a ovulação sobre a fertilidade de vacas da raça Holandês submetidas a protocolo de IATF, e mostraram que não houve influência da suplementação de P4 em relação às vacas que não receberam P4. Contudo, quando feita a mesma avaliação em vacas que seriam submetidas à transferência de embrião, mostrou-se que houve comprometimento na prenhez. Em contraste, o tratamento estendido de P4 em vacas com baixo escore de condição corporal em associação com eCG promoveu o maior crescimento do FD e melhorou em 14,7% P/IA (BILBAO *et al.*, 2016). Além disso, a P4 também é utilizada na indução de ciclicidade em fêmeas pré-púberes, sendo feita através do uso de DIV de P4 por 12 dias e após a remoção, o estro ocorre dentro de dois a três dias. No entanto, para obter sucesso na técnica

é necessário que as fêmeas estejam com peso corporal adequado, de 55% (TAYLOR; FITZHUGH JR, 1971) a 65% (FUNSTON; DEUTSCHER, 2004) do peso adulto, no início do tratamento (RODRIGUES *et al.*, 2013).

1.1.1. Ésteres de estradiol: benzoato (BE) e cipionato (CE) de estradiol

O uso de ésteres de estradiol em protocolos de inseminação tem três objetivos principais: provocar a atresia do FD e causar o surgimento de uma nova onda folicular, quando usado em conjunto com P4; e induzir a ovulação do FD (PTASZYNSKA, 2013). Por exemplo, a aplicação de BE no início do crescimento folicular (3 dias após a ovulação) causa a antecipação de emergência de uma nova onda folicular, enquanto que se houver a aplicação 6 dias após a ovulação, causa o atraso da nova onda folicular, e a aplicação na presença de um FD causa a sua atresia (BO *et al.*, 1994).

A principal diferença entre os ésteres de estradiol é que BE tem uma meia-vida mais curta do que o CE, induzindo a ovulação mais precocemente. O BE provoca o pico de LH em torno de 20 h após a aplicação, com maior amplitude e menor duração, enquanto que o CE causa o pico em torno de 50 h depois da aplicação, com menor amplitude e maior duração (SALES *et al.*, 2012). Dessa forma, em protocolos de sincronização, deve-se aplicar o BE 24h depois da remoção do DIV, sem haver prejuízos na fertilidade. Além disso, o CE dispersa as ovulações de vacas taurinas entre 48h e 96h após a aplicação (SOUZA *et al.*, 2009), em comparação com vacas zebuínas que tiveram as ovulações distribuídas entre 42h e 102h (BARBOSA *et al.*, 2022). Isso evidencia a necessidade de utilizar um método adicional de detecção de estro. Apesar disso, obtém-se resultados de prenhez similares quando usado BE ou CE (SALES *et al.*, 2012).

1.1.2. Gonadotrofina coriônica equina (eCG)

O uso do eCG 48h antes da IA é associado ao aumento do diâmetro do FD, aumento da taxa de ovulação e aumento da concentração de P4 na fase luteal seguinte (SÁ FILHO *et al.*, 2010). Novilhas *Bos taurus* que recebem a aplicação de eCG, entre o dia 10 e 15 do ciclo estral (metaestro), têm maior número de folículos com pelo menos 5 mm de diâmetro e aumento do E2 sérico, além disso, o eCG prolongou a duração do ciclo estral das fêmeas tratadas (FORD; STORMSHAK,

1978). Em protocolos de IATF, não foi observado efeito no diâmetro folicular quando aplicado 48h após a remoção do DIV (SOUZA *et al.*, 2009). Contudo, já foi descrito que altas doses de eCG têm efeito contrário na ovulação, levando à emergência de uma nova onda folicular, podendo ainda ter efeito luteolítico similar à PGF (PTASZYNSKA, 2013).

Núñez-Oliveira *et al.* (2014) mostrou que a aplicação do eCG em vacas de corte em anestro na remoção do DIV (protocolo de sincronização à base de progesterona e estradiol) causou o aumento de 5,9% na P/IA em relação ao grupo controle. Além disso, o tratamento com eCG no dia da remoção do DIV e 14 dias depois da IA levou à formação de um CL maior e maiores concentrações de P4, além de levar a maiores P/IA (aumento de 13,8% em relação ao grupo controle). O mesmo efeito é observado em vacas com baixo escore de condição corporal (ECC) (SALES *et al.*, 2012).

1.2. Relação entre CL e produção de progesterona

Durante o processo da ovulação, ocorre a ruptura de pequenos vasos sanguíneos, levando a uma hemorragia local. As células que envolviam o folículo ovulatório (teca interna e granulosa) começam a mesclar-se e se transformar em tecido lúteo. Isso é chamado de processo de luteinização, sendo mediado pelo LH. As células luteais grandes, derivadas das células da granulosa, apresentam grânulos de ocitocina durante o ciclo estral, sendo que durante a gestação, acredita-se que passem a ser grânulos de relaxina (SENGER, 2003). Já as células luteais pequenas, derivadas das células da teca, têm vários grânulos lipídicos. Os dois tipos celulares têm a capacidade de produzir P4, sendo que para a sua produção é necessária a presença de colesterol. O vigor do CL em formação, ou seja, a capacidade de produção de P4 será determinada pelo número de células lúteas e o grau de vascularização (YOUNGQUIST; THRELFALL, 2007).

Acosta *et al.* (2003) demonstraram que em vacas lactantes da raça Holandês, com ovulação induzida por GnRH, que o E2 plasmático e a concentração de LH, após a administração, aumentaram e atingiram um pico 2h depois. Esse pico foi maior se comparado a vacas que tiveram a ovulação espontânea. Contudo, a duração desse pico foi menor nas vacas induzidas (6h) que nas demais (12h). O aumento do E2 é importante, já que apresenta relação com o aumento da vascularização do

foliculo pré-ovulatório, que reflete na vascularização do CL. Além disso, foi constatado que, conforme o volume do CL aumenta, também aumenta a produção de P4. Adicionalmente, o diâmetro do CL também tem relação com a produção de P4, sendo que fêmeas com maior diâmetro do CL 5 dias após a IA têm maior probabilidade de manter uma gestação (VELHO *et al.*, 2021). Portanto, uma das formas de avaliar a funcionalidade do CL é a mensuração do nível de vascularização do CL, assim como os níveis sanguíneos de P4.

REFERÊNCIAS

- ABIEC, Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes. **Beef Report- Perfil da Pecuária no Brasil**. 2022. Disponível em: <https://www.abiec.com.br/publicacoes/beef-report-2022/#>.
- ACOSTA, T. J.; HAYASHI, K. G.; OHTANI, M.; MIYAMOTO, A. Local changes in blood flow within the preovulatory follicle wall and early corpus luteum in cows. **Society for Reproduction and Fertility**, [S. l.], v. 125, p. 759–767, 2003.
- ADAMS, G. P. Comparative patterns of follicle development and selection in ruminants. **Journal of reproduction and fertility. Supplement**, [S. l.], v. 54, p. 17–32, 1999. DOI: 10.1530/biosciproc.4.002.
- ADAMS, G. P.; KOT, K.; SMITH, C. A.; GINTHER, O. J. Selection of a dominant follicle and suppression of follicular growth in heifers. **Animal Reproduction Science**, [S. l.], v. 30, p. 259–271, 1992.
- ATKINS, J. A.; BUSCH, D. C.; BADER, J. F.; KEISLER, D. H.; PATTERSON, D. J.; LUCY, M. C.; SMITH, M. F. Gonadotropin-releasing hormone-induced ovulation and luteinizing hormone release in beef heifers: Effect of day of the cycle. **Journal of Animal Science**, [S. l.], v. 86, n. 1, p. 83–93, 2008. DOI: 10.2527/jas.2007-0277.
- BALL, P. J. H.; PETERS, A. R. **Reproduction in Cattle: Third Edition**. 3. ed. Oxford: Blackwell Publishing, 2007. DOI: 10.1002/9780470751091.
- BARBOSA, I. P.; CESTARO, J. P.; SILVA, S. A.; NOLETO, G. S.; GONÇALVES, R. L.; SILVA, G. M.; PAES, F. H.; GASPERIN, B. G.; ROVANI, M. T.; PFEIFER, L. F. M. GnRH34: An alternative for increasing pregnancy in timed AI beef cows. **Theriogenology**, [S. l.], v. 179, p. 1–6, 2022. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2021.11.014.
- BARNES, M. A.; BIERLEY, S. T.; HALMAN, R. D.; HENRICKS, D. M. Follicle stimulating hormone, luteinizing hormone and estradiol-17 β response in GnRH treated prepuberal Holstein heifers. **Biology of Reproduction**, [S. l.], v. 22, n. 3, p. 459–465, 1980. DOI: 10.1095/biolreprod22.3.459.
- BARUSELLI, P. S.; FERREIRA, R. M.; SÁ FILHO, M. F.; BÓ, G. A. Review: Using artificial insemination v. natural service in beef herds. **Animal**, [S. l.], v. 12, p. s45–s52, 2018. DOI: 10.1017/S175173111800054X.
- BILBAO, M. G.; MASSARA, N.; RAMOS, S.; ZAPATA, L. O.; FARCEY, M. F.; PESOA, J.; TURIC, E.; VÁZQUEZ, M. I.; BARTOLOME, J. A. Extending the duration of treatment with progesterone and equine chorionic gonadotropin improves fertility in suckled beef cows with low body condition score subjected to timed artificial insemination. **Theriogenology**, [S. l.], v. 86, p. 536–544, 2016. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2016.02.003. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.02.003>.
- BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S.; MAPLETOFT, R. J. Synchronization techniques to increase the utilization of artificial insemination in beef and dairy cattle.

Animal Reproduction, [S. l.], v. 10, n. 3, p. 137–142, 2013.

BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S.; MORENO, D.; CUTAIA, L.; CACCIA, M.; TRÍBULO, R.; TRÍBULO, H.; MAPLETOFT, R. J. THE CONTROL OF FOLLICULAR WAVE DEVELOPMENT FOR SELF-APPOINTED EMBRYO TRANSFER PROGRAMS IN CATTLE. **Theriogenology**, [S. l.], v. 57, p. 53–72, 2001.

CEDEÑO, A. V.; CUERVO, R.; TRÍBULO, A.; TRÍBULO, R.; ANDRADA, S.; MAPLETOFT, R.; MENCHACA, A.; BÓ, G. A. Effect of expression of estrus and treatment with GnRH on pregnancies per AI in beef cattle synchronized with an estradiol/progesterone-based protocol. **Theriogenology**, [S. l.], v. 161, p. 294–300, 2021. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2020.12.014.

FORD, S. P.; STORMSHAK, F. Bovine ovarian and pituitary responses to PMS an GnRH administered during metestrus. **Journal of animal science**, [S. l.], v. 46, n. 6, p. 1701–1706, 1978.

FUNSTON, R. N.; DEUTSCHER, G. H. Comparison of target breeding weight and breeding date for replacement beef heifers and effects on subsequent reproduction and calf performance. **Journal of Animal Science**, [S. l.], v. 82, n. 10, p. 3094–3099, 2004. DOI: 10.2527/2004.82103094x.

GINTHER, O. J.; WILTBANK, M. C.; FRICKE, P. M.; GIBBONS, J. R.; KOT, K. Selection of the dominant follicle in cattle. **Biology of Reproduction**, [S. l.], v. 55, n. 6, p. 1187–1194, 1996. DOI: 10.1095/biolreprod55.6.1187.

GORDON, I. **Controlled Reproduction in Cattle & Buffaloes (Controlled Reproduction in Farms Animals Series). Volume I**. 1. ed. New York: CABI Publishing, 2002.

JAISWAL, R. S.; SINGH, J.; ADAMS, G. P. Developmental pattern of small antral follicles in the bovine ovary. **Biology of Reproduction**, [S. l.], v. 71, n. 4, p. 1244–1251, 2004. DOI: 10.1095/biolreprod.104.030726.

KASTELIC, J. P.; KNOPF, L.; GINTHER, O. J. Effect of day of prostaglandin F2alpha treatment on selection and development of the ovulatory follicle in heifers. **Animal Reproduction Science**, [S. l.], v. 23, p. 169–180, 1990.

MADUREIRA, G.; CONSENTINI, C. E. C.; MOTTA, J. C. L.; DRUM, J. N.; PRATA, A. B.; MONTEIRO JR, P. L. J.; MELO, L. F.; GONÇALVES, J. R. S.; WILTBANK, M. C.; SARTORI, R. Progesterone-based timed AI protocols for Bos indicus cattle II: Reproductive outcomes of either EB or GnRH-type protocol, using or not GnRH at AI. **Theriogenology**, [S. l.], v. 145, p. 86–93, 2020. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2020.01.033.

MIHM, M.; BAKER, P. J.; IRELAND, J. L. H.; SMITH, G. W.; COUSSENS, P. M.; EVANS, A. C. O.; IRELAND, J. J. Molecular Evidence That Growth of Dominant Follicles Involves a Reduction in Follicle-Stimulating Hormone Dependence and an Increase in Luteinizing Hormone Dependence in Cattle? **Biology of Reproduction**, [S. l.], v. 1059, n. August 2005, p. 1051–1059, 2006. DOI: 10.1095/biolreprod.105.045799.

MONTEIRO JR, P. L. J.; NASCIMENTO, A. B.; PONTES, G. C. S.; FERNANDES, G. O.; MELO, L. F.; WILTBANK, M. C.; SAROTRI, R.

Progesterone supplementation after ovulation: Effects on corpus luteum function and on fertility of dairy cows subjected to AI or ET. **Theriogenology**, [S. l.], v. 84, p. 1215–1224, 2015. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2015.06.023. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.06.023>.

MURPHY, M. G.; BOLAND, M. P.; ROCHE, J. F. Pattern of follicular growth and resumption of ovarian activity in post-partum beef suckler cows. **Journal of Reproduction and Fertility**, [S. l.], v. 90, n. 2, p. 523–533, 1990. DOI: 10.1530/JRF.0.0900523.

NÚÑEZ-OLIVEIRA, R.; CASTRO, T. De; GARCÍA-PINTOS, C.; BÓ, G.; PIAGGIO, J.; MENCHACA, A. Ovulatory response and luteal function after eCG administration at the end of a progesterone and estradiol' based treatment in postpartum anestrous beef cattle. **Animal Reproduction Science**, [S. l.], v. 146, p. 111–116, 2014. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2014.02.017.

PICARD-HAGEN, N.; LHERMIE, G.; FLORENTIN, D.; MERLE, D.; FREIN, P.; GAYRARD, V. Effect of gonadorelin, lecorelin, and buseralin on LH surge, ovulation, and progesterone in cattle. **Theriogenology**, [S. l.], v. 84, p. 177-183, 2015. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2015.03.004

PRATA, A. B.; MADUREIRA, G.; ROBL, A. J.; RIBEIRO, H. S.; SAGAE, M.; ELIAS, M. C. V.; PIMENTA, C.; BARRIOS, J.; HARTMMAN, D.; SCHNEIDER, A. A.; SANDOVAL, G. A. F.; WILTBANK, M. C.; SARTORI, R. Progesterone-based timed AI protocols for *Bos indicus* cattle III: Comparison of protocol lengths. **Theriogenology**, [S. l.], v. 152, p. 29–35, 2020. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2020.04.020.

PTASZYNSKA, M. **Compêndio de reprodução Animal**. 1. ed. [s.l.] : Intervet International, 2013.

ROCHE, J. F. Synchronization of oestrus and fertility following artificial insemination in heifers given prostaglandin F2 α . **Journal of Reproduction and Fertility**, [S. l.], v. 37, n. 1, p. 135–138, 1974. DOI: 10.1530/jrf.0.0370135.

RODRIGUES, A. D. P.; PERES, R. F. G.; LEMES, A. P.; MARTINS, T.; PEREIRA, M. H. C.; DAY, M. L.; VASCONCELOS, J. L. M. Progesterone-based strategies to induce ovulation in prepubertal Nelore heifers. **Theriogenology**, [S. l.], v. 79, n. 1, p. 135–141, 2013. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2012.09.018.

SÁ FILHO, M. F. AYRES, H.; FERREIRA, R. M.; MARQUES, M. O.; REIS, E. L.; SILVA, R. C. P.; RODRIGUES, C. A.; MADUREIRA, E. H.; BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S. Equine chorionic gonadotropin and gonadotropin-releasing hormone enhance fertility in a norgestomet-based , timed artificial insemination protocol in suckled Nelore (*Bos indicus*) cows. **Theriogenology**, [S. l.], v. 73, n. 5, p. 651–658, 2010. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2009.11.004.

SALES, J. N. S.; CARVALHO, J. B. P.; CREPALDI, G. A.; CIPRIANO, R. S.; JACOMINI, J. O.; MAIO, J. R. G.; SOUZA, J. C.; NOGUEIRA, G. P.; BARUSELLI, P. S. Effects of two estradiol esters (benzoate and cypionate) on the induction of synchronized ovulations in *Bos indicus* cows submitted to a timed artificial insemination protocol. **Theriogenology**, [S. l.], v. 78, n. 3, p. 510–516, 2012. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2012.02.031.

- SARTORELLI, E. S.; CARVALHO, L. M.; BERGFELT, D. R.; GINTHER, O. J.; BARROS, Ciro M. Morphological characterization of follicle deviation in Nelore (*Bos indicus*) heifers and cows. **Theriogenology**, [S. l.], v. 63, p. 2382–2394, 2005. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2004.08.017.
- SARTORI, R.; FRICKE, P. M.; FERREIRA, J. C. P.; GINTHER, O. J.; WILTBANK, M. C. Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. **Biology of Reproduction**, [S. l.], v. 65, n. 5, p. 1403–1409, 2001. DOI: 10.1095/biolreprod65.5.1403.
- SENGER, P. L. **Pathways to Pregnancy and Parturition**. 2. ed. Whashington: Current Conceptions, 2003.
- SIROIS, J.; FORTUNE, J. E. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. **Biology of reproduction**, [S. l.], v. 39, n. 2, p. 308–317, 1988. DOI: 10.1095/BIOLREPROD39.2.308.
- SOUZA, A. C.; VIECHNIESKI, S.; LIMA, F. A.; SILVA, F. F.; ARAÚJO, R.; BÓ, G. A.; WILTBANK, M. C.; BARUSELLI, P. S. Effects of equine chorionic gonadotropin and type of ovulatory stimulus in a timed-AI protocol on reproductive responses in dairy cows. **Theriogenology**, [S. l.], v. 72, p. 10–21, 2009. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2008.12.025.
- TAYLOR, C. S.; FITZHUGH JR, H. A. Genetic relationships between mature weight and time taken to mature within a breed. **Journal of animal science**, [S. l.], v. 33, n. 4, p. 726–731, 1971.
- VELHO, G. S.; ROVANI, M. T.; FERREIRA, R.; GASPERIN, B. G.; DALTO, A. G. C. Blood perfusion and diameter of bovine corpus luteum as predictors of luteal function in early pregnancy. **Reproduction in Domestic Animals**, [S. l.], v. 18, p. 1–7, 2021. DOI: 10.1111/rda.14046.
- YOUNGQUIST, R. S.; THRELFALL, W. R. **Current Therapy in Large Animal Theriogenology**. 2. ed. St. Louis: SAUDNERS Elsevier Inc., 2007.

2 MANUSCRITO

Neste item será apresentado o manuscrito intitulado “GnRH concomitante à inseminação artificial em tempo fixo em vacas taurinas e sintéticas”.

GnRH concomitante à inseminação artificial em tempo fixo em vacas taurinas e sintéticas

Vanessa Silva Fernandes¹, Gabriella dos Santos Velho¹, Mateus Felipe Osório dos Santos¹, Monique Tomazele Rovani^{1,2}, André Gustavo Cabrera Dalto¹

¹Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brasil.

RESUMO

Foram realizados dois experimentos para avaliar o efeito do tratamento com GnRH no momento da inseminação artificial em tempo fixo (IATF), em vacas que não manifestaram estro (Grupo Controle) ou em todos os animais independente do estro (Grupo GnRH). O objetivo do Experimento 1 foi determinar a taxa de ovulação e função luteal em vacas que receberam GnRH na IATF. Vacas multíparas Brangus lactantes (n=19) foram submetidas a protocolo de sincronização do ciclo estral com 2 mg de benzoato de estradiol i.m. e inserção do dispositivo intravaginal (DIV) de 1 g de progesterona no D0. No D8, o DIV foi removido e administrou-se 0,5 mg de cipionato de estradiol i.m.; 0,52 mg de cloprostenol sódico i.m., 300 UI de gonadotrofina coriônica equina i.m. e marcação com tinta na base da cauda. No D10 (momento esperado da IATF), a ocorrência de estro foi avaliada com base na remoção da tinta e os animais foram receberem 25µg de análogo do hormônio liberador de gonadotrofinas i.m. (GnRH) de acordo com o grupo (GnRH ou Controle). O folículo pré-ovulatório foi acompanhado por ultrassonografia transretal 54h, 72h e 77h após a remoção do DIV até a ovulação. Cinco dias (D5) após os tratamentos foram realizadas avaliações do corpo lúteo (CL) resultante da ovulação do folículo dominante (FD). Foi realizada coleta de sangue de todas as fêmeas nos D5 e D13 para determinação de progesterona sérica. Observou-se que as ovulações ocorreram entre 72h, às 77h, não havendo diferença entre grupos com relação à taxa de ovulação. Não foi observada diferença na área do CL, diâmetro do CL e circunferência do CL entre os grupos Controle e GnRH. O objetivo do Experimento 2 foi determinar o efeito do GnRH na IATF sobre a taxa de concepção

² Correspondência: Faculdade de Veterinária, Av. Bento Gonçalves, 9090 –Agronomia, 91540-000, Porto Alegre, RS, Brasil. Email: monique.rovani@ufrgs.br

(P/IA). Fêmeas bovinas (n=454) *Bos taurus* (Angus e Devon) e *Bos taurus x Bos indicus* (Braford e Brangus) nulíparas, primíparas, múltiparas e vacas sem bezerro ao pé tiveram a onda folicular sincronizada, conforme descrito no Experimento 1, e foram aleatoriamente alocadas nos grupos Controle e GnRH. O diagnóstico de gestação foi realizado 30 dias após a IATF. Não foi observada diferença na P/IA entre grupos e entre grupo e estro. Observou-se alta correlação entre a expressão de estro e P/IA ($p < 0,0001$), independente do grupo. Em resumo, o momento e taxa de ovulação e função luteal não diferiram entre os grupos. Além disso, não foi observada diferença na P/IA entre grupos, evidenciando que são obtidas mesmas taxas de P/IA utilizando GnRH em todos os animais submetidos ao protocolo de IATF ou somente naqueles não identificados em estro, sem prejuízo na taxa de ovulação e função luteal.

Palavras-chave: GnRH, estro, ovulação, taxa de concepção, *Bos taurus*

ABSTRACT

Two experiments were carried out to evaluate the effect of GnRH treatment at the time of fixed-time artificial insemination (FTAI), in cows that did not show estrus (Control Group) or in all animals regardless of estrus (GnRH Group). The objective of Experiment 1 was to determine the ovulation rate and luteal function in cows that received GnRH in TAI. Multiparous Brangus suckling cows (n=19) were submitted to estrous cycle synchronization protocol with 2 mg of estradiol benzoate i.m. and insertion of the 1 g progesterone intravaginal insert (CIDR) on D0. On D8, the CIDR was removed and 0.5 mg of estradiol cypionate was administered i.m.; 0.52 mg cloprostenol sodium i.m., 300 IU equine chorionic gonadotropin i.m. and were marked in the sacral and tail head region with chalk. On D10 (moment of FTAI), the occurrence of estrus was evaluated based on the removal of the chalk and the animals received 25µg of gonadotropin releasing hormone analogue i.m. (GnRH) according to the group (GnRH or Control). The preovulatory follicle was followed by transrectal ultrasonography at 54h, 72h and 77h after CIDR removal until ovulation. Five days (D5) after the treatments, evaluations of the corpus luteum (CL) resulting from ovulation of the dominant follicle (FD) were performed. Blood was collected from all females on D5 and D13 to determine serum progesterone. It was observed that ovulations occurred between

72h and 77h, with no difference between groups regarding the ovulation rate. No difference was observed in CL area, CL diameter and CL circumference between Control and GnRH groups. The objective of Experiment 2 was to determine the effect of GnRH in TAI on conception rate (P/AI). *Bos taurus* (Angus and Devon) and *Bos taurus* x *Bos indicus* (Braford and Brangus) bovine females (n=454) nulliparous, primiparous, multiparous and suckled cows had the follicular wave synchronized, as described in Experiment 1, and were randomly allocated into Control and GnRH groups. Pregnancy diagnosis was performed 30 days after AI. There was no difference in P/AI between groups and between groups and estrus. There was a high correlation between estrus expression and P/IA ($p < 0.0001$), regardless of group. In summary, ovulation timing and rate and luteal function did not differ between groups. In addition, no difference was observed in P/AI between groups, showing that the same P/AI rates are obtained using GnRH in all animals submitted to the FTAI protocol or only in those not identified in estrus, without prejudice to the ovulation rate and luteal function.

Keywords: GnRH, estrus, ovulation, conception rate, Bos taurus

INTRODUÇÃO

A inseminação artificial (IA) promove a evolução genética de um rebanho (BÓ; BARUSELLI; MAPLETOFT, 2013), sendo alavancada pelo uso de sincronização do ciclo estral, principalmente através do uso de dispositivo intravaginal (DIV) de progesterona (P4) associados aos ésteres de estradiol ou ao GnRH (BÓ *et al.*, 2016). No Brasil, são mais utilizados os protocolos baseados em P4 e estradiol no gado de corte (BÓ; BARUSELLI; MAPLETOFT, 2013), com destaque para o uso do cipionato de estradiol (CE) como indutor de ovulação, que trás a vantagem de reduzir um dia de manejo, com a aplicação é feita no dia da retirada do DIV de progesterona, se comparado ao benzoato de estradiol que é aplicado 24h depois da remoção do DIV (COLAZO; KASTELIC; MAPLETOFT, 2003). No entanto, o uso desse hormônio está associado à expressão artificial de estro (PFEIFER *et al.*, 2020) e com a dispersão do momento da ovulação (SOUZA *et al.*, 2009).

A identificação das fêmeas que apresentam ou não estro verdadeiro no momento da IA é importante, visto que é um dos fatores associados ao sucesso do protocolo de IATF (CONSENTINI *et al.*, 2023; RICHARDSON *et al.*, 2016). Um método alternativo para avaliar a expressão do estro é o uso de marcadores na base da cauda, buscando identificar fêmeas com menor expressão de estro no momento da IA (NOGUEIRA *et al.*, 2019). Com o uso dessa detecção adicional, um manejo que vêm sendo utilizado para aumentar a taxa de concepção (P/IA) é aplicar GnRH nas vacas que não apresentam estro (remoção da marcação na base da cauda) no dia da IA, estudos realizados em vacas zebuínas mostram que o uso do GnRH na IA aumenta a fertilidade de vacas que não expressaram estro (MADUREIRA *et al.*, 2020) e até mesmo daquelas vacas que expressam estro na IA (PRATA *et al.*, 2020). Alves *et al.* (2021) mostraram que a P/IA pode aumentar mais que 10% quando ajustes no protocolo de IATF são feitos, como o uso do GnRH no dia da IA, sendo que os animais que mais se beneficiaram foram aqueles que não apresentaram estro, primíparas, vacas com escore de condição corporal menor que 3 (de uma escala de 1 a 5) e vacas tratadas com 0,5mg de CE i.m.. No entanto, ainda não foi testado o efeito do uso do de GnRH, em fêmeas de raças taurinas e sintéticas, quando aplicado em todos os animais no momento da IATF ou em somente nos animais não detectados em estro.

Dessa forma, foram realizados dois experimentos para avaliar o efeito do tratamento com GnRH 48h após a remoção do DIV (momento esperado da IATF) em vacas que não manifestaram estro ou em todos os animais (independente do estro). O objetivo do Experimento 1 foi determinar a taxa de ovulação e função luteal em vacas que receberam GnRH 48h após a remoção do DIV. O objetivo do Experimento 2 foi determinar o efeito do GnRH 48h após a remoção do DIV na IATF sobre a taxa de concepção.

MATERIAL E MÉTODOS

Os procedimentos descritos a seguir foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFRGS (nº 41037). O Experimento 1 foi executado na Estação Experimental Agronômica da UFRGS (Rodovia BR 290 Country Club 1 - km 146, Eldorado do Sul - RS, 92990-000), e o Experimento 2 foi conduzido em 7 propriedades do Rio Grande do Sul e Santa Catarina.

Experimento 1

O objetivo desse experimento foi avaliar a taxa de ovulação e função luteal. Vacas multíparas Brangus (n=19) de 3 a 5 anos de idade, com Escore de Condição Corporal (ECC) médio de 3,36 (1= muito magra; 5= muito gorda) foram submetidas ao protocolo de IATF. Duas vacas não foram responsivas ao protocolo de sincronização, portanto, foram excluídas das análises. No D0 do protocolo, os animais receberam 2 mg de benzoato de estradiol i.m. (BE; Ric-BE[®]) e inserção do dispositivo intravaginal (DIV) de 1 g de progesterona (Sincrogest[®]). No D8, foi feita a retirada do DIV e aplicação de 0,5 mg de cipionato de estradiol i.m. (CE; Cipiotech[®]), 0,52 mg de cloprostenol sódico i.m. (PGF; Estron[®]), 300 UI de gonadotrofina coriônica equina i.m. (eCG; Novormon[®]) e marcação com tinta (bastão marcador Walmur[®]) na base da cauda para monitorar estro. No D10 (48h depois da remoção do DIV) as fêmeas receberam 25µg de lecirelina i.m. (GnRH; TecRelin[®]) de acordo com o grupo (GnRH ou Controle) e feita a avaliação de expressão de estro, sempre pelo mesmo avaliador. Considerou-se expressão de estro quando a fêmea apresentava $\geq 75\%$ da marcação da tinta removida.

A divisão dos grupos foi de forma aleatória: no Grupo Controle apenas as vacas não detectadas em estro receberam GnRH (n=10); no Grupo GnRH todas as

vacas receberam GnRH, independente do estro (n=7). O folículo pré-ovulatório foi acompanhado por ultrassonografia transretal (DP-10VET POWER, Mindray® equipado com sonda linear de 5 MHz) 54h, 72h e 77h após a remoção do DIV até a ovulação. A ovulação foi definida como o desaparecimento entre avaliações de um folículo maior ou igual a 8 mm de diâmetro previamente identificado. A análise do diâmetro do FD não diferiu entre grupos Controle (10,1±0,8mm) e GnRH (10,5±0,9 mm) 54h após a remoção do DIV (p>0,7), portanto os grupos foram uniformes com relação ao diâmetro folicular.

Cinco dias (D5) após os tratamentos (momento esperado da IATF), foram realizadas avaliações do corpo lúteo (CL) resultante da ovulação do folículo dominante (FD). Foram avaliadas as seguintes medidas: diâmetro (cm), circunferência (cm) e área (cm²). Em caso de CL cavitário, foram feitas duas mensurações (total e cavidade) e subtraiu-se os dois valores a fim de obter um valor representativo apenas do parênquima do CL (PUGLIESI *et al.*, 2016).

Além disso, foi realizada a coleta sangue de todas as fêmeas através da punção de vasos coccígeos em tubo *vacutainer* com ativador de coágulo e agulha 25 x 0,70 mm (Vacuplast®) nos D5 e D13 (após o tratamento). As amostras foram processadas em laboratório, centrifugadas a 2500 rpm por 5 minutos. O soro extraído foi acondicionado em microtubos de 1,5mL e conservado a -18°C até a realização da análise da concentração de P4 pelo método de quimioluminescência em laboratório comercial.

Experimento 2

O objetivo deste experimento foi avaliar taxa de concepção (P/IA) e manifestação de estro em vacas submetidas a protocolo de IATF com o uso de GnRH no dia da IATF. Fêmeas bovinas (n=454), vacas nulíparas (n=49), primíparas (n=42), múltíparas (n=342), e vacas sem bezerro ao pé (n=21), *Bos taurus* (Angus e Devon) e *Bos taurus x Bos indicus* (Braford e Brangus) com ECC médio igual a 3, tiveram a onda folicular sincronizada para protocolo de IATF, conforme descrito no Experimento 1. Os animais foram aleatoriamente alocados nos grupos Controle (somente as vacas não identificadas em estro receberam GnRH; n=231) e GnRH (vacas receberam GnRH, independente do estro; n=223). O diagnóstico de gestação foi realizado 30 dias após a IATF através de

ultrassonografia transretal (DP-10VET POWER, Mindray® equipado com sonda linear de 5 MHz).

Análise estatística

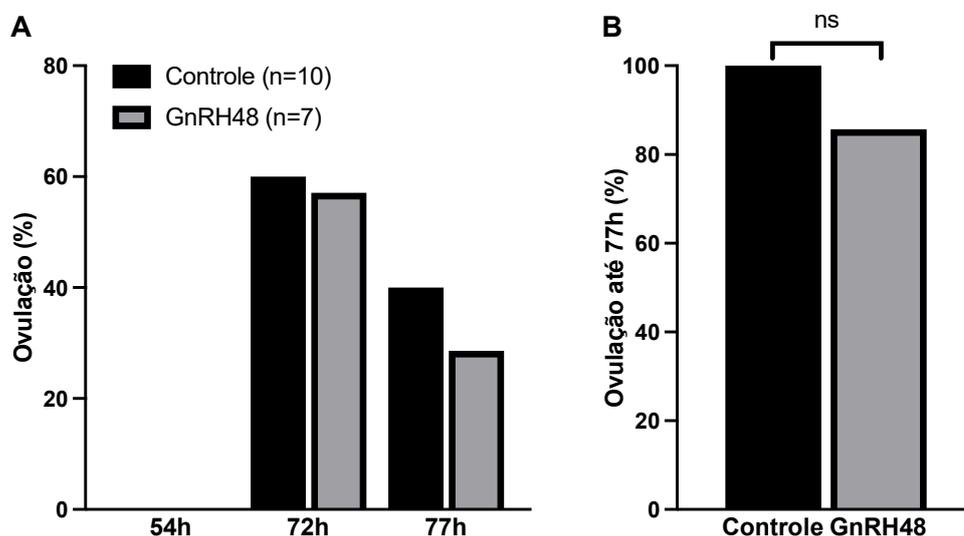
Os dados contínuos foram analisados quanto à distribuição e normalizados quando necessário pelo teste de Shapiro-Wilk. Dados de mensuração do CL e concentração sérica de progesterona nos diferentes momentos foram comparadas através de Mixed Model. A taxa de concepção foi comparada utilizando-se regressão logística e utilizou-se o contraste para as comparações de proporções de P/IA conforme manifestação de estro. As variáveis fazenda, touro, ECC e categoria da vaca não tiveram efeito significativo e, portanto, foram excluídas do modelo. As análises foram realizadas com o software estatístico JMP (JMP Statistical Discovery LLC.) e consideradas a um nível de significância mínimo de 5% para as comparações estabelecidas.

RESULTADOS

Experimento 1

Não foram observadas ovulações às 54h após a remoção do DIV, independente do grupo; no entanto, 6 vacas do grupo Controle (60%) e 4 vacas do grupo GnRH (57,1%) ovularam às 72h. Às 77h, 40% (4/10) das vacas do grupo Controle ovularam, enquanto 28,6% (2/7) das vacas do grupo GnRH ovularam (Figura 1A). Não houve diferença entre grupos com relação à taxa de ovulação, sendo que 100% (10/10) das vacas do grupo Controle e 85,7% (6/7) das vacas do grupo GnRH ovularam até 77h após remoção do DIV (Figura 1B).

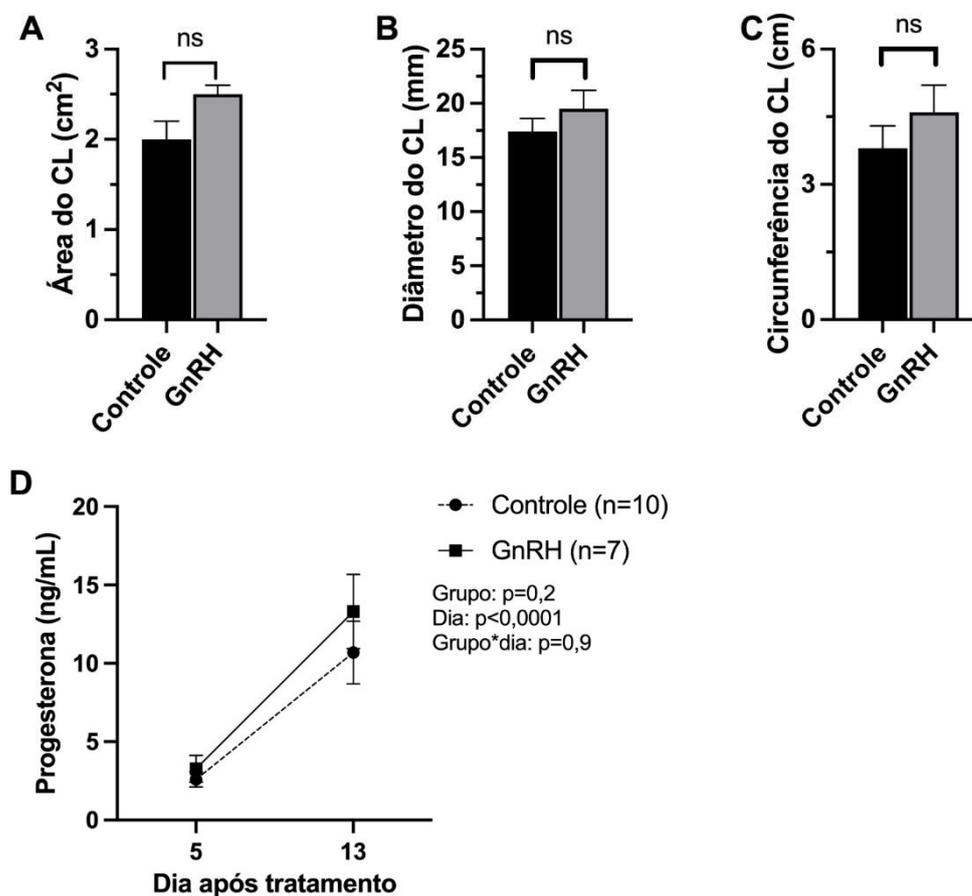
Figura 1 – Avaliações ovarianas do Experimento 1 em vacas lactantes da raça Brangus dos grupos Controle (tratadas com GnRH se não identificadas em estro; n= 10) e GnRH (todas tratadas com GnRH; n=7) 48h horas após a retirada do dispositivo intravaginal de progesterona (DIV). A) Taxa de ovulação 54h, 72h e 77h após a remoção do DIV. B) Taxa de ovulação acumulada até 77 horas após remoção do DIV nos Grupos Controle e GnRH. ns=não significativo.



Fonte: a própria autora.

Não foi observada diferença na área do CL ($p=0,3$) (Figura 2A), diâmetro do CL ($p=0,6$) (Figura 2B) e circunferência do CL ($p=0,4$) (Figura 2C) entre os grupos Controle e GnRH. Observou-se que houve diferença entre os dias (D5 e 13) na concentração de P4 sérica, porém não houve diferença entre grupos Controle e GnRH ($p=0,2$), e interação entre grupo e dia ($p=0,9$) (Figura 2D).

Figura 2 – Avaliações ovarianas do CL do Experimento 1 em vacas multíparas da raça Brangus 5 dias após a IATF. A) Área do CL 5 dias após a IATF. B) Diâmetro do CL 5 dias após a IATF. C) Circunferência do CL 5 dias após a IATF. D) Concentração da progesterona (ng/mL) 5 dias e 13 dias após o tratamento com GnRH. ns=não significativo.

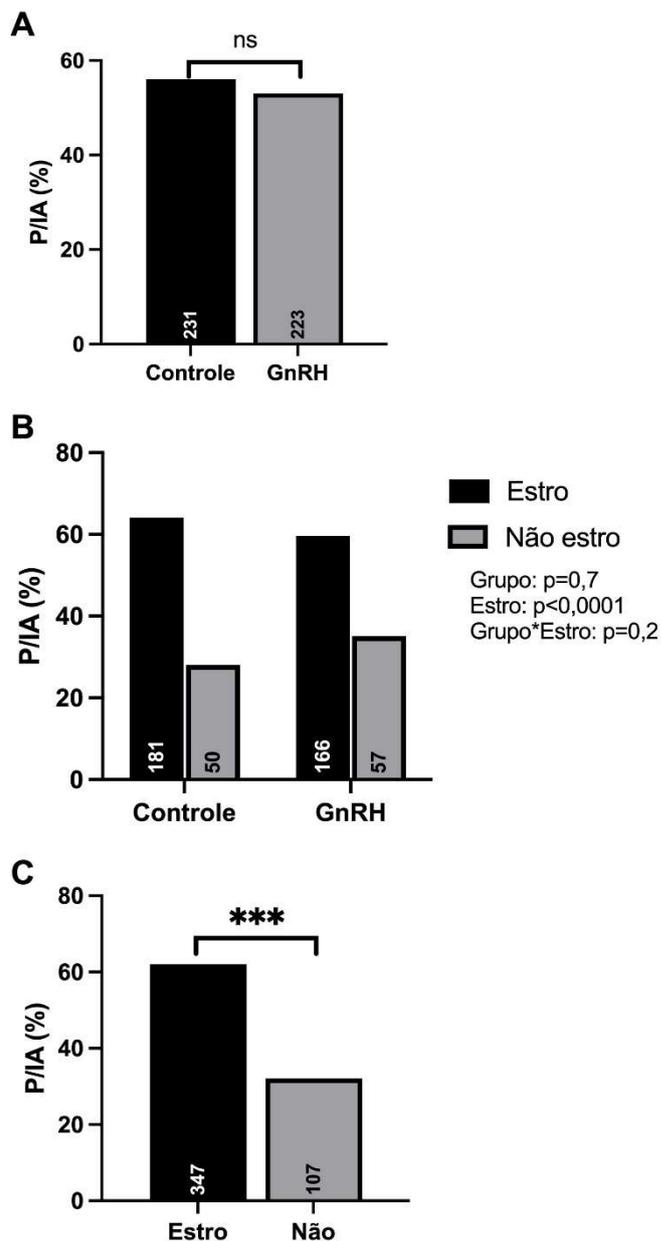


Fonte: a própria autora.

Experimento 2

A taxa de concepção (P/IA) não diferiu ($p=0,7$) entre os grupos GnRH (53,4%) e Controle (56,3%) (Figura 3A). Não houve diferença significativa quando foi analisada a relação entre grupo e estro ($p=0,2$), o que mostra que os grupos foram proporcionais na presença de vacas que apresentaram estro (GnRH: $n=166$; Controle: $n=181$) ou não (GnRH: $n=57$; Controle: $n=50$) (Figura 3B). Observou-se que a P/IA diferiu entre animais que expressaram (61,96%) ou não estro (31,78%; $p<0,0001$), independente do grupo (Figura 3C).

Figura 3 – Taxa de concepção (P/IA) de vacas *Bos taurus* (Angus e Devon) e *Bos taurus x Bos indicus* (Braford e Brangus) após tratamentos no momento da IATF (48h após a retirada do dispositivo intravaginal de progesterona de P4) conforme os grupos Controle (tratadas com GnRH se não identificadas em estro; n= 231) e GnRH (todas tratadas com GnRH; n=223). A) Taxa de concepção nos grupos Controle e GnRH. B) Taxa de concepção nos grupos Controle e GnRH conforme expressão de estro na IATF. C) Taxa de concepção conforme expressão de estro na IATF. ns=não significativo; *** representa $p < 0,001$; números nas barras representam o número de animais.



Fonte: a própria autora.

DISCUSSÃO

O presente estudo analisou a aplicação da lecirelina, análogo sintético do GnRH, no momento da IATF em dois grupos: GnRH (todas as fêmeas receberam GnRH) e Controle (receberam GnRH apenas as fêmeas que não apresentaram estro). Não foi observada diferença do diâmetro do FD entre grupos 54h depois da remoção do DIV, mostrando que as vacas responderam de forma igual ao protocolo de IATF, já que nesse momento não se esperava que o GnRH fosse mudar no tamanho folicular. No presente estudo, as vacas tiveram ovulações mais concentradas entre 72h e 77h após a remoção do DIV, sendo que todas as vacas do grupo Controle ovularam até as 77h. Outros estudos que induziram a ovulação de vacas apenas com CE obtiveram ovulações de 48h até 72h (PANCARCI *et al.*, 2002) e de 48h a 96h (SALES *et al.*, 2012). Ao utilizar apenas o GnRH como indutor de ovulação, outros estudos demonstraram que as vacas ovularam de 24h a 32h após a aplicação de GnRH (PURSLEY; MEE; WILTBANK, 1995). Portanto, esse resultado encontrado no presente estudo pode ser explicado pelo uso de GnRH associado ao CE, obtendo-se o efeito de concentrar as ovulações.

Estudos mostram que existe relação entre o diâmetro do CL e a taxa de concepção (VELHO *et al.*, 2021). Nesse estudo não houve diferença entre grupos para área do CL ($p=0,3$), diâmetro do CL ($p=0,6$) e circunferência do CL ($p=0,4$), o que mostra que a aplicação de GnRH apenas em vacas que não apresentaram estro (grupo Controle) ou em todas as vacas (grupo GnRH) não causa prejuízo no desenvolvimento do CL. O desenvolvimento do CL pode ser comprovado pela diferença da concentração da P4 sanguínea do dia cinco para o dia 13 após a IA ($p<0,0001$), não havendo interação entre grupos ($p=0,2$), e entre grupo e dia ($p=0,9$).

Não houve influência do grupo na P/IA ($p=0,7$) e na expressão de estro ($p=0,2$), no entanto, houve alta correlação entre estro e P/IA ($p<0,0001$). Esse resultado já foi descrito anteriormente em outros estudos em fêmeas *Bos taurus* (PERRY *et al.*, 2005, 2007) e *Bos indicus* (MENEGHETTI *et al.*, 2009; SÁ FILHO *et al.*, 2010). Sendo que Sá Filho *et al.* (2011) associou a expressão de estro e o aumento da P/IA com a presença de FD de maior diâmetro e maiores concentrações séricas de P4 em vacas *Bos indicus*, além disso, conclui que o uso de GnRH no momento da IA não melhorou a P/IA, independente do estro. Já Barbosa *et al.*

(2022) mostrou que o GnRH aumentou a P/IA em fêmeas bovinas que apresentavam, ou não estro, quando aplicado 34h após a remoção do DIV em vacas *Bos indicus*.

Recentemente, Cedeño *et al.* (2021) mostrou que a aplicação de GnRH em vacas que não apresentam estro 48h após a remoção do DIV e inseminadas às 56h causa um incremento na P/IA. Prata *et al.* (2020) encontrou resultados similares, protocolos com uso de P4 por curtos períodos, 7 a 8 dias, o GnRH no momento da IA teve um efeito positivo na fertilidade de vacas Nelore, inclusive naquelas que expressaram estro no momento da IA. Discordando com Sá Filho *et al.* (2011) que afirma que o uso de GnRH não levou ao aumento da fertilidade, independente da expressão de estro. Foi observado no Experimento 2 (Figura 3C) que fêmeas que apresentaram estro no momento da IA recebendo GnRH ou não, tiveram maior P/IA do que aquelas que não apresentaram estro e receberam GnRH. Sendo que, neste experimento, pode-se afirmar que todas as fêmeas que não apresentaram estro no momento da IA receberam GnRH. No entanto, essa diferença pode ser devido aos grupos desuniformes e da raça dos animais utilizados no presente estudo, necessitando de maiores investigações.

CONCLUSÃO

Não foi observado diferença estatística entre grupo e P/IA, momento da ovulação, diâmetro do FD, área e circunferência do CL. O que mostra que não existe prejuízo na P/IA. Na ausência de métodos auxiliares para detecção de estro, pode-se aplicar GnRH em todo o rebanho sem prejuízos na concepção. No entanto, deve-se levar em conta o impacto econômico da aplicação de GnRH em um grande número de animais.

REFERÊNCIAS

- ALVES, R. L. O. R.; SILVA, M. A.; CONSENTINI, C. E. C.; SILVA, L. O.; FOLCHINI, N. P.; OLIVA, A. L.; PRATA, A. B.; GONÇALVES, J. R. S.; WILTBANK, M. C.; SARTORI, R. Hormonal combinations aiming to improve reproductive outcomes of *Bos indicus* cows submitted to estradiol/progesterone-based timed AI protocols. **Theriogenology**, [S. l.], v. 169, p. 89–99, 2021. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2021.04.007.
- AZEVEDO, C.; MAIA, I.; CANADA, N.; SIMÕES, J. Comparison of fertility, regular returns-to-estrus, and calving interval between Ovsynch and CO-synch + CIDR protocols in dairy cows. **Theriogenology**, [S. l.], v. 82, n. 6, p. 910–914, 2014. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2014.07.006.
- BARBOSA, I. P.; CESTARO, J. P.; SILVA, S. A.; NOLETO, G. S.; GONÇALVES, R. L.; SILVA, G. M.; PAES, F. H.; GASPERIN, B. G.; ROVANI, M. T.; PFEIFER, L. F. M. GnRH34: An alternative for increasing pregnancy in timed AI beef cows. **Theriogenology**, [S. l.], v. 179, p. 1–6, 2022. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2021.11.014.
- BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S.; MAPLETOFT, R. J. Synchronization techniques to increase the utilization of artificial insemination in beef and dairy cattle. **Animal Reproduction**, [S. l.], v. 10, n. 3, p. 137–142, 2013.
- BÓ, G. A.; DE LA MATA, J. J.; BARUSELLI, P. S.; MENCHACA, A. Alternative programs for synchronizing and resynchronizing ovulation in beef cattle. **Theriogenology**, [S. l.], v. 86, n. 1, p. 388–396, 2016. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2016.04.053.
- CEDEÑO, A. V.; CUERVO, R.; TRÍBULO, A.; TRÍBULO, R.; ANDRADA, S.; MAPLETOFT, R.; MENCHACA, A.; BÓ, G. A. Effect of expression of estrus and treatment with GnRH on pregnancies per AI in beef cattle synchronized with an estradiol/progesterone-based protocol. **Theriogenology**, [S. l.], v. 161, p. 294–300, 2021. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2020.12.014.
- COLAZO, M. G.; KASTELIC, J. P.; MAPLETOFT, R. J. Effects of estradiol cypionate (ECP) on ovarian follicular dynamics, synchrony of ovulation, and fertility in CIDR-based, fixed-time AI programs in beef heifers. **Theriogenology**, [S. l.], v. 60, n. 5, p. 855–865, 2003. DOI: 10.1016/S0093-691X(03)00091-8.
- CONSENTINI, C. E. C.; ALVES, R. L. O. R.; SILVA, M. A.; GALINDEZ, J. P. A.; MADUREIRA, G.; LIMA, L. G.; GONÇALVES, J. R. S.; WILTBANK, M. C.; SARTORI, R. What are the factors associated with pregnancy loss after timed-artificial insemination in *Bos indicus* cattle? **Theriogenology**, [S. l.], v. 196, p. 264–269, 2023. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2022.10.037.
- MADUREIRA, G. *et al.* Progesterone-based timed AI protocols for *Bos indicus* cattle II: Reproductive outcomes of either EB or GnRH-type protocol, using or not GnRH at AI. **Theriogenology**, [S. l.], v. 145, p. 86–93, 2020. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2020.01.033.
- MENEGHETTI, M.; FILHO, O. G. S.; PERES, R. F. G.; LAMB, G. C.;

- VASCONCELOS, J. L. M. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows I: Basis for development of protocols. **Theriogenology**, [*S. l.*], v. 72, n. 2, p. 179–189, 2009. DOI: 10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2009.02.010.
- NOGUEIRA, E.; SILVA, M. R.; SILVA, J. C. B.; ABREU, U. P. G.; ANACHE, N. A.; SILVA, K. C.; CARDOSO, C. J. T.; SUTOVSKY, P.; RODRIGUES, W. B. Timed artificial insemination plus heat I: Effect of estrus expression scores on pregnancy of cows subjected to progesterone-estradiol-based protocols. **Animal**, [*S. l.*], v. 13, n. 10, p. 2305–2312, 2019. DOI: 10.1017/S1751731119000442.
- PANCARCI, S. M.; JORDAN, E. R.; RISCO, C. A.; SCHOUTEN, M. J.; LOPES, F. L.; MOREIRA, F.; THATCHER, W. W. Use of estradiol cypionate in a presynchronized timed artificial insemination program for lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, [*S. l.*], v. 85, n. 1, p. 122–131, 2002. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(02)74060-5.
- PERRY, G. A.; SMITH, M. F.; LUCY, M. C.; GREEN, J. A.; PARKS, T. E.; MACNEIL, M. D.; ROBERTS, A. J.; GEARY, T. W. Relationship between follicle size at insemination and pregnancy success. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [*S. l.*], v. 102, n. 14, p. 5268–5273, 2005. DOI: 10.1073/pnas.0501700102.
- PERRY, G. A.; SMITH, M. F.; ROBERTS, A. J.; MACNEIL, M. D.; GEARY, T. W. Relationship between size of the ovulatory follicle and pregnancy success in beef heifers. **Journal of Animal Science**, [*S. l.*], v. 85, n. 3, p. 684–689, 2007. DOI: 10.2527/jas.2006-519.
- PFEIFER, L. F. M.; MOREIRA, E. M.; DA SILVA, G. M.; DE SOUZA, V. L.; NUNES, V. R. R.; ANDRADE, J. S.; NEVES, P. M. A.; FERREIRA, R. Effect of estradiol cypionate on estrus expression and pregnancy in timed artificially inseminated beef cows. **Livestock Science**, [*S. l.*], v. 231, p. 103886, 2020. DOI: 10.1016/j.livsci.2019.103886.
- PRATA, A. B. *et al.* Progesterone-based timed AI protocols for *Bos indicus* cattle III: Comparison of protocol lengths. **Theriogenology**, [*S. l.*], v. 152, p. 29–35, 2020. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2020.04.020.
- PUGLIESI, G.; SANTOS, F. B.; LOPES, E.; NOGUEIRA, E.; MAIO, J. R. G.; BINELLI, M. Improved fertility in suckled beef cows ovulating large follicles or supplemented with long-acting progesterone after timed-AI. **Theriogenology**, [*S. l.*], v. 85, n. 7, p. 1239–1248, 2016. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2015.12.006.
- PURSLEY, J. R.; MEE, M. O.; WILTBANK, M. C. SYNCHRONIZATION OF OVULATION IN DAIRY COWS USING PGF₂, AND GnRH. **Theriogenology**, [*S. l.*], n. 95, p. 915–923, 1995.
- RICHARDSON, B. N.; HILL, S. L.; STEVENSON, J. S.; DJIRA, G. D.; PERRY, G. A. Expression of estrus before fixed-time AI affects conception rates and factors that impact expression of estrus and the repeatability of expression of estrus in sequential breeding seasons. **Animal Reproduction Science**, [*S. l.*], v. 166, p. 133–140, 2016. DOI: 10.1016/J.ANIREPROSCI.2016.01.013.
- SÁ FILHO, M. F.; CRESPILO, A. M.; SANTOS, J. E. P.; PERRY, G. A.;

BARUSELLI, P. S. Ovarian follicle diameter at timed insemination and estrous response influence likelihood of ovulation and pregnancy after estrous synchronization with progesterone or progestin-based protocols in suckled *Bos indicus* cows. **Animal Reproduction Science**, [S. l.], v. 120, n. 1–4, p. 23–30, 2010. DOI: 10.1016/J.ANIREPROSCI.2010.03.007.

SÁ FILHO, M. F.; SANTOS, J. E. P.; FERREIRA, R. M.; SALES, J. N. S.; BARUSELLI, P. S. Importance of estrus on pregnancy per insemination in suckled *Bos indicus* cows submitted to estradiol/progesterone-based timed insemination protocols. **Theriogenology**, [S. l.], v. 76, p. 455–463, 2011. DOI: doi:10.1016/j.theriogenology.2011.02.022.

SALES, J. N. S.; CARVALHO, J. B. P.; CREPALDI, G. A.; CIPRIANO, R. S.; JACOMINI, J. O.; MAIO, J. R. G.; SOUZA, J. C.; NOGUEIRA, G. P.; BARUSELLI, P. S. Effects of two estradiol esters (benzoate and cypionate) on the induction of synchronized ovulations in *Bos indicus* cows submitted to a timed artificial insemination protocol. **Theriogenology**, [S. l.], v. 78, n. 3, p. 510–516, 2012. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2012.02.031.

SOUZA, A. C.; VIECHNIESKI, S.; LIMA, F. A.; SILVA, F. F.; ARAÚJO, R.; BÓ, G. A.; WILTBANK, M. C.; BARUSELLI, P. S. Effects of equine chorionic gonadotropin and type of ovulatory stimulus in a timed-AI protocol on reproductive responses in dairy cows. **Theriogenology**, [S. l.], v. 72, p. 10–21, 2009. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2008.12.025.

VELHO, G. S.; ROVANI, M. T.; FERREIRA, R.; GASPERIN, B. G.; DALTO, A. G. C. Blood perfusion and diameter of bovine corpus luteum as predictors of luteal function in early pregnancy. **Reproduction in Domestic Animals**, [S. l.], v. 18, p. 1–7, 2021. DOI: 10.1111/rda.14046.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Fêmeas bovinas apresentam repetidos ciclos estrais ao longo do ano, sendo que a sua responsividade aos métodos de sincronização disponíveis depende do momento do ciclo estral no qual se encontram. Na fase lútea, as fêmeas não serão responsivas a indutores de ovulação, e sim a indutores da luteólise, visto que existe a presença de um CL e altos níveis de P4, que impedem o desenvolvimento final do FD. Já na fase folicular, existe o rápido desenvolvimento folicular e crescentes níveis de E2, o que as torna responsivas a indutores da ovulação. Além disso, através desses protocolos, pode-se induzir o retorno à ciclicidade de vacas em anestro. Portanto, para que haja melhor aproveitamento dessa ferramenta, é necessário o conhecimento do momento de atuação dos hormônios utilizados em protocolos de sincronização, além do conhecimento das fases do ciclo estral e o padrão de desenvolvimento folicular. A partir disso, estudos buscaram o incremento da fertilidade de fêmeas submetidas a protocolos de IATF através da adição do GnRH à protocolos baseados na combinação de estradiol e progesterona. Havendo estudos em vacas zebuínas que afirmam que GnRH beneficia tanto fêmeas que não apresentam estro no momento da inseminação quanto aquelas que apresentam. Portanto, o estudo científico desenvolvido no presente trabalho buscou determinar o efeito do GnRH no dia da inseminação sobre a taxa de ovulação, função luteal e taxa de concepção de vacas de raças taurinas e sintéticas, que foram alocadas em dois distintos: GnRH (apenas as fêmeas que não apresentaram estro receberam GnRH) e Controle (todas as fêmeas receberam GnRH). Concluiu-se que a aplicação do GnRH não causa prejuízo na taxa de ovulação, função luteal e taxa de concepção, independente da aplicação escolhida (apenas em fêmeas que não manifestam estro ou em todas as fêmeas).