

Eficácia do tratamento Ovsynch associado à inseminação artificial prefixada em rebanhos *Bos taurus* e *Bos indicus*⁽¹⁾

Rafael Herrera Alvarez⁽²⁾, Antonio Campanha Martinez⁽³⁾, João Batista Pereira de Carvalho⁽²⁾, Juliana Rodrigues Pozzi Arcaro⁽²⁾, Rita Maria Ladeira Pires⁽²⁾ e Cláudio Alvarenga de Oliveira⁽⁴⁾

Resumo – O presente trabalho objetivou avaliar a eficácia do tratamento Ovsynch associado à inseminação artificial em tempo prefixado em vacas *Bos taurus* e *Bos indicus*. Foram utilizados rebanhos das raças Holandesa, Caracu, Nelore e Mantiqueira. Também foi incluído um rebanho de vacas Gir, com problemas de fertilidade. Cada rebanho foi dividido em três grupos. O grupo 1 recebeu o tratamento Ovsynch e foi inseminado em tempo prefixado. O grupo 2 foi inseminado no cio induzido com cloprostenol. O grupo 3 foi inseminado no cio natural. As taxas de concepção e de prenhez foram determinadas por ultra-sonografia. Não existiu interação significativa das variáveis reprodutivas analisadas para rebanho, idade, período pós-parto, número de parição e presença do bezerro. A taxa de concepção não diferiu ($P>0,05$) entre os grupos, ao passo que a taxa de prenhez foi superior ($P<0,05$) nos grupos 1 e 2 em comparação ao grupo 3. No rebanho Gir, o tratamento Ovsynch não alterou a taxa de concepção nem a de prenhez. Independentemente da raça, os tratamentos Ovsynch e cloprostenol não afetam a taxa de concepção, mas melhoram a taxa de prenhez. O tratamento Ovsynch não aumenta a fertilidade de vacas com problemas reprodutivos inespecíficos.

Termos para indexação: gado bovino, reprodutividade, ovulação, sincronização, fertilidade.

Efficacy of the Ovsynch treatment associated to fixed-time artificial insemination in *Bos taurus* and *Bos indicus* herds

Abstract – The present study aimed to evaluate the efficiency of Ovsynch treatment associated with prefixed-time artificial insemination on *Bos taurus* and *Bos indicus* cows. Herds of Holstein, Caracu, Nelore and Mantiqueira breeds were used. A herd of Gir cows with poor reproductive performance was also included. Each breed was divided in three groups. Group 1 received Ovsynch treatment and was inseminated at prefixed time. Group 2 was induced to estrus with cloprostenol and inseminated thereafter. Group 3 was inseminated at natural heat. Conception and pregnancy rates were determined by ultra-sound. No significant interactions were detected among breeds, age, parity, postpartum period and lactating cows with or without their calves. Conception rates did not differ ($P>0.05$) among groups while pregnancy rate was higher ($P<0.05$) for group 1 and 2 comparing to group 3. In the Gir herd Ovsynch treatment did not enhance conception nor pregnancy rates. Independently of breed, conception rate is similar after Ovsynch, cloprostenol and control treatments, and pregnancy rate can be improved with Ovsynch and cloprostenol treatments. In cows with unspecific reproductive ovarian disorders, Ovsynch treatment do not enhance conception or pregnancy rates.

Index terms: cattle, reproductive performance, ovulation, synchronization, fertility.

⁽¹⁾ Aceito para publicação em 18 de novembro de 2002.

Financiado pela Fapesp.

⁽²⁾ Instituto de Zootecnia, Caixa Postal 60, CEP 13460-000 Nova Odessa, SP. E-mail: herrera@izsp.br, pires@izsp.br, juarcaro@izsp.br

⁽³⁾ Universidade Estadual Paulista, Fac. de Ciências Agrárias e Veterinárias, Rod. Carlos Tonanni, km 5, CEP 14870-000 Jaboticabal, SP. E-mail: acmartinez@zip.mail.br

⁽⁴⁾ Universidade de São Paulo, Fac. de Medicina Veterinária e Zootecnia, Dep. de Reprodução Animal, Av. Corifeu Marques de Acevedo, 2720, CEP 05499-000 São Paulo, SP. E-mail: cadolive@usp.br

Introdução

Recentemente, equipes americanas das Universidades da Flórida (Wolfenson et al., 1994) e de Wisconsin (Pursley et al., 1995) desenvolveram um protocolo experimental de sincronização da ovulação (denominado Ovsynch pelo grupo de Wisconsin), o qual permite a inseminação em tempo prefixado, sem necessidade de observação do cio. O tratamento consiste em uma injeção de prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) nas vacas tratadas pre-

viamente (seis a sete dias) com hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH). O tratamento com GnRH induz uma descarga hipofisária de hormônio luteinizante (LH), seguida da ovulação ou regressão (atresia) de um eventual folículo dominante, resultando na emergência de uma nova onda folicular nos dois a três dias seguintes à injeção do GnRH (Wolfenson et al., 1994; Pursley et al., 1995). A sincronia do cio e, particularmente, da ovulação, pode ser aumentada consideravelmente (mais de 90%) administrando uma segunda injeção de GnRH, 36 a 48 horas após a PGF_{2α}. A fertilidade dos animais inseminados em tempo prefixado (16 a 24 horas após a injeção do GnRH) é semelhante à verificada em animais inseminados no cio observado (Pursley et al., 1995, 1997).

Do ponto de vista prático, a sincronização da ovulação associada à inseminação artificial (IA) com tempo predeterminado, tanto em vacas leiteiras quanto de corte, é extremamente interessante pois possibilita programar as datas da primeira IA em um determinado período, com uma conseqüente redução do número de dias abertos no pós-parto. Entretanto, a aplicação desse tratamento em rebanhos Holandês (Alvarez et al., 1999), Pitangueiras e Santa Gertrudes (Ribeiro et al., 2001), manejados em condições tropicais, resultou em uma taxa de prenhez significativamente inferior aos grupos-controle inseminados no cio natural ou induzido. Com relação a *Bos indicus*, existe escassa informação sobre a eficácia da IA após o tratamento Ovsynch. Em gado Nelore, Fernandes et al. (2001) relataram taxas de prenhez da ordem de 45%. Entretanto, o grupo-controle, inseminado no cio observado, apresentou taxa de prenhez de aproximadamente 20%. Tem sido sugerido que o tratamento Ovsynch pode ser utilizado para aumentar a fertilidade de vacas com problemas reprodutivos decorrentes de patologias ovarianas (Bartolome et al., 2000), porém, em estudo recente, Lopez-Gatius et al. (2001) não conseguiram evidenciar o efeito benéfico desse tratamento nesse tipo de animais. Dessa forma, em razão desses resultados contraditórios, torna-se necessário avaliar o real potencial do tratamento Ovsynch para facilitar a prática da IA ou como alternativa terapêutica para resolver problemas reprodutivos em rebanhos bovinos das espécies *Bos taurus* e *Bos indicus*, manejados em condições tropicais ou subtropicais.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia do tratamento Ovsynch associado à inseminação artificial em tempo prefixado em vacas *Bos taurus* e *Bos indicus*.

Material e Métodos

O trabalho foi realizado no Estado de São Paulo, nas Estações Experimentais do Instituto de Zootecnia em Nova Odessa (22°18' S e 47°18' O) e Pindamonhangaba (22°55' S e 45°27' O), no período de janeiro a junho de 2001.

Em Nova Odessa, foram utilizados os rebanhos das raças Holandesa, Mantiqueira e Caracu formados por 108, 63 e 59 vacas, respectivamente. Em Pindamonhangaba, utilizaram-se os rebanhos das raças Mantiqueira (45 vacas) e Nelore (69 vacas). Nessa unidade foi igualmente utilizado um rebanho de vacas Gir (n = 64) sem reproduzir durante quatro anos. Os animais Mantiqueira e Caracu (vacas com bezerro ao pé) de Nova Odessa foram mantidos em pastagens de capim-tanzânia (*Panicum maximum*) e suplementados com aproximadamente 2 kg de concentrado/dia na época da seca. O rebanho Holandês (vacas semiconfinadas, sem bezerro ao pé, com duas ordenhas diárias) recebeu silagem de milho e concentrado durante todo o ano, de forma a atender às recomendações nutricionais para manutenção e produção, segundo o National Research Council (2001). Os animais de Pindamonhangaba foram mantidos em pastagens formadas de *Brachiaria decumbens* e *Setaria kazungula*. As vacas Mantiqueira (sem bezerro ao pé) eram ordenhadas duas vezes ao dia e recebiam suplementação alimentar (silagem de milho e concentrado), de forma a atender às recomendações nutricionais para manutenção e produção; as vacas Gir e Nelore (a maioria sem bezerro ao pé) não recebiam qualquer suplementação. Em todos os rebanhos água e sal mineral foram oferecidos *ad libitum*.

Os animais de cada rebanho foram distribuídos em três grupos relativamente homogêneos, considerando a idade, o período pós-parto, o número de parições e vacas com e sem bezerro ao pé. As vacas Gir foram distribuídas unicamente pela idade. Somente foram utilizadas vacas com período mínimo pós-parto de 60 dias em todos os rebanhos e escore corporal acima de 3 na escala de 1 (muito magra) a 5 (obesa). O grupo 1 recebeu 100 µg de GnRH. Sete dias após, os mesmos animais receberam 500 µg de cloprostenol, um análogo de PGF_{2α} seguido, 48 horas após, de uma segunda aplicação de 100 µg de GnRH. Os animais foram inseminados 20 a 24 horas após a segunda aplicação de GnRH, independentemente da manifestação do cio. O grupo 2 recebeu 500 µg de cloprostenol e todos os animais observados no cio foram inseminados.

Os animais desse grupo que não manifestaram cio foram tratados com uma segunda injeção de 500 µg de cloprostenol, 14 dias após a primeira, e aqueles que apresentaram cio foram inseminados. Todas as aplicações dos tratamentos foram realizadas por via intramuscular. O grupo 3, que serviu como controle, foi inseminado no cio natural durante 90 dias. O cio dos animais foi observado diariamente duas vezes por dia (manhã e tarde) durante 60 minutos, com auxílio de um rufião marcador. A IA foi realizada utilizando sêmen de um único reprodutor para cada rebanho. As taxas de concepção e de prenhez foram determinadas pela observação ultra-sonográfica do feto nos dias 30 e 60 após a IA. Os animais diagnosticados vazios foram reinseminados no cio natural até completar 90 dias do início dos tratamentos. A luteólise dos animais foi evidenciada pelo monitoramento dos níveis de progesterona plasmática no dia da aplicação do cloprostenol e no dia da IA, após coleta de sangue da veia jugular. Após centrifugação (750 g), o plasma foi recuperado e estocado a -20°C. A dosagem de progesterona no plasma foi realizada no Laboratório de Hormonologia do Departamento de Reprodução da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, utilizando kit comercial de radioimunoensaio em fase só-

lida. Os coeficientes de variação intra e inter-ensaios foram de 4,2% e 12,2%, respectivamente.

As variáveis reprodutivas, taxa de concepção e taxa de prenhez, para cada tratamento (dentro e entre rebanhos) foram analisadas pelo método de qui-quadrado utilizando tabelas de contingência 2x2 do teste Mantel-Haenszel (Ott, 1993). Os possíveis efeitos de confundimento (raça, período pós-parto, número de parições, rebanho em ordenha com ou sem bezerro ao pé) foram examinados por meio do software Statistica (Statsoft Inc., 1996), usando um modelo de regressão (linear para variáveis contínuas e logística para variáveis categóricas) para cada resultado.

Resultados e Discussão

Não foram detectadas interações significativas entre os índices reprodutivos analisados e as variáveis raça, idade, período pós-parto, número de parições e presença ou ausência do bezerro (Tabela 1). Além da raça, fatores como idade, número de parições, produção de leite e amamentação do bezerro têm sido relatados a influenciar a retomada da atividade ovariana pós-parto (Stevenson et al., 1997).

Tabela 1. Taxa de concepção (TC) e taxa de prenhez (TP) em rebanhos de diferentes grupamentos genéticos, inseminados em tempo prefixado, independentemente da manifestação do cio (Ovsynch), no cio induzido (PGF_{2α}) ou no cio natural (Controle)⁽¹⁾.

Ovsynch		PGF _{2α}		Controle	
TC	TP	TC	TP	TC	TP
Holandês ⁽²⁾					
43,2%	75,7%	62,9%	77,8%	51,4%	54,5%
(16/37)	(28/37)	(17/27)	(21/27)	(19/37)	(24/44)
Caracu ⁽³⁾					
44,4%	77,7%	52,6%	65,0%	50,0%	57,1%
(8/18)	(14/18)	(10/19)	(13/20)	(8/16)	(12/21)
Mantiqueira ⁽³⁾					
40,9%	63,6%	64,7%	60,0%	58,8%	61,9%
(9/22)	(14/22)	(11/17)	(12/20)	(10/17)	(13/21)
Mantiqueira ⁽²⁾					
40,0%	73,3%	46,2%	66,6%	53,3%	80,0%
(6/15)	(11/15)	(6/13)	(10/15)	(8/15)	(12/15)
Nelore ⁽³⁾					
37,5%	91,7%	36,4%	95,4%	34,8%	82,6%
(9/24)	(22/24)	(8/22)	(21/22)	(8/23)	(19/23)
Todos					
41,4%	76,7%	53,1%	74,0%	49,1%	64,5%
(48/116)	(89/116)	(52/98)	(77/104)	(53/108)	(80/124)

⁽¹⁾TC (P>0,05): valores em porcentagem e em fração (entre parêntesis), cujo numerador é o número de vacas que ficaram gestantes na primeira inseminação e o denominador é o total de vacas avaliadas; TP (P>0,05): valores em porcentagem e em fração (entre parêntesis), cujo numerador é o número de vacas que ficaram gestantes após uma ou mais inseminação num período de 90 dias, e o denominador é o total de vacas avaliadas. ⁽²⁾Vacas em ordenha, sem bezerro ao pé. ⁽³⁾Vacas com e sem bezerro ao pé.

Dessa forma, considerando que o GnRH tem como alvo a destruição de um folículo dominante funcional e a $\text{PGF}_{2\alpha}$ a lise do corpo lúteo, um intervalo mínimo de 60 dias pós-parto parece ser suficiente para a maioria dos animais retomar a atividade ovariana e estar em condições de responder favoravelmente aos tratamentos Ovsynch e $\text{PGF}_{2\alpha}$.

A taxa de concepção dos animais inseminados com tempo prefixado (41,4%) não foi diferente ($P>0,05$) dos inseminados no cio induzido (53,1%) ou natural (49,1%). Esses resultados são semelhantes aos 40% a 50% obtidos por Pursley et al. (1995, 1997) em vacas Holandesas; por Williams et al. (2002) em vacas mestiças Brahman x Hereford; por Geary et al. (2001) em gado de corte de raças taurinas; e por Fernandes et al. (2001) em gado Nelore; e superiores aos relatados por Alvarez et al. (1999) com a raça Holandesa. Alvarez et al. (1999) atribuíram o baixo índice de concepção (17%) à incapacidade de GnRH utilizado induzir a regressão do folículo dominante. Por sua vez, Ribeiro et al. (2001) encontraram índices de concepção de 6,2% com a raça Santa Gertrudes e 35,7% com a raça Pitangueiras. Entretanto, este último estudo não incluiu um grupo-controle, inseminado no cio natural ou induzido, além de ter utilizado unicamente novilhas. Sabe-se que essa categoria de animais apresenta menor resposta ao protocolo Ovsynch, resultando em taxas de ovulação, após a primeira injeção de GnRH, da ordem de 50% (Martinez et al., 1999), ao passo que em vacas esse índice varia de 64% (Vasconcelos et al., 1999) a 90% (Pursley et al., 1995).

No presente trabalho, em média, 6,2% (variação de 8% no gado Holandês e 3% no gado Nelore, $P>0,05$) das vacas submetidas ao tratamento Ovsynch apresentaram cio no período compreendido entre a aplicação de GnRH e a $\text{PGF}_{2\alpha}$. Esses resultados confirmam que, embora o tratamento Ovsynch possa ser iniciado ao acaso em qualquer período do ciclo estral, a capacidade de GnRH induzir a ovulação ou a luteinização do folículo dominante dependerá do estágio do desenvolvimento folicular no momento do tratamento. A injeção de GnRH no início do crescimento folicular ou no final da fase estática de crescimento do folículo dominante reduz a probabilidade de ovulação e sin-

cronização de um nova onda de crescimento folicular, podendo resultar na expressão prematura do cio, antes da injeção de $\text{PGF}_{2\alpha}$. Essa situação parece ser mais comum em novilhas cuja incidência de cios prematuros acontece em aproximadamente 20% dos animais tratados (Moreira et al., 2000).

A distribuição das manifestações de cio após a injeção de $\text{PGF}_{2\alpha}$ não foi diferente nos grupos Ovsynch e $\text{PGF}_{2\alpha}$ ($P>0,05$). Aproximadamente 80% dos cios foram observados no segundo e terceiro dia após a injeção de cloprostenol; os tratamentos Ovsynch e $\text{PGF}_{2\alpha}$ apresentaram 65,2% e 55,1%, respectivamente, dos cios no terceiro dia após a $\text{PGF}_{2\alpha}$ ($P>0,05$). Deve-se mencionar, contudo, que os dados do grupo $\text{PGF}_{2\alpha}$ consideram os animais no cio tratados indistintamente com uma ou duas injeções de cloprostenol. Thatcher et al. (1993) constataram que o tratamento com GnRH seguido de $\text{PGF}_{2\alpha}$, seis ou sete dias após, resulta em maior grau de indução do cio num período de cinco dias e de sincronia do cio no segundo e terceiro dia em comparação ao emprego único de $\text{PGF}_{2\alpha}$, mas não difere dos resultados alcançados após tratamento com duas injeções de $\text{PGF}_{2\alpha}$ com intervalo de 11 dias.

Aproximadamente 80% das vacas do tratamento Ovsynch que ficaram prenhes foram observados no cio no momento da IA ou nas 12 horas anteriores ou posteriores à inseminação. Esses animais apresentaram níveis de progesterona <1 ng/mL no momento da inseminação, embora em alguns (cinco animais) foram detectadas concentrações de progesterona >1 ng/mL nesse período. Por sua vez, 32% das vacas que ficaram vazias após a primeira IA apresentaram concentrações de progesterona >1 ng/mL no momento da IA, característico de luteólise parcial ou não luteólise após a injeção de cloprostenol.

A taxa de prenhez, no período de 90 dias, foi maior ($P<0,05$) no grupo Ovsynch (76,7%) em comparação ao grupo-controle (64,5%), mas não foi diferente do grupo $\text{PGF}_{2\alpha}$ (74,0%). Essa diferença em favor do tratamento Ovsynch foi igualmente evidenciada em vacas leiteiras tratadas 50 dias após o parto (Momcilovic et al., 1998). Já Baruselli et al. (2002), utilizando vacas Brangus tratadas 70 dias após o parto, não encontraram diferença na taxa de prenhez do tratamento Ovsynch em comparação ao

controle, mas neste estudo os animais foram submetidos à monta natural nos últimos 45 dias do experimento. No caso de se utilizar exclusivamente IA, a escolha do tratamento (Ovsynch ou PGF_{2α}) deverá considerar, entre outros, o tipo de rebanho, visto que as raças zebuínas apresentam maior tendência a apresentar cios noturnos e de curta duração em comparação às raças taurinas (Galina et al., 1996; Pinheiro et al., 1998); a disponibilidade de mão-de-obra para detecção do cio; os custos dos tratamentos, incluindo os hormônios; e, do tratamento Ovsynch, das doses adicionais de sêmen, em razão do maior número de inseminações realizadas.

No caso do rebanho Gir, o tratamento Ovsynch não melhorou a fertilidade dos animais (Tabela 2). Nesse rebanho, o exame ultra-sonográfico no momento do diagnóstico de prenhez permitiu evidenciar a presença de cistos ovarianos nos animais dos três grupos. Embora ainda não seja conhecida com precisão a causa dessa patologia, é provável que o longo período de inatividade reprodutiva tenha provocado alterações na secreção de GnRH, levando à formação dessas estruturas. Dessa forma, o tratamento Ovsynch poderia ser utilizado como agente terapêutico, uma vez que o GnRH permitiria a estimulação da liberação de LH hipofisário resultando na ovulação ou na luteinização do cisto ovariano (Nanda et al., 1988). O corpo lúteo (ou cisto ovariano luteinizado) resultante sofrerá regressão espontânea ou poderá ser lisado posteriormente por meio da injeção de PGF_{2α}. A grande dificuldade em isolar o efeito dos tratamentos nas patologias ovarianas (cistos foliculares, cistos luteínicos e folículos persistentes) está associada à recuperação espontânea,

sem qualquer tratamento, que acontece em aproximadamente 48% dos animais (Wiltbank et al., 2002). Provavelmente isso explique alguns resultados conflitantes desse tratamento em vacas leiteiras de alta produção portadoras de cistos foliculares ou de vacas em anestro com folículos persistentes. Assim, enquanto Bartolome et al. (2000) não encontraram diferenças significativas na taxa de prenhez de vacas com (23,6%) e sem (31,5%) cistos ovarianos submetidas ao tratamento Ovsynch, Lopez-Gatius et al. (2001) obtiveram taxa de prenhez de 4,1% em vacas em anestro com folículo persistente >8 mm. No presente trabalho, não foi possível evidenciar aumento da fertilidade com o tratamento Ovsynch. Considerando que a resposta de vacas com cistos ovarianos varia com a dose de GnRH administrada (Youngquist, 1986), existe a possibilidade de que a dose utilizada neste trabalho não tenha sido suficiente para provocar a ruptura ou luteinização do folículo cístico. Ainda, no caso dos animais serem portadores de folículos persistentes, o tratamento Ovsynch isolado poderia não ser suficiente para resolver o problema, como sugerem Lopez-Gatius et al. (2001). Esses autores conseguiram aumentar a taxa de prenhez de 4,1% para 34,2% quando os animais foram tratados com um dispositivo intravaginal liberador de progesterona (PRID) durante nove dias, colocado junto com a primeira injeção de GnRH do tratamento Ovsynch.

Conclusões

1. O tratamento Ovsynch seguido de inseminação artificial com tempo prefixado permite a obtenção de taxas de concepção semelhantes às alcançadas em animais inseminados no cio observado, natural ou induzido, sem influência da raça.

2. Os tratamentos Ovsynch e PGF_{2α} aumentaram a taxa de prenhez em um período de serviço de 90 dias.

3. O tratamento Ovsynch não aumenta a fertilidade de animais com problemas reprodutivos inespecíficos.

Referências

ALVAREZ, R. H.; ARCARO, J. R. P.; MASCHIO, W. Inseminação artificial em tempo pré-fixado em rebanho holandês, ineficiência do tratamento "Ovsynch"? **Revista**

Tabela 2. Taxas de concepção e de prenhez de vacas Gir inseminadas em tempo prefixado (Ovsynch), no cio induzido (PGF_{2α}) ou no cio natural (Controle)⁽¹⁾.

Variável	Ovsynch	PGF _{2α}	Controle	P
Taxa de concepção	21,74% (5/23)	26,32% (5/19)	29,41% (5/17)	0,9992 -
Taxa de prenhez	30,43% (7/23)	31,58% (6/19)	22,73% (5/22)	0,9988 -

⁽¹⁾Valores em porcentagem e em fração (entre parêntesis), cujo denominador é o número total de vacas avaliadas, e o numerador na variável taxa de concepção é o número de vacas que ficaram gestantes na primeira inseminação, e o numerador na taxa de prenhez é o número de vacas que ficaram gestantes após uma ou mais inseminação num período de 90 dias.

- Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 23, n. 3, p. 326-328, jul./set. 1999.
- BARTOLOME, J. A.; ARCHBALD, L. F.; MORRESEY, P.; HERNANDEZ, J.; TRAN, T.; KELBERT, D.; LONG, K.; RISCO, C. A.; THATCHER, W. W. Comparison of synchronization of ovulation and induction of estrus as therapeutic strategies for bovine ovarian cysts in the dairy cow. **Theriogenology**, Woburn, v. 53, n. 3, p. 815-825, Feb. 2000.
- BARUSELLI, P. S.; MARQUES, M. O.; CARVALHO, N. A. T.; MADUREIRA, E. H.; CAMPOS FILHO, E. P. Efeito de diferentes protocolos de inseminação artificial em tempo fixo na eficiência reprodutiva de vacas de corte lactantes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 26, n. 3, p. 218-221, jul./set. 2002.
- FERNANDES, P.; TEIXEIRA, A. B.; CROCCI, A. J.; B. P.; BARROS, C. M. Timed artificial insemination in beef cattle using GnRH agonist, PGF₂ alpha and estradiol benzoate. **Theriogenology**, Woburn, v. 55, n. 7, p. 1521-1532, Apr. 2001.
- GALINA, C. S.; ORIHUELA, A.; BUBIO, I. Behavioral trends affecting oestrus detection in Zebu cattle. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 42, n. 1/4, p. 465-470, Apr. 1996.
- GEARY, T. W.; SALVERSON, R. R.; WHITTIER, J. C. Synchronization of ovulation using GnRH or hCG with the CO-Synch protocol in suckled beef cows. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 79, n. 10, p. 2536-2541, Oct. 2001.
- LOPEZ-GATIUS, F.; SANTOLARIA, P.; YANIZ, J.; RUTLLANT, J.; LOPEZ-BEJAR, M. Persistent ovarian follicles in dairy cows: a therapeutic approach. **Theriogenology**, Woburn, v. 56, n. 4, p. 649-659, Sept. 2001.
- MARTINEZ, M. F.; ADAMS, G. P.; BERGFELT, D. R.; KASTELIC, J. P.; MAPLETOFT, R. J. Effect of LH or GnRH on the dominant follicle of the first follicular wave in beef heifers. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 57, n. 1/2, p. 23-33, Oct. 1999.
- MOMCILOVIC, D.; ARCHBALD, L. F.; WALTERS, A.; TRAN, T.; KELBERT, D.; RISCO, C.; THATCHER, W. W. Reproductive performance of lactating dairy cows treated with gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) and/or prostaglandin F_{2α} (PGF_{2α}) for synchronization of estrus and ovulation. **Theriogenology**, Woburn, v. 50, n. 7, p. 1131-1139, Nov. 1998.
- MOREIRA, F.; DE LA SOTA, R. L.; DIAZ, T.; THATCHER, W. W. Effect of day of the estrous cycle at the initiation of a timed artificial insemination protocol on reproductive responses in dairy heifers. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 78, n. 6, p. 1568-1576, June 2000.
- NANDA, A. S.; WARD, R.; WILLIAMS, P. C.; DOBSON, H. Retrospective analysis of the efficacy of different hormone treatments of cystic ovarian disease in cattle. **Veterinary Record**, London, v. 122, n. 7, p. 155-158, Feb. 1988.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (Washington, Estados Unidos). **Nutrient requirements in dairy cattle**. 7th ed. Washington: National Academy Press, 2001. 408 p.
- OTT, L. Categorical data. In: AN INTRODUCTION to statistical methods and data analysis. 4th ed. Belmont: Wadsworth, 1993. p. 354-418.
- PINHEIRO, O. L.; BARROS, C. M.; FIGUEREDO, R. A.; VALLE, E. R. do; ENCARNAÇÃO, R. O.; PADOVANI, C. R. Estrous behaviour and the estrus-to-ovulation interval in Nelore cattle (*Bos indicus*) with natural estrus or estrus induced with prostaglandin F₂alpha or norgestomet and estradiol valerate. **Theriogenology**, Woburn, v. 49, n. 3, p. 667-681, Feb. 1998.
- PURSLEY, J. R.; KOSOROK, M. R.; WILTBANK, M. C. Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 80, n. 2, p. 301-306, Feb. 1997.
- PURSLEY, J. R.; MEE, M. O.; WILTBANK, M. C. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF_{2α} and GnRH. **Theriogenology**, Woburn, v. 44, n. 7, p. 915-923, Nov. 1995.
- RIBEIRO, H. F. L.; PANTOJA, C.; SILVA, M. C.; SOUSA, J. S.; SILVA, A. O. A.; REIS, A. N. Taxa de prenhez em novilhas selecionadas por escore ovariano, submetidas a inseminação artificial com tempo pré-fixado, sincronizadas pelo protocolo "Ovsynch". **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 25, n. 1, p. 292-294, jan./mar. 2001.
- STATSOFT INC. (Tulsa, Estados Unidos). **Statistica for Windows**: release 5.1. Tulsa, 1996. 7 disquetes.
- STEVENSON, J. S.; LAMB, G. C.; HOFFMANN, D. P.; MINTON, J. E. Review: interrelationships of lactation and postpartum anovulation in suckled and milked cows. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 50, n. 1/2, p. 57-74, Oct. 1997.

- THATCHER, W. W.; DROST, M.; SAVIO, J. D.; MacMILLAN, K. L.; ENTWISTLE, K. W.; SCHMITT, E. J. P.; DE LA SOTA, R. L. New clinical uses of GnRH and its analogues in cattle. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 33, n. 1/4, p. 27-49, Oct. 1993.
- VASCONCELOS, J. L.; SILCOX, M. R. W.; PURSLEY, J. R.; WILTBANK, M. C. Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrus cycle in lactating dairy cows. **Theriogenology**, Woburn, v. 52, n. 6, p. 1067-1078, Oct. 1999.
- WILLIAMS, S. W.; STANKO, R. L.; AMSTALDEN, M.; WILLIAMS, G. L. Comparison of three approaches for synchronization of ovulation for timed artificial insemination in *Bos indicus*-influenced cattle managed on the Texas gulf coast. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 80, n. 5, p. 1173-1178, May 2002.
- WILTBANK, M. C.; GUMEN, A.; SARTORI, R. Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. **Theriogenology**, Woburn, v. 57, n. 1, p. 21-52, Jan. 2002.
- WOLFENSON, D.; THATCHER, W. W.; SAVIO, J. D.; BADINGA, L.; LUCY, M. C. The effect of a GnRH analogue on the dynamics of follicular development and synchronization of estrus in lactating cyclic dairy cows. **Theriogenology**, Woburn, v. 42, n. 4, p. 633-644, Sept. 1994.
- YOUNGQUIST, R. S. Cystic degeneration in the cow. In: MORROW, D. A. (Ed.). **Current therapy in theriogenology**. 2nd ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1986. p. 243-246.