

AGRÁRIA

Revista Brasileira de Ciências Agrárias

v.4, n.4, p.467-471, out.-dez., 2009

Recife, PE, UFRPE. www.agraria.ufrpe.br

Protocolo 513 - 20/02/2009 • Aprovado em 14/08/2009

Diogo R. Câmara¹

Ricardo F. Figueira²

Lígia B. R. de Mendonça³

Carla S. de M. Morais⁴

Redução hormonal em protocolo *Ovsynch* para inseminação artificial em tempo fixo em fêmeas Nelore

RESUMO

Objetivou-se com esse estudo avaliar o efeito da redução da dose hormonal do protocolo *Ovsynch* sobre o diâmetro do maior folículo ao final do tratamento e a taxa de prenhez de fêmeas Nelore inseminadas artificialmente em tempo fixo (IATF), além da influência de diferentes inseminadores e da existência de partos anteriores na taxa de prenhez. Um total de 176 fêmeas da raça Nelore constituiu os tratamentos T1 (50µg Fertirelina D0, 530µg cloprostenol sódico D7 e 50µg Fertirelina D9; n = 91) e T2 (25µg Fertirelina D0, 265µg cloprostenol sódico D7 e 25µg Fertirelina D9; n = 85). Os dados obtidos foram comparados com auxílio do qui-quadrado para taxa de prenhez e o tamanho dos folículos foi comparado utilizando ANOVA. As taxas de prenhez e o diâmetro do maior folículo foram de 29,67% e 27,05%; $11 \pm 2,84$ e $11 \pm 2,68$ para T1 e T2, respectivamente, não apresentando diferença significativa ($P > 0,05$) na comparação dos grupos. Os inseminadores e a existência de partos anteriores também não exerceram influência significativa sobre a taxa de prenhez após IATF. Concluiu-se que a redução em 50% nas doses hormonais usuais do protocolo *Ovsynch* para IATF não interfere na taxa de prenhez e no diâmetro do maior folículo ovariano em fêmeas Nelore, independente da ordem de parto ou do inseminador.

Palavras-chave: IATF, manejo reprodutivo, *Bos indicus*

Hormonal reduction in *Ovsynch* protocol to artificial insemination in fixed time at Nelore females

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effect of hormonal reduction in *Ovsynch* protocol upon the diameter of the largest follicle at the end of the treatment and pregnancy rate in Nelore cows submitted to fixed time artificial insemination (FTAI), as well as to assess the influence of inseminator and the existence of previous parturitions on pregnancy rate. A total of 176 Nelore females formed the treatments T1 (50µg Fertirelin D0, 530µg sodium cloprostenol D7 and 50µg Fertirelin D9; n = 91) and T2 (25µg Fertirelin D0, 265µg sodium cloprostenol D7 and 25µg Fertireline D9; n = 85). The obtained data were compared through the chi-square test to pregnancy rate and the size of the ovulatory follicle was compared using ANOVA. The pregnancy rates and the diameter of the largest follicle were 29.67% and 27.05%; 11 ± 2.84 and 11 ± 2.68 to T1 and T2, respectively. Results were not statistically different ($P > 0.05$) on comparison between groups. Inseminators and existence of previous parturitions showed no significant influence upon the pregnancy rate after FTAI. It was concluded that 50% of reduction on usually *Ovsynch* hormonal doses protocol did not interfere with pregnancy rate and largest follicle diameter in Nelore female, despite of parity of the cow or inseminator.

Key words: FTAI, reproductive management, *Bos indicus*

¹ Universidade Federal de Alagoas – Campus Arapiraca. Av. Manoel Severino Barbosa, s/n, CEP: 57.309-005, Bairro Bom Sucesso, Arapiraca-AL, Rod. AL 115 – Km 6,5. Caixa Postal Nº 61, CEP: 57.300-970. Arapiraca – AL. E-mail: Diogo@vicososa.ufal.br

² Birô de Negócios Comércio e Representações Ltda, Rua Durval Guimarães, 1217, Loja 1-A - Empresarial Leonardo da Vinci, Ponta Verde, CEP 57035-060, Maceio, AL. Fone: (82) 3327-5392. E-mail: ricardofelippe@globo.com

³ Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, CEP 52171-900, Recife-PE. Fone: (81) 3320-6404. Fax: (81) 3320-6403. E-mail: ligiabuzza@hotmail.com

⁴ Médica Veterinária autônoma, Jardim do Horto I, Rua Maçaranduba número 81, Bairro Gruta de Lourdes, Cep- 57052-535, Maceió-Alagoas., Cel- 82 9381 8467E-mail: carlasofiamorais@hotmail.com

INTRODUÇÃO

Em sistemas extensivos de criação de bovinos, os principais fatores que afetam a eficiência reprodutiva referem-se ao prolongado anestro pós-parto e às falhas na detecção de estro (Cavestany & Galina, 2000). Entretanto, um número reduzido de produtores utiliza as biotecnologias disponíveis para aumentar a rentabilidade (Johnson, 2005). Isso é perceptível ao se verificar o percentual de fêmeas bovinas de corte submetidas à inseminação artificial (IA) no país, que é de aproximadamente 5%, quando o ideal seria próximo a 10% (Martinez et al., 2000). Os benefícios potenciais da sincronização do estro incluem a redução do tempo dispensado com a detecção do cio e a diminuição do intervalo parto-primeiro serviço (Waldmann et al., 2006).

Historicamente, seis fases distintas do processo de controle do estro e ovulação em bovinos podem ser definidas. Na primeira fase, utilizou-se progesterona e progestágenos, visando prolongar ou criar uma fase luteal artificial; na segunda fase, estrógenos e gonadotrofinas foram combinados com a progesterona; na terceira fase, a prostaglandina foi utilizada para controlar a função luteal, que, quando passou a ser associada à progestágenos, resultou na quarta fase; a quinta fase foi caracterizada, principalmente, pela necessidade de se controlar a dinâmica folicular ovariana, tendo o hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) e seus análogos como ferramentas fundamentais. Finalmente, na sexta fase, progestágenos, prostaglandinas e GnRH se uniram em um único protocolo (Johnson, 2005).

A determinação do custo-benefício da IA, quando comparada à monta natural, deve incluir valores referentes à taxa de prenhez da IA x monta natural; custos de aquisição e manutenção de reprodutores x custo de manutenção do programa de IA; riscos associados à monta natural, principalmente sanitários; além da rentabilidade mensurada através do ganho genético (Vishwanath, 2003).

Um dos fatores fundamentais para a eficiência de um programa de IA é a boa observação dos sinais clínicos de estro, considerado um problema em diversas propriedades. Essa prática geralmente é mais facilmente adotada em rebanhos leiteiros, devido às características de manejo. Ao contrário, sistemas de criação de gado de corte para produção de bezeros, na sua grande maioria, utilizam métodos extensivos, dificultando a identificação de fêmeas em estro e aumentando os custos envolvidos com o manejo (Foote, 2002). Assim, a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) é uma técnica que visa facilitar o manejo da IA, reduzindo a mão-de-obra e concentrando as atividades (Patterson et al., 2003; Gioso et al., 2005).

Considerando-se a atual cadeia produtiva de carne bovina no país, o custo do protocolo de sincronização do estro e ovulação pode ser fator determinante em sua adoção. Trabalhos realizados anteriormente por Câmara et al. (2006) e outros autores (Yamada et al., 2002; Hiers et al., 2003) têm demonstrado que a redução das doses hormonais administradas não interfere na taxa de prenhez, o que poderia aumentar o uso da técnica devido à redução dos custos envolvidos. Neste sentido, objetivou-se com esse estudo avaliar o efeito

da redução das doses hormonais sobre a taxa de prenhez de novilhas e vacas Nelore inseminadas em tempo fixo utilizando o protocolo *Ovsynch*, verificando-se a influência de diferentes inseminadores e a existência de partos anteriores.

MATERIAL E MÉTODOS

A amostra foi composta por vacas com bezerro ao pé, no mínimo 120 dias pós-parto, e novilhas nulíparas da raça Nelore, que, durante a avaliação ultrassonográfica por via transretal (Aparelho CTS 900V, Siui, Honk Kong, China), apresentaram sinais de ciclicidade ovariana, verificada pela presença de corpo lúteo (CL) ou, na ausência do mesmo, a ocorrência de pelo menos um folículo maior ou igual a 10 mm de diâmetro (Gioso et al., 2005).

Todas as fêmeas foram mantidas em sistema de manejo extensivo, sendo o pasto formado por *Brachiaria decumbens*, com suplementação de sal mineral e água *ad libitum*. A sincronização do estro foi realizada durante o mês de Janeiro de 2008, no Município de Rio Largo-AL, com localização de 9° 28' 42" S e 35° 51' 12" O, apresentando temperaturas médias que oscilam entre 23,2 e 32,2 °C e precipitação pluvial média de 87,9 mm para o referido mês (Agritempo, 2008).

Após avaliação, foram selecionadas 176 animais, sendo 104 vacas e 72 novilhas, com condição corporal média de 3,12, segundo escala de 1 a 5 (Houghton et al., 1990), distribuídas em dois tratamentos, com condição corporal equivalente. Um dos grupos foi submetido ao tratamento *Ovsynch* (*Ovulation Synchronization*), utilizando a dosagem hormonal recomendada pelo fabricante, sendo denominado de T1 (n = 91, sendo 54 vacas e 37 novilhas): 50µg Fertirelina D0 (Fertigen®, Schering Plough, Brasil), 530µg cloprostenol sódico D7 (Ciosin®, Schering Plough, Brasil) e 50µg Fertirelina D9. O D0 consistiu no dia do início do tratamento, o que correspondeu à primeira aplicação de Fertirelina. O outro grupo foi submetido ao mesmo protocolo, utilizando metade da dose hormonal preconizada, sendo esse grupo denominado de T2 (n = 85, sendo 50 vacas e 35 novilhas): 25µg Fertirelina D0, 265µg cloprostenol sódico D7 e 25µg Fertirelina D9. Os hormônios foram aplicados pela via intramuscular profunda. No momento da última administração hormonal, cada fêmea teve o diâmetro de seu maior folículo mensurado por exame de ultrassom, via transretal.

Como forma de avaliar a influência do inseminador sobre a taxa de prenhez, os animais foram subdivididos em quatro grupos, denominados IN1 (n = 43), IN2 (n = 43), IN3 (n = 45) e IN4 (n = 45), que ficaram sob a responsabilidade de quatro inseminadores experientes da própria fazenda. Para cada técnico foi destinado um número equivalente de fêmeas de cada tratamento (Figura 1).

Todas as fêmeas foram inseminadas uma única vez, entre 12 e 16 horas após a última administração hormonal, independentemente das mesmas manifestarem sinais clínicos de estro, utilizando sêmen congelado de quatro touros, proveniente de uma central de congelamento de sêmen. A taxa de prenhez foi determinada 45 dias após a IA, por exame de ultrassom, via transretal.

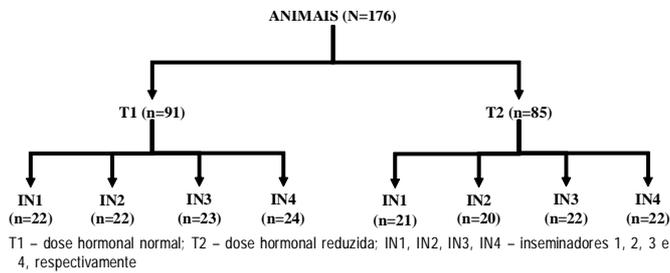


Figura 1. Modelo do desenho experimental

Figure 1. Experimental design model

As taxas de prenhez obtidas entre tratamentos e entre inseminadores foram comparadas utilizando-se o teste Qui-quadrado, enquanto para análise do tamanho médio do maior folículo entre os tratamentos se utilizou ANOVA, ambos com grau de significância de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Constatou-se taxa de prenhez de 29,67% (27/91) para T1 e 27,05% (23/85) para T2, não tendo sido observada influência da dosagem hormonal sobre a taxa de prenhez ou sobre o diâmetro do folículo pré-ovulatório (Tabela 1), sendo este similar ao relatado por Meneghetti & Vasconcelos (2008).

Tabela 1. Valores do diâmetro (mm) do folículo pré-ovulatório e da taxa de prenhez de fêmeas Nelore submetidas a diferentes protocolos hormonais e inseminadas em tempo fixo

Table 1. Values of preovulatory follicle diameter and pregnancy rate of Nelore females submitted to different hormonal protocols and inseminated at fixed time

Variável	Tratamentos	
	T1	T2
Diâmetro (mm) do maior folículo (média ± DP)	11,00 ± 2,84	11,00 ± 2,68
Taxa de prenhez (%)	29,67 (27/91)	27,05 (23/85)

T1 - 50µg Fertirelina D0, 530µg PGF_{2α} D7, 50µg Fertirelina D9; T2 - 25µg Fertirelina D0, 265µg PGF_{2α} D7, 25µg Fertirelina D9; T1 - 50µg Fertirelin D0, 530µg PGF_{2α} D7, 50µg Fertirelin D9; T2 - 25µg Fertirelin D0, 265µg PGF_{2α} D7, 25µg Fertirelin D9.

As taxas de prenhez obtidas foram inferiores às citadas por Saldarriaga et al. (2007) e Silva et al. (2007), que obtiveram taxas de 39,00 % e 43,75%, respectivamente, para fêmeas zebuínas. Cavestany & Galina (2000), trabalhando com vacas de leite submetidas ao protocolo Ovsynch, obtiveram 28,10% de prenhez após única inseminação, sendo os resultados semelhantes ao do presente experimento. Entretanto, esses autores utilizaram uma dosagem de 250 mg de Fertirelina, sendo cinco e dez vezes superior à dos tratamentos T1 e T2, respectivamente.

Sato et al. (2003) demonstraram que vacas tratadas com 100mg, 50mg ou 25mg de GnRH não apresentaram diferença (P>0,05) na indução da ovulação, com resultados de 100%, 80% e 100%, respectivamente. Em estudo realizado por Yamada et al. (2002), a utilização de 100mg ou 50mg de análogo do GnRH também não interferiu (P>0,05) nos resultados, corroborando com estudos prévios de Câmara et al. (2006). Esses

resultados embasam o fato de que, no presente estudo, não houve diferença (P>0,05) no tamanho dos folículos pré-ovulatórios, considerando-se a dinâmica folicular fisiológica, independente da dose de GnRH utilizada, assim como a semelhança entre as taxas de prenhez obtidas em T1 e T2.

Trabalho anterior realizado por Fernandes et al. (2001) demonstrou que a utilização de metade da dose de luteolítico (12,5mg) na submucosa vulvar resultou em taxa de prenhez similar àquela obtida em animais que receberam a dose normal (25mg) via intramuscular. Entretanto, o presente experimento demonstrou que a metade da dose do agente luteolítico, por via intramuscular, não interferiu no resultado final de prenhez, o que, provavelmente, foram influenciados pela precipitação pluviométrica atípica para o período de execução do experimento, uma vez que a pluviosidade média na região para a essa época é de 87,9 mm (Agritempo, 2008). Entretanto, durante o experimento, constatou-se apenas 41,8 mm, semelhante ao que ocorre no período seco (Agritempo, 2008), o que reduziu a disponibilidade de forragem para as matrizes e, conseqüentemente, o escore corporal das mesmas. Bastos et al. (2004) demonstraram haver relação direta entre a condição corporal e a taxa de prenhez após IATF, com valores de 20,0%, 23,8% e 50,0% para animais com escore 2,0; 2,5 e 3,0, respectivamente, fato embasado pelos relatos de Meneghetti & Vasconcelos (2008), ao ressaltarem aumento de seis pontos percentuais na taxa de prenhez, para cada 0,25 ponto na condição corporal.

A situação de balanço nutricional negativo das fêmeas, no presente estudo, não se refletiu em incapacidade de resposta ovariana à estimulação hormonal, como pode ser observado pelo tamanho médio dos folículos pré-ovulatórios (Tabela 1), o que corrobora com os relatos de Sá Filho et al. (2009), ao descreverem influência significativa da condição corporal sobre a taxa de prenhez. No entanto, estes autores não evidenciaram diferença nas taxas de ovulação e concepção. Ressalta-se que maior índice de absorção embrionária é observado quando a ovulação é induzida em folículos \leq 11 mm de diâmetro, como consequência da redução nas concentrações de progesterona circulante (Perry et al., 2005), o que pode ter também interferido nas taxas de prenhez, uma vez que a média obtida foi de 11mm em ambos os tratamentos.

Não foi observado, no presente experimento, influência de partos anteriores sobre a taxa de prenhez, sendo de 27,88% (29/104) para vacas e 29,16% (21/72) para novilhas (P > 0,05). Em relação aos diferentes inseminadores, a análise dos dados demonstrou que esse fator não exerceu influência significativa (P > 0,05) no resultado final (Tabela 2).

Apesar de neste estudo não ter sido constatada diferença significativa (P>0,05) na taxa de prenhez entre vacas e novilhas, Sá Filho et al. (2009) relataram menor taxa de prenhez em fêmeas nulíparas (39,6%), quando comparadas a vacas primíparas lactentes (45,2%) e múltíparas lactentes (51,8%), após uso da IATF. Foi relatado, ainda, que as novilhas apresentam menor resposta ao protocolo Ovsynch, devido à redução em, aproximadamente, 50% nas taxas de ovulação após a primeira injeção de GnRH (Martinez et al., 1999), enquanto em vacas esse índice varia de 64% (Vasconcelos et al., 1999) a 90% (Pursley et al., 1995). Entretanto, Tenhagen et al. (2005) ob-

Tabela 2. Influência do inseminador sobre a taxa de prenhez de fêmeas Nelore submetidas a diferentes protocolos hormonais e inseminadas em tempo fixo

Table 2. Influence of inseminator on pregnancy rate of Nelore females submitted to different hormonal protocols and inseminated at fixed time

Tratamento	Taxa de Prenhez (%)			
	IN1	IN2	IN3	IN4
T1	27,27 (6/22)	27,27 (6/22)	30,43 (7/23)	33,33 (8/24)
T2	38,09 (8/21)	20,00 (4/20)	22,73 (5/22)	27,27 (6/22)
Total	32,55 (14/43)	23,81 (10/42)	26,66 (12/45)	30,43 (14/46)

T1 - 50µg Fertirelina D0, 530µg PGF_{2α} D7, 50µg Fertirelina D9; T2 - 25µg Fertirelina D0, 265µg PGF_{2α} D7, 25µg Fertirelina D9; IN1; IN2; IN3; IN4 - Inseminador 1, 2, 3 e 4, respectivamente; T1 - 50µg Fertirelina D0, 530µg PGF_{2α} D7, 50µg Fertirelina D9; T2 - 25µg Fertirelina D0, 265µg PGF_{2α} D7, 25µg Fertirelina D9; IN1; IN2; IN3; IN4 - Inseminators 1, 2, 3 and 4, respectively.

tiveram taxas de prenhez entre 49% e 66% no primeiro serviço após IA de novilhas sincronizadas com auxílio de GnRH e prostaglandina, onde demonstraram a efetividade do protocolo para ovulação do folículo dominante após a segunda aplicação do GnRH no protocolo Ovsynch.

Em estudo realizado por Buckley et al. (2003), foi avaliado o efeito de diferentes inseminadores em um total de 12.993 inseminações executadas por técnicos provenientes de firmas comerciais ou funcionários da própria fazenda. Não foi observada interferência do inseminador na taxa de prenhez ao primeiro serviço, quando foram ajustados os dados de rebanho, ano, época de parição, tamanho de rebanho e tipo de sêmen (fresco e congelado). Os autores ainda relataram maior influência do rebanho, época de parição e intervalo parto-primeiro estro nas taxas de prenhez do que do próprio inseminador. Esses dados são semelhantes àqueles obtidos neste experimento, mas são contrários aos descritos por Sá Filho et al. (2009), ao afirmarem, após análise dos resultados de 64.033 vacas inseminadas em tempo fixo, que o inseminador exerce influência significativa na taxa de prenhez.

A redução nas doses hormonais dos protocolos para IATF pode se tornar um fator diferencial para adoção da prática, uma vez que, de acordo com Silva et al. (2007), o custo estimado da prenhez por IATF é de US\$ 26,46, enquanto na IA com observação de cio seria de US\$ 15,44. Assim, com a redução de 50% da dose dos hormônios nos protocolos de IATF, associado à diminuição dos custos de mão-de-obra com detecção do estro, a possibilidade de difusão da técnica de IATF pode ser incrementada. Entretanto, variáveis como o equilíbrio nutricional do rebanho devem ser levadas em consideração, devido à possibilidade de redução das taxas de prenhez, o que pode tornar a técnica economicamente inviável.

CONCLUSÕES

A redução de 50% da dose hormonal usada no protocolo *Ovsynch* em vacas e novilhas Nelore pré-selecionadas não interfere na taxa de prenhez. Além disso, a utilização de diferentes inseminadores ou a existência de partos anteriores não altera o resultado final do programa de IATF.

LITERATURA CITADA

- Agritempo – Embrapa Informática Agropecuária. Centro de Pesquisas Meteorológicas e Climáticas Aplicadas à Agricultura – Diretoria de Hidrometeorologia de Alagoas. <http://www.agritempo.gov.br/agroclima/sumario>. 09 Jun. 2008.
- Bastos, G.M.; Brenner, R.H.; Willke, F.W.; Neves, J.; de Oliveira, J.; Bragança, J.; Machado, S.; Porciúncula, P.; Gonçalves, P. Hormonal induction of ovulation and artificial insemination in suckled beef cows under nutritional stress. *Theriogenology*, v. 62, n. 5, p. 847-853, 2004.
- Buckley, F.; Mee, J.; O'sullivan, K. Insemination factors affecting the conception rate in seasonal calving Holstein-Friesian cows. *Reproduction, Nutrition and Development*, v. 43, n. 6, p. 543-555, 2003.
- Câmara, D.R.; Figueira, R.F.; Mendonça, L.B.R.; Pinto, L.C.; Mello, M.M.C.; Paiva, D.S. Efeitos de diferentes protocolos sobre a taxa de prenhez de vacas Nelore inseminadas em tempo fixo. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 34, suplemento 1, p. 423, 2006.
- Cavestany, D.; Galina, C.S. Evaluation of an artificial insemination program in a seasonal breeding dairy system through milk progesterone. *Reproduction in Domestic Animals*, v. 36, n. 2, p. 79-84, 2001.
- Fernandes, P.; Teixeira, A.B.; Crocci, A.J.; Barros, C.M. Timed artificial insemination in beef cattle using GnRH agonist, PGF_{2α} and estradiol benzoate (EB). *Theriogenology*, v. 55, n. 7, p. 1521-1532, 2001.
- Foote, R.H. The history of artificial insemination: selected notes and notables. *Journal of Animal Science*, v. 80, n. 2, p. 1-10, 2002.
- Gioso, M.M.; Fernandes, C.A.C.; Oba, E.; Vasconcelos, T.D.; Oliveira, E.R. Eficiência de doses reduzidas de acetato de fertirelina em programas de IATF (Ovsynch) em vacas leiteiras. In: Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 16, 2005, Goiânia. Resumos... Goiânia: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 2005. CD-Rom.
- Hiers, E.A.; Barthle, C.L.; Dahms, M.V.; Portillo, G.E.; Bridges, G.A.; Rae, D.O.; Thatcher, W.W.; Yelich, J.V. Synchronization of *Bos indicus* x *Bos taurus* cows for timed artificial insemination using gonadotropin-releasing hormone plus prostaglandin F_{2α} in combination with melen-gestrol acetate. *Journal of Animal Science*, v. 81, n. 4, p. 830-835, 2003.
- Houghton, P.L.; Lemenager, R.P.; Moss, G.E.; Hendrix, K.S. Prediction of postpartum beef cow body composition using weight to height ratio and visual body condition score. *Journal of Animal Science*, v. 68, n. 5, p. 1428-1437, 1990.
- Johnson, S.K. Possibilities with today's reproductive technologies. *Theriogenology*, v. 64, n. 33, p. 639-656, 2005.
- Martinez, M.F.; Adams, G.P.; Bergfeld, 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*, v. 57, n. 1/2, p. 23-33, 1999.
- Martinez, M.L.; Ferreira, A.M.; Machado, M.A. Biotecnologia na pecuária: tecnologias reprodutivas. *Informe Agropecuário*, v. 21, n. 204, p. 79-88, 2000.

- Meneghetti, M.; Vasconcelos, J.L.M. Mês de parição, condição corporal e resposta ao protocolo de inseminação artificial em tempo fixo em vacas de corte primíparas. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 6, n. 4, p. 786-793, 2008.
- Patterson, F.N.; Kojima, F.N.; Smith, M.F. A review of methods to synchronize estrus in postpartum beef cows and replacement beef heifers. *Journal of Animal Science*, v. 81, n. 14, Suplemento 2, p. 166-177, 2003.
- Perry, G.A.; Smith, M.F.; Lucy, M.C.; Green, J.A.; Paks, T.E.; Macneil, M.D.; Roberts, A.J.; Geary, T.W. Relationship between follicle size at insemination and pregnancy success. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 102, n. 14, p. 5268-5273, 2005.
- Pursley, J.R.; Mee, M.O.; Wiltbank, M.C. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF_{2a} and GnRH. *Theriogenology*, v. 44, n. 7, p. 915-923, 1995.
- Sá Filho, O.G.; Meneghetti, M.; Peres, R.F.G.; Lamb, G.C.; Vasconcelos, J.L.M. Fixed-Time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows II: Strategies and factors affecting fertility. *Theriogenology*, v. 72, n. 2, p. 210-218, 2009.
- Saldarriaga, J.P.; Cooper, D.A.; Cartmill, J.A.; Zuluaga, J.F.; Stanko, R.L.; Williams, G.L. Ovarian, hormonal and reproductive events associated with synchronization of ovulation and time appointment breeding of *Bos indicus*-influenced cattle using intravaginal progesterone, gonadotropin-releasing hormone, and prostaglandin F_{2a}. *Journal of Animal Science*, v. 85, n. 1, p. 151-162, 2007.
- Sato, T.; Nakada, K.; Uchiyama, Y.; Kimura, Y.; Ujiwara, N.; Sato, Y.; Umeda, M.; Furukawa, T. The effect of pretreatment with different doses of GnRH to synchronize follicular wave on superstimulation of follicular growth in dairy cattle. *Journal of Reproduction and Development*, v. 51, n. 5, p. 573-578, 2003.
- Silva, A.S.; Costa e Silva, E.V.; Nogueira, E.; Zúccari, C.E.S.N. Avaliação do custo benefício da inseminação artificial convencional e em tempo fixo de fêmeas bovinas pluríparas de corte. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 31, n. 4, p. 443-455, 2007.
- Tenhagen, B.A.; Kuchenbuch, S.; Heuwieser, W. Timing of ovulation and fertility of heifers after synchronization of oestrus with GnRH and prostaglandin F_{2a}. *Reproduction in Domestic Animals*, v. 40, n. 1, p. 62-67, 2005.
- Vasconcelos, J.L.; Silcox, M.R.W.; Rosa, G.; Pursley, J.; Wiltbank, M. Synchronization rate, size of ovulatory follicle and pregnancy rate alter synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows. *Theriogenology*, v. 52, n. 6, p. 1067-1078, 1999.
- Vishwanath, R. Artificial insemination: the state of the art. *Theriogenology*, v. 59, n. 2, p. 571-584, 2003.
- Waldmann, A.; Kurykim, J.; Jaakma, U.; Kaart, T.; Aidnik, M.; Jalakas, M.; Majas, L.; Padrik, P. The effects of ovarian function on estrus synchronization with PGF in dairy cows. *Theriogenology*, v. 66, n. 5, p. 1364-1374, 2006.
- Yamada, K.; Nakao, T.; Nakada, K.; Matsuda, G. Influence of GnRH analogue (fertirelin acetate) doses on synchronization of ovulation and fixed-time artificial insemination in lactating dairy cows. *Animal Reproduction Science*, v. 74, n. 1, p. 27-34, 2002.