

EVOLUÇÃO E PREMISSAS DOS PROTOCOLOS HORMONAIS DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO NA PECUÁRIA

(Evolution and premises of hormonal protocols of fixed time artificial insemination in livestock)

Melissa Sanches MONGELLI¹; Izabel Cristina TAVARES¹; Marcos FERRANTE^{2*}

¹Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Lavras (UFLA). Campus Universitário, Aqueanta Sol, Lavras/MG. CEP: 37.200-900; ²Farmacologia Veterinária da UFLA. *E-mail: marcos.ferrante@ufla.com.br

RESUMO

O Brasil historicamente tornou-se um dos principais produtores na pecuária de leite e corte. No entanto, para que o país continue com alta eficácia na produção, deve-se realizar a reposição de animais produtivos. Tal fator é proporcionado pela reprodução animal, através de novas biotecnologias criadas, sendo uma delas a Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF), a qual atribui um determinado protocolo hormonal e permite saber o dia específico para a inseminação da fêmea, sem a necessidade da observação do estro. O objetivo da atual revisão é sintetizar a evolução dos protocolos hormonais de IATF e apresentar as estratégias atuais para o aumento da fertilidade do rebanho.

Palavras-chave: Bovinocultura, ciclo estral, farmacologia.

ABSTRACT

Brazil has historically become one of the main producers of dairy and beef cattle. However, for the country to continue with high efficiency in production, it is necessary to perform the replacement productive animals. Such factor is provided by animal reproduction, through new biotechnologies created, one of which is Artificial Insemination in Fixed Time (IATF), which assigns a certain hormonal protocol and it is possible to know the specific day for the insemination of the female without the need of oestrus observation. The objective of the current review is to synthesize the evolution of hormonal protocols of IATF and present the current strategies for increasing herd fertility.

Key words: Cattle, estrous cycle, pharmacology.

INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos principais produtores e exportadores de carne bovina do mundo. Atualmente, de acordo com a Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes (ABIEC), no ranking de exportações o Brasil segue como um dos líderes, com 1,9 milhões de toneladas exportadas em 2019, possuindo como principais mercados: União Europeia (19,9%), Rússia (19,3%) e Hong Kong (18,37%). Em relação à pecuária de leite, de acordo com o Anuário de Leite da Embrapa de 2019, o Brasil é o terceiro país de maior produção (33,5 milhões de toneladas), perdendo somente para os Estados Unidos e para a Índia.

Correlacionando as duas produções, tanto de corte como de leite, há um fator em comum e essencial entre elas, que é a reposição de animais produtivos. Tal aspecto somente é concretizado através da reprodução animal, a qual tem como objetivo obter constantes nascimentos de bezerros que vão dar continuidade à produção animal.

Dessa forma, novas tecnologias foram criadas e desenvolvidas para aumentar a eficiência da reprodução. Atualmente, a biotecnologia com maior utilização mundial é a

inseminação artificial (IA), a qual atribuiu vários aspectos positivos em relação à monta natural, como: melhoramento genético rápido e eficiente; possibilidade de cruzamento entre raças; uso de touros superiores para a produção de carne/leite; controle de doenças transmissíveis através da monta; aumento do número de descendentes de um reprodutor, etc. De acordo com Baruselli *et al.* (2019), atualmente, o índice de fêmeas, em idade reprodutiva, inseminadas artificialmente passou de 5,8% em 2002 para 13,1% em 2018. No entanto, o grande entrave da utilização dessa biotecnologia são as ineficiências relacionadas à detecção de cio, a qual requer tempo e pessoas adequadamente treinadas, além de que é inviável a detecção de estro em rebanhos comerciais, os quais compõe a maioria da pecuária do Brasil (PIRES *et al.*, 2010).

Com isso, devido às limitações da IA, foi desenvolvido uma nova biotecnologia, a Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF), a qual atribui um determinado protocolo hormonal e permite saber o dia específico para a inseminação da fêmea, sem a necessidade da observação do estro.

O objetivo da atual revisão é sintetizar a evolução dos protocolos hormonais de IATF, relatar quais são os protocolos recomendados para cada tipo de produção (corte ou leite) e apresentar estratégias visando o aumento da fertilidade do rebanho.

DESENVOLVIMENTO

Fisiologia do ciclo estral

As funções reprodutivas das fêmeas vão desde a produção de ovócitos e, o fornecimento de um ambiente equilibrado para o feto, até o parto propriamente dito, seguido de lactação. Para que tais funções ocorram de maneira eficaz, há relações complexas entre determinados hormônios e adequadas estruturas anatômicas que vão assegurar o êxito da perpetuação da espécie (REECE *et al.*, 2017).

Em relação à fisiologia, o sistema reprodutivo dos mamíferos é dirigido por dois sistemas regulatórios, o sistema endócrino e o sistema nervoso. A interação entre os dois é essencial para desencadear a cascata do eixo por completo. O sistema nervoso central (SNC) é responsável por receber, analisar e integrar informações do meio externo e interno, além de, através de transmissores, enviar dados para o eixo Hipotálamo-Pituitária-Gônada, o qual será responsável pelo início da síntese e da liberação de hormônios da reprodução (SANTOS *et al.*, 2012). Com o estímulo adequado, o hipotálamo vai liberar o hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH), o qual irá estimular a hipófise a liberar o hormônio folículo estimulante (FSH) e o hormônio luteinizante (LH) (Fig. 01) (REECE *et al.*, 2017).

É importante salientar que, o GnRH, o FSH e o LH são hormônios produzidos de forma constante e liberados através de pulsos hormonais (SANTOS *et al.*, 2012). O FSH é um membro da família das glicoproteínas e possui um papel essencial na foliculogênese, sendo responsável pela ativação folicular e, em sequência, pela proliferação das células da granulosa, pela formação do antro e pela inibição da atresia folicular (MADELLA-OLIVEIRA *et al.*, 2014). Além disso, atua na regulação da fertilidade animal, estimulando o crescimento e maturação dos folículos ovarianos. Nota-se que o aumento das concentrações plasmáticas de FSH, ativa o recrutamento folicular e a emergência da onda folicular.

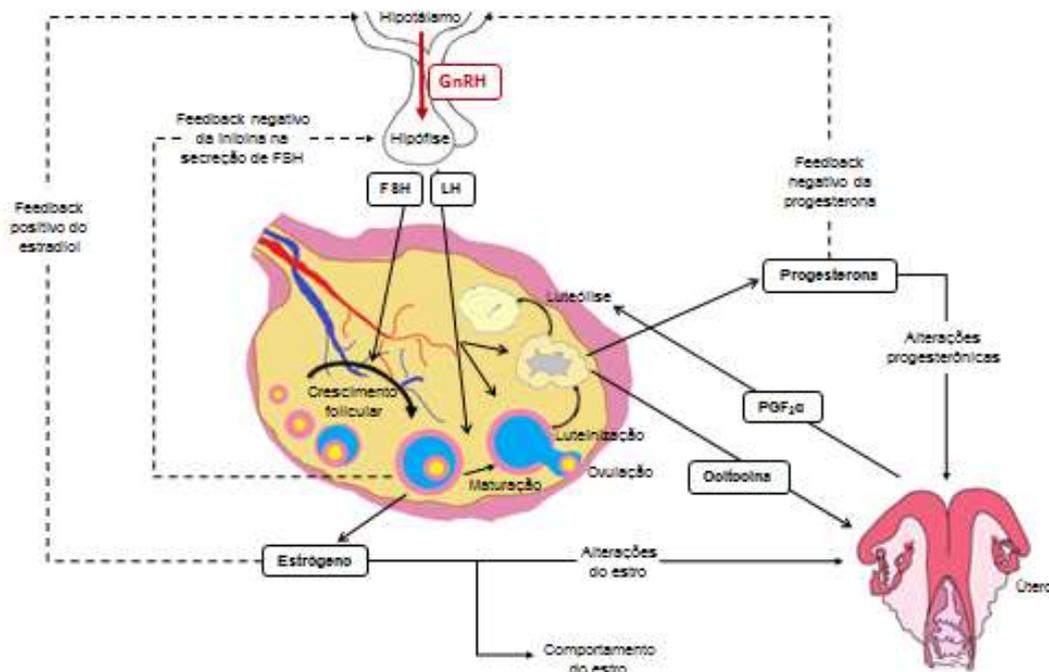


Figura 01: Eixo Hipotálamo-Pituitária-Gonadal. (Fonte: Os autores, 2020).

Sabe-se que a ação dos hormônios é dependente da ligação com seu receptor. Os receptores de FSH estão presentes nas células da granulosa e atuam estimulando o complexo aromatase para produzir estradiol a partir de andrógenos. Porém, na camada granulosa há baixa concentração de andrógenos, conseqüentemente, esses devem ser fornecidos pelas células da teca interna, oriundos da estimulação pelo LH (COSTA *et al.*, 2014). Com isso, a ação sinérgica do FSH com o LH promove a emergência e o desenvolvimento folicular. Quanto ao LH, é uma glicoproteína composta, que atua em conjunto com o FSH, induzindo a secreção de estrógenos. Além disso, no pico pré-ovulatório é responsável pela ruptura da parede folicular e pela ovulação (MADELLA-OLIVEIRA *et al.*, 2014).

O ciclo estral dos bovinos possui duração de 18 a 24 dias, com média de 21 dias (EMBRAPA *et al.*, 1991). De acordo com Ginther (1989), o desenvolvimento folicular, em bovinos, ocorre em padrão denominado ondas de crescimento folicular, no qual em um ciclo estral há a emergência de duas ou três ondas foliculares. O início da primeira onda é detectado com um grupo de folículos de 4 mm de diâmetro, após alguns dias um folículo torna-se dominante e os outros entram em atresia. Uma segunda onda surge no 10º dia, após a ovulação do folículo dominante, e, para ciclos de três ondas, o surgimento ocorre após 16 dias (Fig. 02) (GINTHER *et al.*, 1989).

O período de desenvolvimento folicular ou fase folicular é dividido em proestro e estro (Fig. 02). O proestro possui uma duração média de dois a três dias (EMBRAPA *et al.*, 1991; ANTONIOLLI *et al.*, 2002), tal período é caracterizado pelo aumento gradativo de estrógeno, devido ao crescimento folicular (ANTONIOLLI *et al.*, 2002), e ao decréscimo de progesterona, simultaneamente. Nessa fase, ocorre a liberação do GnRH pelo hipotálamo, estimulando a liberação de FSH e LH na corrente sanguínea, e ativando o crescimento e a maturação folicular (EMBRAPA *et al.*, 1991) (Fig. 02).

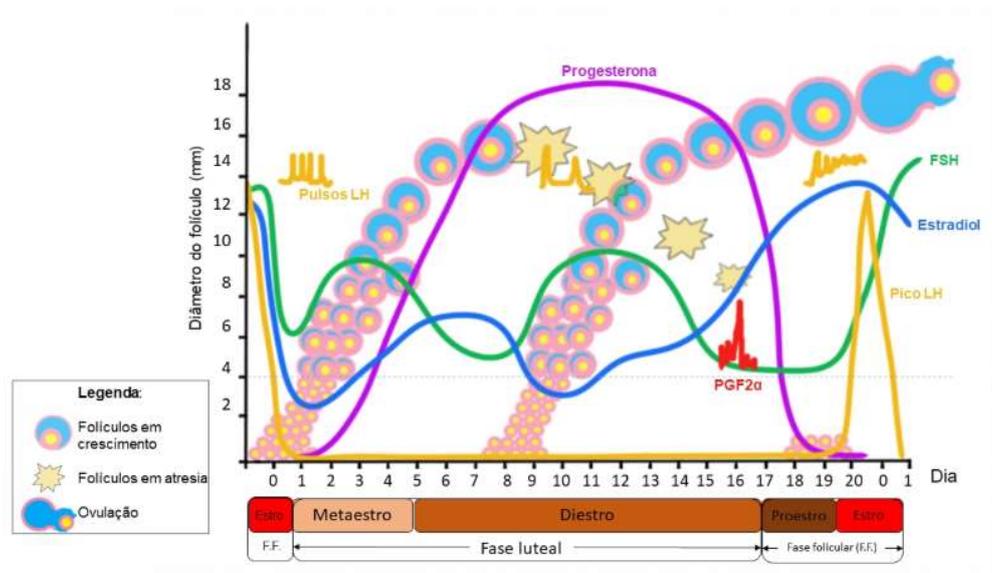


Figura 02: Desenvolvimento folicular em bovinos. (Fonte: Os autores, 2020)

Conforme o folículo se desenvolve, ocorre a divergência folicular, tornando-se dominante em relação aos outros, admitindo um tamanho em média de 8.5 mm de diâmetro (GINTHER *et al.*, 1996). Tal folículo possui dependência primária dos hormônios gonadotróficos (FSH e LH), enquanto os folículos subordinados são privados de FSH, além disso o folículo dominante secreta hormônios para inibir o crescimento de outros folículos (GINTHER *et al.*, 1996).

A partir da divergência, há o aumento da produção de E2, influenciando na manifestação do cio do animal. Após uma determinada concentração, o E2 realiza um feedback positivo a nível hipotalâmico, estimulando a liberação maior do pulso de FSH e, principalmente, do pico de LH, dando início à segunda fase, o estro. O estro é caracterizado pela aceitação da monta, além disso, ocorre a dilatação da cérvix, a síntese e secreção do muco vaginal e o transporte dos espermatozoides no trato reprodutivo feminino. Possui uma duração de 12 a 18 horas (ANTONIOLLI *et al.*, 2002).

Em relação à segunda fase, a progesterônica ou luteínica, ocorre após o término da manifestação do cio e compreende o metaestro e o diestro (Fig. 02). O metaestro é caracterizado pelo início da ovulação, a qual ocorre de 12 a 16 horas após o final do estro e da formação do corpo (EMBRAPA *et al.*, 1991). Nota-se que a ovulação está intimamente ligada ao pico de LH, pois através dele irá ocorrer a ruptura do folículo e a liberação do oócito. Além disso, há invasão de vasos sanguíneos para dentro do folículo, a fim de que ocorra a preparação para a formação do corpo lúteo (VIANA *et al.*, 1999). Tal fase possui uma duração de dois a três dias, Ademais, em aspectos hormonais há alto gradiente de progesterona (P4), devido à formação do CL (EMBRAPA *et al.*, 1991).

A P4 promove a inibição do cio e do pico pré-ovulatório do LH, quando em níveis elevados, e, também, a manutenção da gestação, quando ocorre fecundação (VIANA *et al.*, 1999). O diestro é o momento com maior duração, em média de 13 a 15 dias (EMBRAPA *et al.*, 1991). Nessa fase, se o óvulo for fecundado, o CL será mantido e os níveis de P4 elevados,

no entanto, caso não ocorra à fecundação, o CL irá regredir por volta de 17 dias pós-cio, devido à ação da $PGF2\alpha$, e, conseqüentemente, retomar um novo ciclo ao final (EMBRAPA *et al.*, 1991).

FATORES QUE AFETAM O SUCESSO DA PREENHEZ E INFLUENCIAM NO PROTOCOLO

Fisiologia do anestro pós-parto

O período de anestro pós-parto é quando o eixo hipotálamo-hipófise-ovário-útero está se recuperando da prenhez anterior, com concentração circulante de progesterona abaixo de 0,5mg/mL (BARUSELLI *et al.*, 2004). De acordo com Lamb e Mercadante (2016), o anestro pós-parto é um dos principais problemas de infertilidade em vacas, causando perdas gestacionais e retenção embrionária. A retomada ao ciclo estral, após o parto, é dependente do aumento da concentração de LH e da frequência do pulso de secreção de LH, estimulando o crescimento e a ovulação do folículo (BARUSELLI *et al.*, 2004).

Tanto na bovinocultura de corte como na de leite, exige-se, para ser uma atividade sustentável, a obtenção de um bezerro por vaca ao ano. Considerando o tempo médio de 290 dias de gestação e 30 dias de involução uterina, é ideal que a vaca fique prenha em 45 dias, ou seja, dois ciclos estrais. No entanto, de acordo com Pires *et al.* (2010), 60 dias pós-parto, mais de 50% das matrizes ainda não retornam ao ciclo estral, contribuindo, assim, para o atraso do início do protocolo e para redução na concepção.

Desenvolvimento folicular

Diversas pesquisas demonstraram que há uma correlação positiva e significativa entre a concentração de estradiol e o diâmetro do folículo ovulatório (VASCONCELOS *et al.*, 2001; SÁ FILHO *et al.*, 2009). Dessa forma, segundo a abordagem de Vasconcelos *et al.* (2001), fêmeas com folículos menores apresentavam menor concentração de E2 na pré-ovulação em comparação a fêmeas com folículos maiores. Tal concentração de E2 na fase pré-ovulatória favorece o aumento da concepção, devido ao maior diâmetro do folículo, maior tamanho do CL e, conseqüentemente, maior taxa de concepção (JANINI *et al.*, 2020). Além disso, a alta concentração de E2 próximo a IA influencia, positivamente, a fertilização, devido à redução do pH uterino (PERRY e PERRY., 2008). Assim sendo, segundo a concepção de Janini *et al.* (2020), devem ser adotadas alternativas para aumentar o diâmetro do folículo, principalmente no momento da IATF, para que se concretize a eficiência dos protocolos de sincronização e haja maiores taxas de concepção.

Hormônios que manipulam o ciclo estral

Para o sucesso dos protocolos de IATF há três premissas que devem ser consideradas, sendo que possuem função de manipular farmacologicamente o ciclo estral dos animais. A primeira é a sincronização da emergência folicular, através da indução da ovulação (GnRH) ou da atresia folicular (E2+P4). A segunda aborda o controle da fase luteal, por meio da utilização de luteolíticos análogos à $PGF2\alpha$. Já na última, há indução do crescimento folicular, com a utilização de FSH ou eCG, e da ovulação, com GnRH ou E2 (SANTOS *et al.*, 2012). Os

tratamentos hormonais são realizados por via parenteral ou por meio de dispositivos de liberação controlada. A seguir, relata-se os principais hormônios utilizados.

A administração do GnRH e seus análogos e agonistas vão ocasionar a liberação de LH. Desse modo, induzem o pico pré-ovulatório de LH, a ovulação e, também, a luteinização do folículo dominante presente no momento da aplicação. Além disso, após a ovulação, permite o recrutamento sincronizado de uma nova onda folicular em um dia aleatório do ciclo estral (D'AVILA *et al.*, 2019). O uso da PGF2 α e seus análogos possui efeito luteolítico, possibilitando maiores taxas de expressão de estro (NARUMIYA *et al.*, 1999). Tal ação luteolítica é decorrente da ligação de receptores acoplado à proteína G, porém é pouco efetiva quando administrada antes do 5º dia do ciclo estral, devido à baixa resposta do CL (NARUMIYA *et al.*, 1999). No Brasil, os análogos disponíveis comercialmente são: o dinoprost trometamina, que possui meia vida mais curta; e o cloprostenol sódico, com meia vida mais longa e mais potente (D'AVILA *et al.*, 2019).

Em relação à progesterona e progestágenos, são hormônios que mimetizam a ação do CL, realizando a supressão da secreção de LH e a inibição da ovulação (MACHADO *et al.*, 2007). Porém, para exercer sua função, é necessário que seja liberado de forma lenta e contínua (MACHADO *et al.*, 2007). Assim, são utilizados os dispositivos intra-vaginais ou intra-uterinos (CIDR, DIB, etc.) para a progesterona ou os implantes subcutâneos para progestágenos (norgestomet) (MACHADO *et al.*, 2007). Nota-se que, a quantidade de P4 varia conforme o implante utilizado e, além disso, pode ser reutilizada nos protocolos (MACHADO *et al.*, 2007). Já os ésteres de estradiol, a estrona e o estriol, são compostos por 17 β -estradiol (D'AVILA *et al.*, 2019).

Existem três tipos de E2 diferentes, são eles: o BE, que possui meia vida curta (3 dias); o VE, que é o menos utilizado, com meia vida intermediária (7 dias); e o CE, que possui meia vida mais longa (10-12 dias) (D'AVILA *et al.*, 2019). Quando associados ao P4 realizam a sincronização da emergência da onda folicular, pois o E2 efetua a supressão do FSH, impedindo o crescimento folicular (SÁ FILHO *et al.*, 2011). De acordo com Sá Filho *et al.* (2011), o VE induz um intervalo maior (6 dias) entre o tratamento e a emergência de uma nova onda folicular, em relação ao do BE (3-4 dias). No entanto, quando não há P4, os E2 estimulam a liberação de GnRH e LH, induzindo a ovulação do folículo dominante (MOENTER *et al.*, 1990). O uso do BE é eficiente para a ovulação 24 horas após a remoção da fonte de P4, em contrapartida o CE permite a administração simultânea à retirada da fonte de P4 (D'AVILA *et al.*, 2019). Por último, a eCG (Gonadotrofina Coriônica Equina) mimetiza a ação do FSH e do LH, otimizando o crescimento e a maturação do folículo dominante (MACHADO *et al.*, 2007).

A administração ao final do tratamento progesterônico induz a formação de um CL de alta produção de P4. Além disso, é visto que seu efeito é mais potente em vacas lactantes e com baixo ECC (MACHADO *et al.*, 2007).

Protocolos primordiais

De acordo com Lamb e Mercadante (2016), os protocolos primordiais de sincronização de estro utilizados, eram baseados em uma única injeção de PGF2 α , para induzir luteólise, seguida pela detecção de estro e realização de IA em novilhas. No entanto, tal indução pela PGF2 α só poderia ser alcançada quando o CL estava presente e funcional, aspecto que não ocorria em todos os animais ao mesmo tempo, diminuindo a eficácia reprodutiva.

Após estudos e pesquisas realizadas, foi desenvolvido o protocolo Ovsynch, baseado em GnRH e PGF2 α , com foco no controle do CL (PURSLEY *et al.* 1995). No primeiro dia do protocolo administrava-se GnRH e após sete dias aplicava-se a PGF2 α , com o objetivo de sincronizar a onda folicular e induzir luteólise, aumentando o número de fêmeas aptas para IA (PURSLEY *et al.* 1995; LAMB e MERCADANTE, 2016; STEVENSON, 2016). Para que pudesse ser descartada a observação de estro no protocolo, foi adicionada mais uma injeção de GnRH 48 horas após a aplicação de PGF2 α , induzindo a ovulação do folículo dominante (PURSLEY *et al.*, 1995; LAMB e MERCADANTE, 2016; STEVENSON, 2016) (Fig. 03).



Figura 03: Protocolo Ovsynch. (Fonte: Os autores, 2020)

A presença do GnRH aumentou as concentrações de LH, conseqüentemente, a ovulação do folículo dominante foi alcançada no intervalo de 24 a 32 horas, após a injeção de GnRH (LAMB e MERCADANTE, 2016). Entretanto, há situações específicas que repercutem no sucesso ou não de tal protocolo. De acordo com Vasconcelos *et al.* (2001), o dia do ciclo estral ao início do protocolo influencia na taxa de prenhez dos animais, com isso, foi verificado que as chances de ovulação ao primeiro GnRH são maiores quando o protocolo é iniciado entre o 5º e o 10º dia do ciclo estral. Em suma do mesmo estudo, foi visto que o animal que ovula ao primeiro GnRH possui maior probabilidade de sucesso na sincronização da ovulação (2.09 vezes maior). Com base nessa informação, foram desenvolvidos diversos tipos de protocolos de pré-sincronização, a fim de controlar o dia do ciclo estral em que o Ovsynch inicia, garantindo melhor eficiência reprodutiva.

Há diversos protocolos de pré-sincronização, com a utilização de distintos hormônios, como, PGF2 α ou GnRH. Quando se utiliza como base do protocolo a PGF2 α , denomina-se Presynch, no qual há duas injeções de PGF2 α administradas em um intervalo de 14 dias (Fig. 04).

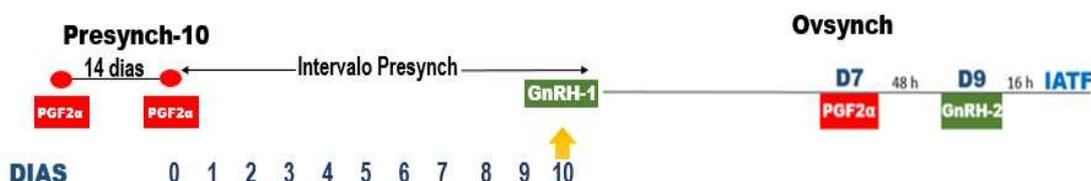


Figura 04: Protocolo de Pré-sincronização: Presynch-10. (Fonte: Os autores, 2020).

Tal sincronização, distingue-se de acordo com a quantidade de dias entre a última injeção e o início do Ovsynch, podendo ser 14, 11 ou 10 dias (Presynch-14, Presynch-11 e Presynch-10) (STEVENSON, 2016).

O protocolo que utiliza como base GnRH, é denominado Double-Ovsynch, sendo fundamentado na utilização de dois protocolos de Ovsynch, ou seja, aplica-se a primeira injeção

de GnRH, sete dias após injeta-se PGF2 α e 56 horas depois aplica-se outro GnRH. Após sete dias, inicia-se o protocolo Ovsynch propriamente dito (Fig. 05) (STEVENSON, 2016).



Figura 05: Protocolo de Pré-sincronização: Double-Ovsynch. (Fonte: Os autores, 2020).

No geral, com a inclusão de tais protocolos de pré-sincronização foram obtidos resultados satisfatórios em relação à taxa de prenhez. As vacas que foram protocoladas com Presynch obtiveram 42% a mais de chances de prenhez (STEVENSON, 2016). No entanto, tal protocolo possui limitações, como, a incapacidade de melhorar a fertilidade de vacas em anestro (LAMB e MERCADANTE, 2016).

PROTOCOLOS ATUAIS

Adaptados ao Ovsynch

O protocolo original Ovsynch foi difundido rapidamente entre as propriedades, devido ao fato de ser uma ferramenta reprodutiva que não necessita da observação do estro. (AZEVEDO *et al.*, 2014). No entanto, de acordo com Pursley *et al.* (1995), mesmo conseguindo elevar o número de vacas submetidas a IA e reduzir o intervalo entre partos, a sua taxa de gestação é similar à encontrada na IA convencional, não possuindo melhora direta na fertilidade dos animais. Com isso, foram desenvolvidos os protocolos adaptados ao Ovsynch. Na Tab. 01 são elucidados alguns tipos de protocolos de IATF desenvolvidos com base no Ovsynch.

Tabela 01: Protocolos adaptados ao Ovsynch para gado de corte e leite.

Nome	Delimitação do protocolo	Características diferenciais	Referências
Cosynch		O momento da inseminação é realizada junto com a segunda dose de GnRH. Reduziu dias de manejo	Geary e Whittier, 1998.
Ovsynch de 56 horas		A segunda dose de GnRH é feita 56 horas após PGF2 alfa. Aumenta o tempo de maturação folicular.	Brusveen <i>et al.</i> , 2007
Ovsynch associado à P4		Uso de P4 entre GnRH e PGF2 alfa. Aumenta as taxas de concepção.	Barros <i>et al.</i> , 2005
Ovsynch: substituição do 2º GnRH por BE		Somente usado para diminuir custo de manejo. Fertilidade similar ao Ovsynch tradicional	Barros <i>et al.</i> , 2000
Ovsynch associado à progesterona+ eCG		Adição de eCG no dia da retirada do implante. Ótimos resultados para rebanhos com elevado anestro pós-parto e baixo ECC.	Bó <i>et al.</i> , (2013)
Ovsynch modificado – 2 PGF2alfa		Adição de uma dose de PGF2 alfa. Ocorreu aumento da fertilidade.	Rheinberger <i>et al.</i> , (2020)

Fonte: Os autores (2020).

Atualmente, o uso de ésteres de estradiol em países da América do Norte e da Europa é proibido, visto que, segundo o 32º Informe do Comitê Mixto do Codex Alimentarius/FAO/WHO (1988), a ingestão de alimentos com resíduos hormonais pode levar ao aparecimento de distúrbios endócrinos em humanos. Dessa forma, protocolos a base de GnRH e PGF2 α , em tais locais, são amplamente utilizados (BÓ *et al.*, 2013). De acordo com Baruselli *et al.* (2004), o uso dos protocolos adaptados ao Ovsyncg é recomendado tanto para *Bos indicus* como para *Bos taurus*, no entanto, as taxas de gravidez em *Bos indicus* estão sendo muito inferiores quando comparadas às em *Bos taurus*.

Nos países da América do Sul, foram desenvolvidos protocolos para diminuir o custo do tratamento (BARROS *et al.*, 2000). Nota-se que é realizado a substituição da segunda dose de GnRH por 1,0 mg de BE (Tab. 01), tanto em vacas Nelore (BARROS *et al.*, 2000), como em vacas Holandesas (KIM *et al.*, 2005). Em ambos os trabalhos, não foram verificadas diferenças na taxa de prenhez, obtendo 47,7 % de gestação com uso do Ovsynch tradicional e 43,3 % com tratamento modificado. Porém, segundo os mesmos dois autores citados, somente se deve dar preferência a tal protocolo quando se deseja reduzir o custo da tecnologia.

Outros protocolos a serem citados são os que envolvem a adição de progestágenos (Tab. 01) (BARROS *et al.*, 2000). Tal tratamento é mais apropriado para fêmeas zebuínas de corte criadas extensivamente, por apresentarem baixa ciclicidade reprodutiva no início do protocolo, devido à má nutrição (FERRAZ *et al.*, 2008). Além disso, de acordo com Bó *et al.* (2013), a utilização de eCG em protocolos a base de GnRH e P4 vem apresentando bons resultados, principalmente em rebanhos com alto índice de anestro pós-parto e com baixo ECC (Tab. 01). Um experimento realizado por Veneranda *et al.* (2006), na Argentina, comparou o protocolo de GnRH e P4 tradicional com o tratamento que adiciona eCG no dia da remoção do dispositivo. Os autores demonstraram que houve diferenças significativas na taxa de prenhez dos animais, sendo de 39,3%, o tradicional, para 48,7%, com o uso do eCG.

Rheinberger *et al.* (2020) realizaram um experimento, na Austrália, com rebanho leiteiro, comparando a fertilidade dos animais em dois protocolos distintos. Em um primeiro grupo foi realizado o protocolo original do Ovsynch (OO), no segundo grupo utilizado o protocolo Ovsynch modificado (OM), no qual havia uma segunda injeção de PGF2 α no dia 8 do protocolo (Tab. 01). Os autores expõem que ocorreu aumento de 7% na fertilidade dos animais protocolados com OM. No entanto, abordam, também, que devem ser realizadas pesquisas em relação ao custo/benefício do tratamento.

Baseados em estrógeno e progesterona

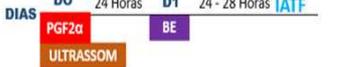
Os protocolos de estradiol e progesterona estão sendo amplamente utilizados, nos últimos anos, em programas de sincronização de estro em bovinos (SÁ FILHO *et al.*, 2009). Os protocolos consistem na inserção de um dispositivo de liberação controlada de P4 e na administração de estradiol no dia 0, para realizar a sincronização da emergência da onda folicular (SÁ FILHO *et al.*, 2011). Além disso, aplica-se PGF2 α no momento da remoção do dispositivo no dia 7, 8 ou 9, a fim de que ocorra luteólise, e, subsequentemente, aplica-se uma dose menor de estradiol 24h após ou GnRH/LH de 48h a 54h depois, para sincronizar a ovulação (BÓ *et al.*, 2002). Ademais, segundo Bó *et al.* (2002), as taxas de gestação relatadas com esses protocolos foram de 40 a 50%, sendo que os fatores que mais influenciam nos resultados são os ECC e a ciclicidade dos animais.

Nota-se, também, que, de acordo com Baruselli *et al.* (2004), a adição de eCG ao protocolo vem sendo muito utilizada, na bovinocultura de corte e leite. Segundo Bó *et al.* (2013), ela é administrada no momento da remoção do dispositivo de P4, estimulando o crescimento do folículo dominante e, conseqüentemente, elevando a taxa de ovulação. No entanto, para vacas leiteiras de raça cruzada foi feito uma pesquisa por Prata *et al.* (2017) na qual observou-se a eCG aumenta a fertilidade dos animais, desde que seja administrada em vacas com até 70 dias em lactação, uma vez que após esse período não houve diferenças significativas em utilizar ou não a eCG.

Em rebanhos leiteiros, Souza (2008) sugeriu o tratamento com BE, P4, eCG, CE e GnRH, os resultados do estudo demonstram baixa fertilidade, porém, foi devido ao estresse calórico acometendo os animais.

Um experimento realizado por Carvalho *et al.* (2017) teve como objetivo comparar a utilização ou não de PGF2 α no dia 0 do protocolo em novilhas. Os resultados são apresentados a seguir (Tab. 02).

Tabela 02: Protocolos a base de E2 e P4 desenvolvidos para gado de leite.

Delineamento do protocolo	Características diferenciais	Referências
	Protocolo apresentou baixos índices de fertilidade, principalmente, para rebanhos leiteiros de alta produção.	Souza et al. (2008);
	Uso do eCG e PGF2 α no dia da retirada do implante, elevou os índices de fertilidade em rebanho Girolando.	Pinheiro Neto et al. (2015);
	Adição de PGF2 α no início do protocolo aumentou a taxa de ovulação.	Carvalho et al., (2017)
	Protocolo de curto prazo (24horas). Apresenta boa taxa de fertilidade.	Bandai et al., (2020)

Fonte: Os autores (2020).

Nota-se que, os resultados do experimento mostraram uma alta taxa de ovulação (93,7%) de animais tratados correlacionados com não tratados (35,3%). Para diminuir a mão de obra e o valor dos protocolos, foi realizado um estudo recente, conduzido por Bandai *et al.* (2020), no qual a administração hormonal e a IA foram feitas em um intervalo de 24 horas. O protocolo a curto prazo era baseado em PGF e BE (Tab. 02), porém, os autores constataram que obrigatoriamente para o início do tratamento as vacas devem apresentar CL funcional, correspondendo um tamanho >20mm de diâmetro. O resultado do estudo demonstra boa taxa de fertilidade (52,8%), mas devem ser feitas mais pesquisas em cima da taxa de ovulação e de sincronização da onda folicular.

Em fazendas de bovinocultura de corte são utilizados protocolos a base de BE, P4, PGF2 α , eCG e CE (Tab. 03) (BÓ *et al.*, 2013). De acordo com Bó *et al.* (2013), é o tratamento de escolha para bovinos de corte na América do Sul, contendo em média 50% de taxa de gestação. Na Tab. 03, a seguir, são elucidados alguns tipos de protocolos de IATF

desenvolvidos em rebanhos de corte. Um estudo realizado por Silva *et al.* (2018), comparou a indução da ovulação com CE ou GnRH e, também, a influência do CL no dia 0, na fertilidade de novilhas *Angus* (Tab. 03). Os autores demonstram que a presença do CL no dia 0 do protocolo elevou as taxas de prenhez (>60%), se comparadas às das que não apresentavam (50%). Além disso, em relação à fertilidade observou-se que foi maior utilizando como indutor o GnRH. Há estudos (MEE *et al.*, 1990; FERREIRA *et al.*, 2017) que analisam o efeito do GnRH no dia da IATF (Tab. 03). No trabalho de Gonçalves Junior *et al.* (2017), observou-se que novilhas que não apresentavam cio ou apresentavam e recebiam o GnRH obtinham maior taxa de fertilidade (52,6%) em relação às que não recebiam o tratamento (45,9%). No entanto, esse mesmo efeito não se repete em múltiparas, pois, de acordo com Consentini *et al.* (2017), as taxas de gravidez não se alteraram quando os animais manifestaram o cio, somente houve efeito significativo quando não ocorreu a presença do estro.

Tabela 03: Protocolos a base de E2 e P4 desenvolvidos para gado de leite.

Delineamento do protocolo	Características diferenciais	Referências
	Utilização do BE como indutor de ovulação.	Gottschall <i>et al.</i> (2012)
	Apresenta boa taxa de fertilidade para animais criados extensivamente.	BÓ <i>et al.</i> , (2013)
	Utilização do GnRH como indutor de ovulação apresentar maior fertilidade quando comparada com CE.	Silva <i>et al.</i> , (2018),
	Utilização do GnRH no dia da IA eleva os níveis de gestação.	Ferreira <i>et al.</i> (2017)

Fonte: Os autores (2020).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nota-se que os protocolos de IATF estão em constante desenvolvimento para a melhora da fertilidade dos animais. Características fisiológicas das fêmeas, como desenvolvimento folicular e anestro pós-parto foram alguns dos fatores que contribuíram para a evolução dos protocolos. Além disso, tais evoluções seguem as regulações legais de cada país, como também, o tipo de produção (carne ou leite) e categoria animal.

REFERÊNCIAS

ABIEC. Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes. Disponível em: <http://abiec.com.br/publicacoes/beef-report-2019/>.

ANTONIOLLI, C.B. Desenvolvimento folicular, ondas foliculares e manipulação. UFRGS. Seminários de Endocrinologia da Reprodução do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias (PPGCV) de 2002 a 2004. Laboratório de análises clínicas veterinárias, 2002. 15p.

AZEVEDO, C.; CANADA, N.; SIMÕES, J. O protocolo hormonal Ovsynch e suas modificações em vacas leiteiras de alta produção: uma revisão. *Archivos de Zootecnia*. Ed.63, v.244, n.244, p.173-187. 2014.

BANDAI, K.; KUSAKA, K.; MIURA, H.; KIKUCHI, M.; SAKAGUCHI, M. A simple and practical short-term timed artificial insemination protocol using estradiol benzoate with prostaglandin F₂ α in lactating dairy cows. *Theriogenology*, v.141, n.1, p197-201. 2020

BARROS, C.M.; MOREIRA, M.B.P.; FIGUEIREDO, R.A.; TEIXEIRA, A.B.; TRINCA, L.A. Synchronization of ovulation in beef cows (*Bos indicus*) using GnRH, PGF₂ α and estradiol benzoate. *Theriogenology*, v.53, n.1, p.1121-1134, 2000.

BARUSELLI, P.S. IATF gera ganhos que superam R\$ 3,5 bilhões nas cadeias de produção de carne e de leite. 2ª ed., Boletim Eletrônico do Departamento de Reprodução Animal/FMVZ/USP, 2019. 2p.

BARUSELLI, P.S.; REIS, E.L.; MARQUES, M.O.; NASSER, L.F.; BÓ, G.A. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrous beef cattle in tropical climates. *Animal Reproduction Science*, v.82/83, n.1, p.479-486, 2004.

BÓ, G.A.; BARUSELLI, P.S.; MAPLETOFT, R.J. Synchronization techniques to increase the utilization of artificial insemination in beef and dairy cattle. *Animal Reproduction Science*. v.10, n.3, p.137-142, 2013.

BÓ, G.A.; CUTAIA, L; TRIBULO, R. Tratamientos hormonales para inseminación artificial a tiempo fijo en bovinos para carne: algunas experiencias realizadas en Argentina. Primera parte. *Taurus*. Sitio Argentino de Producción Animal, v.14, n.4, p10-21, 2002.

CARVALHO, J.B.P; CARVALHO, N.A.T; REIS, E.L; NICHI, M.; SOARES, J.G; BARUSELLI, P.S. Efeito da prostaglandina f₂ α no início do protocolo de sincronização da ovulação em novilhas leiteiras *bos indicus*, *bos taurus* e *bos indicus* x *bos taurus*. *Boletim de Indústria Animal, Nova Odessa*, v.74, n.2, p.122-134, 2017.

CARVALHO, R.S. Influência da alteração de escore de condição corporal e de hormônios metabólicos pós-parto na eficiência reprodutiva de vacas Nelore inseminadas em tempo fixo. 2017. 64p. (Dissertação de Mestrado), Faculdade Estadual Paulista de Medicina Veterinária e Zootecia. Botucatu, 2017.

CONSENTINI, C.E.C.; MADUREIRA, G.; MOTTA, J.C.L.; MELO, L.F.; PRATA, A.B.; GONÇALVES, J.R.S.; JUNIOR, P.L.J.M.; ALVARENGA, A.B.; WILTBANK, M.C.; SARTORI, R. Reproductive efficiency of Nelore cows submitted to 7-d FTAI protocols initiated with estradiol benzoate or GnRH and with or without gnrh at the time of AI. *Annual Meeting of the Brazilian Embryo Technology Society (SBTE)*. v.14, p.31-33, 2017.

COSTA, S.L; COSTA, E.P; PEREIRA, E.C.M; MENDES, V.R.A; SANGLARD, L.M.P. Caracterização estrutural do hormônio foliculo estimulante e seu papel na fisiologia de células ovarianas. *Ciência Animal*, v.24, n.1, p.11-23, 2014

D'AVILA, C.A; MORAES, F.P.; JR LUCIA, T.; GASPEIN, B.G. Hormônios utilizados na indução da ovulação em bovinos – Artigo de revisão. Revista Brasileira de Reprodução Animal. v.43, n.4, p.797-802, 2019

EMBRAPA. Anuário de leite. Sua excelência, o consumidor, 2019. 53p. Disponível em: embrapa.br/gado-de-leite. Acesso em: 01/04/2020.

EMBRAPA. O ciclo estral de bovinos e métodos de controle. 1991. 24p. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/321570>. Acesso em: 20/03/2020.

FERRAZ, H.T., VIU, M.A.O., LOPES, D.T.; Ferraz, H.T. Sincronização da ovulação para realização da inseminação artificial em tempo fixo em bovinos de corte. Pubvet, v.2, n.12, p.24-31, 2008.

FERREIRA, R.M.; GONÇALVES JUNIOR, A.; SARAN JUNIOR, A.J.; GONÇALVES, R.L.; LOLLATO, J.P.M.; SALES, J.N.S.; BRUSELLI, P.S. Treatment with GnRH (Gonaxal[®]) at AI increases pregnancy rate of nelore cyclic heifers that showed or not estrus during the TAI protocol, with greater impact in those without estrus demonstration. Annual Meeting of the Brazilian Embryo Technology Society (SBTE), Animal Reproduction. Editorial Board, v.14, n.3, p.713, 2017.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization – WHO. Evaluation of certain veterinary drug residues in food: seventy-eighth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Geneva: WHO; Technical Report Series. v.763, 1988. 41p.

GINTHER, O.J.; WILTBANK, M.C.; FRICKE, P.M et al. Selection of the dominant follicle in cattle. Biology of Reproduction, v.55, n.6, p.1187-1194, 1996.

GINTHER, O.J; KNOPF, L; KASTELIC, J.P. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrous cycles with two and three follicular waves. Journal of Reproduction and Fertility, v.87, n.1, pg.223-230, 1989.

GONÇALES JUNIOR, W.A.; SARAN JUNIOR A.J.; GONÇALVES, R.L.; LOLLATO, J.P.M.; SALES, J.N.S.; MINGOTI, R.D.; BARUSELLI, P.S.; FERREIRA, R.M. Treatment with GnRH (Gonaxal[®]) at AI increases pregnancy rate of Nelore primiparous cows that showed or not estrus during the TAI protocol. Annual Meeting of the Brazilian Embryo Technology Society (SBTE), Animal Reproduction. Editorial Board, v.14, p.31, 2017.

JANINI, L.C.Z; BERNARDO, J.O; TIRONI, S.M.T; SILVA-JUNIOR, E.R.S; CIPRIANO, R.S. Relação entre diâmetro folicular, indicador de reprodução comercial e taxa de gravidez em bovinos de corte. Pubvet, v.14, n.3, p.1-6, 2020.

KIM, U.H.; SUH, G.H.; NAM, H.W.; KANG, H.G.; KIM, I.H. Follicular wave emergence, luteal function and synchrony of ovulation following GnRH, or estradiol benzoate in a CIDR-treated, lactating Holstein cows. Theriogenology, v.63, n.1, p260-268, 2005.

LAMB, G.C.; MERCADANTE, V.R.G. Synchronization and Artificial Insemination Strategies in Beef Cattle. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice, v.32, n.2, p.335-347, 2016.

MACHADO, R.; BARBOSA, R. T.; BERGAMASCHI, M.A.C.M.; FIGUEIREDO, R.A. A inseminação artificial em tempo fixo como biotécnica aplicada na reprodução dos bovinos de corte. 18ª ed., EMBRAPA, 2007. 13p.

MADELLA-OLIVEIRA, A.F., QUIRINO, C.R. e PACHECO, A. Principais hormônios que controlam o comportamento reprodutivo e social das fêmeas ruminantes – Revisão. PUBVET, Londrina, v.8, n.3, ed. 252, p.1-25, 2014.

MEE, M.O., STEVENSON, J.S., SCOPY, R.K., FOLMAN, Y. Influence of gonadotropin-releasing hormone on timing of insemination relative to estrus on pregnancy rates of dairy cattle at first service. *Journal of Dairy Science*, v.73, n.6, p.1500-1507, 1990.

MOENTER, S.M.; CARATY, A.; KARSCH, F.J. The estradiol-induced surge of gonadotropin-releasing hormone in the ewe. *Endocrinology*, v.127, n.3, p.1375-84, 1990.

NARUMIYA, S.; SUGIMOTO, Y.; USHIKUBI, F. Prostanoid receptors: structures, properties, and functions. *Physiological Reviews*, v.79, n.4, p.1193-226, 1999.

PERRY, G.A.; PERRY, B.L. Effect of preovulatory concentrations of estradiol and initiation of standing estrus on uterine pH in beef cows. *Domestic Animal Endocrinology*, v.34, n.3, p.333-338, 2008.

PIRES, A.V. Bovinocultura de corte. Volume 1. Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz. Piracicaba, v.1, n.1, p.3-38, 2010.

PIRES, A.V. Bovinocultura de corte. 2ª ed., Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz (Fealq), p.3-38, 2010.

PRATA, A.B.; PONTES, G.C.S.; MONTEIRO, P.L.J.; DRUM, J.N.; WILTBANK, M.C.; SARTORI, R. Equine chorionic gonadotropin increases fertility of grazing dairy cows that receive fixed-time artificial insemination in the early but not later postpartum period. *Theriogenology*, v.98, p.36-40. 2017

PURSLEY, J.R.; MEE, M.O.; WILTBANK, M.C. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF $_{2\alpha}$ and GnRH. *Theriogenology*, v.44, n.7, p.915–923, 1995.

REECE, W. Dukes – Fisiologia dos Animais Domésticos. 13ª ed., Roca, p.1465-1500. 2017

RHEINBERGER, J.M.; COLSON, D.D.; BEGGS, D.S.; MANSELL, P.D.; STEVENSON, M.A.; RHEINBERGER, R.J.; PYMANA, M.F. Effect of a second treatment of prostaglandin F $_{2\alpha}$ during the Ovsynch program on fixed-time artificial insemination conception rates and luteolysis in split-calving, pasture-fed dairy cows. *Australian Veterinary Journal* v.98, n.5, p.190-196, 2020.

SÁ FILHO, M.F.; BALDRIGHI, J.M.; SALES, J.N.S.; CREPALDI, G.A.; CARVALHO, J.B.P.; BÓ, G.A.; BARUSELLI, P.S. Induction of ovarian follicular wave emergence and ovulation in progestin-based timed artificial insemination protocols for *Bos indicus* cattle. *Animal Reproduction Science*, v.129, n.3, p.132–139, 2011.

SÁ FILHO, O.G.; MENEGHETTI, M.; PERES, R.F.G.; LAMB, G.C.; VASCONCELOS progesterone for *Bos indicus* cows II: Strategies and factors affecting fertility. *Theriogenology*, v.72, n.2, p.210-218, 2009.

SANTOS, G.J.K.; SANTOS, P.P.A.; COSTA, A.M.; MONTESINOS, S.I. Biotecnologias reprodutivas e fisiologia reprodutiva da fêmea bovina – conhecimento para o sucesso. Pubvet, Londrina, v.6, n.36, p.1-23, 2012.

SILVA, E.P.; WILTBANK, M.C.; MACHADO, A.B. Optimizing timed AI protocols for Angus beef heifers: Comparison of induction of synchronized ovulation with estradiol cypionate or GnRH. Theriogenology, v.121, p.7-12, 2018.

SOUZA, A.H.; VIECHNIESKI, S.; LIMA, F.A.; SILVA, F.F.; ARAÚJO, R.; BÓ, G.A.; WILTBANK, M.C.; BARUSELLI, P.S. Effects of equine chorionic gonadotropin and type of ovulatory stimulus in a timed-AI protocol on reproductive responses in dairy cows. Theriogenology, v.72, n.1, p.10-21, 2008.

STEVENSON, J.S. Synchronization and Artificial Insemination Strategies in Dairy Herds. Department of Animal Sciences and Industry, Kansas State University, Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice, v.32, n.2, p.349-364, 2016.

VASCONCELOS, J.L.M.; SARTORI, R.; OLIVEIRA, H.N.; GUINThER, J.G.; WILTBANK, M.C. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. Theriogenology, v.56, n.2, p.307-314, 2001.

VENERANDA, G.; FILIPPI, L.; RACCA, D.; ROMERO, G.; BALLA, E.; CUTAIA, L.; BÓ, G.A. Pregnancy rates in dairy cows treated with intravaginal progesterone devices and different fixed-time AI protocols. Reproduction, Fertility and Development, v.18, n.1, p.118-118, 2006.

VIANA, J.H.M.; FERREIRA, A.M.; SÁ, W.F.; CAMARGO, L.S.A. Características morfológicas e funcionais do corpo lúteo durante o ciclo estral em vacas da raça Gir. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.51, n.3, p.251-256, 1999.