

## REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

# O PROTOCOLO HORMONAL *OVSYNCH* E SUAS MODIFICAÇÕES EM VACAS LEITEIRAS DE ALTA PRODUÇÃO: UMA REVISÃO

## *OVSYNCH* HORMONAL PROTOCOL AND THEIR MODIFICATIONS ON DAIRY COWS: A REVIEW

Azevedo, C.<sup>1</sup>; Canada N.<sup>2</sup> e Simões J.<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>MPL Vet, Lda Medicina de Produção Leiteira Veterinária. Tocha. Portugal. carlamazevedo@gmail.com

<sup>2</sup>Departamento de Clínicas Veterinárias, ICBAS. Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar. Porto. Portugal. nfcanda@icbas.up.pt

<sup>3</sup>Departamento de Ciências Veterinárias, UTAD. Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro. Vila Real. Portugal. \*jsimoes@utad.pt

### PALAVRAS CHAVE ADICIONAIS

Bovinos leiteiros. Fertilidade. GnRH. Inseminação artificial. Ovulação. PGF2 $\alpha$ .

### ADDITIONAL KEYWORDS

Artificial Insemination. Dairy cattle. Fertility. GnRH. Ovulation. PGF2 $\alpha$ .

### RESUMO

A eficiência reprodutiva em vacas leiteiras de alta produção representa atualmente um dos maiores desafios para a viabilidade das explorações. O presente trabalho teve como objetivo reportar as modificações dos protocolos de indução ovulatória baseados na administração programada de prostaglandina F2 $\alpha$  (PGF2 $\alpha$ ) entre duas aplicações de hormona libertadora de gonadotrofina (GnRH), seguida da inseminação artificial em tempo fixo (IATF). Tendo por base o protocolo hormonal *Ovsynch*, novos protocolos foram desenvolvidos tentando aumentar a sua eficiência reprodutiva, seguindo diferentes estratégias: (1) manipulação dos padrões de desenvolvimento folicular antes da GnRH-1, (2) otimização do ambiente hormonal peri-ovulatório, (3) otimização do intervalo de tempo entre a PGF2 $\alpha$  e a GnRH-2 e o momento da IA após a GnRH-2, (4) suplementação com progesterona antes da IATF, (5) redução do período de dominância folicular e aumento do proestro, e (6) controlo do crescimento folicular após a IATF. As modificações do protocolo *Ovsynch* permitiram a manutenção da taxa de fertilidade à 1ª inseminação, até aproximadamente 40 %, quando comparada com inseminações realizadas após deteção do cio natural, com a consequente melhoria da gestão reprodutiva das manadas. As pesquisas futuras deste tipo de protocolos de indução ovulatória deverão dar ênfase a aspetos nutricionais e de produção leiteira das vacas assim

como ao stresse térmico em países de zonas mediterrânicas, subtropicais e tropicais.

### SUMMARY

The reproductive efficiency in dairy cows of high production currently represents a major challenge to the viability of farms. This study aimed to report the most recent modifications of ovulation induction protocols based on scheduled administration of prostaglandin F2 alpha (PGF2 $\alpha$ ) and two gonadotropin-releasing hormone (GnRH), followed by timed artificial insemination (TAI). Based on the hormonal *Ovsynch* protocol, new protocols have been developed trying to increase their reproductive efficiency, following different strategies: (1) manipulation of patterns of follicular development prior to GnRH-1, (2) optimization of periovulatory hormonal milieu, (3) time interval optimization between PGF2 $\alpha$  and GnRH-2 and TAI after GnRH-2 (4) supplementation with progesterone prior to AI, (5) reducing the period of follicular dominance and increasing proestrus, and (6) control of follicular growth after TAI. A fertility rate at 1<sup>st</sup> insemination until 40 %, and similar to the insemination after natural estrus, can be observed using modified *Ovsynch* protocols, improving the herd reproductive management. Future researches on hormonal synchronization ovulation should give emphasis

to the nutrition and milk production of cows, and to heat stress in Mediterranean, subtropical and tropical countries.

## INTRODUÇÃO

A eficiência reprodutiva continua a ser um dos mais importantes fatores a influenciar a rentabilidade das explorações de bovinos leiteiros. Nas últimas décadas, o aumento no consumo alimentar de matéria seca e na produção de leite por vaca tem sido concomitante com um declínio dramático na fertilidade de explorações leiteiras comerciais (Cutullic *et al.*, 2012; Kawashima *et al.*, 2012).

Além disso, observa-se uma relação negativa entre a concentração circulante de progesterona (P4) e o consumo de matéria seca em vacas de leite (Rabiee *et al.*, 2001, 2002), o qual por si origina um aumento de metabolismo hepático da P4 devido a um fluxo sanguíneo hepático extremamente elevado (Wiltbank *et al.*, 2011). Esse reflexo negativo também se tem expressado por um período de maior inatividade ovulatória. Moreira *et al.* (2001) observaram que 23 % das vacas de alta produção tinham níveis de P4 < 1,0 ng/ml (animais em anestro) por volta dos 2 meses após o parto.

A P4, e a sua manipulação, desempenham um papel fundamental na fertilidade das explorações leiteiras onde se pretende usar a inseminação artificial a tempo fixo (IATF), precedida de protocolos hormonais de indução e sincronização da ovulação (Wiltbank *et al.*, 2011). Por outro lado, em efetivos leiteiros de alta produção e manejo intensivo, observa-se também uma associação negativa entre a alta produção de leite e a expressão comportamental do estro (Crowe e Williams 2012; Cutullic *et al.*, 2009, 2012).

Todos estes factos, associados à produção moderna de leite de vacas altas produtoras, evidenciam a importância da utilização de protocolos hormonais eficazes na sincronização da ovulação associados à IATF como parte das estratégias envolvidas nos programas de controlo reprodutivo das explorações.

Nesta revisão de literatura pretendeu-se sumarizar a evolução da aplicação de protocolos hormonais de sincronização da ovulação para IATF e o seu impacto na eficiência reprodutiva em explorações de bovinos leiteiros de alta produção.

## ESTRATÉGIAS DE SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO USANDO COMBINAÇÕES DE PGF2 $\alpha$ E GnRH: O PROTOCOLO OVSYNCH

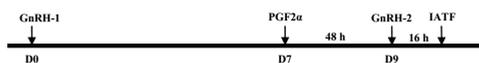
A nova geração de ferramentas de manejo reprodutivo sofreu desenvolvimentos recentes de forma a eliminar a deteção de estro e aumentar a eficiência de manipulação animal, concentrando-se no controlo do corpo lúteo (CL), em animais cíclicos, e da dinâmica folicular, resultando em protocolos económicos e práticos para sincronizar a ovulação (Lamb *et al.*, 2010).

O controlo do desenvolvimento folicular e da função lútea pode ser obtido mediante a administração combinada de prostaglandina F2 $\alpha$  (PGF2 $\alpha$ ) e hormona libertadora de gonadotrofina (GnRH). Foram os estudos compreensivos de Pursley (Pursley *et al.*, 1997a,b) que permitiram o desenvolvimento do programa *Ovsynch*, que estaria na base da maioria dos programas de sincronização para IATF que surgiram desde então. No entanto, Macmillan (2010) lançou, através de um artigo de revisão, controvérsia sobre este assunto ao referir os estudos iniciais e trabalho de revisão conduzidos por Thatcher *et al.* (1989), como estando na base do desenvolvimento do programa *Ovsynch*. De facto, estes autores fazem referência a dados não publicados sobre a administração de GnRH, 7 dias antes da administração de PGF2 $\alpha$  como forma de aumentar a precisão da sincronização do estro 2 a 3 dias após a administração da PGF2 $\alpha$ , destacando a importância de controlo do CL e da dinâmica folicular ovárica num programa de sincronização de estro. Contudo, e tal como é referido num artigo de revisão muito recente por Wiltbank e Pursley (2014), a administração de GnRH antes e após a

administração de  $PGF2\alpha$ , nunca tinha sido antes combinada num protocolo completo de sincronização de ovulação.

Em vacas de aptidão leiteira este protocolo sincroniza o desenvolvimento folicular, a regressão do CL e o momento da ovulação, permitindo a IATF sem recorrer a deteção do cio (Pursley *et al.*, 1995, 1997a,b).

O programa *Ovsynch* (**figura 1**) assenta na combinação de três administrações hormonais em tempos predeterminados e com três objetivos pré-definidos: a primeira administração de GnRH (GnRH-1) visa conseguir a ovulação do folículo dominante (presente em aproximadamente 70 % dos casos) e



**Figura 1.** Representação esquemática do protocolo *Ovsynch*. (Schematic representation of the *Ovsynch* protocol).

emergência de uma nova onda folicular 1,5 a 2 dias depois (no caso desta primeira administração coincidir com os primeiros três dias de uma onda folicular espontânea, a ovulação não ocorre e a onda folicular segue o seu desenvolvimento normal com seleção de um folículo dominante nos 7 dias seguintes); a administração de  $PGF2\alpha$ , 7 dias depois, tem como objetivo a indução de luteólise, permitindo o crescimento e maturação do folículo dominante; a administração de GnRH 48 horas depois (GnRH-2) permite cumprir o terceiro objetivo: a indução de um pico de hormona luteinizante (LH) resultando na ovulação do folículo dominante (pré-ovulatório) cerca de 28 horas após a administração de GnRH-2. A IATF é recomendada 16 a 20 horas após a administração de GnRH-2 (Pursley *et al.*, 1995).

Pursley *et al.* (1997b) não encontraram diferenças estatisticamente significativas na taxa de gestação (TG) entre as vacas tratadas com *Ovsynch* e as vacas inseminadas após deteção do cio natural (38,9 % e 37,8 %,

respetivamente;  $p > 0,05$ ). A mesma conclusão foi obtida por Rabiee *et al.* (2005) através de uma meta-análise a 53 artigos publicados para avaliar a eficácia do programa *Ovsynch* na performance reprodutiva de explorações leiteiras. Os resultados de ambos os estudos reforçaram a possibilidade da realização de IATF sem necessidade de deteção do cio recorrendo ao protocolo *Ovsynch*.

### EVOLUÇÃO E MODIFICAÇÕES RECENTES DO PROTOCOLO HORMONAL OVSYNCH

Desde o seu desenvolvimento, o protocolo hormonal *Ovsynch* foi adotado rápida e amplamente como ferramenta de programas de gestão reprodutiva com o objetivo de otimizar a eficiência reprodutiva de explorações leiteiras. No entanto, embora ao contornar a necessidade de deteção do cio este protocolo permita aumentar a taxa de submissão, i.e., o número de vacas submetidas a inseminação artificial (IA), a sua TG é similar à encontrada para IA após aquela deteção, não resultando numa melhoria direta da fertilidade (Pursley *et al.*, 1997b; Rabiee *et al.*, 2005).

Desde o surgimento do *Ovsynch*, vários estudos foram realizados tentando aumentar a eficiência reprodutiva e originando diferentes protocolos (Moreira *et al.*, 2001, Pancarci *et al.*, 2002; Portaluppi e Stevenson, 2005): 1) Os que tentam manipular os padrões de desenvolvimento folicular antes da primeira administração de GnRH denominaram-se *Presynch*; 2) Os que incluem a utilização de estradiol em substituição da GnRH-2 para aumentar a expressão do estro foram denominados *Heatsynch*, e se a IA coincide com a segunda administração de GnRH recebe a denominação de *COsynch*.

Na sua meta-análise, Rabiee *et al.* (2005) não encontraram, contudo, diferenças estatisticamente significativas na TG entre o *Ovsynch* clássico e as restantes variações do protocolo (**tabela I**). De igual forma, e segundo Macmillan (2010) nenhum dos melhores programas de sincronização disponíveis tem alcançado consistentemente TG que excedam os 40 %.

## AZEVEDO, CANADA E SIMÕES

**Tabela I.** Hormonas usadas e dias de intervenção nos principais protocolos de indução de ovulação. (Days of intervention and hormones used on ovulation induction protocols).

Protocolo hormonal	Dia em que a hormona é aplicada					
	GnRH-1	PGF2 $\alpha$	CIDR	GnRH-2	hCG	E2
Ovsynch	D0	D7	—	D9	—	—
COsynch <sup>1</sup>	D0	D7	—	D9	—	—
Ovsynch + CIDR	D0	D7	D0 - D7	D9	—	—
COsynch + CIDR <sup>1</sup>	D0	D7	D0 - D7	D9	—	—
Heatsynch	D0	D7	—	—	—	D9
HPG	D9	D7	—	—	D0	—
GPH	D0	D7	—	—	D9	—

<sup>1</sup>A inseminação artificial é realizada concomitantemente com a 2ª administração de GnRH. GnRH - Hormona libertadora de gonadotrofina (-1 e -2: primeira e segunda administração, respetivamente); PGF2 $\alpha$ = Prostaglandina F2 $\alpha$ ; CIDR= Dispositivo intravaginal libertador de progesterona; hCG= Gonadotrofina coriónica humana; E2= estradiol. D0= dia da 1ª intervenção.

Estratégias de otimização do desenvolvimento folicular e da sincronização da ovulação têm sido desenvolvidas recentemente tentando melhorar a fertilidade destes protocolos face à IA após deteção do cio (Wiltbank *et al.*, 2011). De facto, em 2010, surgiu o protocolo *Ultrasynch* em que a administração de PGF2 $\alpha$  depende da prévia avaliação ecográfica (tamanho e eventualmente ecotextura) do CL quando presente (McArt *et al.*, 2010). De destacar, no entanto, que a associação do protocolo

*Ovsynch*, ou de alguma das suas variações, à IA após deteção do cio (*Select synch*) tem sido paralelamente investigada, principalmente em explorações onde aquela deteção seja mais eficiente (Rudolph *et al.*, 2011).

Mas para se compreender, exaustivamente, as modificações do protocolo *Ovsynch* e conseqüente melhoria da eficiência reprodutiva, torna-se necessário realçar a importância do conceito de taxa de sincronização da ovulação (TSO).

**Tabela II.** Hormonas usadas e dias de intervenção nos principais protocolos hormonais de pré-sincronização da ovulação. (Days of intervention and hormones used on presynchronization protocols of ovulation).

Protocolo hormonal de pré-sincronização	Dia em que a hormona é aplicada			
	PGF2 $\alpha$ (1ª dose)	PGF2 $\alpha$ (2ª dose)	GnRH (1ª dose)	GnRH (2ª dose)
Presynch-Ovsynch (Presynch-12)	D-26	D-12	—	—
Presynch-14	D-28	D-14	—	—
Presynch-11	D-25	D-11	—	—
G6G	D-8	—	D-6	—
PG3G	D-10	—	D-7	—
Double-Ovsynch	D-9	—	D-16	D-7

PGF2 $\alpha$ = Prostaglandina F2 $\alpha$ ; GnRH= Hormona libertadora de gonadotrofina (-1 e -2: primeira e segunda administração, respetivamente); D0= dia da 1ª intervenção do protocolo de sincronização da ovulação.

## TAXA DE SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO

No programa *Ovsynch*, a TSO é definida como a percentagem de vacas tratadas onde a administração da GnRH-2 resulta na indução da ovulação.

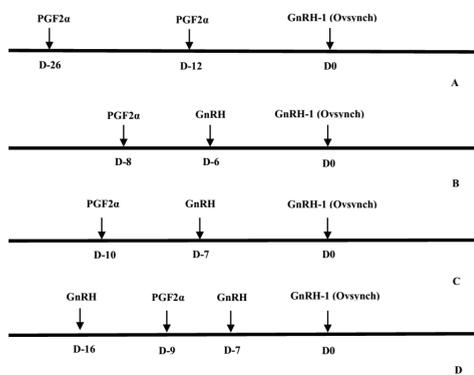
Em estudos iniciais foi observada uma TSO após a administração da GnRH-2 de 100 % (Pursley *et al.*, 1995) enquanto em estudos posteriores foram observadas TSO de 87 % (Vasconcelos *et al.*, 1999) e 81,1 % (Galvão e Santos, 2010), sendo a elevada variabilidade da TSO uma das principais limitações do protocolo. Esta variabilidade foi atribuída à fase do ciclo éstrico em que o protocolo é iniciado, sendo as principais causas de falha de sincronização: (1) inexistência de resposta ovulatória à administração da GnRH-1; (2) atresia do folículo dominante antes da administração de PGF2 $\alpha$  (como consequência da inexistência da resposta ovulatória inicial); e (3) luteólise espontânea entre a administração da GnRH-1 e a administração de PGF2 $\alpha$  (Vasconcelos *et al.*, 1999).

Na realidade, a TSO depende essencialmente da resposta ovulatória à administração da GnRH-1 e consequente emergência de uma nova onda folicular, sendo este o elemento crítico primário dos protocolos para IATF (Wiltbank *et al.*, 2010).

MANIPULAÇÃO DOS PADRÕES DE DES-ENVOLVIMENTO FOLICULAR ANTES DA GnRH-1 (*PRESYNCH-OVSYNCH*, *PG3G*, *G6G* E *DOUBLE-OVSYNCH*)

A primeira administração de GnRH a vacas de aptidão leiteira em fases aleatórias do ciclo éstrico resulta na ovulação de apenas 50 a 70 % das vacas tratadas (Pursley *et al.*, 1995; Galvão e Santos 2010). As diferentes fases do ciclo éstrico possuem diferentes respostas ovulatórias, sendo mais elevada nos dias 5 a 9 do ciclo éstrico e mais reduzida na fase inicial e final do mesmo. Com base nesta premissa, vários estudos tentaram desenvolver estratégias de pré-sincronização (**tabela II**) tentando assegurar um folículo dominante maduro na fase inicial do protocolo *Ovsynch*.

Um estudo publicado por Moreira *et al.* (2001) da Universidade da Florida serviu de base ao desenvolvimento do protocolo *Presynch-Ovsynch* (**figura 2**) que envolve a administração de duas doses de PGF2 $\alpha$  com 14 dias de diferença e a iniciação do *Ovsynch* 12 dias depois. Ao aumentar o número de animais situados entre os dias 5 e 12 do ciclo éstrico (maior resposta ovulatória) à



**Figura 2.** Representação esquemática dos protocolos de pré-sincronização *Presynch-Ovsynch* (A), *G6G* (B), *PG3G* (C) e *Double-Ovsynch* (D). (Schematic representation of the pre-synchronization protocols; *Presynch-Ovsynch* (A) *G6G* (B) *PG3G* (C) and *double-Ovsynch* (D)).

primeira administração de GnRH do protocolo *Ovsynch*, este protocolo de pré-sincronização aumentou a TG dos animais pré-sincronizados em comparação com os que apenas foram tratados com *Ovsynch* como demonstraram os trabalhos de El-Zarkouny *et al.* (2004) (TG de 46,8 % vs. 37,5 %;  $p < 0,01$ ) e de Moreira *et al.* (2001) em animais cíclicos (TG de 46,9 % vs. 34,4 %;  $p < 0,01$ ). Num outro estudo (Navanukraw *et al.*, 2004), o intervalo entre a segunda administração de PGF2 $\alpha$  e a primeira dose de GnRH do *Ovsynch* foi aumentado para 14 dias (*Presynch-14*), mantendo-se o impacto positivo sobre a TG nos animais pré-sincronizados (49,6 % vs. 37,3 % para os animais tratados e não tratados com *Presynch*, respectivamente;  $p < 0,05$ ).

Embora esta modificação ao *Presynch-Ovsynch*, ao permitir a administração das primeiras doses hormonais no mesmo dia da semana, seja mais popular entre os agricultores, Galvão *et al.* (2007) observaram uma melhoria na fertilidade ao reduzir o intervalo de 14 para 11 dias (*Presynch-11*). Contudo, num estudo subsequente, Stevenson (2011) não observou qualquer diferença ( $p > 0,05$ ) no que concernou a luteólise (100 % vs. 93 %), a ovulação à GnRH-1 (61 % vs. 62 %), a ovulação à GnRH-2 (88 % vs. 78 %) a TSO (88 % vs. 76 %), das vacas tratadas com *Presynch-COsynch* em comparação com o grupo controlo (*COsynch*), sendo estes os pontos-chave para uma melhoria na fertilidade.

De realçar que num estudo muito recente, Youssefi *et al.* (2013) associaram o uso do *Presynch-Ovsynch* a uma alteração no rácio de género dos fetos, com um aumento do número de machos nascidos de vacas tratadas ( $p < 0,05$ ) com este protocolo relativamente a vacas inseminadas após estro natural. Esta alteração, contudo, pareceu estar relacionada com o momento da inseminação (24 horas) após a administração da GnRH-2 que diferiu do grupo controlo, cujas vacas foram inseminadas 12 horas após a deteção de cio, não sendo resultado do efeito da pré-sincronização mas sim de um menor intervalo entre inseminação e ovulação. De facto, estes resultados vão de encontro aos observados por Pursley *et al.* (1998) para vacas sincronizadas com o protocolo *Ovsynch*, com um aumento do número de fêmeas nascidas de vacas cuja IATF foi realizada às 0 e 32 horas após a administração da GnRH-2, comparativamente com as vacas cuja IATF foi realizada às 8, 16 e 24 horas.

Bello *et al.* (2006), da Universidade do Michigan, desenvolveram um outro protocolo de pré-sincronização, também com o objetivo de aumentar a percentagem de animais com resposta ovulatória à GnRH-1 do protocolo *Ovsynch*, ao qual atribuíram a designação G6G. Este protocolo consiste no uso combinado de uma administração de GnRH, 2 dias após a administração de

PGF2 $\alpha$ , e 6 dias antes do início da aplicação do protocolo *Ovsynch*. Desta forma, aumentaram para 85 % a percentagem de animais que ovulam após a administração de GnRH-1 e consequentemente a TG comparativamente a animais não pré-sincronizados. No entanto, num estudo mais recente, Ribeiro *et al.* (2011) avaliaram o uso do *Presynch* e G6G, e não encontraram, de uma forma geral, melhoria na TSO comparativamente ao grupo controlo.

Stevenson e Pulley (2012) avaliaram uma modificação deste protocolo durante as estações quente (junho a setembro) e fria (outubro a maio) do ano que denominaram PG3G, o qual aumenta em um dia o intervalo entre a administração de PGF2 $\alpha$  e GnRH e em mais um dia o intervalo entre a administração de GnRH e o início do *Ovsynch*. Esta modificação aumentou a TG dos animais submetidos ao protocolo PG3G (46,8 %) comparativamente aos animais com IA após deteção do cio (35,8 %;  $p < 0,05$ ) nos meses mais frescos. Nos meses de stresse térmico, os animais deste protocolo apresentaram uma TG mais elevada (35,9 %) comparativamente àqueles submetidos a um *Presynch-10* (26,7 %;  $p < 0,05$ ), em que o início do *Ovsynch* ocorre 10 dias após a segunda administração de PGF2 $\alpha$ .

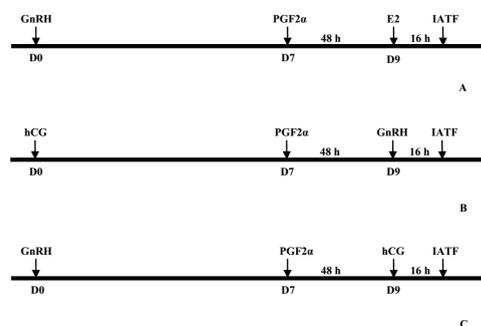
Em 2008 (Souza *et al.*, 2008) surgiu mais um novo protocolo de pré-sincronização denominado *Double-Ovsynch* que envolve a execução de dois protocolos *Ovsynch* consecutivos com um intervalo entre inícios de aplicação de 16 dias, resultando numa superior TG comparativamente ao *Presynch-Ovsynch* (49,7 % vs. 41,7 %;  $p = 0,03$ ). Estudos subsequentes (Giordano *et al.*, 2012; Herlihy *et al.*, 2012; Ayres *et al.*, 2013) reportaram um aumento da TG para este protocolo devido a uma maior TSO associada a dois fatores: disponibilidade de um folículo dominante que ovulará após a terceira administração de GnRH e aumento dos níveis de progesterona anterior à administração de PGF2 $\alpha$ .

Também recentemente, um estudo levado a cabo por Astiz e Fargas (2013) em Espanha comparou os dois últimos métodos de

pré-sincronização, G6G e *Double-Ovsynch*, reportando uma TG superior para o *Double-Ovsynch* em vacas primíparas comparativamente às vacas múltíparas (44,3 % vs. 34,8 %;  $p < 0,05$ ) e uma TG similar entre primíparas e múltíparas para o protocolo G6G (34,7 % vs. 34,8 %;  $p > 0,05$ ), sugerindo o protocolo *Double-Ovsynch* como mais adequado para vacas primíparas e o protocolo G6G mais adequado para vacas múltíparas, uma vez que implica um menor número de dias até à IATF.

### OPTIMIZAÇÃO DO AMBIENTE HORMONAL PERIOVULATÓRIO (*HEATSYNCH*, HPG E GPH)

Segundo Dias *et al.* (2010), a administração exógena de GnRH induz uma libertação de LH de duração muito inferior à libertação endógena durante um estro natural. Já a substituição da GnRH-2 por uma formulação sintética de estradiol (E2) resulta numa libertação de LH de duração comparável à que ocorre durante o estro natural (Dias *et al.*, 2010) e está na base de um *Ovsynch* modificado. Este protocolo recebeu o nome de *Heatsynch* (figura 3) uma vez que uma percentagem superior de animais demonstra cio em comparação com o *Ovsynch*, apesar de não haver um aumento consistente da TG nos estudos publicados (Pancarci *et al.*, 2002; Stevenson *et al.*, 2004; Blevins *et al.*, 2006).



**Figura 3.** Representação esquemática dos protocolos *Heatsynch* (A), HPG (B) e GPH (C). (Schematic representation of *Heatsynch* (A), HPG (B) and GPH (C) protocols).

O protocolo *Heatsynch* é apenas referido no contexto do presente trabalho, uma vez que o uso de estradiol em vacas de aptidão leiteira está atualmente proibido na União Europeia. Contudo, a observação de respostas semelhante para as formas natural e sintética de estradiol no protocolo *Heatsynch*, encontrada por investigadores da Universidade de Utrecht num estudo recente (Andringa *et al.*, 2013), chama a atenção para o possível uso desta última formulação de estradiol, a qual não está associada a riscos para a saúde pública.

Por outro lado, De Rensis *et al.* (2010) descreveram os benefícios da inclusão de uma outra hormona, a gonadotrofina coriônica humana (hCG) em protocolos de sincronização de ovulação em vacas em lactação. Ao atuar nas células ováricas independentemente da glândula pituitária com um efeito de duração superior ao provocado pela libertação endógena de LH, a sua utilização na *subfertilidade* de vacas de alta produção parece promissora. A inclusão de hCG em substituição da primeira ou da segunda administração de GnRH do protocolo *Ovsynch* recebeu a denominação de HPG ou GPH, respetivamente, havendo no entanto alguma inconsistência de resultados entre os artigos referenciados por aqueles investigadores.

### OPTIMIZAÇÃO DO INTERVALO DE TEMPO ENTRE A PGF2α E A SEGUNDA ADMINISTRAÇÃO DE GnRH E O MOMENTO DA IA APÓS A GnRH-2 (*COSYNCH*)

Após o desenvolvimento do *Ovsynch*, um estudo foi desenhado (Pursley *et al.*, 1998) com o objetivo de investigar o intervalo de tempo ótimo, neste protocolo, entre a administração de GnRH-2 e a IATF. Fazendo variar esse intervalo entre as 0 e as 32 h, os resultados sugeriram um intervalo ideal de 16 h entre a GnRH-2 (administrada 48 h após a PGF2α) e a IATF.

Com o objetivo de maximizar a rentabilização do tempo e mão-de-obra, foram realizados estudos por DeJarnette e Marshall (2003) para avaliar o impacto da administração

de GnRH-2 em simultâneo com a IATF em vacas em lactação. Embora, segundo estes investigadores, estes estudos iniciais pudessem sugerir a possibilidade de TG inferiores quando a GnRH-2 e IATF eram realizadas 60-64 h após a PGF2 $\alpha$ , um estudo posterior (Portaluppi e Stevenson, 2005) em 665 vacas em lactação pré-sincronizadas indicou que atrasar a GnRH-2, fazendo-a coincidir com a IATF poderia otimizar a maturidade do folículo dominante pré-ovulatório resultando numa melhor TG. A este protocolo foi atribuída a designação de *COsynch* (**figura 4**), recebendo uma designação numérica diferente consoante o número de horas de intervalo entre a administração de PGF2 $\alpha$  e a IATF (ex.: *COsynch-48*, *COsynch-72*, etc.).

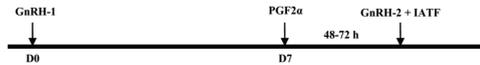
Num estudo posterior, Sterry *et al.* (2007) não encontraram diferenças na TG/IA entre um *COsynch-48* (29 %) e um *COsynch-72* (33 %;  $p > 0,05$ ). Rabiee *et al.* (2005) também concluíram, na sua meta-análise, não existirem diferenças na TG para este protocolo em comparação com o *Ovsynch* clássico. Considerando a rentabilização de tempo e mão-de-obra que pode permitir, o *COsynch* assume-se como uma alternativa prática ao *Ovsynch*.

Adicionalmente, investigadores da Universidade do Wisconsin (Brusveen *et al.*, 2008) encontraram evidências de uma vantagem clara em administrar a GnRH-2 56 horas após a administração de PGF2 $\alpha$  (TG de 38,6 %), provavelmente devido a uma otimização da sincronização da ovulação em relação à IATF.

#### SUPLEMENTAÇÃO COM PROGESTERONA ANTES DA IA (*OVSYNCH* +P4 E *CO-SYNCH* +P4)

Vários estudos (Inskeep 2004; Wiltbank *et al.*, 2011) têm documentado uma relação entre a concentração circulante de P4 pré-IATF e a fertilidade subsequente, sendo necessário assegurar altos níveis circulantes de progesterona antes da IA para maximizar a fertilidade da vaca de leite.

Com base no conhecimento de que vacas alta produção leiteira apresentam baixas concentrações circulantes de P4 (Pursley e Martins 2011; Hutchinson *et al.*, 2012), a utilização de dispositivos intravaginais apresenta-se como uma forma prática e simples de suplementação desta hormona.



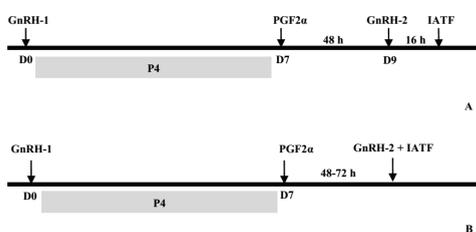
**Figura 4.** Representação esquemática do protocolo *COsynch*. (Schematic representation of the *COsynch* protocol).

Existem atualmente, no mercado português, três tipos de dispositivo intravaginal libertador de P4 que variam na forma e quantidade que libertam: (1) PRID® (forma helicoidal, 1,55 g de progesterona, CEVA; França); (2) PRID-Delta® (forma triangular, 1,55 g de progesterona, CEVA; França); e (3) CIDR® (forma de T, 1,38 g de progesterona, ZOETIS; Bélgica). Estes dispositivos apresentam uma taxa de retenção intravaginal que oscila entre 88 e 97 % (Roche 1976; Walsh *et al.*, 2007b, 2008), e apesar de poderem provocar vaginite com corrimento purulento copioso em 5-8 % das vacas tratadas (Walsh *et al.*, 2007b, 2008), não existe evidência de que esta reação vaginal tenha um impacto negativo sobre a fertilidade subsequente (Villarroel *et al.*, 2004; Walsh *et al.*, 2007b).

Estratégias recentes incluem a suplementação de P4 intravaginal como parte de protocolos de sincronização clássicos para IATF, como o *Ovsynch*. Vários estudos (Melendez *et al.*, 2006; Stevenson *et al.*, 2006, 2008; Colazo *et al.*, 2013) têm demonstrado o seu efeito no aumento da eficiência reprodutiva em efetivos leiteiros. A suplementação de P4 durante um protocolo *Ovsynch* (*Ovsynch* + CIDR; **figura 5**) resulta numa melhoria da TG comparativamente ao *Ovsynch* clássico, quando existe um número elevado de vacas não cíclicas (El-Zarkouny *et al.*, 2004) ou naquelas

## O PROTOCOLO HORMONAL OVSYNCH E SUAS MODIFICAÇÕES EM VACAS LEITEIRAS

vacas com níveis baixos de P4 circulante antes da administração de PGF2 $\alpha$  (Stevenson *et al.*, 2006). De facto, ao aumentar os níveis de P4 em vacas com baixos níveis desta hormona, anteriores à administração de PGF2 $\alpha$ , é observado um efeito positivo sobre a fertilidade na inseminação subsequente. Estes níveis elevados de P4 durante o desenvolvimento folicular reduzem a seleção de folículos co-dominantes e a dupla ovulação, resultando numa melhoria da fertilidade (Wiltbank *et al.*, 2010).



**Figura 5.** Representação esquemática dos protocolos *Ovsynch*+CIDR (A) e *COSynch*+CIDR (B). (Schematic representation of *Ovsynch* + CIDR (A) and *COSynch* + CIDR (B) protocols).

Lima *et al.* (2011) observaram que novilhas da raça Holstein apresentaram TG similares quando era ou não administrada a GnRH-1 (49,8 % vs. 50 %,  $p > 0,05$ ), sugerindo o seu estudo que, pelo menos em vacas leiteiras nulíparas, aquela 1<sup>a</sup> aplicação pode não ser de todo necessária mesmo quando o CIDR permanece somente durante 5 dias.

A adição de um dispositivo intravaginal de P4 ao protocolo *COSynch* também resultou em melhores TG em vacas de carne não cíclicas (Lamb *et al.*, 2010; Echterkamp e Thallman 2011). Este protocolo exige uma menor manipulação das vacas (menos uma intervenção) em comparação com o *Ovsynch*, aumentando assim a eficiência do trabalho e reduzindo o risco de incumprimento. É expectável que ao aumentar a complexidade de um programa de sincronização para IATF, aumenta também o risco de incumprimento da totalidade do programa, sendo este este um dos principais

fatores que afetam o sucesso de um programa. De facto, a taxa de cumprimento que pode, por vezes, ser inferior a 70 % (Macmillan 2010). O *COSynch* + CIDR é o protocolo de IATF recomendado para uso em vacas de carne pela American Beef Reproduction Task Force (Lamb *et al.*, 2010).

Estudos recentes avaliaram o impacto do protocolo *COSynch* + CIDR em vacas de aptidão leiteira (Bartolome *et al.*, 2009; Chebel *et al.*, 2010; McDougall 2010; Stevenson 2011; Denicol *et al.*, 2012), obtendo resultados igualmente promissores. No entanto, Azevedo *et al.* (2014) observaram que vacas de aptidão leiteira em regime de semi-estabulação e submetidas a um protocolo *COSynch* + CIDR tinham maior probabilidade de ficar gestantes (odds ratio= 2,1) do que as submetidas ao protocolo clássico *Ovsynch*, quando também foram consideradas as gestações após 2<sup>a</sup> IA das vacas não gestantes à IATF e com retorno regular ao estro; i.e., este protocolo pode também influenciar positivamente a TG em efetivos onde se re-inseminam, após cio natural, os animais não gestantes com retorno ao estro por volta dos 21 dias após IATF. Ao conjugar (1) a não necessidade de deteção do cio; (2) a maximização da eficiência do trabalho e minimização do risco de incumprimento com um máximo de três manipulações do animal; e (3) a eficiência em vacas cíclicas e não cíclicas; este protocolo assume-se como promissor para otimizar a eficiência reprodutiva das vacas de aptidão leiteira.

### REDUÇÃO DO PERÍODO DE DOMINÂNCIA FOLICULAR E AUMENTO DO PROESTRO (*CO5YNCH5D*, *CO5YNCH+CIDR5D*)

A redução do período de dominância folicular em vacas de carne foi também avaliada como estratégia para aumentar a eficiência reprodutiva (Bridges *et al.*, 2008). A redução de 7 para 5 dias do intervalo entre a primeira administração de GnRH e a administração de PGF2 $\alpha$  do protocolo *Ovsynch* associada a um aumento do proestro (correspondente a um aumento do intervalo entre PGF2 $\alpha$  e a

segunda administração de GnRH para 72h) resultou numa melhoria da fertilidade, com diferenças de TG superiores a 9 % ( $p < 0,05$ ).

Um estudo similar (Santos *et al.*, 2010) em vacas de aptidão leiteira apresentou resultados promissores evidenciando uma melhoria significativa na TG para o protocolo de 5 dias (*COsynch* 5d) comparativamente ao protocolo de 7 dias (37,9 % vs. 30,9 %;  $p < 0,05$ ).

Num estudo publicado em 2013 (Yılmazbas-Mecitoglu *et al.*, 2013), a redução do intervalo para 6 dias resultou num aumento da TSO mas numa inesperada redução da TG. Apesar de parecer provável que protocolos que combinem uma redução na duração da dominância folicular e pró-estro mais longo resultem numa melhoria da fertilidade em vacas em lactação, estudos adicionais são necessários para confirmar a consistência destes resultados (Wiltbank *et al.*, 2010).

De destacar que a suplementação de progesterona num *COsynch*-72 5d (*COsynch* + CIDR 5d) foi também recentemente testada em novilhas de aptidão leiteira, apresentando maior fertilidade (TG) face ao *Ovsynch*-56 + CIDR 5d (Lima *et al.*, 2011), ou mesmo a um *COsynch* + CIDR (Lopes *et al.*, 2013) ou a um *COsynch* + CIDR modificado (Mellieon *et al.*, 2012).

#### CONTROLO DO CRESCIMENTO FOLICULAR APÓS A IATF (*RESYNCH*)

Para manter a eficiência reprodutiva, é essencial que as vacas não gestantes ao primeiro serviço sejam re-inseminadas o mais rapidamente possível para que não se prolongue o intervalo entre partos. A ressincronização da ovulação para vacas diagnosticadas como não gestantes após a IATF recebe o nome de *Resynch* e pode envolver qualquer um dos protocolos acima referidos, sendo o objetivo principal reduzir o intervalo entre inseminações (Galvão *et al.*, 2007).

O intervalo entre a 1ª e 2ª IATF pode variar entre 3-4 a 8 semanas dependendo do método disponível para diagnóstico de gestação (método hormonal, ecografia ou palpação

transrectal) e da rapidez do programa de ressincronização (Silva *et al.*, 2009; Green *et al.*, 2010). As estratégias de ressincronização mais recentes incluem métodos hormonais de diagnóstico de gestação precoce (i.e., P4, *serum pregnancy-associated glycoproteins*; *serum pregnancy-specific protein B*, entre outros) combinados com programas de ressincronização rápidos e eficientes, normalmente envolvendo uma administração de PGF2 $\alpha$  no dia do diagnóstico de gestação (ou no dia seguinte) e uma administração de GnRH 48 horas após a administração da substância luteolítica nos animais não gestantes (Green *et al.*, 2010, 2011), ou mesmo uma primeira administração de GnRH 7 dias antes do diagnóstico de gestação, em todas as vacas (Silva *et al.*, 2009). De facto, investigadores da Universidade do Missouri (Green *et al.*, 2010) concluíram que é possível programar a ressincronização da IATF 21 dias após a primeira IATF, combinando dois testes hormonais de diagnóstico de gestação (determinação da P4 plasmática e a expressão do gene *2'-5'oligoadenylate synthetase 1* em leucócitos) aos 18 dias com a administração de PGF2 $\alpha$  no dia seguinte (dia 19) às vacas não gestantes e de GnRH ao dia 21 em simultâneo com a IATF. Nesta fase do ciclo estrico, o corpo lúteo e o folículo dominante teriam condições de maturidade necessárias, pelo menos teoricamente, de permitir a 2ª IATF uma vez que se encontrariam em situação similar à proporcionada por um ciclo estrico de duração normal. Contudo, estes mesmos investigadores referem que a complexidade do procedimento para diagnóstico de gestação limita a sua aplicação prática. Este estudo, apesar de promissor, apresentou várias limitações: (1) foi efetuado em novilhas e não em vacas em lactação; (2) não avaliou a relação custo-eficácia do procedimento; e (3) não incluiu a inexactidão do método de diagnóstico na determinação de vacas não gestantes.

Mais recentemente, Green *et al.* (2011) testaram outros dois programas de ressincronização rápida, ambos com sucesso e maior aplicabilidade prática: num deles realizaram

## O PROTOCOLO HORMONAL OVSYNCH E SUAS MODIFICAÇÕES EM VACAS LEITEIRAS

no dia 25 após 1ª IATF o diagnóstico de gestação usando o método hormonal da detecção de *serum pregnancy-associated glycoproteins*. Às vacas não gestantes, foi imediatamente (dia 25) administrada PGF2 $\alpha$ , GnRH no dia 27 e a 2ª IATF realizada no dia 28. Num 2º programa, o método de diagnóstico de gestação utilizado foi a ultrassonografia por via transrectal aos 32 dias após a 1ª IATF. A administração de PGF2 $\alpha$  foi realizada nesse mesmo dia e a de GnRH no dia 37, seguida de IATF no dia 38.

O valor económico de qualquer teste de diagnóstico de gestação deve depender da sua precisão em identificar com fiabilidade animais não gestantes e do seu custo. Um estudo realizado por investigadores da Universidade de Wisconsin (Giordano *et al.*, 2013) comparou as perdas económicas resultantes da inexactidão do diagnóstico de gestação em estratégias de ressincronização que incluíram um método hormonal (*serum pregnancy-associated glycoproteins*) de diagnóstico precoce de gestação e os métodos clássicos de diagnóstico: palpação e ultrassonografia transrectal. Estes investigadores

observaram diferenças económicas inferiores para o método hormonal em comparação com o diagnóstico de gestação precoce pelos métodos clássicos.

### CONCLUSÕES

O desenvolvimento do protocolo *Ovsynch* permitiu contornar a necessidade de detecção de cio, assegurando TG similares às encontradas para vacas inseminadas após detecção do cio natural, mas não resultando numa melhoria direta da fertilidade. Com o objetivo de melhorar a sua eficiência reprodutiva, várias modificações ao protocolo inicial foram investigadas, dando origem a novos protocolos. A investigação futura deve ser direcionada para ultrapassar o declínio de fertilidade associado à alta produção de leite, à nutrição intensiva necessária para atingir essas altas produções, e a fatores ambientais como o stress térmico. Adicionalmente, é importante avaliar e comparar o real impacto económico da utilização dos diferentes protocolos em explorações leiteiras comerciais.

### BIBLIOGRAFIA

- Andringa, M.F.A.; Van Eerdenburg, F.J.C.M.; Fernández, E.; García, S. and Cavestany, D. 2013. Comparison between two progesterone sources and two oestradiol formulations in a *Heatsynch* protocol for postpartum cycling dairy cows in pasture. *J Vet Sci*, 14: 161-166.
- Astiz, S. and Fargas, O. 2013. Pregnancy per AI differences between primiparous and multiparous high-yield dairy cows after using *Double Ovsynch* or G6G synchronization protocols. *Theriogenology*, 79: 1065-1070.
- Ayres, H.; Ferreira, R.M.; Cunha, A.P.; Araújo, R.R. and Wiltbank, M.C. 2013. *Double-Ovsynch* in high-producing dairy cows: effects on progesterone concentrations and ovulation to GnRH treatments. *Theriogenology*, 79: 159-164.
- Azevedo, C.; Maia, I.; Canada, N. and Simões, J. 2014. Comparison of fertility, regular returns to estrus and calving interval between *Ovsynch* and CO-synch + CIDR protocols in dairy cows. *Theriogenology*, 82: 910-914.
- Bartolome, J.A.; van Leeuwen, J.J.J.; Thieme, M.; Sa'filho, O.G.; Melendez, P.; Archbald, L.F. and Thatcher, W.W. 2009. Synchronization and resynchronization of inseminations in lactating dairy cows with the CIDR insert and the *Ovsynch* protocol. *Theriogenology*, 72: 869-878.
- Bello, N.M.; Steibel, J.P. and Pursley, J.R. 2006. Optimizing ovulation to first GnRH improved outcomes to each hormonal injection of *Ovsynch* in lactating dairy cows. *J Dairy Sci*, 89: 3413-3424.
- Blevins, C.A.; Shirley, J.E. and Stevenson, J.S. 2006. Milking frequency, estradiol cypionate, and somatotropin influence lactation and reproduction in dairy cows. *J Dairy Sci*, 89: 4176-4187.
- Brusveen, D.J.; Cunha, A.P.; Silva, C.D.; Cunha, P.M.; Sterry, R.A.; Silva, E.P.B.; Guenther, J.N. and Wiltbank, M.C. 2008. Altering the time of the second gonadotropin-releasing hormone injection and artificial insemination (AI) during *Ovsynch* affects pregnancies per AI in lactating dairy cows. *J Dairy Sci*, 91: 1044-1052.

## AZEVEDO, CANADA E SIMÕES

- Chebel, R.C.; Al-Hassan, M.J.; Fricke, P.M.; Santos, J.E.P.; Lima, J.R.; Martel, C.A.; Stevenson, J.S.; Garcia, R. and Ax, R.L. 2010. Supplementation of progesterone via controlled internal drug release inserts during ovulation synchronization protocols in lactating dairy cows. *J Dairy Sci*, 93: 922-931.
- Colazo, M.G.; Dourey, A.; Rajamahendran, R. and Ambrose, D.J. 2013. Progesterone supplementation before timed AI increased ovulation synchrony and pregnancy per AI, and supplementation after timed AI reduced pregnancy losses in lactating dairy cows. *Theriogenology*, 79: 833-841.
- Crowe, M.A. and Williams, E.J. 2012. Triennial Lactation Symposium: Effects of stress on postpartum reproduction in dairy cows. *J Anim Sci*, 90: 1722-1727.
- Cutullic, E.; Delaby, L.; Causeur, D.; Michel, G. and Disenhaus, C. 2009. Hierarchy of factors affecting behavioural signs used for oestrus detection of Holstein and Normande dairy cows in a seasonal calving system. *Anim Reprod Sci*, 113: 22-37.
- Cutullic, E.; Delaby, L.; Gallard, Y. and Disenhaus, C. 2012. Towards a better understanding of the respective effects of milk yield and body condition dynamics on reproduction in Holstein dairy cows. *Animal*, 6: 476-487.
- DeJarnette, J.M. and Marshall, C.E. 2003. Effects of pre-synchronization using combinations PGF(2alpha) and (or) GnRH on pregnancy rates of *Ovsynch*- and *Cosynch*-treated lactating Holstein cows. *Anim Reprod Sci*, 77: 51-60.
- Denicol, A.C.; Lopes Jr, G.; Mendonça, L.G.D.; Rivera, F.A.; Guagnini, F.; Perez, R.V.; Lima, J.R.; Bruno, R.G.S.; Santos, J.E.P. and Chebel, R.C. 2012. Low progesterone concentration during the development of the first follicular wave reduces pregnancy per insemination of lactating dairy cows. *J Dairy Sci*, 95: 1794-1806.
- Dias, F.C.F.; Colazo, M.G.; Kastelic, J.P.; Mapletoft, R.J.; Adams, G.P. and Singh, J. 2010. Progesterone concentration, estradiol pretreatment, and dose of gonadotropin-releasing hormone affect gonadotropin-releasing hormone-mediated luteinizing hormone release in beef heifers. *Domest Anim Endocrinol*, 39: 155-162.
- Echternkamp, S.E. and Thallman, R.M. 2011. Factors affecting pregnancy rate to estrous synchronization and fixed-time artificial insemination in beef cattle. *J Anim Sci*, 89: 3060-3068.
- El-Zarkouny, S.Z.; Cartmill, J.A.; Hensley, B.A. and Stevenson, J.S. 2004. Pregnancy in dairy cows after synchronized ovulation regimens with or without presynchronization and progesterone. *J Dairy Sci*, 87: 1024-1037.
- Galvão, K.N.; Sá Filho, M.F. and Santos, J.E.P. 2007. Reducing the interval from presynchronization to initiation of timed artificial insemination improves fertility in dairy cows. *J Dairy Sci*, 90: 4212-4218.
- Galvão, K.N. and Santos, J.E.P. 2010. Factors affecting synchronization and conception rate after the *Ovsynch* protocol in lactating Holstein cows. *Reprod Domest Anim*, 45: 439-446.
- Giordano, J.O.; Wiltbank, M.C.; Guenther, J.N.; Ares, M.S.; Lopes Jr, G.; Herlihy, M.M. and Fricke, P.M. 2012. Effect of presynchronization with human chorionic gonadotropin or gonadotropin-releasing hormone 7 days before resynchronization of ovulation on fertility in lactating dairy cows. *J Dairy Sci*, 95: 5612-5625.
- Giordano, J.O.; Fricke, P.M. and Cabrera, V.E. 2013. Economics of resynchronization strategies including chemical tests to identify nonpregnant cows. *J Dairy Sci*, 96: 949-961.
- Green, J.C.; Okamura, C.S.; Mathew, D.J.; Newsom, E.M. and Lucy, M.C. 2010. Hot topic: Successful fixed-time insemination within 21 d after first insemination by combining chemical pregnancy diagnosis on d 18 with a rapid resynchronization program. *J Dairy Sci*, 93: 5668-5672.
- Green, J.C.; Newsom, E.M. and Lucy, M.C. 2011. Incorporation of a rapid pregnancy-associated glycoprotein ELISA into a CIDR-*Ovsynch* resynchronization program for a 28 day re-insemination interval. *Theriogenology*, 75: 320-328.
- Herlihy, M.M.; Giordano, J.O.; Souza, A.H.; Ayres, H.; Ferreira, R.M.; Keskin, A.; Nascimento, A.B.; Guenther, J.N.; Gaska, J.M.; Kacuba, S.J.; Crowe, M.A.; Butler, S.T. and Wiltbank, M.C. 2012. Presynchronization with *Double-Ovsynch* improves fertility at first postpartum artificial insemination in lactating dairy cows. *J Dairy Sci*, 95: 7003-7014.
- Hutchinson, I.A.; Dewhurst, R.J.; Evans, A.C.O.; Lonergan, P. and Butler, S.T. 2012. Effect of grass dry matter intake and fat supplementation on progesterone metabolism in lactating dairy cows. *Theriogenology*, 78: 878-886.
- Inskeep, E.K. 2004. Preovulatory, postovulatory, and postmaternal recognition effects of concentrations

## O PROTOCOLO HORMONAL OVSYNCH E SUAS MODIFICAÇÕES EM VACAS LEITEIRAS

- of progesterone on embryonic survival in the cow. *J Anim Sci*, 82 (E-Suppl): E24-39.
- Kawashima, C.; Matsui, M.; Shimizu, T.; Kida, K. and Miyamoto, A. 2012. Nutritional factors that regulate ovulation of the dominant follicle during the first follicular wave postpartum in high-producing dairy cows. *J Reprod Dev*, 58: 10-16.
- Lamb, G.C.; Dahlen, C.R.; Larson, J.E.; Marquezzini, G. and Stevenson, J.S. 2010. Control of the estrous cycle to improve fertility for fixed-time artificial insemination in beef cattle: a review. *J Anim Sci*, 88: E181-192.
- Lima, F.S.; Ayres, H.; Favoreto, M.G.; Bisinotto, R.S.; Greco, L.F.; Ribeiro, E.S.; Baruselli, P.S.; Risco, C.A.; Thatcher, W.W. and Santos, J.E.P. 2011. Effects of gonadotropin-releasing hormone at initiation of the 5-d timed artificial insemination (AI) program and timing of induction of ovulation relative to AI on ovarian dynamics and fertility of dairy heifers. *J Dairy Sci*, 94: 4997-5004.
- Lopes Jr, G.; Johnson C.R.; Mendonça, L.G.D.; Silva, P.R.B.; Moraes, J.G.N.; Ahmadzadeh, A.; Dalton, J.C. and Chebel, R.C. 2013. Evaluation of reproductive and economic outcomes of dairy heifers inseminated at induced estrus or at fixed time after a 5-day or 7-day progesterone insert-based ovulation synchronization protocol. *J Dairy Sci*, 96: 1612-1622.
- Macmillan, K.L. 2010. Recent advances in the synchronization of estrus and ovulation in dairy cows. *J Reprod Dev*, 56 Suppl: S42-47.
- McArt, J.A.A.; Caixeta, L.S.; Machado, V.S.; Guard, C.L.; Galvao, K.N.; Sá Filho, O.G. and Bicalho, R.C. 2010. *Ovsynch* versus *Ultrasynch*: reproductive efficacy of a dairy cattle synchronization protocol incorporating corpus luteum function. *J Dairy Sci*, 93: 2525-2532.
- McDougall, S. 2010. Effects of treatment of anestrous dairy cows with gonadotropin-releasing hormone, prostaglandin, and progesterone. *J Dairy Sci*, 93: 1944-1959.
- Melendez, P.; Gonzalez, G.; Aguilar, E.; Loera, O.; Risco, C. and Archbald, L.F. 2006. Comparison of two estrus-synchronization protocols and timed artificial insemination in dairy cattle. *J Dairy Sci*, 89: 4567-4572.
- Mellieon Jr, H.I.; Pulley, S.L.; Lamb, G.C.; Larson, J.E. and Stevenson, J.S. 2012. Evaluation of the 5-day versus a modified 7-day CIDR breeding program in dairy heifers. *Theriogenology*, 78: 1997-2006.
- Moreira, F.; Orlandi, C.; Risco, C.A.; Mattos, R.; Lopes, F. and Thatcher, W.W. 2001. Effects of presynchronization and bovine somatotropin on pregnancy rates to a timed artificial insemination protocol in lactating dairy cows. *J Dairy Sci*, 84: 1646-1659.
- Navanukraw, C.; Redmer, D.A.; Reynolds, L.P.; Kirsch, J.D.; Grazul-Bilska, A.T. and Fricke, P.M. 2004. A modified presynchronization protocol improves fertility to timed artificial insemination in lactating dairy cows. *J Dairy Sci*, 87: 1551-1557.
- Pancarci, S.M.; Jordan, E.R.; Risco, C.A.; Schouten, M.J.; Lopes, F.L.; Moreira, F. and Thatcher, W.W. 2002. Use of estradiol cypionate in a presynchronized timed artificial insemination program for lactating dairy cattle. *J Dairy Sci*, 85: 122-131.
- Portaluppi, M.A. and Stevenson, J.S. 2005. Pregnancy rates in lactating dairy cows after presynchronization of estrous cycles and variations of the *Ovsynch* protocol. *J Dairy Sci*, 88: 914-921.
- Pursley, J.R.; Mee, M.O. and Wiltbank, M.C. 1995. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF<sub>2</sub>alpha and GnRH. *Theriogenology*, 44: 915-923.
- Pursley, J.R.; Kosorok, M.R. and Wiltbank, M.C. 1997a. Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. *J Dairy Sci*, 80: 301-306.
- Pursley, J.R.; Wiltbank, M.C.; Stevenson, J.S.; Ottobre, J.S.; Garverick, H.A. and Anderson, L.L. 1997b. Pregnancy rates per artificial insemination for cows and heifers inseminated at a synchronized ovulation or synchronized estrus. *J Dairy Sci*, 80: 295-300.
- Pursley, J.R.; Silcox, R.W. and Wiltbank, M.C. 1998. Effect of time of artificial insemination on pregnancy rates, calving rates, pregnancy loss, and gender ratio after synchronization of ovulation in lactating dairy cows. *J Dairy Sci*, 81: 2139-2144.
- Pursley, J.R. and Martins, J.P.N. 2011. Impact of circulating concentrations of progesterone and antral age of the ovulatory follicle on fertility of high-producing lactating dairy cows. *Reprod Fertil Dev*, 24: 267-271.
- Rabiee, A.R.; Macmillan, K.L. and Schwarzenberger, F. 2001. The effect of level of feed intake on progesterone clearance rate by measuring faecal

## AZEVEDO, CANADA E SIMÕES

- progesterone metabolites in grazing dairy cows. *Anim Reprod Sci*, 67: 205-214.
- Rabiee, A.R.; Macmillan, K.L.; Schwarzenberger, F. and Wright, P.J. 2002. Effects of level of feeding and progesterone dose on plasma and faecal progesterone in ovariectomised cows. *Anim Reprod Sci*, 73: 185-195.
- Rabiee, A.R.; Lean, I.J. and Stevenson, M.A. 2005. Efficacy of *Ovsynch* program on reproductive performance in dairy cattle: a meta-analysis. *J Dairy Sci*, 88: 2754-2770.
- De Rensis, F.; López-Gatius, F.; García-Ispuerto, I. and Techakumpu, M. 2010. Clinical use of human chorionic gonadotropin in dairy cows: an update. *Theriogenology*, 73: 1001-1008.
- Ribeiro, E.S.; Cerri, R.L.A.; Bisinotto, R.S.; Lima, F.S.; Silvestre, F.T.; Greco, L.F.; Thatcher, W.W. and Santos, J.E.P. 2011. Reproductive performance of grazing dairy cows following presynchronization and resynchronization protocols. *J Dairy Sci*, 94: 4984-4996.
- Roche, J.F. 1976. Retention rate in cows and heifers of intravaginal silastic coils impregnated with progesterone. *J Reprod Fertil*, 46: 253-255.
- Rudolph, J.; Bruckmaier, R.M.; Kasimanickam, R.; Steiner, A.; Kirchofer, M.; Hüsler, J. and Hirsbrunner, G. 2011. Comparison of the effect of a CIDR-Select Synch versus a long-term CIDR based AI protocol on reproductive performance in multiparous dairy cows in Swiss dairy farms. *Reprod Biol Endocrinol*, 9: 151.
- Santos, J.E.P.; Narciso, C.D.; Rivera, F.; Thatcher, W.W. and Chebel, R.C. 2010. Effect of reducing the period of follicle dominance in a timed artificial insemination protocol on reproduction of dairy cows. *J Dairy Sci*, 93: 2976-2988.
- Silva, E.; Sterry, R.A.; Kolb, D.; Mathialagan, N.; McGrath, M.F.; Ballam, J.M. and Fricke, P.M. 2009. Effect of interval to resynchronization of ovulation on fertility of lactating Holstein cows when using transrectal ultrasonography or a pregnancy-associated glycoprotein enzyme-linked immunosorbent assay to diagnose pregnancy status. *J Dairy Sci*, 92: 3643-3650.
- Souza, A.H.; Ayres, H.; Ferreira, R.M. and Wiltbank, M.C. 2008. A new presynchronization system (*Double-Ovsynch*) increases fertility at first postpartum timed AI in lactating dairy cows. *Theriogenology*, 70: 208-215.
- Sterry, R.A.; Jardon, P.W. and Fricke, P.M. 2007. Effect of timing of Cosynch on fertility of lactating Holstein cows after first postpartum and Resynch timed-AI services. *Theriogenology*, 67: 1211-1216.
- Stevenson, J.S.; Tiffany, S.M. and Lucy, M.C. 2004. Use of estradiol cypionate as a substitute for GnRH in protocols for synchronizing ovulation in dairy cattle. *J Dairy Sci*, 87: 3298-3305.
- Stevenson, J.S.; Pursley, J.R.; Garverick, H.A.; Fricke, P.M.; Kesler, D.J.; Ottobre, J.S. and Wiltbank, M.C. 2006. Treatment of cycling and noncycling lactating dairy cows with progesterone during *Ovsynch*. *J Dairy Sci*, 89: 2567-2578.
- Stevenson, J.L.; Dalton, J.C.; Santos, J.E.P.; Sartori, R.; Ahmadzadeh, A. and Chebel, R.C. 2008. Effect of synchronization protocols on follicular development and estradiol and progesterone concentrations of dairy heifers. *J Dairy Sci*, 91: 3045-3056.
- Stevenson, J.S. 2011. Alternative programs to presynchronize estrous cycles in dairy cattle before a timed artificial insemination program. *J Dairy Sci*, 94: 205-217.
- Stevenson, J.S. and Pulley, S.L. 2012. Pregnancy per artificial insemination after presynchronizing estrous cycles with the Presynch-10 protocol or prostaglandin F<sub>2α</sub> injection followed by gonadotropin-releasing hormone before *Ovsynch-56* in 4 dairy herds of lactating dairy cows. *J Dairy Sci*, 95: 6513-6522.
- Thatcher, W.W.; Macmillan, K.L.; Hansen, P.J. and Drost, M. 1989. Concepts for regulation of corpus luteum function by the conceptus and ovarian follicles to improve fertility. *Theriogenology*, 31: 149-164.
- Vasconcelos, J.L.; Silcox, R.W.; Rosa, G.J.; Pursley, J.R. and Wiltbank, M.C. 1999. Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows. *Theriogenology*, 52: 1067-1078.
- Villarreal, A.; Martino, A.; BonDurant, R.H.; Dèletang, F. and Sischo, W.M. 2004. Effect of post-insemination supplementation with PRID on pregnancy in repeat-breeder Holstein cows. *Theriogenology*, 61: 1513-1520.
- Walsh, R.B.; Leblanc, S.J.; Duffield, T.F.; Kelton, D.F.; Walton, J.S. and Leslie, K.E. 2007. The effect of a progesterone releasing intravaginal device (PRID) on pregnancy risk to fixed-time insemina-

## O PROTOCOLO HORMONAL OVSYNCH E SUAS MODIFICAÇÕES EM VACAS LEITEIRAS

- tion following diagnosis of non-pregnancy in dairy cows. *Theriogenology*, 67: 948-956.
- Walsh, R.B.; LeBlanc, S.J.; Vernooy, E. and Leslie, K.E. 2008. Safety of a progesterone-releasing intravaginal device as assessed from vaginal mucosal integrity and indicators of systemic inflammation in postpartum dairy cows. *Can J Vet Res*, 72: 43-49.
- Wiltbank, M.C. and Pursley, J.R. 2014. The cow as an induced ovulator: Timed AI after synchronization of ovulation. *Theriogenology*, 81: 170-185.
- Wiltbank, M.C.; Sartori, R.; Vasconcelos, J.L.M.; Nascimento, A.B.; Souza, A.H.; Cunha, A.P.; Gumen, A.; Sangsritavong, S.; Guenther, J.N.; Lopez, H. and Pursley, J.R. 2010. Managing the dominant follicle in high-producing dairy cows. *Soc Reprod Fertil Suppl*, 67: 231-245.
- Wiltbank, M.C.; Souza, A.H.; Carvalho, P.D.; Bender, R.W. and Nascimento, A.B. 2011. Improving fertility to timed artificial insemination by manipulation of circulating progesterone concentrations in lactating dairy cattle. *Reprod Fertil Dev*, 24: 238-243.
- Yilmazbas-Mecitoglu, G.; Karakaya, E.; Keskin, A.; Alkan, A. and Gumen, A. 2013. Reducing the duration between gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and prostaglandin F<sub>2α</sub> treatment in the *Ovsynch* protocol to 6 days improved ovulation to second GnRH treatment, but inclined to reduce fertility. *J Dairy Sci*, 96: 3817-3824.
- Youssefi, R.; Vojgani, M.; Gharagozlou, F. and Akbarinejad, V. 2013. More male calves born after Presynch-Ovsynch protocol with 24-hour timed AI in dairy cows. *Theriogenology*, 79: 890-894.