

Eficiência e acurácia de diferentes indutores de ovulação após a remoção do dispositivo de progesterona em vacas mestiças multíparas

Efficiency and accuracy of different ovulation inducers after progesterone device removal in crossbred multiparous cows

Isabella Sellmer Ramos¹ , Marcos Schaus¹ , Louise Helene Bacher¹ , Luiz Ernandes Kozicki¹ , Isabela da Silveira Padilha¹ , Marcio Saporski Segui¹ , Grassiele Gassenferth^{1*} , Romildo Romualdo Weiss² , José Antonio Dell'Aqua Junior³ 

¹Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), Curitiba, Paraná, Brasil

²Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, Paraná, Brasil

³Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, São Paulo, Brasil

*Correspondente: grassih@gmail.com

Resumo

O objetivo do estudo foi verificar a eficiência e a ovulação após a administração de diferentes indutores para a sincronização da ovulação em vacas de corte. Cento e oito vacas não-lactantes foram distribuídas em grupo controle (GC; não tratadas; n=28); grupo benzoato de estradiol (BE) (GBE; n=28); grupo 17 beta-estradiol (17BE) (G17BE; n=28) e grupo deslorelina (DES) (GDES; n=24). No dia menos 11 (D-11) do protocolo, o GC recebeu cloprostenol e exame ultrassonográfico (US); ao D0, dispositivo de progesterona (P4) foi inserido mais BE; ao D7, cloprostenol foi aplicado; ao D9, a P4 foi removida e cloprostenol mais 400 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG) foi injetada. O GBE foi submetido a tratamento idêntico ao do GC, exceto ao D10, quando as vacas receberam BE. O G17BE foi submetido ao mesmo protocolo usado no CG exceto pela administração de 17BE ao D10. E, o GDES foi submetido ao mesmo tratamento que o CG, exceto ao D10, quando o grupo recebeu o acetato de DES. Doze horas após a administração de BE, 17BE e DES, US ovarianos foram realizados a cada 6 horas. O diâmetro do folículo pré-ovulatório (FPO) medido antes da ovulação foi de 19,5; 14,7; 18,7 e 19,8 mm respectivamente para GC, GBE, G17BE e GDES; e o intervalo de tempo entre a aplicação do indutor e ovulação foi 20,2; 18,9; 21,0 e 22,5 horas respectivamente. Em conclusão, todos os indutores da ovulação foram eficientes em promover a ovulação; os indutores acarretaram ovulação entre 18,9 e 22,5 horas; o BE promoveu a ovulação em menor espaço de tempo (P<0,05); 17BE e DES demonstraram maior variação em aplicação/tempo de ovulação entre os grupos.

Palavras-chave: Indutores da ovulação; Acetato de deslorelina; Vacas; Sincronização da ovulação; 17 beta-estradiol.

Abstract

The aim of this study was to verify the efficiency and ovulation time after the administration of different inducers for synchronization of ovulation in beef cows. One hundred and eight non-lactating cows were distributed into the control group (CG; untreated; n=28), estradiol benzoate (EB) group (EBG; n=28); 17 beta-estradiol (17BE) group (17BEG; n=28), and deslorelin (DES) group (DESG; n=24). On day minus 11 (D-11) of the protocol, the CG underwent application of cloprostenol and ultrasound examination (US); on D0, progesterone (P4) was inserted plus EB; on D7, cloprostenol was applied; on D9, P4 was removed and cloprostenol plus 400 IU of equine chorionic gonadotropin (eCG) was injected. The EBG was subjected to treatment identical to that of the CG, except on D10, when the cows received EB. The 17BE was subjected to the same protocol used in the CG except for the administration of 17BE on D10. And, the DESG was subjected to the same treatment as the CG, except on D10, when the group received DES acetate. Twelve hours after the administration of EB, 17BE and DES, ovarian US were performed every 6 hours. The preovulatory follicle (POF) diameters measured before ovulation were 19.5; 14.7; 18.7 and 19.8 mm respectively for CG, EBG, 17BEG and DESG; and the time intervals between inducer application and ovulation were 20.2; 18.9; 21.0 and 22.5 hours respectively. In conclusion, all ovulation inducers were efficient in promoting ovulation; the inducers caused ovulation between 18.9 and 22.5 hours; EB promoted ovulation in a shorter time (P<0.05); 17BE and DES showed greater variation in application/ovulation time between groups.

Keywords: Ovulation inducers; Deslorelin acetate; Cows; Ovulation synchronization; 17 beta-estradiol.

Recebido: 31 de março de 2022. Aceito: 23 de maio de 2022. Publicado: 11 de agosto de 2022.



Introdução

A inseminação artificial (IA) tornou-se uma das maiores e principais ferramentas na área da produção de bovinos, promovendo o melhoramento genético do rebanho e a otimização do manejo reprodutivo dos animais. Os avanços da IA convencional redundaram no desenvolvimento da inseminação artificial em tempo fixo (IATF), evidenciada pelo aumento de 68,7% no volume de venda de sêmen bovino no último ano⁽¹⁾. O objetivo da IATF é o de aumentar a produtividade mediante manipulação de mecanismos envolvendo a fisiologia da reprodução de fêmeas bovinas⁽²⁾. O uso de protocolos hormonais para sincronizar ovulações permitiu a execução da IATF em um momento pré-determinado, excluindo a necessidade de detecção de estro⁽¹⁾. E o emprego desta ferramenta possibilita antecipar a concepção e conseqüentemente, os partos, concentrando os nascimentos em um período predeterminado⁽³⁾, e pode ser usado em vacas cíclicas ou em anestro, independentemente da fase do ciclo estral⁽⁴⁾. Para a maximização da eficiência reprodutiva à IATF há que se sincronizar a ovulação. Para isso utilizam-se indutores da ovulação, os quais possibilitam a execução de IAs em horário mais próximo da ovulação. Protocolos hormonais para a IATF também objetivam a indução da emergência de uma nova onda de crescimento folicular, o controle da duração do crescimento folicular até o estágio de folículo pré-ovulatório (FPO), a sincronização da inserção e a retirada da fonte de progesterona (P4) exógena e endógena⁽⁵⁾.

Os indutores da ovulação exercem um efeito fundamental sobre o FPO ao promoverem a ovulação enquanto os gametas estão viáveis. A ovulação do folículo dominante (FD) depende da remoção da fonte de P4 exógena (após 5 a 9 dias de exposição) executada simultaneamente com a aplicação de um indutor da ovulação⁽⁶⁾. Análogos (gonadorelina) ou superanálogos (buserelina, lecorelina, fertirelina) do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH), ésteres do estradiol^(7,8) (benzoato de estradiol, BE; e cipionato de estradiol, CE), proibidos na Comunidade Européia, a despeito da eficiência e custo-benefício⁽⁹⁾, gonadotrofina coriônica humana (hCG) e o hormônio luteinizante (LH) são alguns dos fármacos empregados como indutores da ovulação⁽¹⁰⁾. A deslorelina (DES), um superagonista do GnRH, é utilizada em protocolos de indução da ovulação em éguas⁽¹¹⁾ e em vacas^(12,13). Vários dos hormônios mencionados participam de mecanismos de feedback no eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal, a saber: após a liberação do GnRH (hipotalâmico), ocorre a liberação do FSH, atuando sobre o desenvolvimento de diversos folículos ovarianos bem como da seleção do FD. Isto irá produzir estrógenos, o qual irá atuar ao nível de hipotálamo e hipófise requerendo a liberação de LH; o qual irá promover a maturação final do FD, ovulação e formação do corpo lúteo (CL)⁽¹⁴⁾.

Existem quatro formulações comerciais de estradiol (com constituições moleculares diferentes), que podem ser utilizados em protocolos de sincronização de crescimento folicular e ovulação em vacas: BE, valerato de estradiol (VE), CE, além do 17 beta-estradiol (17BE), que é sintético, mas idêntico ao natural⁽¹⁵⁾. O BE tem sido usado para induzir

a ovulação 24 após a remoção da P4⁽¹⁶⁾. Um estudo comparativo entre o uso de BE versus o CE demonstrou que o BE induziu a ovulação em menor período após a remoção da P4⁽¹⁷⁾. Administração de BE 24 horas após a remoção da P4 resultou em ovulação entre 66 e 78 horas⁽¹⁸⁾. Crepaldi et al.⁽¹⁹⁾ avaliaram em dois estudos a taxa de ovulação e prenhez em protocolos de IATF, administrando BE no dia 8,5, concomitantemente com a remoção da P4, concluindo que o intervalo entre a remoção e a ovulação foi menor no protocolo comparado ao de outros, assim como reduziu o número de manejo de animais, sem afetar a eficiência reprodutiva em vacas de corte.

Kozicki et al.⁽¹²⁾ utilizaram a DES em vacas mestiças, visando à indução da ovulação após prévio tratamento de P4 intravaginal, obtendo taxa de ovulação de 100% após 22,3 horas da aplicação. Bartolome et al.⁽²⁰⁾ utilizaram DES sob a forma de implante subcutâneo em vacas no puerpério e verificaram indução da ovulação ao estimular o desenvolvimento de CL fisiológico. Oliveira et al.⁽¹³⁾ utilizaram a DES como indutora da ovulação 6 horas antes da inseminação e no dia da IA. Eles observaram um aumento da taxa de prenhez nos grupos tratados 53,3% e 43,8%, respectivamente, frente ao grupo controle (40,6%), o qual não havia sido tratado.

O uso de indutores da ovulação nos protocolos de IATF em bovinos tem sido sistematicamente utilizado em programas de IATF⁽²¹⁾. O BE tem sido utilizado como indutor de ovulação por anos⁽²³⁾. Entretanto, o 17BE (do mesmo grupo do BE), ainda não disponível no mercado brasileiro, pode constituir-se em promissor indutor da ovulação, assim como o acetato de DES já empregado na reprodução equina⁽¹¹⁾. A DES ainda não é utilizada largamente na reprodução bovina⁽¹²⁾, merecendo estudos sobre os dois hormônios (17BE e DES). O BE deve ser administrado em dois momentos da IATF, o primeiro no dia da inserção do dispositivo intravaginal com P4 (início do protocolo), objetivando a atresia da onda folicular e favorecendo a emergência de uma nova onda folicular, assim como após a remoção da P4, como um indutor da ovulação⁽²²⁾. Por sua vez, o 17BE teria a habilidade de induzir a ovulação em um curto espaço de tempo porque é um éster que é rapidamente metabolizado pelo organismo⁽²²⁾. Por outro lado, a DES é considerada um potente agonista do GnRH, capaz de induzir a ovulação em um curto espaço de tempo quando comparado ao GnRH⁽¹²⁾.

O objetivo do presente estudo foi verificar a eficiência (taxa de ovulação) e a precisão (número de horas requeridas) na sincronização da ovulação causada pelo BE, 17BE e DES em vacas cruzadas de corte (*Bos taurus taurus* e *Bos taurus indicus*) em protocolos de IATF.

Material e métodos

O presente estudo foi conduzido de acordo com os padrões internacionais de Bem-Estar Animal e com o consentimento dos proprietários (Diretriz 2010/63/EU do Parlamento Europeu, CEUA-PUCPR número 01742). Foram utilizadas 108 vacas múltiparas mestiças não-lactantes, *Bos taurus* [Angus preto e vermelho] x com *Bos indicus* (Nelore), idade (26 a 45 meses), peso (360 a 450 kg),

em fazendas sob as coordenadas 25° 25' 40" S e 49° 16' 23" W. Os animais permaneceram em piquetes em sistema de criação extensivo, tendo *Cynodon dactylum* (proteína bruta 14,56; FDN 71,58; FDA 31,76; lignina 31,54⁽²³⁾; Ca 0,48; P 0,53; K 1,73; Mg 0,24(dag/kg); Fe 431,6; Mn 90,04; Cd 2,76; Pb 20,9 (mg/kg)⁽²⁴⁾ com um suplemento de sal mineral para vacas de corte (FOSBOVI® 40, Zoetis, São Paulo-Brasil); cada kg do produto continha: Cálcio 223 g/kg; Fósforo (min) 174 g/kg; Enxofre (min) 24 g/kg; Cobalto (min) 100 mg/kg; Cobre (min) 1,250 mg/kg; Ferro (min) 1,795 mg/kg; Iodo (min) 90 mg/kg; Manganês (min) 2,000 mg/kg; Selênio (min) 15mg/kg; Zinco (min) 5270 mg/kg e Fluor (max) 1,740 mg/kg). A água foi oferecida *ad libitum*. Ao início do estudo (estação reprodutiva de outubro a dezembro), as vacas detinham escore da condição corporal (ECC) de 2,8 (2,5 e 3,5; escala de 1 a 5, sendo 1 = muito magra e 5 = muito gorda⁽²⁵⁾).

As vacas foram distribuídas em grupo controle (GC; n=28); grupo benzoato de estradiol (GBE; n=28); grupo 17 beta-estradiol (G17βE; n=28) e grupo deslorelina (GDES; n=24). O GC foi submetido no dia menos 11 (D-11), à aplicação de prostaglandina(PG) (500µg, cloprostenoil; im, Croniben,Biogenesis Bago, Curitiba - Paraná-Brazil) mais exame de ultrassonografia (US) (SonosCape® A6v, L531v 3,5 to 7,5 MHz transdutor, China) dos ovários, objetivando verificar a ciclicidade ovariana (presença de CL nos ovários⁽²⁶⁾); no D0, foi inserido um dispositivo intravaginal

com P4 (1g, Cronipress, Biogenesis Bago) mais a aplicação de 2 mg (im) de BE (Bioestrogen, Biogenesis Bago) + US; no D7, PGF foi aplicada; no D9, o dispositivo foi removido e PG foi novamente aplicado, mais 400 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG; im, EcEgon, Biogenesis Bago) e US ovariana; 36 horas após a remoção do dispositivo intravaginal, exames de US dos ovários foram executados de 6 em 6 horas, visando quantificar o tempo (h) até a detecção da ovulação FPO.

O GBE foi submetido a similar tratamento ao do GC, exceto que no D10 as vacas receberam 1 mg (im) de BE; o G17βE foi submetido a idêntico tratamento ao usado no GC, exceto a administração de 2 mg de 17βE (im, 17 Beta, Botupharma) ao D10; e o GDES foi submetido a idêntico tratamento ao GC, exceto que ao D10 quando este recebeu 1 mg de acetato de DES (im, Deslorelina, Botupharma).

Doze horas após a administração de BE, 17βE e DES, foram executados exames de US dos ovários a cada 6 horas para monitorar o FPO. O diâmetro do FPO foi mensurado, considerando o maior diâmetro mais o menor diâmetro dividido por 2⁽²⁷⁾. A presença de ovulação foi considerada quando o FPO do dia anterior não estava presente no ovário pela visualização, via US, do local da ovulação. A Figura 1 mostra os protocolos hormonais utilizados nos respectivos grupos de vacas.

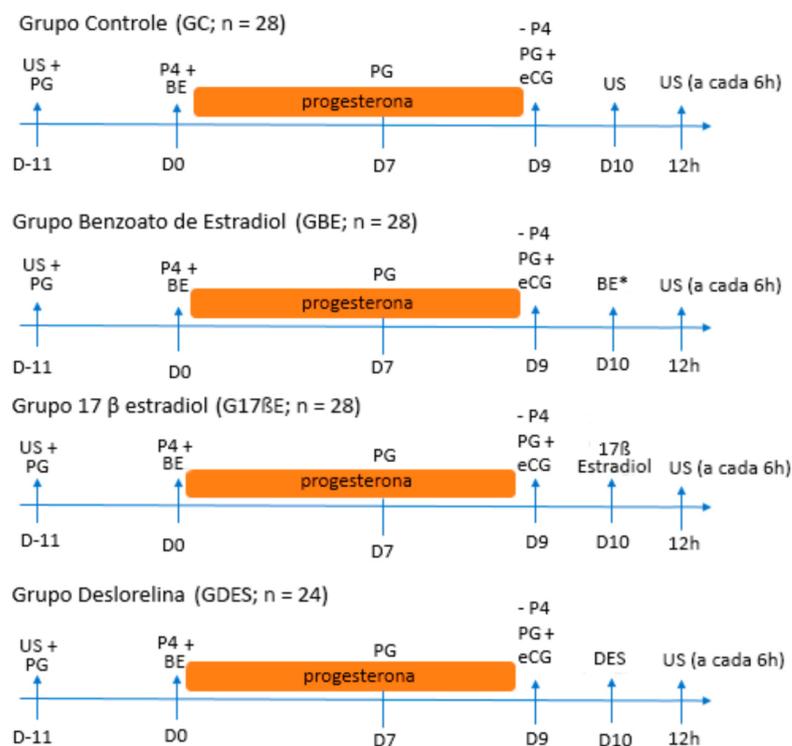


Figura 1. Diagramas dos protocolos usados para vacas cruzadas, para a sincronização da ovulação. Legenda: US (ultrassonografia); PG (cloprostenoil; 500 µg, im, Biogenesis Bago, Curitiba - Paraná - Brazil); P4 (dispositivo intravaginal com progesterona; 1 g; Biogenesis Bago); BE (benzoato de estradiol; 2 mg; BE*=1 mg, im; Biogenesis Bago); eCG (gonadotrofina coriônica equina; 400UI; im; Biogenesis Bago); 17β estradiol (2 mg; im, Botupharma; Botucatu, São Paulo); DES (acetato de deslorelina; 1mg; im; Botupharma).

Análise estatística

As diferenças das variáveis dimensões do diâmetro do FPO entre os grupos, bem como intervalo de tempo entre a aplicação do indutor e a ovulação foram calculadas mediante o teste de Bonferroni e para a homogeneidade da variância foi usado o teste de Levene. Para verificar a correlação intragrupos e intergrupos, entre o diâmetro do FPO versus o número de horas requeridas para a ovulação, foi aplicado o teste de correlação de Pearson. O nível de significância utilizado foi de $p < 0,05$.

Resultados e discussão

A sincronização da ovulação com vistas à IATF emergiu como uma das mais avançadas biotécnicas reprodutivas na recente década⁽²⁸⁾. Desde que Pursley et al.⁽²⁹⁾ desenvolveram um protocolo de IATF para bovinos de leite, significativos avanços foram observados em relação à IA, enfatizando o aumento do volume de doses de sêmen comercializadas no Brasil⁽¹⁾. Isto foi fundamental para o aumento da fertilidade do rebanho em função de que os novos conhecimentos nesta área incrementaram a taxa de fertilidade. Este projeto visou disponibilizar conhecimentos para auxiliar profissionais e pecuaristas, que trabalham na área da IATF em bovinos. Indutores da ovulação, similares aos utilizados no presente estudo, podem resultar no aumento da performance reprodutiva; portanto eles podem ser rotineiramente utilizados em protocolos de IATF para melhor prever o tempo da ovulação⁽⁸⁾.

Para sincronizar a ovulação, o BE, o 17BE e o acetato de DES foram utilizados. O diâmetro médio do FPO foi significativamente diferente entre o G17BE, a GDES e o GC comparado ao GBE ($p = 0,0001$), deixando claro a variabilidade das respostas do FPO, mesmo frente a idêntico tratamento aplicado aos grupos no dia 9 do protocolo (tabela 1). Fisiologicamente, o crescimento e o diâmetro do FPO estão relacionados à concentração de estradiol, devido ao maior número de células da granulosa, favorecendo ao aumento da taxa de concepção⁽³⁰⁾, devido a ação do pico pré-ovulatório do LH, otimizando a taxa de ovulação⁽³¹⁾.

Os dados do estudo demonstraram que o BE induziu significativamente a ovulação em menor período de tempo, comparado aos demais grupos ($p = 0,000$; Tabela 1). Na realidade, o FPO dos animais do GBE possuía menor média de diâmetro. Hipoteticamente, estes folículos portavam menor número de células da granulosa em função do menor tamanho. Mesmo assim, o GBE respondeu à indução da ovulação, 18 horas após a sua administração, antes mesmo do 17BE, um éster sintético com idênticas características ao natural⁽¹⁵⁾, ou à DES, um superagonista do GnRH empregado em éguas⁽¹¹⁾ ou em vacas^(12,13). Um teste para verificar a correlação existente entre o diâmetro do FPO versus o número de horas requeridas para a ovulação foi aplicado intragrupo assim como entre os

grupos. A correlação intragrupo foi observada no GDES ($p < 0,009$), mas não nos outros grupos; GDES apresentou a mais elevada média de diâmetro de FPO entre os grupos (19,8 mm) e requereu mais horas para a ovulação (22,5h). Por outro lado, o BE, mesmo com diâmetro médio de 14,7 mm, induziu a ovulação após 18 horas da aplicação. Neste sentido, deve-se considerar o número de horas entre a aplicação dos indutores e a ausência do FPO (desconsiderando a formação do CL), assim como o acompanhamento do FPO foi feito a cada 6 horas, provendo uma melhor acurácia no tempo de ovulação; o que resultou em uma correlação geral intergrupos significativa ($p < 0,000,1$) (Tabela 2).

Tabela 1. Efeitos de diferentes indutores da ovulação administrados em vacas de corte cruzadas, relativo às dimensões do folículo pré-ovulatório (FPO), tempo demandado entre a administração do indutor até ovulação e lado ovariano ovulado, com vistas à sincronização da ovulação

Grupos de vacas(n)	Dimensões do FPO(mm); (x±s)	Tempo aplicação do indutor à ovulação (horas); (x±s)	Taxa de ovulação (%)
Controle (28)	19,4 ± 1,0 ^{ab}	20,2 ± 3,0 ^b	100
Benzoato de estradiol (28)	14,7 ± 2,0 ^c	18,0 ± 0,0 ^c	100
17 beta-estradiol (28)	18,7 ± 1,7 ^c	21,0 ± 3,8 ^{ab}	100
Desloreline (24)	19,8 ± 1,0 ^a	22,5 ± 2,6 ^a	100
Valor de P	0,0001	0	

Valores com diferentes letras na mesma coluna foram considerados estatisticamente diferentes de acordo com os valores de P acima.

Tabela 2. Correlação entre os valores de diâmetro do folículo pré-ovulatório (FPO) e o número de horas entre a administração do indutor e a ocorrência da ovulação em vacas cruzadas

Grupos	Correlação de Pearson	Valor de P
Intragrupos		
Controle	0,2512	1,973
Benzoato de estradiol (não possível, todos os valores são similares)	-	-
17 beta-estradiol	0,1307	0,5075
Desloreline	0,05213	0,009
Intergrupos	0,4024	0,0001

Contrastando os dados do presente estudo, Cavalieri et al.⁽³²⁾ trabalharam com novilhas de corte cruzadas zebuínas-taurinas. Eles observaram um intervalo de 50 horas entre a aplicação do BE e a ovulação, um tempo similar ao obtido por Martinez et al.⁽³³⁾, os quais reportaram um intervalo de 53,30 h para a ovulação em vacas taurinas após o uso de BE ou mesmo do 17BE. Estudos de Sales et al.⁽³⁴⁾, relatam que novilhas Nelore ovariectomizadas mostraram um pico de LH induzido dentro de 19,6 h após a aplicação de BE. Em outro estudo, Sellars et al.⁽³⁵⁾

administraram estrógenos em protocolo de IATF com monitoramento da ovulação em vacas. Eles observaram ovulação entre 16 e 32 horas após a administração e com 100% de ovulação. Estes dados reforçam os verificados no presente estudo visto que as ovulações aconteceram dentro de 24 horas em todos os grupos, inclusive nos animais do grupo controle. Um dos fatores que podem ter contribuído para este menor espaço de tempo para a ovulação pode ser atribuído ao fato de que as vacas não eram lactantes, favorecendo o surgimento do pico pré-ovulatório do LH.

Outro fator que pode ser considerado é o de que Sales et al.⁽³⁴⁾ e Sellars et al.⁽³⁵⁾ não usaram o eCG, contrariamente ao presente estudo, onde empregou-se 400 UI de eCG. É possível que, o eCG aplicado no dia 9 do protocolo tenha influenciado o desenvolvimento do FPO pela ligação de receptores de FSH e LH, resultando em aumento da taxa de crescimento folicular, originando maior FPO, aumentando a possibilidade de ovulação⁽³⁶⁾. A inclusão do eCG em protocolos de sincronização da ovulação está relacionada ao aumento do crescimento folicular resultando em maior resposta dos hormônios indutores da ovulação⁽¹⁶⁾. Ainda em relação a ação e dosagem de eCG sobre o desenvolvimento do FD, Prata et al.⁽³⁷⁾ reportam a administração de 300 UI of eCG (im) na fase final do crescimento folicular em vacas Nelore. Eles não observaram diferenças no diâmetro do maior folículo no dia 8 e 10 do protocolo entre os grupos constituídos (controle, eCG, e três grupos hCG), porém, o crescimento do FD foi maior nos grupos eCG e hCG.

Conclusão

Todos os indutores da ovulação foram eficientes para promover a ovulação em vacas; os indutores acarretaram a ovulação entre 18,9 e 22,5 horas pós aplicação; o BE promoveu a ovulação em menor período de tempo após a administração do que os outros indutores ($P < 0,05$); o 17BE e a DES mostraram maior variação de tempo entre a aplicação e a ovulação entre os grupos.

Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Contribuições do autor

Investigação: I. S. Ramos, M. Schaus e L. H. Bacher. *Gerenciamento do projeto:* L. E. Kozicki. *Visualização:* I. da S. Padilha. *Curadoria dos dados:* M. S. Segui. *Redação (esboço original):* L. E. Kozicki. *Redação (revisão e edição):* G. Gassenferth. *Validação:* R. R. Weiss e J. A. Dell'Aqua Junior.

Agradecimentos

Agradecemos ao Laboratório Botupharma pela doação do acetato de deslorelina e do 17 beta-estradiol.

Referências

1. ASBIA (Associação Brasileira de Inseminação Artificial). 2021. <https://www.portaldbo.com.br/asbia-numero-de-doses-de-semen-de-bovinos-de-corte-cresce-687-em-2021/>
2. Bó GA, Cutaia L, Baruselli P. Programas de inseminación artificial y transferencia de embriones a tempo fijo. In: Biotecnología da Reprodução em Bovinos, 1 Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada. Londrina, PR: Editora Londrina. 2004;56-81. Disponível em: https://siraa.com.br/novo/wp-content/uploads/2018/04/1_anais_2004.pdf.
3. Lima AEA, Carneiro YF, Beltrão LCF, Abreu DAC, Rabello DA, Brandstetter EV, et al. Progesterona injetável em vacas nelores submetidas a protocolos de inseminação artificial em tempo fixo. Brazilian Journal of Development. 2020;6(3):14903-14908. Disponível em: <https://doi.org/10.34117/bjdv6n3-388>.
4. Gottschall CS, Marques PR, Canelas L, Almeida MR. Aspectos relacionados à sincronização do estro e ovulação em bovinos de corte. A Hora Veterinária. 2008; 164:43-48.
5. Bó GA, Baruselli PS, Martinez MF. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. Animal Reproduction Science. 2003;78(3-4):307-326. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(03\)00097-6](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(03)00097-6).
6. Baruselli PS, Marques MO, Carvalho NAT, Madureira EH, Campos Filho EP. Efeito de diferentes protocolos de inseminação artificial em tempo fixo na eficiência reprodutiva de vacas de corte lactantes. Revista Brasileira de Reprodução Animal. 2002;26(3):218-221. Disponível em: <https://repositorio.usp.br/item/001300827>.
7. Silva OR, Mello MRB, Silenciato LN, Ferreira JE, Couto SRB, Fajardo RSL, Resende OA. Comparison of estradiol benzoate and cypionate in Girolando cows submitted to a timed artificial insemination. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science. 2019;56(3):e155078. <https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2019.155078>
8. Oliveira FA, Almeida ÍC, Penitente Filho JM, Torres CAA. Estradiol e GnRH na sincronização do estro e indução da ovulação de vacas mestiças. Revista Caatinga. 2020, 33, (3):815-823. Epub Sep 07, 2020. ISSN 0100-316X. <https://doi.org/10.1590/1983-21252020v33n325rc>.
9. Hoga CA, Almeida FL, Reyes FGR. A review on the use of hormones in fish farming: analytical methods to determine their residues. Cyta – Journal of food. 2018. 16(1): 679-691 <https://doi.org/10.1080/19476337.2018.1475423>
10. D'Avila CA, Moraes FP, Junior TL, Gasperin BG. Hormônios utilizados na indução da ovulação em bovinos – Artigo de revisão. Revista Brasileira de Reprodução Animal. 2019;43(4):797-802. Disponível em: <http://www.cbra.org.br/portal/downloads/publicacoes/rbra/v43/n4/P797-802%20-%20RB821%20-%20Camila%20Amaral%20D%20Avila.pdf>.
11. Farias LD, Neves AP, Rechsteiner SMEF, Tarouco AK. Indução da ovulação em éguas: uma revisão. Revista Brasileira de Reprodução Animal. 2016;40(1):17-21. Disponível em: [http://cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/v40/n1/p17-21%20\(RB611\).pdf](http://cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/v40/n1/p17-21%20(RB611).pdf).
12. 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. Academia Journal of Agricultural Research. 2013;1(3):036-038. Disponível em: [http://cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/v40/n1/p17-21%20\(RB611\).pdf](http://cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/v40/n1/p17-21%20(RB611).pdf).
13. Oliveira LSR, Souza ALB, Kozicki LE, Segui MS, Pedrosa VB, Dell'Aqua Junior JA, et al. Potencial da deslorelina como agente indutor da ovulação em vacas primíparas *Bos taurus indi-*

- cus na inseminação artificial em tempo fixo. Veterinária. e Zootecnia. 2017;24(2):363-372. Disponível em: <https://rvz.emnuvens.com.br/rvz/article/view/317>.
14. Senger PL. The follicular phase. In: Senger PL. Pathways to pregnancy & Parturition, 3rd edition, 2012, p 159-179.
15. Reames PS, Hatler TB, Hayes SH, Ray DL, Silvia WJ. Differential regulation of 24 estrous behavior and luteinizing hormone secretion by estradiol-17 in ovariectomized dairy cows. Theriogenology. 2011;75(2):233–240. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.08.009>.
16. Baruselli OS, Ayres H, Souza AH, Martins CM, Gimenes LU, Torres-Júnior JRS. Impacto da IATF na eficiência reprodutiva em bovinos de corte. In: Biotecnologia da Reprodução em Bovinos, 2 Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, Londrina, PR: Editora Londrina. 2006;103-132. Disponível em: http://sira.com.br/novo/wp-content/uploads/2018/04/2_binder1.pdf.
17. Torres-Júnior JS, Penteado L, Sales JS, Sá Filho MF, Ayres H, Baruselli PS. A comparison of two different esters of estradiol for the induction of ovulation in an estradiol plus progesterin-based timed artificial insemination protocol for suckled *Bos indicus* beef cows. Animal Reproduction Science. 2014;151(1-2):9-14. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2014.09.019>.
18. Pfeifer LM, Siqueira LB, Arashiro EN, Castro NA, Viana J. Prostaglandin F_{2α} or estradiol benzoate to induce ovulation in timed artificially inseminated dairy cows. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 2016;51(06):738-744. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2016000600005>.
19. Crepaldi GA, Sales JNS, Giroto RW, Carvalho JGS, Baruselli PS. Effect of induction of ovulation with estradiol benzoate at P4 device removal on ovulation rate and fertility in *Bos indicus* cows submitted to a TAI protocol. Animal Reproduction Science. 2019; 209: 106141. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.106141>.
20. Bartolome JA, Santos JEP, Pancarci SM, Melendez P, Artech ACM, Hernandez O, et al. Induction of ovulation in nonlactating dairy cows and heifers using different doses of a deslorelin implant. Theriogenology. 2004;61(2-3):407-419. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(03\)00241-3](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(03)00241-3).
21. Baruselli PS, Reis EL, Marques MO, Nasser LF, Bo GA. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrous beef cattle in tropical climates. Animal Reproduction Science. 2004;82-83:479-86. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.04.025>.
22. Moenter SM, Caraty A, Karsch FJ. The estradiol-induce surge of gonadotropin-releasing hormone in the ewe. Endocrinology. 1990;127(3):1375-1384. Disponível em: <https://doi.org/10.1210/endo-127-3-1375>.
23. Guimarães YSR, Pinheiro DN; Fróes RS; Silva GL, Falcão Neto MC, Jesus JS, Danilo Santos DCC, Ribeiro OL. Composição Bromatológica do Tifton 85 (*Cynodon* spp). Em: Anais do Congresso Brasileiro de Zootecnia; 22-24 de fevereiro, Campinas: Galoá; 2017. INSS 2358-2030. Disponível em: <https://proceedings.science/zootec/papers/composicao-bromatologica-do-tifton-85--cynodon-spp>.
24. Matos AT, Silva DF, Lo Monaco PAV, Pereira OG. Produtividade e composição química do capim-tifton 85 submetido a diferentes taxas de aplicação do percolato de resíduo sólido urbano. Engenharia Agrícola. 2013; 33(1). <https://doi.org/10.1590/s0100-69162013000100019>
25. Bohnert DW, Stalker LA, Mills RR, Nyman A, Falck SJ, Cooke RF. Late gestation supplementation of beef cows differing in body condition score: Effects on cow and calf performance. Journal of Animal Science. 2014;91(11):5485–5491. Disponível em: <https://doi.org/10.2527/jas.2013-6301>.
26. 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). Archives of Veterinary Science. 2015;20(1):22-29. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5380/avs.v20i1.39101>.
27. Figueiredo RA, Barros CM, Pinheiro OL, Sole JMP. Ovarian follicular dynamics in Nelore breed (*Bos indicus*) cattle. Theriogenology. 1997;47(8):1489-1505. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(97\)00156-8](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(97)00156-8).
28. Wiltbank MC, Pursley JR. The cow as an induced ovulator: Timed AI after synchronization of ovulation. Theriogenology. 2014;81(1):170–185. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2013.09.017>.
29. Pursley JR, Mee MO, Wiltbank MC. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF_{2α} and GnRH. Theriogenology. 1995 44(7):915-23. doi: [10.1016/0093-691x\(95\)00279-h](https://doi.org/10.1016/0093-691x(95)00279-h).
30. Sá Filho MF, Crespillo AM, Santos JE, Perry PGA, Baruselli PS. Ovarian follicle diameter at timed insemination and estrous response influence likelihood of ovulation and pregnancy after estrous synchronization with progesterone or progesterin-based protocols in suckled *Bos indicus* cows. Animal Reproduction Science. 2010;120(1-4):23-30. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.03.007>.
31. Pursley JR, Kosorok MR, Wiltbank MC. Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. Journal Dairy Science. 1997; 80:301-306. Disponível em: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(97\)75938-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)75938-1).
32. Cavalieri J, Coleman C, Rodrigues H, Macmillan KL, Fitzpatrick LA. The effect of timing of administration of oestradiol benzoate on characteristics of oestrus, timing of ovulation and fertility in *Bos indicus* heifers synchronized with a progesterone releasing intravaginal insert. Australian Veterinary Journal. 2002;80(4):217-223. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2002.tb10817.x>.
33. Martinez MF, Kastelic JP, Bó GA, Caccia M, Mapletoft RJ. Effects of oestradiol and some of its esters on gonadotrophin release and ovarian follicular dynamics in CIDR-treated beef cattle. Animal Reproduction Science. 2005;86(1-2):37-52. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.06.005>.
34. Sales JNS, Carvalho JBP, Crepaldi GA, Cipriano RS, Jacomini JO, Maio JRG, et al. Effects of two estrus (bezoate and Cypionate) on the induction of synchronized ovulations in *Bos indicus* cows submitted to timed artificial insemination protocol. Theriogenology. 2012;78(3):510-516. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.02.031>.
35. Sellars CB, Dalton JC, Manzo R, Day J, Ahmadzadeh A. Time and incidence of ovulation and conception rates after incorporating estradiol cypionate into a timed artificial insemination protocol. 2006. 89(2):620-626. DOI:[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72125-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72125-7).
36. Binelli M, Thatcher WW, Mattos R, Baruselli PS. Antiluteolytic strategies to improve fertility in cattle. Theriogenology. 2001;56(9):1451-1463. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(01\)00646-X](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(01)00646-X).
37. Prata AB, Drum JN, F, Araujo ER, Sartori R. Effect of different chorionic gonadotropins on final growth of the dominant follicle in *Bos indicus* cows. Theriogenology. 2018; 111:52-55.