

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA**

AMANDA DE PAULA PAIM

**O USO DO PROTOCOLO DE SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO CO-SYNCH 5
DIAS MODIFICADO AUMENTA A TAXA DE PREENHEZ DE NOVILHAS
LEITEIRAS?**

Uberlândia – MG

2023

AMANDA DE PAULA PAIM

**O USO DO PROTOCOLO DE SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO CO-SYNCH 5
DIAS MODIFICADO AUMENTA A TAXA DE PREENHEZ DE NOVILHAS
LEITEIRAS?**

Trabalho de Conclusão de Curso à Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em Medicina Veterinária.

Área de concentração: Reprodução animal
Orientador: Prof^ª. Dr^ª. Ricarda Maria dos Santos

Uberlândia – MG

2023

AMANDA DE PAULA PAIM

**O USO DO PROTOCOLO DE SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO CO-SYNCH 5
DIAS MODIFICADO AUMENTA A TAXA DE PREENHEZ DE NOVILHAS
LEITEIRAS?**

Trabalho de Conclusão de Curso à Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em Medicina Veterinária.

Área de concentração: Reprodução animal

Uberlândia, 13 de novembro de 2023.

Banca examinadora:

Prof^ª. Dra. Ricarda Maria dos Santos
Médica Veterinária / Docente FAMEV

Prof^ª. Dra. Renata Lançoni
Médica Veterinária / Docente FAMEV

Ms. Natani Silva Reis
Zootecnista / Universidade Federal de Uberlândia

Dedico este trabalho aos meus pais, Adilson e
Valéria.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar a Deus, por ter me concedido saúde e forças para que eu pudesse realizar o sonho de me tornar Médica Veterinária.

Aos meus pais, Adilson e Valéria, por terem me incentivado e me dado apoio durante essa jornada, além de todo amor ao longo da vida.

Ao meu irmão Bruno e sua família, por todo carinho. Sobretudo, à minha pequena sobrinha Maria Luísa, por trazer tanta alegria para nossa família, amenizando as preocupações.

Ao Vítor, pelo carinho mesmo à distância e pelo apoio tão significativo.

À minha orientadora Ricarda Maria dos Santos, que se tornou uma inspiração para mim, por todos os ensinamentos ao longo da graduação, por todas as orientações, auxílios e incentivos na minha carreira.

Ao querido professor Robson Carlos Antunes, por todas as oportunidades que me concedeu. Ao restante do grupo PET Medicina Veterinária, por tanta aprendizagem e crescimento profissional que me foi permitido.

Aos amigos que encontrei durante essa caminhada. Ao grupo GOB, pela amizade, acolhimento, parceria e risadas. À Allyne, por tornar os momentos de dificuldade um pouco mais divertidos.

À professora Renata Lançoni, pela oportunidade que me foi concedida ao me aceitar no grupo GEBRA, por todos os ensinamentos ao longo dessa caminhada e pelo aceite em participar da banca de defesa deste trabalho, assim como à Mestra Natani Reis.

Aos professores que fizeram parte dessa jornada, desde a minha alfabetização ao último dia da minha graduação. Sem vocês nada disso teria sido possível!

“Às estrelas que ouvem e aos sonhos que são
atendidos.”

Sarah J. Maas

RESUMO

A inseminação artificial em tempo fixo (IATF) é a biotécnica da reprodução mais utilizada nos rebanhos bovinos do Brasil. Desde o surgimento dessa biotécnica, vários protocolos diferentes foram elaborados buscando melhores taxas de prenhez. A inseminação artificial (IA) em novilhas é um desafio. Assim, protocolos a base do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) ou a base de progesterona (P4) são testados a fim de aumentar a taxa de prenhez das novilhas. Estudos indicam que o uso do protocolo CO-Synch de 5 dias resultou em taxas de prenhez de 50,7% quando utilizado na IA desse grupo de animais. Objetivou-se com esse estudo avaliar o efeito do protocolo CO-Synch de 5 dias modificado na taxa de prenhez por IATF em novilhas leiteiras mestiças. Foram avaliadas 386 novilhas de uma fazenda comercial, localizada no Município de Guimarães, MG. Elas foram divididas em 3 grupos: Grupo CO-Synch de 5 dias modificado (n = 32): recebeu o tratamento com uma dose de 1,0 mL de GnRH no D0, juntamente com a inserção do dispositivo intravaginal de liberação lenta de P4, que foi retirado após 5 dias e administração de 2,0 mL de Prostaglandina F2 α (PGF2 α), com repetição da PGF2 α no D6 e aplicação de 0,5 mL de cipionato de estradiol (ECP), seguido da IA após 48 horas; Grupo Protocolo de 9 dias a base de P4 e BE (n = 67); e Grupo detecção de estro e IA convencional (n= 287). O diagnóstico de gestação foi realizado por ultrassonografia transretal de 28 a 40 dias pós IA. Os dados foram analisados por regressão logística no Programa MINITAB, sendo incluído no modelo o efeito de grupo. A taxa de prenhez para o Grupo CO-Synch de 5 dias modificado foi de 53,13%, sendo (P = 0,032) menor do que a do Grupo detecção de estro e IA convencional (71,78%), porém igual a do Grupo Protocolo de 9 dias (68,66%). Conclui-se que o protocolo CO-Synch de 5 dias modificado utilizado no presente estudo resultou em uma taxa de prenhez inferior quando comparado com as novilhas inseminadas após a detecção de estro natural.

Palavras-chave: Inseminação Artificial em Tempo Fixo. Reprodução Animal. Novilhas Leiteiras.

ABSTRACT

Fixed-time artificial insemination (TAI) is the most widely used reproductive biotechnique in cattle herds in Brazil. Since the emergence of this biotechnique, different protocols have been developed aiming to improve pregnancy rates. Artificial insemination (AI) in heifers is a challenge. Thus, protocols based on gonadotropin-releasing hormones (GnRH) or progesterone (P4) are tested to increase the pregnancy rate of heifers. Studies indicate that the use of the 5-day CO-Synch protocol resulted in pregnancy rates of 50.7% when used in AI in this group of animals. The aim of this study was to evaluate the effect of modified 5-day CO-Synch protocol on the TAI pregnancy rate in new crossbred dairy cows. 386 heifers were evaluated from a commercial farm, located in the city of Guimarães, MG. They were divided into 3 groups: Modified 5-day CO-Synch Group (n = 32): received treatment with a dose of 1.0 mL of GnRH on D0, additionally with the P4 slow-release intravaginal device input, which was removed after 5 days and administration of 2.0 mL of Prostaglandin F2 α (PGF2 α), with a second dose of PGF2 α on D6 and application of 0.5 mL of estradiol cypionate (ECP), followed by AI after 48 hours; 9-day Protocol Group based on P4 and BE (n = 67); and Group estrus detection and conventional AI (n= 287). Pregnancy diagnosis was performed by transrectal ultrasound 28 to 40 days after AI. The data were analyzed using logistic regression in the MINITAB Program, with the group effect being included in the model. The pregnancy rate for the modified 5-day CO-Synch Group was 53.13%, being (P = 0.032) lower than estrus detection and conventional AI Group (71.78%), but similar to that of the 9-day Protocol Group (68.66%). It is concluded that the modified 5-day CO-Synch protocol used in the present study was proven to have a lower pregnancy rate when compared to new inseminates after detection of natural estrus.

Keywords: Fixed Time Artificial Insemination. Animal Reproduction. Dairy Heifers.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BE	Benzoato de Estradiol
CL	Corpo Lúteo
CO-5d	Protocolo CO-Synch 5 dias modificado
ECP	Cipionato de Estradiol
E2	Estradiol
GnRH	Hormônio Liberador das Gonadotrofinas
IA	Inseminação Artificial
IATF	Inseminação Artificial em Tempo Fixo
LH	Hormônio Luteinizante
P4	Progesterona
P4-9d	Protocolo a base de P4 e E2
PGF2 α	Prostaglandina F2 α

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1 Puberdade	16
2.2 Novilhas de reposição	17
2.3 Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF)	18
<i>2.3.1 Protocolos de IATF desenvolvidos a partir do protocolo Ovsynch:</i>	<i>19</i>
<i>2.3.1.1 Heatsynch:</i>	<i>19</i>
<i>2.3.1.2 Presynch:</i>	<i>20</i>
<i>2.3.1.3 Double Synch:.....</i>	<i>21</i>
<i>2.3.1.4 CO-Synch:</i>	<i>21</i>
3 METODOLOGIA.....	23
4 RESULTADOS	25
5 DISCUSSÃO	27
6 CONCLUSÃO.....	29
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação esquemática do protocolo Ovsynch.....	19
Figura 2 - Representação esquemática do protocolo Heatsynch.....	20
Figura 3 - Representação esquemática do protocolo Presynch.....	20
Figura 4 - Representação esquemática do protocolo Double-Synch.....	21
Figura 5 - Representação esquemática do protocolo CO-Synch.....	22
Figura 6 - Representação esquemática do protocolo CO-Synch de 5 dias modificado (CO-5d) e do protocolo a base de P4 e BE descrito por Cardoso et al. (2006) (P4-9d).....	24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Taxa de prenhez das novilhas mestiças leiteiras de acordo com o grupo de tratamento.....	26
--	----

1 INTRODUÇÃO

A inseminação artificial (IA) é um processo no qual é depositado sêmen do útero da fêmea bovina, com o auxílio de equipamentos adequados, visando a fecundação (FERREIRA et al., 2021). Essa biotecnologia vem sendo estudada no Brasil desde meados de 1938 (BARBOSA e MACHADO, 2008).

Com o objetivo de facilitar a IA nas propriedades, diminuir mão de obra e evitar a necessidade de detecção de estro, foram desenvolvidos protocolos hormonais que permitem a inseminação artificial em tempo fixo (IATF), e que também podem aumentar a eficiência reprodutiva das vacas, quando bem conduzida (RHODES et al., 2003). Além disso, protocolos a base de GnRH, PGF2alfa e progesterona auxiliam na indução de ciclicidade e de estro (BHORANIYA et al., 2012). Contudo, desde o início do uso dos protocolos de sincronização para novilhas, é observada uma baixa taxa de prenhez, quando essas são inseminadas após a sincronização da ovulação em comparação quando inseminadas posteriormente à detecção visual de estro (RABAGLINO et al., 2010).

Na década de 90 houve o surgimento dos primeiros protocolos de IATF para bovinos, a partir do desenvolvimento do protocolo Ovsynch, que passou por diversas modificações ao longo dos anos com o objetivo de facilitar os manejos e aumentar as taxas de prenhez (BARUSELLI et al., 2019). Inicialmente, o protocolo Ovsynch consistiu de uma aplicação de hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) no D0, prostaglandina F2 α (PGF2 α) no D7 e uma segunda aplicação de GnRH no D9, seguida da inseminação após 16 horas (PURSLEY et al., 1995). A primeira aplicação de GnRH causa ovulação ou luteinização de folículos dominantes, permitindo que uma nova onda de crescimento folicular inicie (MACMILLAN e THATCHER, 1991); a PGF2 α aplicada 7 dias depois induz a regressão do corpo lúteo (CL) (SCHMITT et al., 1996); a segunda e última aplicação de GnRH tem como objetivo sincronizar a ovulação do folículo dominante, e a IATF é recomendada 16 a 20 horas após sua administração (PURSLEY et al., 1995).

Durante o uso do protocolo Ovsynch, foram encontradas menores taxas de prenhez do que na IA após a detecção visual de estro em novilhas, sendo esses números respectivamente 31,1% e 74,4% (PURSLEY et al., 1997). Ocorreu então uma adaptação do protocolo Ovsynch, chamada de CO-Synch, onde passou-se a realizar a inseminação concomitantemente à segunda aplicação de GnRH, além da adição de um dispositivo de

progesterona (P4) simultaneamente à primeira aplicação de GnRH, no D0, com retirada no D5, o que demonstrou uma melhor taxa de prenhez aos 32 dias de IA em novilhas leiteiras quando comparado com protocolos sem a administração da primeira aplicação de GnRH, sendo 61,7% e 55,0%, respectivamente (LIMA et al., 2013; SILVA, 2016).

O uso do estradiol também já se mostrou eficiente quando utilizado no final do protocolo de IATF, pois sua administração estimula a liberação de GnRH e consequente pico de hormônio luteinizante (LH), causando a ovulação do folículo dominante (MOENTER et al., 1990).

Assim, foi proposto a utilização de um protocolo curto para novilhas de corte, no qual o tempo de permanência do dispositivo de progesterona seria de 5 dias (BRIDGES et al., 2008). Posteriormente, foram comparados os resultados de um protocolo CO-Synch com uso do dispositivo de P4 por 5 dias com os resultados desse mesmo protocolo com o uso do dispositivo de P4 por 7 dias, sendo que os resultados foram favoráveis ao protocolo CO-Synch de 5 dias (BRIDGES et al., 2008). Bridges et al. (2014), explicaram que o uso do dispositivo de P4 durante 5 dias leva à melhores condições pré-ovulatórias, com maiores concentrações de E2 e PGF2alfa, principalmente nos animais que não ovularam após a primeira administração de GnRH, o que é comum em novilhas. Esses autores ainda ressaltaram que quando utilizado o dispositivo de P4 durante 7 dias, houve uma diminuição do diâmetro do folículo dominante e redução nas concentrações de E2 e PGF2alfa, devido ao tempo em que o folículo dominante permaneceu nessa posição, tornando-se velho e perdendo qualidade. A partir de então, o protocolo CO-Synch 5 dias foi utilizado para novilhas leiteiras, resultando em uma taxa de prenhez por IATF de 50,7% (RABAGLINO et al., 2010).

McDougall et al. (2013) demonstraram que o uso do protocolo CO-Synch + P4 resultou em uma maior taxa de concepção (57%) à primeira inseminação de novilhas leiteiras, quando comparado com outros protocolos.

Segundo a Zoetis (2023), a taxa de prenhez de novilhas leiteiras no Brasil no ano de 2023 com a utilização da IATF foi de 41,8%, enquanto com o uso da IA convencional a partir da observação de estro natural foi de 48,2%. Novilhas leiteiras mestiças apresentaram taxa de prenhez na primeira inseminação quando utilizado IATF de 40,4% e por IA convencional de 49,2%, enquanto novilhas holandesas tiveram taxa de prenhez de 45,1% e 51,3%, respectivamente.

Assim, o objetivo com este trabalho foi avaliar a taxa de prenhez por IATF de novilhas mestiças leiteiras de uma fazenda comercial localizada no Município de Guimarães, Minas Gerais, Brasil, submetidas ao protocolo CO-Synch de 5 dias modificado. Espera-se que esse

tratamento resulte em melhores taxas de prenhez em novilhas devido ao menor tempo de utilização do dispositivo de P4 e uso do ECP.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Puberdade

Podemos definir puberdade na espécie bovina como sendo o momento em que ocorre a primeira ovulação e a fêmea adquire a capacidade de se reproduzir, sendo resultante de alterações fisiológicas e morfológicas da novilha precedendo a concepção e manutenção da gestação (FILHO, 2011).

Os principais sistemas que deflagram a puberdade em fêmeas bovinas estão relacionados à nutrição, peso corporal e composição, raças, genética e fatores ambientais (ESTILL, 2021). Qualquer fator que interfira no crescimento antes da puberdade pode atrasá-la, como desnutrição proteico-energética, doenças infectocontagiosas, condições climáticas adversas, etc.

O eixo hipotálamo-hipófise-gonadal das fêmeas passa por mudanças desde o desenvolvimento fetal, quando até os sete meses há secreção de gonadotrofinas, que após esse período são reduzidas por uma estimulação do sistema nervoso central do feto (LEVASSEUR, 1979). Em ovelhas foi observado que a redução da secreção de gonadotrofinas ao final da gestação ocorre devido uma inibição dos receptores N-Metil-D-Aspartato, sendo estes os possíveis estimuladores do GnRH no hipotálamo fetal (BETTENDORF et al., 1999).

Após o nascimento, a concentração plasmática média de LH de uma bezerra atinge o máximo em cerca de 3 meses, voltando a diminuir vagarosamente após essa fase e aumentando novamente aos 10 – 11 meses de idade, quando haverá a primeira ovulação (SCHAMS et al., 1981). Durante o período pré púbere ocorre a maturação do hipotálamo, resultando na diminuição do efeito de feedback negativo que o estradiol exerce sobre esse centro, levando à um aumento dos pulsos de liberação de GnRH e consequentemente de LH e desenvolvimento do centro de pico de LH (KINDER et al., 1995). Contudo esses eventos só acontecem quando a composição corporal adequada é atingida pela fêmea (ANDERSON et al., 1986). O aumento da concentração plasmática de LH durante os primeiros meses de vida da fêmea pode ser decorrente a um desenvolvimento folicular precoce (ESTILL, 2021) e a queda nos meses subsequentes devido ao aumento da sensibilidade do hipotálamo ao feedback negativo em resposta ao estradiol (ANDERSON et al., 1986).

Sabe-se que o diâmetro dos folículos dominantes encontrados em novilhas antes da primeira ovulação é menor do que o dos folículos dominantes encontrados em novilhas púberes (EVANS et al., 1994). A primeira ovulação marca a puberdade, contudo o amadurecimento e desenvolvimento dos folículos continua após essa fase (EVANS et al., 1994).

O desenvolvimento dos órgãos reprodutivos da novilha possui relação direta com o desenvolvimento pré-natal, visto que a nutrição materna pode afetá-lo assim como ao funcionamento dos tecidos reprodutivos dessa prole (KENNY, HESLIN e BYRNE, 2018). A quantidade de folículos ovarianos que uma novilha terá durante a vida adulta é definida no primeiro trimestre de gestação, momento em que se a mãe sofrer restrição alimentar, a quantidade e o tamanho dos folículos ficarão prejudicados (SULLIVAN et al., 2009 e MOSSA et al., 2013).

Normalmente, os ovários crescem em uma taxa 2,7 vezes mais rápido que o corpo, enquanto o trato reprodutivo tubular possui taxa de crescimento semelhante até aproximadamente 6 meses de idade, quando ocorre uma aceleração no desenvolvimento até a puberdade (DESJARDINS, 1969).

Outro fator extremamente importante para o início da vida reprodutiva das novilhas é a raça. Se comparadas com as fêmeas da raça Holandês, as novilhas mestiças de Holandês x Gir atingem a puberdade mais tarde, tendo o primeiro parto por volta dos $35 \pm 7,5$ meses, enquanto nos animais da raça pura ocorre por volta dos 24 meses de idade (SILVA et al., 2017). Contudo, novilhas mestiças F1, quando manejadas com uma nutrição adequada, podem atingir a puberdade até os 13 meses de idade (FONSECA et al., 2020).

2.2 Novilhas de reposição

Ao longo do ano, cerca de 25% das vacas do rebanho são descartadas ou mortas, tornando necessário os programas de reposição que visam a criação de bezerras para substituição das matrizes leiteiras, sendo possível aumentar o valor genético e a produção leiteira (TAMAS e RICHARD, 2020). O período de criação das novilhas de reposição pode ser crítico economicamente para as propriedades, uma vez que o retorno financeiro só ocorrerá futuramente com a produção de leite, enquanto durante a fase de cria esses animais necessitam de nutrição, manejo sanitário e bem-estar (Masello et al., 2021).

Para acelerar o retorno financeiro, é possível investir em abordagens que diminuam a idade ao primeiro parto dessas novilhas. Programas reprodutivos podem ser implementados assim que essas novilhas atingirem o peso necessário para se tornarem prenhas, como a IATF (Masello et al., 2019).

A primeira inseminação deve ocorrer quando a novilha apresentar 60% de seu peso adulto, o que dependerá de sua alimentação ao longo da vida. Dessa forma, para que o primeiro parto ocorra até os 24 meses de idade, a novilha deve atingir o peso ideal e ser inseminada entre 14 - 16 meses de idade (CARNEIRO et al., 2010).

O desenvolvimento das fêmeas bovinas pode ser dividido em três fases, desde o seu nascimento até a idade reprodutiva, sendo elas o pré-desmame, pós-desmame e pós-puberdade (BRUINJE et al., 2019). Alguns autores sugerem que ao aumentar o volume de leite oferecido às bezerras para 20% do peso corporal ao nascer por dia, haverá um melhor desempenho reprodutivo (Khan et al., 2011). O efeito positivo na função reprodutiva provavelmente se dá pela alteração nos perfis metabólicos das novilhas, devido aos diferentes planos de nutrição pré e pós-desmame (BRUINJE et al., 2019).

O acréscimo de energia na dieta na fase pré-puberal aumenta o número de folículos de 6 – 9 mm nesta mesma fase, porém não influencia no ciclo estral após o período puberal (BRUINJE et al., 2019). Ademais, elevados níveis de energia fornecidos durante o pós-desmame até às 25 semanas de idade, aumentou a espessura do endométrio, o tamanho e a quantidade de folículos na fase pré-puberal (BRUINJE et al., 2019). O aumento da população folicular se relaciona diretamente com melhor desempenho reprodutivo, melhor fertilidade e melhores resultados em programas de transferência de embriões (BRUINJE et al., 2019).

2.3 Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF)

A inseminação artificial é a principal biotecnologia utilizada no melhoramento genético de rebanhos leiteiros pelo mundo, sendo um método simples, bem sucedido e econômico quando comparada a outras técnicas, como por exemplo a transferência de embriões (VISHWANATH, 2003).

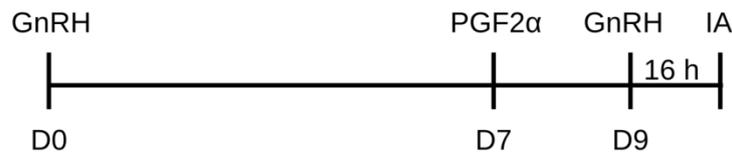
Um dos fatores que interferem na prática da IA é a necessidade de mão de obra para realizar a detecção de cio corretamente. Com o objetivo de eliminar esse fator, surgiu a inseminação artificial em tempo fixo, facilitando o manejo dessas vacas, e representando

atualmente cerca de 85% das IA realizadas no Brasil (BARUSELLI et al., 2018).

Os primeiros resultados positivos advindos do uso da IATF foram observados a partir da década de 90, com uso do protocolo Ovsynch, que consiste na administração de GnRH no D0, PGF2 α no D7, outra dose de GnRH no D9 e IA após 16 horas, descrito por Pursley et al, 1995 (BARUSELLI et al., 2018) (Figura 1).

A partir de então, novos protocolos para IATF foram desenvolvidos, principalmente após observado que melhores resultados quando a primeira dose de GnRH fosse administrada entre o 5º e 12º dia do ciclo estral da vaca (VASCONCELOS et al., 1999). Outros autores identificaram falhas na indução de uma nova onda de crescimento folicular com a primeira administração de GnRH no D0 do protocolo Ovsynch (GEARY et al., 1998), e protocolos a base de P4 e estradiol apresentam melhores resultados na fertilidade de vacas de alta produção de leite (BARUSELLI et al., 2002). A P4 suprime a liberação de LH e inibe a ovulação (ADAMS et al., 1992), enquanto uma baixa dose de estradiol (E2) após a retirada do dispositivo de P4 induz um aumento síncrono de LH, com pico após 16 horas e ovulação de 24 a 32 horas posteriormente a esse pico (HANLON et al., 1997).

Figura 1: Representação esquemática do protocolo Ovsynch.



Fonte: Adaptado de Pursley et al., 1995.

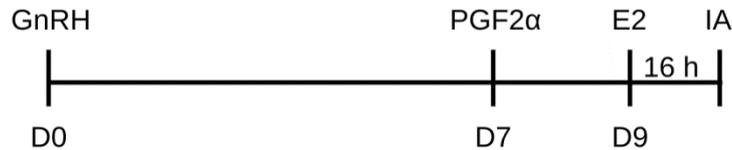
2.3.1 Protocolos de IATF desenvolvidos a partir do protocolo Ovsynch:

2.3.1.1 Heatsynch:

O protocolo Heatsynch tem como diferencial a substituição da última aplicação de GnRH do protocolo Ovsynch por 1 mg de estradiol (YANIZ, MURUGA e LOPEZ, 2004) (Figura 2) com o objetivo de aumentar a expressão de estro das vacas (PANCARCI et al., 2002). Apesar da adversidade de resultados encontrados por diferentes autores, o experimento

realizado por Lima et al., 2010, na região de Castro-PR, durante época do ano com clima ameno (agosto a setembro), resultou em uma menor taxa de concepção para vacas Holandesas quando comparado com o protocolo Ovysynch.

Figura 2: Representação esquemática do protocolo Heatsynch.



Fonte: Adaptado de Yaniz, Muruga e Lopez, 2004.

2.3.1.2 Presynch:

Após a constatação de que a primeira dose de GnRH causa ovulação em apenas 50 – 70% das vacas tratadas (PURSLEY et al., 1995), novos estudos surgiram com uma estratégia de pré-sincronização, com o objetivo de que ao início do protocolo Ovysynch todas as vacas apresentassem um folículo dominante maduro, com a administração de 2 doses de PGF2 α com intervalo de 14 dias e início do protocolo Ovysynch após 12 dias da segunda aplicação (MOREIRA et al., 2001) (Figura 3), melhorando a taxa de gestação dos animais submetidos a este tratamento (EL-ZARKOUNY et al., 2004).

Figura 3: Representação esquemática do protocolo Presynch.

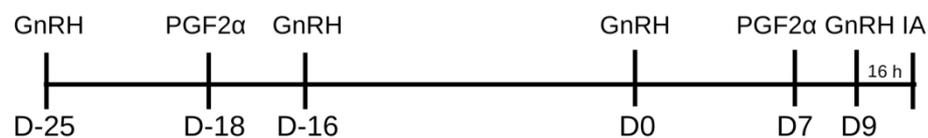


Fonte: Adaptado de Moreira et al., 2001.

2.3.1.3 Double Synch:

Uma outra variação do protocolo Ovsynch é o Double Ovsynch, que consiste na execução de dois protocolos Ovsynch com intervalo de 16 dias (SOUZA et al., 2008) (Figura 4). Os resultados desse tratamento na taxa de prenhez de vacas primíparas foram superiores ao tratamento com o protocolo Presynch, sendo uma possível explicação a indução prévia de ovulação em vacas que não estão ciclando, tornando a sincronização mais eficiente após o retorno cíclico (SOUZA et al., 2008). Outro estudo, realizado com vacas holandesas sob estresse térmico indicou melhor desempenho reprodutivo quando utilizado o protocolo Double Synch (DIRANDEH et al., 2015).

Figura 4: Representação esquemática do protocolo Double-Synch.



Fonte: Adaptado de Souza et al., 2008.

2.3.1.4 CO-Synch:

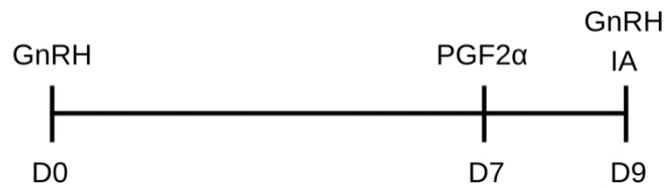
Outro protocolo desenvolvido a partir do Ovsynch foi o protocolo CO-Synch, que objetivou definir o momento ideal entre a segunda administração de GnRH e a IA, realizando ambas juntas 48 a 72 horas após a administração da PGF2α, para aumentar o tempo de maturação final do folículo pré-ovulatório (DEJARNETTE e MARSHALL, 2003) (Figura 5).

Em novilhas, o uso do dispositivo intravaginal de P4 entre a primeira administração de GnRH e a administração de PGF2α previne uma ovulação prematura (KASIMANICKAM et al., 2014). A utilização da progesterona exógena com dispositivo de liberação lenta por 5 dias durante o protocolo CO-Synch apresenta taxas de gestação por IA aceitáveis quando as vacas são inseminadas em um prazo de 56 – 72 horas após a retirada do dispositivo de P4 (BRIDGES et al., 2008; KASIMANICKAM et al., 2009; WHITTIER et al., 2010;

PETERSON et al., 2011).

O uso do estrógeno após a retirada do dispositivo intravaginal de progesterona induz feedback positivo sob o hipotálamo, estimulando a liberação de GnRH, que aumenta os pulsos e a frequência do LH, diminuindo o tempo para ocorrer a ovulação (LUCY et al., 2004).

Figura 5: Representação esquemática do protocolo CO-Synch.



Fonte: Adaptado de Dejarnette e Marshall, 2003.

3 METODOLOGIA

Foram analisados os dados de uma fazenda comercial produtora de leite localizada na região de Guimarães, Minas Gerais, Brasil. A propriedade possui cerca de 350 vacas em lactação, com produção média de 39,00 litros de leite por dia, Foram coletados os dados da primeira inseminação de 386 novilhas leiteiras mestiças, com idade variando entre 364 e 958 dias de vida, de outubro de 2020 a junho de 2023.

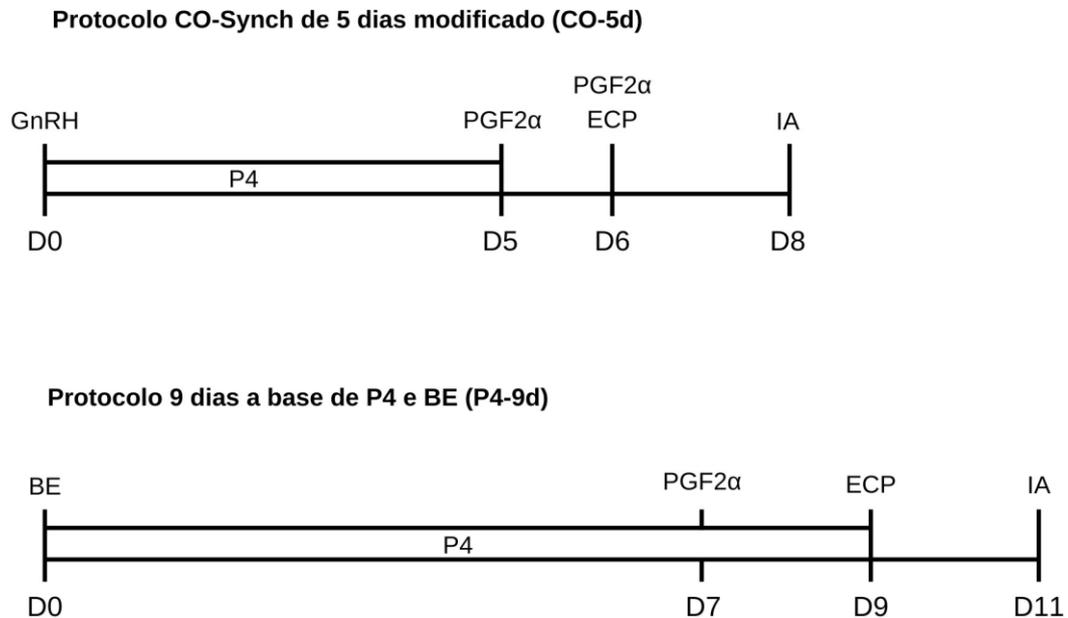
As novilhas eram de composição racial mestiça das raças Gir e Holandesa e criadas em sistema de piquetes enquanto bezerras e transferidas para o *Compost barn* ao iniciar a vida reprodutiva. Dentre o calendário sanitário do rebanho, as novilhas recebem a vacina CattleMaster® Gold, que protege os animais contra Rinotraqueíte Infecciosa Bovina (IBR), Diarreia Viral Bovina (BVD), Parainfluenza Tipo 3, Vírus Sincicial Respiratório Bovino (BRSV) e *Leptospira interrogans* sorovares Canicola, Grippothyphosa, Harjo, Icterohaemorrhagiae e Pomona. As novilhas entravam para o lote reprodução quando atingiam 55% do peso adulto, ou seja, cerca de 385 kg de peso vivo.

Os animais foram selecionados e divididos aleatoriamente em 3 grupos de acordo com o tipo de protocolo: Grupo Protocolo CO-Synch de 5 dias modificado (CO-5d) (Pursley et al., 1998); Grupo Protocolo 9 dias a base de P4 e BE (P4-9d) (Cardoso, et al., 2006) e Grupo Controle, detecção de estro e IA convencional.

O grupo CO-5d foi composto por 32 novilhas, tratadas com 1,0 mL de GnRH concomitantemente à inserção do dispositivo intravaginal de P4 no D0. Após 5 dias, o dispositivo foi retirado e ocorreu a aplicação de 2,0 mL de PGF2 α , repetida no dia seguinte juntamente à administração de 0,5 mL de ECP, dose esta que já se mostrou eficiente na indução do pico de LH para sincronização da ovulação em novilhas leiteiras anteriormente (VASCONCELOS e SANTOS, 2001), seguido da IATF após 48 horas (Figura 6).

O grupo P4-9d, composto por 67 novilhas foi tratado com 1,0 mL de benzoato de estradiol (BE) no D0 concomitantemente à inserção do dispositivo intravaginal de liberação lenta de P4. No D7 foi administrado 2,5 mL de PGF2 α e no D9 o dispositivo intravaginal de P4 foi retirado e houve aplicação de 0,5mL ECP, a IATF ocorreu 48 horas após, no D11 (Cardoso, et al., 2006) (Figura 6).

Figura 6: Representação esquemática do protocolo CO-Synch de 5 dias modificado (CO-5d) e do protocolo a base de P4 e BE descrito por Cardoso et al. (2006) (P4-9d).



Fonte: Adaptado de Pursley et al., 1998 e Cardoso et al., 2006.

O grupo controle, composto por 287 novilhas, foi submetido à observação de estro pelos funcionários da fazenda de forma visual 3 vezes ao dia, sendo essas ao amanhecer, ao meio dia e ao final de tarde, identificando aquelas que estavam apresentando estro natural, ou seja, que não receberam nenhum tratamento hormonal.

O diagnóstico de gestação foi realizado por exame de ultrassonografia transretal de 28 a 40 dias após o serviço. O cálculo da taxa de prenhez das novilhas foi realizado pela divisão do número de novilhas gestantes pelo número de novilhas inseminadas e multiplicado por 100.

Os dados foram tabulados no programa Microsoft Excel® e analisados por regressão logística sendo incluídos no modelo os efeitos de tratamento, no programa MINITAB. A significância estatística foi definida como $P \leq 0,05$.

4 RESULTADOS

A taxa de prenhez do grupo CO-5d foi de 53,13%, do grupo P4-9d foi de 68,66% e, por fim, o grupo controle apresentou uma taxa de prenhez de 71,78% (Tabela 1).

Não foi observada diferença entre o grupo controle e grupo P4-9d, nem entre P4-9d e CO-5d, porém este último apresentou menor taxa de prenhez do que o grupo controle (Tabela 1; $P = 0,032$).

Tabela 1: Taxa de prenhez das novilhas mestiças leiteiras de acordo com o grupo de tratamento.

Grupo	Taxa de prenhez % (n)
CO-5d	53,13% (17/32) ^b
P4-9d	68,66% (46/67) ^{ab}
Grupo controle	71,78% (206/287) ^a

CO-5d: 1,0 mL de GnRH concomitante à inserção do dispositivo intravaginal de P4 no D0 e retirada no D5 juntamente à aplicação de 2,0 mL de PGF2 α , repetida no dia seguinte com administração de 0,5 mL de ECP e IA no D8; P4-9d: 1,0 mL de benzoato de estradiol (BE) no D0 concomitante à inserção do dispositivo intravaginal de liberação lenta de P4, administração de 2,5 mL de PGF2 α no D7, retirada do dispositivo intravaginal de P4 no D9 e aplicação de 0,5mL ECP, com IATF no D11; Grupo Controle: observação de estro seguida da IA convencional, sem tratamento hormonal.

^{a, b} Valores da mesma coluna com diferentes sobrescritos diferem estatisticamente ($P < 0,05$).

5 DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou o protocolo CO-Synch de 5 dias modificado em novilhas leiteiras mestiças, diferenciado principalmente na utilização de um dispositivo intravaginal de liberação lenta de P4 durante 5 dias, aplicação de duas doses de PGF2 α com intervalo de 24 horas após a retirada da P4 juntamente com uma dose de ECP, sem a aplicação de GnRH no dia da IA, como é realizado no protocolo CO-Synch convencional (Figura 5). O grupo CO-5d apresentou menor taxa de prenhez do que o grupo controle, porém não foi encontrada diferença entre o grupo P4-9d e os demais grupos (Tabela 1).

Estes resultados estão de acordo com os achados de Kasimanickam et al. (2014), que verificaram que a primeira aplicação de GnRH não se mostra vantajosa para novilhas leiteiras, após utilizarem uma adaptação do protocolo CO-Synch, que também fez uso do dispositivo intravaginal de liberação lenta de P4 por 5 dias e aplicação de PGF2 α após a retirada da P4. Os resultados do presente estudo são semelhantes aos de Sirois e Fortune (1988) e Lima et al. (2011), que demonstraram que a ineficiência da aplicação de GnRH no primeiro dia do protocolo devido a maior porcentagem de novilhas que apresentam 3 ondas foliculares e período de dominância folicular mais curto, comparado às vacas multíparas, havendo menor chance de ocorrer uma ovulação após a primeira aplicação de GnRH, comprometendo a resposta ao protocolo.

Além disso, Kasimanickam et al. (2014) não observaram diferença na taxa de prenhez das novilhas leiteiras quando utilizaram uma ou duas doses de PGF2 α com um intervalo de 6 horas no dia 5 do protocolo. No presente estudo a aplicação de duas doses de PGF2 α em um intervalo de 24 horas no dia 5 e 6 do protocolo curto não resultou em melhores taxas de prenhez nas novilhas leiteiras.

Em um estudo realizado por Pursley et al. (1997) foi constatado que a utilização do protocolo de IATF Ovsynch é eficaz para aumentar a taxa de prenhez em vacas multíparas, mas não em novilhas (35,1%), possivelmente devido a primeira aplicação de GnRH em vacas em lactação ter causado a ovulação ou luteinização de folículos dominantes, permitindo a sincronização de uma nova onda de crescimento folicular (MACMILLAN e THATCHER, 1991), o que provavelmente não ocorreu nas novilhas.

Rabaglinio et al. (2010) observaram melhores taxas de prenhez em novilhas leiteiras utilizando um protocolo CO-Synch + CIDR 5 dias com uma dose de PGF2 α (58,2%). Esse resultado se assemelha com a taxa de prenhez encontrada no presente estudo (53,13%),

indicando que o uso do dispositivo intravaginal de liberação lenta de P4 melhora a sincronização do crescimento folicular em novilhas quando comparado a protocolos que não utilizam esse hormônio.

Apesar disso, a taxa de prenhez das novilhas leiteiras mestiças avaliadas nesse estudo, submetidas ao tratamento CO-5d foi inferior ao grupo controle, levando em consideração que neste último as novilhas já estavam ciclando, semelhante a McDougall et al. (2013), que concluíram que o estado puberal influencia significativamente no desempenho reprodutivo.

O uso do ECP após a retirada do dispositivo de liberação lenta de P4 tem como objetivo estimular o pico de LH, visto que possui um tempo de ação diferente de outros estrógenos, causando uma ovulação tardia (PALHÃO et al., 2014). A baixa concentração sanguínea de esteroides antes da ovulação pode estar relacionada com uma baixa taxa de concepção, favorecendo o uso de estrógenos em protocolos de sincronização de estro (SAMPAIO, 2013). Sartori, Rosa e Wiltbank (2002) concluíram que vacas multíparas em lactação possuem menor concentração de esteroides circulantes quando comparadas a novilhas, uma vez que apesar do maior diâmetro folicular, o metabolismo hepático de esteroides é mais alto, de forma que o uso do ECP como indutor de ovulação pode beneficiar a taxa de prenhez nesses animais. Cerri et al. (2004) encontraram resultados similares. Dessa forma, é provável que o uso de ECP nos protocolos testados no presente estudo não tenha sido significativo para a taxa de prenhez das novilhas submetidas aos tratamentos, pois o metabolismo hepático desses animais não é tão alto quanto nas vacas em lactação.

É possível que a raça dos animais utilizados no presente estudo tenha influenciado os resultados, visto que Kasimanickam et al. 2014, observaram que o uso do protocolo CO-Synch 5 dias + CIDR foi vantajoso para novilhas de corte (raça Angus), mas não para novilhas leiteiras (raça Holandesa).

Dessa forma, visto que o grupo P4-9d não apresentou diferença na taxa de prenhez quando comparado com o grupo controle, sugere-se que esse tratamento seja utilizado ao invés de tratar os animais com o protocolo CO-5d descrito neste trabalho, quando se deseja utilizar a IATF em novilhas leiteiras mestiças.

6 CONCLUSÃO

O protocolo de IATF CO-Synch de 5 dias modificado descrito nesse estudo, utilizado em uma fazenda comercial, resultou em uma taxa de prenhez inferior quando comparado com as novilhas inseminadas a partir da detecção do estro natural.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ADAMS, G. P. et al. Effect of progesterone on ovarian follicles, emergence of follicular waves and circulating follicle-stimulating hormone in heifers. **Reproduction**, v. 96, n. 2, p. 627-640, 1992.
2. ANDERSON, W. J. et al. Ontogeny of ovarian inhibition of pulsatile luteinizing hormone secretion in postnatal Holstein heifers. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 3, n. 2, p. 107-116, 1986.
3. BARBOSA, R. T.; MACHADO, R. Panorama da Inseminação Artificial em Bovinos. **Embrapa**. Documento 84, ISSN 1980-6841, 2008. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CPPE/18193/1/Documentos84.pdf>> Acesso em 15 de outubro de 2022.
4. BARUSELLI, P. S. et al. Efeito de diferentes protocolos de inseminação artificial em tempo fixo na eficiência reprodutiva de vacas de corte lactantes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 26, n. 3, p. 218-221, 2002.
5. BARUSELLI, P. S. et al. History, evolution and perspectives of timed artificial insemination programs in Brazil. **Animal Reproduction (AR)**, v. 9, n. 3, p. 139-152, 2018.
6. BARUSELLI, P. S. et al. Timed artificial insemination: current challenges and recent advances in reproductive efficiency in beef and dairy herds in Brazil. **Animal Reproduction**, v. 14, n. 3, p. 558-571, 2018.
7. BARUSELLI, P. S. et al. Evolução e perspectivas da inseminação artificial em bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 43, n. 2, p. 308-314, 2019.
8. BETTENDORF, M. et al. Acute N-methyl-D, L-aspartate administration stimulates the luteinizing hormone releasing hormone pulse generator in the ovine fetus. **Hormone research**, v. 51, n. 1, p. 25-30, 1999.
9. BHORANIYA, H. L. et al. Effect of estrus synchronization protocols on plasma progesterone profile and fertility in postpartum anestrous Kankrej cows. **Tropical animal health and production**, v. 44, p. 1191-1197, 2012.
10. BRIDGES, G. A. et al. Comparison of follicular dynamics and hormone concentrations between the 7-day and 5-day CO-Synch+ CIDR program in primiparous beef cows. **Theriogenology**, v. 81, n. 4, p. 632-638, 2014.
11. BRIDGES, G. A. et al. Decreasing the interval between GnRH and PGF2 α from 7 to 5 days and lengthening proestrus increases timed-AI pregnancy rates in beef cows. **Theriogenology**, v. 69, n. 7, p. 843-851, 2008.
12. BRUINJE, T. C. et al. Carryover effects of pre-and postweaning planes of nutrition on reproductive tract development and estrous cycle characteristics in Holstein heifers. **Journal of dairy science**, v. 102, n. 11, p. 10514-10529, 2019.

13. CARDOSO, B. L. et al. Protocolos de inseminação artificial em tempo fixo para vacas mestiças leiteiras. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 34, n. suppl 1, p. 428, 2006.
14. CARNEIRO, M. A. et al. Eficiência reprodutiva das vacas leiteiras. **Embrapa**, São Carlos, 2010. Disponível em: < <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/880245/1/Circular642.pdf>>. Acesso em: 25 de out. de 2023.
15. CERRI, R. L. A. et al. Timed artificial insemination with estradiol cypionate or insemination at estrus in high-producing dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 87, n. 11, p. 3704-3715, 2004.
16. DEJARNETTE, J. M.; MARSHALL, C. E. Effects of pre-synchronization using combinations PGF 2α and (or) GnRH on pregnancy rates of Ovsynch-and Cosynch-treated lactating Holstein cows. **Animal reproduction science**, v. 77, n. 1-2, p. 51-60, 2003.
17. DESJARDINS, C.; HAFS, H. D. Maturation of bovine female genitalia from birth through puberty. **Journal of animal science**, v. 28, n. 4, p. 502-507, 1969.
18. DIRANDEH, E. et al. Double-Ovsynch, compared with presynch with or without GnRH, improves fertility in heat-stressed lactating dairy cows. **Theriogenology**, v. 83, n. 3, p. 438-443, 2015.
19. EL-ZARKOUNY, S. Z. et al. Pregnancy in dairy cows after synchronized ovulation regimens with or without presynchronization and progesterone. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 4, p. 1024-1037, 2004.
20. ESTILL, C. T. Initiation of puberty in heifers. **Bovine Reproduction**, p. 258-268, 2021. Disponível em: < <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9781119602484.ch23>>. Acesso em: 25 de out. 2023
21. EVANS, A. C. O. et al. Endocrine and ovarian follicular changes leading up to the first ovulation in prepubertal heifers. **Reproduction**, v. 100, n. 1, p. 187-194, 1994.
22. FERREIRA, A. M. et al. Inseminação Artificial. **Embrapa**. 2021. Disponível em: < https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/criacoes/gado_de_leite/producao/sistemas-de-producao/reproducao/processos/inseminacao-artificial#:~:text=%C3%89%20um%20processo%20de%20reprodu%C3%A7%C3%A3o,e%20sem%20problemas%20de%20reprodu%C3%A7%C3%A3o> Acesso em 15 de outubro de 2022.
23. FILHO, M. F. S.; Manejo reprodutivo em novilhas de corte: importância e fatores que influenciam a ciclicidade ao início da estação reprodutiva. 2011. Disponível em: < <http://www.mastergenetics.com.br/wp-content/uploads/2012/05/Manejo-Reprodutivo-de-Novilhas.pdf>>. Acesso em: 25 out. 2023.
24. FONSECA, A. P. et al. Idade à puberdade e características reprodutivas de novilhas mestiças F1 Holandês x Gir com fenótipos divergentes para consumo alimentar residual. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 72, p. 1093-1101, 2020.

25. GEARY, T. W. et al. Pregnancy rates of postpartum beef cows that were synchronized using Syncro-Mate-B® or the Ovsynch protocol. **Journal of animal science**, v. 76, n. 6, p. 1523-1527, 1998.
26. HANLON, D. W. et al. Ovulatory responses and plasma luteinizing hormone concentrations in dairy heifers after treatment with exogenous progesterone and estradiol benzoate. **Theriogenology**, v. 47, n. 5, p. 963-975, 1997.
27. KASIMANICKAM, R. et al. Two doses of prostaglandin improve pregnancy rates to timed-AI in a 5-day progesterone-based synchronization protocol in beef cows. **Theriogenology**, v. 71, n. 5, p. 762-767, 2009.
28. KASIMANICKAM, R. K. et al. Effect of the first GnRH and two doses of PGF₂ α in a 5-day progesterone-based CO-Synch protocol on heifer pregnancy. **Theriogenology**, v. 81, n. 6, p. 797-804, 2014.
29. KENNY, D. A.; HESLIN, J.; BYRNE, C. J. Early onset of puberty in cattle: implications for gamete quality and embryo survival Reproduction. **Fertility and Development**, v. 30, n. 1, p. 101-117, 2018.
30. KHAN, M. A. et al. Invited review: Effects of milk ration on solid feed intake, weaning, and performance in dairy heifers. **Journal of dairy science**, v. 94, n. 3, p. 1071-1081, 2011.
31. KINDER, J. E. et al. Endocrine basis for puberty in heifers and ewes. **Journal of Reproduction and Fertility-Supplements only**, n. 49, p. 393-408, 1995.
32. LEVASSEUR, Marie-Claire. Thoughts on puberty. The gonads. In: **Annales de Biologie Animale Biochimie Biophysique**. EDP Sciences, 1979. p. 321-335.
33. LIMA, F. A. et al. Redução da primeira dose de GnRH em vacas holandesas de alta produção sincronizadas com Ovsynch ou Heatsynch. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 47, n. 2, p. 125-131, 2010.
34. LIMA, F. S. et al. Effects of gonadotropin-releasing hormone at initiation of the 5-d timed artificial insemination (AI) program and timing of induction of ovulation relative to AI on ovarian dynamics and fertility of dairy heifers. **Journal of dairy science**, v. 94, n. 10, p. 4997-5004, 2011.
35. LIMA, F. S. et al. Hormonal manipulations in the 5-day timed artificial insemination protocol to optimize estrous cycle synchrony and fertility in dairy heifers. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 11, p. 7054-7065, 2013.
36. LUCY, M. C. et al. The use of hormonal treatments to improve the reproductive performance of lactating dairy cows in feedlot or pasture-based management systems. **Animal reproduction science**, v. 82, p. 495-512, 2004.
37. MACMILLAN, K. L.; THATCHER, W. W. Effects of an agonist of gonadotropin-releasing hormone on ovarian follicles in cattle. **Biology of Reproduction**, v. 45, n. 6, p. 883-889, 1991.

38. MASELLO, M. et al. Reproductive performance of replacement dairy heifers submitted to first service with programs that favor insemination at detected estrus, timed artificial insemination, or a combination of both. **Journal of dairy science**, v. 102, n. 2, p. 1671-1681, 2019.
39. MASELLO, M. et al. Effect of reproductive management programs for first service on replacement dairy heifer economics. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 1, p. 471-485, 2021.
40. MCDOUGALL, S. et al. Evaluation of three synchrony programs for pasture-based dairy heifers. **Theriogenology**, v. 79, n. 5, p. 882-889, 2013.
41. MOENTER, S. M. et al. The estradiol-induced surge of gonadotropin-releasing hormone in the ewe. **Endocrinology**, v.123, n. 3, p.1375-84, 1990.
42. MOREIRA, F. et al. Effects of presynchronization and bovine somatotropin on pregnancy rates to a timed artificial insemination protocol in lactating dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 84, n. 7, p. 1646-1659, 2001.
43. MOSSA, Francesca et al. Maternal undernutrition in cows impairs ovarian and cardiovascular systems in their offspring. **Biology of Reproduction**, v. 88, n. 4, p. 92, 1-9, 2013.
44. PALHÃO, M. P. et al. Sincronização folicular e vascularização do folículo dominante em novilhas mestiças tratadas com estradiol. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 21, n. 2, 2014.
45. PANCARCI, S. M. et al. Use of estradiol cypionate in a presynchronized timed artificial insemination program for lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 1, p. 122-131, 2002.
46. PETERSON, C. et al. Effects of one versus two doses of prostaglandin F2 α on AI pregnancy rates in a 5-day, progesterone-based, CO-Synch protocol in crossbred beef heifers. **Theriogenology**, v. 75, n. 8, p. 1536-1542, 2011.
47. PURSLEY, J. R. et al. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2 α and GnRH. **Theriogenology**, v. 44, n. 7, p. 915-923, 1995.
48. PURSLEY, J. R. et al. Pregnancy rates per artificial insemination for cows and heifers inseminated at a synchronized ovulation or synchronized estrus. **Journal of dairy science**, v. 80, n. 2, p. 295-300, 1997.
49. RABAGLINO, M. B. et al. Application of one injection of prostaglandin F2 α in the five-day CO-Synch+ CIDR protocol for estrous synchronization and resynchronization of dairy heifers. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 3, p. 1050-1058, 2010.
50. RHODES, F. M. et al. Invited review: Treatment of cows with an extended postpartum anestrous interval. **Journal of dairy science**, v. 86, n. 6, p. 1876-1894, 2003.
51. SAMPAIO, P. C. Uso da gonadotrofina coriônica equina e progesterona injetável em

- protocolo de inseminação artificial em tempo fixo em vacas holandesas. 2013. Dissertação – Universidade Federal de Lavras. Disponível em: <http://repositorio.ufla.br/jspui/bitstream/1/4090/1/DISSERTACAO_Uso%20da%20gonadotro fina...pdf>. Acesso em: 29 de out. de 2023.
52. SARTORI, R. G. J. M.; ROSA, G. J. M.; WILTBANK, M. C. Ovarian structures and circulating steroids in heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in winter. **Journal of dairy science**, v. 85, n. 11, p. 2813-2822, 2002.
 53. SCHAMS, D. et al. Endocrine patterns associated with puberty in male and female cattle. **Journal of Reproduction and Fertility. Supplements**, v. 30, p. 103-110, 1981.
 54. SCHMITT, EJ-P. et al. Use of a gonadotropin-releasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin for timed insemination in cattle. **Journal of Animal Science**, v. 74, n. 5, p. 1084-1091, 1996.
 55. SILVA, T. V. Estratégias de manejo para aumentar a eficiência reprodutiva de bovinos leiteiros: protocolo de ciclo curto para a sincronização da ovulação e métodos auxiliares de detecção do estro. 2016. 89 f. Dissertação - Universidade Federal de Goiás. Goiânia, 2016.
 56. SILVA, M.V.G.B. et al. Programa de melhoramento genético da raça F1 HG. Avaliação genética de vacas, 2017. Juiz de Fora: **Embrapa Gado de Leite**, 2017. 42p. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/161276/1/DOC-204-Sumario-de-Vacas-2017.pdf>>. Acesso em: 25 de out. de 2023.
 57. SIROIS, J.; FORTUNE, J. E. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonograph. **Biology of reproduction**, v. 39, n. 2, p. 308-317, 1988.
 58. SOUZA, A. H. et al. A new presynchronization system (Double-Ovsynch) increases fertility at first postpartum timed AI in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v. 70, n. 2, p. 208-215, 2008.
 59. SULLIVAN, T. M. et al. Dietary manipulation of *Bos indicus* × heifers during gestation affects the reproductive development of their heifer calves. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 21, n. 6, p. 773-784, 2009.
 60. TAMAS, K. RICHARD, P. Una rimonta efficace si basa su un'ottimale gestione del colostro. 2020. Disponível em: <<https://www.ruminantia.it/una-rimonta-efficace-si-basa-su-unottimale-gestione-del-colostro/#:~:text=Per%20ottenere%20una%20rimonta%20di,a%20livello%20di%20grembo%20materno>>. Acesso em: 25 de out. de 2023.
 61. VASCONCELOS, J. L. M. et al. **Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows.** *Theriogenology*, v. 52, n. 6, p. 1067-1078, 1999.
 62. VASCONCELOS, J. L. M; SANTOS, R. M. Uso de cipionato de estradiol em programas de inseminação artificial em tempo fixo em vacas em lactação. Milkpoint. Disponível em: <https://www.milkpoint.com.br/colunas/jose-luiz-moraes-vasconcelos-ricarda-santos/uso-de->

[cipionato-de-estradiol-em-programas-de-inseminacao-artificial-em-tempo-fixo-em-vacas-em-lactacao-16583n.aspx](#) > Acesso em: 16 de nov. 2023.

63. VISHWANATH, R. Artificial insemination: the state of the art. **Theriogenology**, v. 59, n. 2, p. 571-584, 2003.
64. WHITTIER, W. D. et al. Effect of timing of second prostaglandin F2 α administration in a 5-day, progesterone-based CO-Synch protocol on AI pregnancy rates in beef cows. **Theriogenology**, v. 74, n. 6, p. 1002-1009, 2010.
65. YANIZ, J. L.; MURUGA, V. E. L. K.; LOPEZ, G. F. Recent developments in oestrous synchronization of postpartum dairy cows with and without ovarian disorders. **Reproduction in Domestic Animal**, v. 39, n. 2, p. 86–93, 2004.
66. ZOETIS. Caderno Gerar Leite 2023. [2023]. Disponível em: <
<https://www.zoetis.com.br/especies/bovinos/gerar/pdf/Leite/cadernoGERARLEITE2023v3.pdf>>. Acesso em: 20 de nov. 2023.