

UNIVERSIDADE PARANAENSE – UNIPAR
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL COM ÊNFASE EM
PRODUTOS BIOATIVOS

VALDINEI CAETANO DE OLIVEIRA

**EFEITO DE TRÊS DIFERENTES PRINCÍPIOS ATIVOS ANÁLOGOS AO
HORMÔNIO LIBERADOR DE GONADOTROFINAS NA RESPOSTA
REPRODUTIVA DE VACAS LEITEIRAS SUBMETIDAS A IATF**

Umuarama
2025

VALDINEI CAETANO DE OLIVEIRA

**EFEITO DE TRÊS DIFERENTES PRINCÍPIOS ATIVOS ANÁLOGOS AO
HORMÔNIO LIBERADOR DE GONADOTROFINAS NA RESPOSTA
REPRODUTIVA DE VACAS LEITEIRAS SUBMETIDAS A IATF**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos da Universidade Paranaense como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal com área de concentração em Saúde Única.

Orientação: Prof. Dr. Denis Vinicius Bonato.

Umuarama
2025

Ficha Catalográfica

O48e Oliveira, Valdinei Caetano de.

Efeito de três diferentes princípios ativos análogos ao hormônio liberador de gonadotrofinas na resposta reprodutiva de vacas leiteiras submetidas a IATF / Valdinei Caetano de Oliveira. – Umuarama : Universidade Paranaense – UNIPAR, 2025.

55 f.

Orientador: Dr. Denis Vinicius Bonato.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Paranaense – UNIPAR.

1. Bovinocultura leiteira. 2. Buserelina. 3. Gonadorelina. 4. Lecirelina. 5. Reprodução animal. I. Universidade Paranaense – UNIPAR. II. Título.

(21 ed.) CDD: 636.214

Bibliotecária Responsável: Regiane Luiza Campaneli CRB 9/2194

O presente trabalho foi realizado no Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos da Universidade Paranaense como requisito para a obtenção do título de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos – Área de Concentração Saúde Única, sob orientação do Prof. Dr. Denis Vinicius Bonato.

**EFEITO DE TRÊS DIFERENTES PRINCÍPIOS ATIVOS ANÁLOGOS AO
HORMÔNIO LIBERADOR DE GONADOTROFINAS NA RESPOSTA
REPRODUTIVA DE VACAS LEITEIRAS SUBMETIDAS A IATF**

Os recursos financeiros para o desenvolvimento do projeto foram obtidos junto às agências e órgãos de fomento à pesquisa abaixo relacionadas:

- 1 CAPES: Conselho de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior
- 2 UNIPAR: Universidade Paranaense

VALDINEI CAETANO DE OLIVEIRA

**EFEITO DE TRÊS DIFERENTES PRINCÍPIOS ATIVOS ANÁLOGOS AO
HORMÔNIO LIBERADOR DE GONADOTROFINAS NA RESPOSTA
REPRODUTIVA DE VACAS LEITEIRAS SUBMETIDAS A IATF**

Trabalho de conclusão do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos aprovado como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos pela Universidade Paranaense – UNIPAR, pela seguinte banca examinadora:

Dr. Denis Vinicius Bonato

Doutor em Ciência Animal – Universidade Estadual de Londrina - UEL
Docente da Universidade Paranaense - UNIPAR (orientador)

Dra. Amanda Fonseca Zangirolamo

Doutora em Imunologia Básica e Aplicada – Universidade de São Paulo - USP
Docente da Universidade Estadual de Londrina - UEL

Dr. André Giarola Boscarato

Doutor em Ciência Animal – Universidade Paranaense - UNIPAR
Docente da Universidade Paranaense – UNIPAR

Umuarama, 28 de março de 2025.

AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho de mestrado não teria sido possível sem o apoio de muitas pessoas. Primeiramente, agradeço a Deus, por me guiar em todos os momentos e por me dar forças para superar os desafios.

Ao meu orientador Denis Vinicius Bonato, por sua orientação, paciência, competência e dedicação ao longo deste processo. Seu conhecimento, críticas construtivas e incentivo foram essenciais para o desenvolvimento deste trabalho. Sou eternamente grato pela confiança e pela oportunidade de aprender com você.

Aos proprietários e colaboradores da Fazenda D'Água verde, de modo especial o Médico Veterinário Emanuel Binotto Ferreira, pela oportunidade e toda ajuda na realização desta pesquisa.

Aos professores Amanda Zangirolamo, André Boscarato e Ranulfo Piau Junior, que fizeram parte da banca examinadora de defesa e/ou qualificação, que contribuíram imensamente para a melhoria da dissertação e para meu crescimento profissional.

Aos meus familiares, que sempre foram meu alicerce ao longo de toda essa jornada. Aos meus pais, que me deram todo o suporte emocional, incentivo e amor. Vocês sempre acreditaram em mim, e eu aprendi importância da perseverança e me mostrei que nunca devemos desistir de nossos sonhos. Obrigado por todo o sacrifício, paciência e por sempre me apoiar em todas as minhas decisões. Este trabalho é, em grande parte, fruto de tudo o que aprendi com vocês.

A minha noiva Denise, que me deu apoio nessa fase final do mestrado estando ao meu lado, com conhecimento e amor. Agradecer toda a paciência e por ter sido minha maior motivação nos momentos mais difíceis.

Agradeço a todos meus amigos por estarem ao meu lado em todos os momentos, sejam nas horas de alegria ou nas dificuldades. Foram vocês que me ajudaram a manter o equilíbrio, agradeço pela paciência e pelo apoio constante, por me ouvirem e, muitas vezes, por me ajudarem a colocar os pensamentos em ordem. O tempo que passamos juntos, mesmo que em breves momentos de descontração.

Agradecimento a Leticia Obo, colega de mestrado que foi fundamental para a realização deste trabalho me ajudando na parte técnica da pesquisa.

“Tenha sempre como meta muita força, muita determinação e sempre faça tudo com muito amor e com muita fé em Deus, que um dia você chega lá.” (Ayrton Senna)

OLIVEIRA, Valdinei Caetano de. **Efeito de três diferentes princípios ativos análogos ao hormônio liberador de gonadotrofinas na resposta reprodutiva de vacas leiteiras submetidas a IATF.** Orientador: Denis Vinicius Bonato. 2025. 49 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos) - Universidade Paranaense, Umuarama, 2025.

RESUMO

O presente estudo avaliou o efeito de diferentes análogos sintéticos do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) sobre o desempenho reprodutivo de vacas da raça Holandesa. O trabalho foi realizado na Fazenda D'Água Verde, localizada em Arapoti - PR. Um total de 314 vacas da raça Holandesa, com produção acima de 40 litros/vaca/dia, foram pré-sincronizadas e submetidas a um protocolo de sincronização de ovulação para inseminação artificial em tempo fixo (IATF). No dia inicial do protocolo (D0) as vacas foram divididas em três grupos experimentais para avaliar diferentes princípios ativos de análogos sintéticos ao GnRH. As fêmeas do primeiro grupo (G1, n=107) foram submetidas a um protocolo de sincronização utilizando como análogo ao GnRH a lecorelina, o segundo grupo (G2, n=102) a gonadorelina e o terceiro grupo (G3= 105) a busereлина. As vacas foram inseminadas utilizando sêmen do mesmo touro e aos 30 e 60 dias após as inseminações foram realizados os diagnósticos de gestação. Em todas as vacas do experimento, no dia inicial (D0) e no sétimo dia do protocolo (D7) foi realizada a avaliação ultrassonográfica ovariana para contar a quantidade de corpos lúteos (CLs) presentes nos ovários. Os dados de taxa de concepção, produção de leite diária, número de lactações, número de CLs no D0 e o número de CLs no D7 foram comparados entre os grupos e a quantidade de CLs do D0 com a do D7 foi comparada dentro de cada grupo. Dados paramétricos foram comparados entre os grupos utilizando o teste ANOVA. Para os dados não paramétricos, utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis. A comparação entre o número de CLs do D0 para o D7 dentro de cada grupo foi realizada com o teste de Mann-Whitney. A taxa de concepção foi comparada utilizando o teste Exato de Fisher. A taxa de concepção aos 30 dias após a IATF do G1 foi de 38,32% (41/107), do G2 31,37% (32/102) e do G3 de 37,14% (39/105), não havendo diferença na comparação entre os grupos. Com relação ao número de CLs, não houve diferença entre a quantidade de CLs no D0 e no D7, contudo, houve aumento no número de CLs do D0 para o D7 nos grupos G1 e G3, não ocorrendo o mesmo aumento no G2. Conclui-se que, embora a gonadorelina tenha se mostrado menos eficaz na indução da ovulação, refletida na ineficiência para aumentar o número de corpos lúteos do D0 para o D7, esse fator não impactou negativamente a taxa de concepção em comparação à lecorelina e à busereлина. Sendo assim,

todos os três análogos testados demonstraram eficácia reprodutiva semelhante diante das condições experimentais em que foram testados.

Palavras-chave: Bovinocultura leiteira. Buserelina. Gonadorelina. Lecirelina. Reprodução animal.

OLIVEIRA, Valdinei Caetano de. **Effect of three different active ingredients analogous to gonadotropin-releasing hormone on the reproductive response of dairy cows subjected to TAI.** Advisor: Denis Vinicius Bonato. 2025. 49 p. Dissertation (Master's in Animal Science with Emphasis on Bioactive Products) - Universidade Paranaense, Umuarama, 2025.

ABSTRACT

The present study evaluated the effect of different synthetic analogues of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) on the reproductive performance of Holstein cows. The study was carried out at Fazenda D'Agua Verde, located in Arapoti - PR. A total of 314 Holstein cows, with production above 40 liters/cow/day, were pre-synchronized and submitted to an ovulation synchronization protocol for fixed-time artificial insemination (FTAI). On the initial day of the protocol (D0), the cows were divided into three experimental groups to evaluate different active principles of synthetic analogues of GnRH. The females of the first group (G1, n=107) were submitted to a synchronization protocol using lecorelin as analogue to GnRH, the second group (G2, n=102) went to gonadorelin and the third group (G3=105) went to buserelin. The cows were inseminated using semen from the same bull and pregnancy diagnoses were performed 30 and 60 days after insemination. In all cows in the experiment, on the initial day (D0) and on the seventh day of the protocol (D7), ovarian ultrasound was performed to count the number of corpora lutea (CLs) present in the ovaries. Data on conception rate, daily milk production, number of lactations, number of CLs on D0 and number of CLs on D7 were compared between groups and the number of CLs from D0 to D7 was compared within each group. Parametric data were compared between groups using the ANOVA test. For nonparametric data, the Kruskal-Wallis test was used. The comparison between the numbers of CLs from D0 to D7 within each group was performed using the Mann-Whitney test. The conception rate was compared using Fisher's exact test. The conception rate at 30 days after FTAI in G1 was 38.32% (41/107), in G2 31.37% (32/102) and in G3 37.14% (39/105), with no difference in the comparison between the groups. Regarding the number of CLs, there was no difference between the number of CLs on D0 and D7; however, there was an increase in the number of CLs from D0 to D7 in groups G1 and G3, but the same increase did not occur in G2. It is concluded that, although gonadorelin was less effective in inducing ovulation, reflected in the inefficiency to increase the number of corpora lutea from D0 to D7, this factor did not negatively impact the conception rate compared to lecorelin and buserelin. Therefore, all three analogues tested demonstrated similar reproductive efficacy under the experimental conditions in which they were tested.

Keywords: Dairy cattle farming. Buserelin. Gonadorelin. Lecirelin. Animal reproduction.

LISTA DE TABELAS

Artigo 1 - Efeito de três diferentes princípios ativos análogos ao hormônio liberador de gonadotrofinas na resposta reprodutiva de vacas leiteiras submetidas a IATF

Tabela 1 – Desempenho reprodutivo de vacas leiteiras pré-sincronizadas submetidas ao protocolo farmacológico utilizando diferentes análogos do Hormônio Liberador de Gonadotrofinas (GnRH).....	39
---	----

LISTA DE SIGLAS

μg	Microgramas
CL	Corpo lúteo
COPG	Coordenadoria de Pós-Graduação
D0	Dia inicial do protocolo
D7	Sétimo dia do protocolo
D9	Nono dia do protocolo
E2	Estrógeno
FSH	Hormônio folículo-estimulante
G1	Grupo 1
G2	Grupo 2
G3	Grupo 3
GnRH	Hormônio liberador de gonadotrofinas
H	Horas
IATF	Inseminação artificial em tempo fixo
LH	Hormônio luteinizante
mg	Miligramas
MHz	Mega-hertz
n	Número
P4	Progesterona
PGF2 α	Prostaglandina F2 alfa
UNIPAR	Universidade Paranaense

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
FISIOLOGIA REPRODUTIVA E USO DO ANÁLOGO DO GNRH EM VACAS DE ALTA PRODUÇÃO LEITEIRA SUBMETIDA A IATF	15
1.1 Introdução	16
1.2 Revisão da Literatura	17
Fisiologia reprodutiva de fêmeas bovinas	17
Ciclo estral da fêmea bovina	19
Particularidades reprodutivas de vacas com elevada produção leiteira	19
GnRH e seus análogos	21
Uso do GnRH no controle farmacológico do ciclo estral	22
1.3 Referências	25
1.4 Objetivo	31
CAPITULO 2 – ARTIGO	32
2 ARTIGO 1 - Efeito de três diferentes princípios ativos análogos ao hormônio liberador de gonadotrofinas na resposta reprodutiva de vacas leiteiras submetidas a IATF.....	33
RESUMO.....	34
ABSTRACT.....	35
Introdução	36
Material e Métodos	37
Local, animais e manejo	37
Protocolo farmacológico utilizado no experimento	37
Informações das vacas e avaliações ultrassonográficas para quantificar o número de corpos lúteos	38

	Análise estatística	38
	Resultados	39
	Discussão	39
	Conclusão	42
	Referências	42
3	CONCLUSÃO	45
4	ANEXOS	46
	ANEXO 1 - Normas da Revista da Semina.....	46
	ANEXO 2 - Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Experimentação Animal (CEPEEA)	53

CAPÍTULO 1

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

**FISIOLOGIA REPRODUTIVA E USO DO ANÁLOGO DO GNRH EM VACAS DE
ALTA PRODUÇÃO LEITEIRA SUBMETIDAS A IATF**

O capítulo 1 foi editado de acordo com as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas - ABNT.

FISIOLOGIA REPRODUTIVA E USO DO ANÁLOGO DO GNRH EM VACAS DE ALTA PRODUÇÃO LEITEIRA SUBMETIDAS A IATF

1.1 Introdução

A bovinocultura leiteira é uma das principais atividades do agronegócio brasileiro e possui grande relevância internacional, contendo o segundo maior rebanho de vacas leiteiras do mundo e ocupando o quinto lugar no ranking mundial de produção de leite, com mais de 30 milhões de toneladas de leite produzidas por ano (Rentero, 2023; USDA, 2024). Além disso, a cadeia produtiva leiteira desempenha um papel fundamental na economia do país, pela grande quantidade de produtores rurais que têm seu sustento através da atividade, por gerar milhares de empregos e trazer grandes movimentações financeiras (Cervo *et al.*, 2018; Motolo *et al.*, 2024).

Contudo, mesmo com tamanha magnitude da bovinocultura leiteira, o pecuarista tem enfrentado diversos problemas, tendo em vista que, é uma atividade com margem de lucro muito baixa e muitas vezes o custo de produção supera o valor que o leite importado entra no mercado (Bazilio; Ferrarezi Junior; Carrasqueira, 2024). Neste sentido, uma alternativa para os produtores é tornar a produção de leite autossustentável, aumento da eficiência produtiva do rebanho, ou seja, produzir um maior volume de leite com o menor custo possível, tornando o leite nacional mais competitivo, a fim de reduzir as importações de produtos lácteos (Cervo *et al.*, 2018). Para isso é necessário que haja um bom manejo nutricional, sanitário e boa eficiência reprodutiva do rebanho (Mello, 2014).

O desempenho reprodutivo das vacas leiteiras é afetado quando se tem elevada idade ao primeiro parto e um grande intervalo entre partos, uma vez que reduz o tempo de vida produtiva das vacas e, conseqüentemente, a produção de leite acumulada de cada matriz do rebanho (Jimenez-Krassel *et al.*, 2017; Sawa; Siatka; Krezel-Czopek, 2019). Um dos principais problemas atrelados ao baixo desempenho reprodutivo de vacas de raças especializadas em produção leiteira é sua alta taxa metabólica, que resulta na depuração dos hormônios estrógeno e progesterona, tornando os níveis séricos mais baixos, resultando em maior incidência de cistos ovarianos, ausência de sinais de estro e baixa qualidade do oócito ovulado (Sartori *et al.*, 2002; Wiltbank *et al.*, 2012).

Neste contexto, Consentini, Wiltbank e Sartori (2021) descrevem que o uso de um protocolo de pré-sincronização, melhora os índices reprodutivos de vacas leiteiras, pois aumenta a produção de progesterona, por meio da formação de um corpo lúteo antes da

sincronização de ovulação para a inseminação, desta forma, compensando a fração de progesterona que é depurada pelo fígado, garantindo a qualidade oocitária.

Contudo, os autores não explicam qual seria o melhor análogo sintético de GnRH para ser utilizado vacas pré-sincronizadas, tendo em vista que, de acordo com Giordano *et al.* (2012), pelo fato de já ter um corpo lúteo produzindo progesterona, isso pode bloquear o pico ovulatório de LH. Neste contexto, comercialmente, existem como análogos sintéticos ao GnRH a lecirelina, a gonadorelina e a buserelina para uso em bovinos (Armengol-Gelonch *et al.*, 2017; de Carvalho Fernandes *et al.*, 2021; Leão *et al.*, 2024).

Picard-Hagen *et al.* (2015) ao avaliarem o efeito de três análogos de GnRH no pico ovulatório de LH em animais em estro, identificou que a gonadorelina promovia um pico mais baixo de LH em comparação com os outros análogos. Contudo, o trabalho de Picard-Hagen *et al.* (2015) não foi avaliado em animais na fase progesterônica do ciclo, além disso, outros trabalhos sugerem doses mais altas do que as testadas no estudo (Kim *et al.*, 2007; Consentini *et al.*, 2025). Sendo assim, a presente revisão tem por objetivo descrever particularidades reprodutivas de fêmeas bovinas leiteiras e apresentar implicações do uso de análogos de GnRH no controle farmacológico do ciclo estral desta categoria de fêmeas bovinas.

1.2 Revisão da Literatura

Fisiologia reprodutiva de fêmeas bovinas

A fisiologia do ciclo estral das fêmeas é complexa e depende da interação entre o sistema nervoso central, sistema endócrino e dos órgãos genitais (Dos Santos *et al.*, 2012). O hipotálamo é formado por núcleos pares de neurônios e comunica-se com a hipófise por meio de um sistema circulatório especializado, conhecido como sistema porta-hipotálamo-hipofisário (Pansani; Beltran, 2009). Esse sistema está localizado na parte central do sistema nervoso e é responsável pela secreção e liberação do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), que por vez estimula a adeno-hipófise a liberar os hormônios gonadotróficos luteinizante (LH) e folículo estimulante (FSH), que possuem função diretamente nos ovários, fazendo com que ocorra o desenvolvimento dos folículos (Baruselli; Gimenes; Sales, 2007).

O FSH é responsável por induzir a emergência da onda folicular, em que folículos secundários (pré-antrais) começam a se desenvolver, formando a cavidade antral que será preenchida por líquido folicular (Pansani; Beltran, 2009). A quantidade de folículos que emerge por onda varia de animal para animal, podendo ser menos de dez ou até mais de cinquenta folículos, tendo em média para animais da raça Holandesa 18 folículos por onda

(Jimenez-krassel *et al.*, 2017; Morotti *et al.*, 2018; Bonato *et al.*, 2022). Do total de folículos que emergem na onda, tratando-se de uma onda ovulatória, normalmente apenas um folículo irá ovular e isso é possível através da dominância folicular que é quando um dos folículos se desenvolve mais do que os outros, sendo então chamado de folículo dominante (Bonato *et al.*, 2022). Esse evento em que um dos folículos se torna o dominante é chamado de divergência folicular e ocorre quando o maior folículo presente nos ovários atinge 8,5mm de diâmetro (Martínez *et al.*, 2020).

O folículo dominante começa a secretar o hormônio inibina, causando feedback negativo na hipófise para bloquear a liberação de FSH para que os folículos menores, denominados de subordinados, parem de se desenvolver (Baruselli; Gimenes; Sales, 2007). Ao contrário dos folículos subordinados que dependem exclusivamente do FSH para se desenvolverem, o dominante desenvolve receptores para o LH, desta forma o crescimento folicular final depende de pulsos LH (Revah; Butler, 1996). A liberação dos pulsos de LH ocorre por meio da secreção de pulsos de estrógeno (E2) pelo folículo dominante. Esses pulsos de E2 sensibilizam o hipotálamo a liberar pulsos de GnRH que tem por função agir na hipófise induzindo a pulsatilidade de LH. Desta forma, o folículo dominante se desenvolve ao ponto de se tornar um folículo ovulatório (Clément, 2016).

Conforme o folículo dominante se desenvolve aumenta a produção de E2 ao ponto de que no estro a produção chega ao ápice, desencadeando o feedback positivo para que o hipotálamo secrete quantidade suficiente de GnRH que irá desencadear a liberação do pico ovulatório de LH. O LH promove a ruptura da parede folicular para a liberação do oócito, sendo então, caracterizada a ovulação (Acosta; Miyamoto, 2004). Após a ovulação o folículo se transforma em um corpo hemorrágico e posteriormente, por meio da ação do LH no processo de luteinização, esta estrutura se torna o corpo lúteo (CL) e passa a produzir o hormônio progesterona (P4) (Baruselli; Gimenes; Sales, 2007).

Basicamente, a P4 é responsável pela manutenção da gestação (Dias *et al.*, 2021). Contudo, estudos realizados em vacas leiteiras não gestantes mostraram que o baixo nível sérico de P4 durante o desenvolvimento inicial da onda folicular, resulta em retomada precoce da meiose do oócito, fazendo com que a vaca ovule um oócito inviável para a fecundação (Consentini; Wiltbank; Sartori, 2021). Além disso, a progesterona baixa no momento da divergência folicular aumenta o risco de ocorrerem duplas ovulações e, conseqüentemente, de gestações gemelares (Lopez *et al.*, 2005).

A P4 também é responsável pelo *feedback* negativo do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal, ou seja, quando os níveis de P4 estão elevados durante o ciclo estral promove a

inibição da liberação do pico de LH, desta forma, não ocorre ovulação e a onda folicular entra em atresia, sendo assim caracterizada como uma onda atrésica (Hafez; Hafez, 2004).

Ciclo estral da fêmea bovina

O ciclo estral é o período entre um estro e outro, que tem em bovinos tem duração média de 21 dias, podendo variar entre 17 a 24 dias. Durante o ciclo estral ocorrem 2 a 3 ondas de crescimento folicular em que a apenas a última onda que emerge será a onda ovulatória e as que antecedem serão ondas que entram em atresia devido a P4 elevada (Forde *et al.*, 2011).

O ciclo estral se divide basicamente em duas fases distintas, sendo a primeira a luteal ou progesterônica, em que o hormônio predominante é a P4 e a segunda é denominada de folicular ou estrogênica, com predomínio do E2 (Toledo-Alvarado *et al.*, 2018). A fase luteal é subdividida em outras duas fases, o metaestro e o diestro. Da mesma forma, a fase folicular é subdividida em outras duas fases, o proestro e o estro (Bonato *et al.*, 2022).

O metaestro tem duração de 3 a 4 dias. É nesta fase que ocorre a ovulação e se dá início ao desenvolvimento do CL (Trevisol *et al.*, 2013). O diestro tem duração de 14 dias e é a fase mais longa do ciclo e é caracterizada pela presença do CL ativo. É no diestro que ocorre o reconhecimento do concepto nos casos de gestação, caso não ocorra o reconhecimento do concepto, o endométrio libera o hormônio prostaglandina F2 alfa (PGF2 α) que irá induzir luteólise do CL dando início ao novo ciclo (de Moraes *et al.*, 2021).

Com a regressão do CL o nível sérico de P4 diminuiu, possibilitando que a vaca entre na próxima fase, o proestro (Rathbone *et al.*, 2001). O proestro tem a duração de até 3 dias e se caracteriza pela mudança comportamental do animal (inquietação, aumento na frequência de vocalizações e redução na ingestão de alimentos), e nessa fase a fêmea não tem receptividade sexual (Cunha *et al.*, 2021). Contudo, na fase seguinte, que é o estro, a fêmea demonstra receptividade sexual, permitindo ser montada pelo macho ou outras fêmeas do rebanho. O estro possui duração de 8 a 18 horas (Pohler *et al.*, 2020).

Particularidades reprodutivas de vacas com elevada produção leiteira

Em comparação com vacas de corte, as vacas de aptidão leiteira, apresentam desempenho reprodutivo inferior, tendo maior incidência de problemas reprodutivos como infecções uterinas, cistos ovarianos, falhas de concepção e perdas gestacionais (Peter *et al.*, 2018).

Um aspecto que muda muito entre uma vaca leiteira e uma vaca de corte é o metabolismo, tendo em vista que, na realidade brasileira uma vaca de corte tem apenas o pasto como base da alimentação e sua produção de leite é apenas para alimentação de seu bezerro (Berça *et al.*, 2021). Já as vacas de aptidão leiteira, principalmente as criadas em sistema confinado, consomem ração balanceada, com grande proporção de alimentos concentrados e a quantidade de alimento fornecido é ajustada de acordo com o volume de leite produzido (Hills *et al.*, 2015).

Nesse sentido, as vacas leiteiras possuem alta taxa metabólica e isso leva à maior incidência de doenças metabólicas que afetam o desempenho reprodutivo da vaca (Ferguson *et al.*, 1994; Santos *et al.*, 2022). Além disso, mesmo que a vaca esteja saudável, a alta taxa metabólica acaba catabolizando hormônios reprodutivos esteroides que são produzidos pelo ovário, no caso, o E2 e a P4 (Consentini; Wiltbank; Sartori, 2021). Esse catabolismo faz com que o nível sérico de E2 e P4 seja mais baixo em vacas com alta produção leiteira do que em outras categorias de fêmeas bovinas (Sangsrivong *et al.*, 2002).

Sartori *et al.* (2002) realizaram estudos comparando vacas com alta produção leiteira e novilhas. Nesse estudo, observaram que as vacas possuem folículos maiores que as novilhas, mas com menor concentração sérica de E2. Da mesma forma, os autores identificaram que as vacas possuem CLs maiores, porém o nível sérico de P4 é significativamente inferior. Esse menor nível de E2 comumente faz com que as vacas com elevada produção de leite não demonstrem estro, tenham cios curtos ou com quantidade de E2 insuficiente para induzir uma ovulação, algo que leva a formação de cistos tenham menor qualidade oocitária (Nora *et al.*, 2018). Com relação a P4, o menor nível sérico diminui a qualidade do oócito ovulado, aumentando as falhas de concepção, além de aumentar a quantidade de perdas gestacionais (Lonergan, 2011).

Para reduzir as falhas de concepção, Consentini, Wiltbank e Sartori (2021) indicam o uso do controle farmacológico do ciclo estral, empregando o protocolo denominado de *ESALQ's Fertility Program*, em que antes do protocolo para sincronização da ovulação, é realizado um protocolo de pré-sincronização. De acordo com os autores, a pré-sincronização tem como objetivo induzir uma ovulação e a emergência de uma nova onda folicular, para que oito ou dez dias depois, inicie-se o protocolo de sincronização de ovulação para a inseminação artificial em tempo fixo (IATF). No dia inicial do protocolo de sincronização (D0), caso a vaca tenha respondido adequadamente ao protocolo de pré-sincronização, apresentará um CL ativo, produzindo progesterona e terá também um folículo dominante que já possui receptores para LH.

Desta forma, Consentini, Wiltbank e Sartori (2021) recomendam que no D0 o animal receba uma dose de um análogo de GnRH, com intuito de induzir a ovulação do folículo dominante, formando assim, um novo CL. Além disso, no D0, é inserido por via intravaginal um dispositivo impregnado com P4. Assim sendo, com três fontes de P4, ou seja, o CL da pré-sincronização, o CL da sincronização e o dispositivo impregnado com P4, a liberação de P4 aumenta para tentar compensar a quantidade que será catabolizada pela fígado, possibilitando níveis adequados de P4 na fase de desenvolvimento inicial do folículo para garantir qualidade oocitária (Martins *et al.*, 2018).

GnRH e seus análogos

O hormônio liberador de gonadotrofinas tipo I (GnRH-I), é um decapeptídeo hipotalâmico essencial para o controle reprodutivo (Casteel; Singh, 2023). Esse hormônio é sintetizado por neurônios hipotalâmicos e liberado de forma pulsátil na circulação porta-hipofisária (Schneider; Tomek; Grundker, 2006; Colazo; Mapletoft, 2022). Ao se ligar aos seus receptores presentes nos gonadotrofos da adenohipófise, ativa uma série de eventos que culminam na síntese e secreção de gonadotrofinas que modulam a gametogênese e a esteroidogênese (Bliss *et al.*, 2010; Perrett; McArdle, 2013).

Contudo, o GnRH-I possui uma meia-vida curta, de aproximadamente 2 a 4 minutos, devido a sua rápida degradação pela ação das peptidases (Ortmann; Weiss; Diedrich, 2002). Portanto, com o intuito de aumentar a potência e prolongar a sua duração, foram desenvolvidos os seus análogos sintéticos, com algumas alterações na morfologia molecular em comparação ao GnRH endógeno (Kumar; Sharma, 2014).

O GnRH e seus análogos são amplamente utilizados na reprodução bovina, com intuito de aumentar a eficiência reprodutiva das fêmeas (Colazo; Mapletoft, 2022). Comercialmente existem três análogos sintéticos ao GnRH aprovados para o uso em bovinos: a gonadorelina, a buserelina e a lecirelina (Picard-Hagen *et al.*, 2015). A gonadorelina é a forma sintética semelhante à molécula endógena de GnRH-I, também formada por uma cadeia de 10 aminoácidos (Chenault *et al.*, 1990). Enquanto a buserelina e a lecirelina, são análogos agonistas sintéticos formados por pequenas modificações em sua morfologia molecular que as tornaram nonapeptídeos (Zapletal; Pavlik, 2008).

Em comparação a molécula endógena do GnRH, a lecirelina possui a glicina da posição seis de sua cadeia substituída por uma d-terciária leucina e a da posição dez por uma etilamida (Kaya *et al.*, 2008). Enquanto a buserelina possui uma d-serina na sexta posição e uma etilamida na décima posição da cadeia (Picard-Hagen *et al.*, 2015). As substituições das

glicinas por d-aminoácidos (isômeros dextrógiros) na posição seis de ambas, permitiram a estabilização da conformação em dobradiça da molécula, tornando-as mais resistentes as peptidases e aumentando a afinidade da molécula ao seu receptor, o que resultou no prolongamento da meia-vida na circulação (Padula, 2005; Herbert; Trigg, 2005). Além disso, as substituições das glicinas da décima posição por alquilaminas, resultaram em análogos nonapeptídicos com maior potência de indução da ovulação (Romagnoli *et al.*, 2009).

Uso dos análogos de GnRH no controle farmacológico do ciclo estral

Os análogos a prostaglandina F_{2α} (PGF_{2α}) foram utilizados inicialmente para induzir a fêmea a entrar em estro, possibilitando a inseminação (Landaeta-Hernández *et al.*, 2004). Para que esta indução utilizando apenas um fármaco funcione, a vaca deve ter um corpo lúteo (CL) responsivo à PGF_{2α}, condição que nem todas as vacas demonstram quando o fármaco é aplicado, sendo ineficiente em muitos casos (Gugssa; Ashebir; Yayneshet, 2016).

Com o avanço das técnicas de ultrassonografia para avaliação ovariana foi possível compreender melhor a dinâmica ovariana e começaram a ser desenvolvidos protocolos um pouco mais elaborados, em que associado à PGF_{2α} foi introduzido os análogos ao GnRH, no caso a busarelina, gonadorelina e a lecirelina (Mialot *et al.*, 2003; Souza *et al.*, 2009; Ataman *et al.*, 2011; Picard-Hagen *et al.*, 2015; Bonato *et al.*, 2022). Esses análogos ao GnRH agem na hipófise anterior fazendo com que ela libere grande quantidade de hormônio luteinizante (LH), promovendo o chamado pico ovulatório, responsável por fazer com que folículos com mais de 8,5mm de diâmetro ovulem e luteinizem, formando assim um CL (Picard-Hagen *et al.*, 2015).

Alguns dias após a formação do CL no ovário é possível administrar a PGF_{2α}, promovendo a luteólise e conseguindo induzir o estro para IA (Mialot *et al.*, 2003). Contudo, o protocolo usando somente GnRH e PGF_{2α} também não é eficiente em todas as vacas, tendo em vista que alguns animais podem estar em anestro e nestes casos, não apresentam folículos com no mínimo 8,5mm para responderem ao pico de LH, induzido pelo GnRH (El-Tahawy; Fahmy, 2011).

Sem folículos com tamanho adequado para responder ao pico de LH a vaca continuará em anestro, demorando mais para ficar gestante, comprometendo os índices reprodutivos e produtivos do rebanho (Peter; Vos; Ambrose, 2009). Neste sentido, as pesquisas avançaram ao ponto de existirem atualmente protocolos que possibilitam induzir uma ovulação de forma sincronizada, em que é utilizado uma associação de estrógeno e progesterona no dia inicial do protocolo (Monteiro *et al.*, 2015).

O estrógeno e a progesterona juntos conseguem garantir a emergência de uma nova onda folicular sincronizada em mais de 70% das vacas, mesmo que estejam em anestro (Madureira *et al.*, 2020). Com isso, e com a administração de outros fármacos no decorrer do protocolo, os animais tendem a ovular ao mesmo tempo, permitindo a inseminação em tempo fixo, dispensando a necessidade de identificação de estro (Bó; Baruselli, 2014; Monteiro *et al.*, 2015). Apesar da associação entre E2 e P4 induzir muito bem a ovulação de forma sincronizar, a maior parte das vacas de aptidão leiteira que ovulavam e são inseminadas, não ficam gestantes, obtendo apenas 25 a 30% das vacas com gestação confirmada quando se usa protocolos que iniciam apenas com E2 e P4 (Monteiro *et al.*, 2015).

As pesquisas seguiram focadas para obter um protocolo farmacológico que conseguisse induzir a ovulação de forma sincronizada no maior número possível de vacas, mas que alcançasse melhores índices de prenhez para vacas de alta produção leiteira (Bonato *et al.*, 2022). Neste contexto, Consentini, Wiltbank e Sartori (2021) descrevem que o uso de um protocolo que após uma pré-sincronização, inicia-se com o uso do GnRH é possível obter taxas de concepção acima de 40%.

No trabalho de Consentini, Wiltbank e Sartori (2021), os autores utilizaram como princípio ativo análogo ao GnRH a buserelina. Bonato *et al.* (2022) avaliaram, também em vacas da raça Holandesa e com alta produção de leite, um protocolo utilizando outro análogo do GnRH, no caso a lecirelina e identificaram que 100% das vacas tiveram emergência de onda e ovularam de forma sincronizada. Contudo, o experimento de Bonato *et al.* (2022) foi realizado em um número pequeno de animais e não teve a taxa de concepção como variável avaliada. Além da lecirelina e da buserelina, a gonadorelina também é utilizada na espécie bovina (Rodrigues *et al.*, 2011).

Os diferentes análogos de GnRH, ou seja, a lecirelina, a buserelina e a gonadorelina tiveram a eficiência para induzir o pico ovulatório de LH testado no estudo de Picard-Hagen *et al.* (2015), em que os autores aplicaram os três diferentes análogos em novilhas da raça Holandesa que possuíam folículo dominante e dosaram os níveis séricos de LH coletando amostras de sangue a cada uma hora até totalizar seis horas após a aplicação do GnRH. No estudo de Picard-Hagen *et al.* (2015), os autores identificaram que a lecirelina e a buserelina induziram um pico mais alto de LH em comparação com a gonadorelina, no entanto, não houve diferença com relação a taxa de ovulações induzidas pelos três diferentes fármacos.

Adicionalmente, o estudo de Picard-Hagen *et al.* (2015) foi realizado em novilhas não lactantes, sendo importante no atual contexto, a comparação dos diferentes análogos de GnRH em vacas com elevada produção leiteira e que tenham passado por uma pré-sincronização, ou

seja, que já tenham um CL ativo e que já estejam na fase progesterônica do ciclo. Neste sentido, é importante a realização de experimentos que comparem, além da taxa de ovulação, a taxa de concepção das vacas com alta produção leiteira quando recebem diferentes princípios ativos de análogos ao GnRH.

1.3 Referências

- ACOSTA, T. J.; MIYAMOTO, A. Vascular control of ovarian function: ovulation, corpus luteum formation and regression. **Animal Reproduction Science**, v. 82–83, p. 127–140, 2004.
- ARMENGOL-GELONCH, R. *et al.* Impact of phase of the estrous cycle and season on LH surge profile and fertility in dairy cows treated with different GnRH analogs (gonadorelin vs. buserelin). **Theriogenology**, v. 91, p. 121-126, 2017.
- ATAMAN, M. B. *et al.* The effect of buserelin injection 12 days after insemination on selected reproductive characteristics in cows. **Acta Veterinaria Brno**, v. 80, n. 2, p. 171–177, 2011.
- BARUSELLI, P. S.; GIMENES, L. U.; SALES, J. N. S. Fisiologia reprodutiva de fêmeas taurinas e zebuínas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 31, n. 2, p. 205-211, 2007.
- BAZILIO, L. C. *et al.* A cultura do leite: perspectivas, desafios e resiliência em tempos de pandemia e pós-pandemia. **Revista Interface Tecnológica**, v. 21, n. 1, p. 693-704, 2024.
- BERÇA, A. S. *et al.* Advances in pasture management and animal nutrition to optimize beef cattle production in grazing systems. In: **Animal feed science and nutrition-production, health and environment**. IntechOpen, 2021.
- BLISS, S. P. *et al.* GnRH signaling, the gonadotrope and endocrine control of fertility. **Frontiers in neuroendocrinology**, v. 31, n. 3, p. 322-340, 2010.
- BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S. Synchronization of ovulation and fixed-time artificial insemination in beef cattle. **Animal**, v. 8, n. SUPPL. 1, p. 144–150, 2014.
- BONATO, D. V. *et al.* Follicular dynamics, luteal characteristics, and progesterone concentrations in synchronized lactating Holstein cows with high and low antral follicle counts. **Theriogenology**, v. 179, p.223-229, 2022.
- CASTEEL, C. O.; SINGH, G. Physiology, Gonadotropin-Releasing Hormone. In: **StatPearls. StatPearls Publishing**, Treasure Island (FL), 2023.
- CHENAULT, J. R. *et al.* LH and FSH 211 response of Holstein heifers to fertirelin acetate, gonadorelin and buserelin. **Theriogenology**, v.34, p.81–98, 1990.
- CERVO, H. J. *et al.* Spatial distribution of productive, environmental, and socioeconomic factors to discriminate dairy cattle production in the south of Brazil. **Ciência Animal Brasileira**, n. 19, p. 1–13, 2018.

- COLAZO, M. G.; MAPLETOFT, R. J. Factores asociados a la liberación de gonadotrofinas y ovulación después de la administración exógena de GnRH en el Bos Taurus. **Ciencia Veterinaria**, v. 24, n. 2, p. 9, 2022.
- CLÉMENT, F. Multiscale mathematical modeling of the hypothalamo-pituitary-gonadal axis. **Theriogenology**, v. 86, n. 1, p. 11-21, 2016.
- CONSENTINI, C. E. *et al.* Reproductive outcomes of lactating dairy cows submitted to first timed artificial insemination protocols with different strategies to induce final ovulation. **Journal of Dairy Science**, v. 108, n. 1, p. 1138-1149, 2025.
- CONSENTINI, C. E.; WILTBANK, M. C.; SARTORI, R. Factors that optimize reproductive efficiency in dairy herds with an emphasis on timed artificial insemination programs. **Animals**, v. 11, n. 2, p. 1–30, 2021.
- CUNHA, T. O. *et al.* Effects of GnRH and hCG administration during early luteal phase on estrous cycle length, expression of estrus and fertility in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v. 173, p. 23–31, 2021.
- DE CARVALHO FERNANDES, C. A. *et al.* Timing of early resynchronization protocols affects subsequent pregnancy outcome in dairy cows. **Theriogenology**, v. 167, p. 61-66, 2021.
- DE MORAES, F. P. *et al.* Prostaglandin F2 α regulation and function during ovulation and luteinization in cows. **Theriogenology**, v. 171, p. 30-37, 2021.
- DIAS, H. P. *et al.* Progesterone dose during synchronization treatment alters luteinizing hormone receptor and steroidogenic enzyme mRNA abundances in granulosa cells of Nellore heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 225, p. 106681, 2021.
- DOS SANTOS, K. J. G. *et al.* Biotecnologias reprodutivas e fisiologia reprodutiva da fêmea bovina–conhecimento para o sucesso. **Pubvet**, v. 6, p. Art. 1478-1483, 2012.
- EL-TAHAWY, A. E. G. S.; FAHMY, M. M. Partial budgeting assessment of the treatment of pyometra, follicular cysts and ovarian inactivity causing postpartum anoestrus in dairy cattle. **Research in Veterinary Science**, v. 90, n. 1, p. 44–50, 2011.
- FERGUSON, J. *et al.* **Body condition of lactating cows**, Part 1. 1994.
- FORDE, N. *et al.* Oestrous cycles in Bos taurus cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 124, n. 3–4, p. 163–169, 2011.
- GIORDANO, J. O. *et al.* Effect of progesterone on magnitude of the luteinizing hormone surge induced by two different doses of gonadotropin-releasing hormone in lactating dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 95, n. 7, p. 3781-3793, 2012.

- GUGSSA, T.; ASHEBIR, G.; YAYNESHET, T. Effects of fixed time AI and AI at detected estrus on conception rate in smallholder zebu and crossbred heifers and cows subjected to double PGF2 administration. **Tropical Animal Health and Production**, v. 48, n. 6, p. 1209–1213, 2016.
- HERBERT, C. A.; TRIGG, T. E. Applications of GnRH in the control and management of fertility in female animals. **Animal Reproduction Science**, v. 88, n. 1, p. 141-153, 2005.
- HILLS, J. L. *et al.* Invited review: An evaluation of the likely effects of individualized feeding of concentrate supplements to pasture-based dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 98, n. 3, p. 1363-1401, 2015.
- JIMENEZ-KRASSEL, F. *et al.* A single ultrasound determination of 25 follicles 3 mm in diameter in dairy heifers is predictive of a reduced productive herd life. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 6, p. 5019–5027, 2017.
- KAYA, M. *et al.* Determination of luteinizing hormone (LH) response to different doses of leirelin acetate (a GnRH analogue) in Tuj ewe-lambs. **Rev Méd Vét**, 2008.
- KUMAR, P.; SHARMA, A. Gonadotropin-releasing hormone analogs: Understanding advantages and limitations. **Journal of human reproductive sciences**, v. 7, n. 3, p. 170-174, 2014.
- LANDAETA-HERNÁNDEZ, A. J. *et al.* Social and breed effects on the expression of a PGF2 induced oestrus in beef cows. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 39, n. 5, p. 315–320, 2004.
- LEÃO, I. M. R. *et al.* Effect of 200 µg of gonadorelin at the first gonadotropin-releasing hormone of the Resynch-25 on ovarian dynamics and fertility in lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 107, n. 5, p. 3319-3334, 2024.
- LONERGAN, P. Influence of progesterone on oocyte quality and embryo development in cows. **Theriogenology**, v. 76, n. 9, p. 1594-1601, 2011.
- LOPEZ, H. *et al.* Relationship between level of milk production and multiple ovulations in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 8, p. 2783-2793, 2005.
- MADUREIRA, G. *et al.* Progesterone-based timed AI protocols for Bos indicus cattle I: Evaluation of ovarian function. **Theriogenology**, v. 145, p. 126–137, 2020.
- MARTÍNEZ, I. Y. H. *et al.* Factores endocrinos involucrados en la divergencia y la dominancia folicular en bovinos. **Spei Domus**, v. 16, n. 2, p. 1-16, 2020.
- MARTINS, J. P. N. *et al.* Level of circulating concentrations of progesterone during ovulatory follicle development affects timing of pregnancy loss in lactating dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 101, n. 11, p. 10505-10525, 2018.

- MELLO, R. R. C. Perdas reprodutivas em fêmeas bovinas. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 10, n. 4, p. 07-23, 2014.
- MIALOT, J. P. *et al.* Estrus synchronization in beef cows: Comparison between GnRH + PGF2 + GnRH and PRID + PGF2 + eCG. **Theriogenology**, v. 60, n. 2, p. 319–330, 2003.
- MONTEIRO, P. L. J. *et al.* Increasing estradiol benzoate, pretreatment with gonadotropin-releasing hormone, and impediments for successful estradiol-based fixed-time artificial insemination protocols in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 6, p. 3826–3839, 2015.
- MORAES, B. M. M.; BENDER FILHO, R. Mercado Brasileiro de Lácteos: análise do impacto de políticas de estímulo à produção. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 55, n. 04, p. 783–800, 2017.
- MOROTTI, F. *et al.* Ovarian follicular dynamics and conception rate in *Bos indicus* cows with different antral follicle counts subjected to timed artificial insemination. **Animal Reproduction Science**, v. 188, p. 170–177, 2018.
- MOTOLO, G. S. *et al.* Produção leiteira de bubalinos e suas particularidades em comparação aos de bovinos. **Brazilian Journal of Implantology and Health Sciences**, v. 6, n. 3, p. 1147-1157, 2024.
- NORA, M. *et al.* Characterization of ovarian follicular and cystic fluids in cows. **Veterinaria**, v. 67, n. 2, 2018
- ORTMANN, O.; WEISS, J. M.; DIEDRICH, K. Gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) and GnRH agonists: mechanisms of action. **Reproductive biomedicine online**, v. 5, p. 1-7, 2002.
- PADULA, A. M. GnRH analogues—agonists and antagonists. **Animal reproduction science**, v. 88, n. 1, p. 115-126, 2005.
- PANSANI, M. A.; BELTRAN, M. P. Anatomia e fisiologia do aparelho reprodutor de fêmeas bovinas. **Revista Electrónica de Medicina Veterinária**, v. 12, n. 1, p. 1-5, 2009.
- PERRETT, R. M.; MCARDLE, C. A. Molecular mechanisms of gonadotropin-releasing hormone signaling: integrating cyclic nucleotides into the network. **Frontiers in endocrinology**, v. 4, p. 180, 2013.
- PETER, A. T.; VOS, P. L. A. M.; AMBROSE, D. J. Postpartum anestrus in dairy cattle. **Theriogenology**, v. 71, n. 9, p. 1333–1342, 2009.
- PETER, S. *et al.* Influence of intrauterine administration of *Lactobacillus buchneri* on reproductive performance and pro-inflammatory endometrial mRNA expression of cows with subclinical endometritis. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 5473, 2018.

- PICARD-HAGEN, N. *et al.* Effect of gonadorelin, lecirelin, and buserelin on LH surge, ovulation, and progesterone in cattle. **Theriogenology**, v. 84, n. 2, p. 177–183, 2015.
- POHLER, K. G. *et al.* Physiology and pregnancy of beef cattle. In: **Animal agriculture**. Academic Press, p. 37-55, 2020.
- RATHBONE, M. J. *et al.* Recent advances in bovine reproductive endocrinology and physiology and their impact on drug delivery system design for the control of the estrous cycle in cattle. **Advanced drug delivery reviews**, v. 50, n. 3, p. 277-320, 2001.
- RENTERO, N. Carta ao leitor. In.: Embrapa gado de leite. **Anuário leite** 2023, 2023.
- REVAH, I.; BUTLER, W. R. Prolonged dominance of follicles and reduced viability of bovine oocytes. **Reproduction**, v. 106, n. 1, p. 39-47, 1996.
- RODRIGUES, C. A. *et al.* How FTAI and FTET impact reproductive efficiency of brazilian dairy herds. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 39, n. Suppl 1, p. 3–13, 2011.
- ROMAGNOLI, S. *et al.* Clinical use of deslorelin for the control of reproduction in the bitch. **Reproduction in domestic animals**, v. 44, n. s2, p. 36-39, 2009.
- SANGSRITAVONG, S. *et al.* High feed intake increases liver blood flow and metabolism of progesterone and estradiol-17 β in dairy cattle. **Journal of dairy science**, v. 85, n. 11, p. 2831-2842, 2002.
- SANTOS, D. S. *et al.* Incidência de doenças digestivas, metabólicas e reprodutivas no pós-parto em vacas holandesas de alta lactação. **Anais do Salão de Iniciação Científica Tecnológica**, 2022.
- SARTORI, R. *et al.* Fertilization and early embryonic development in heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in winter. **Journal of dairy science**, v. 85, n. 11, p. 2803-2812, 2002.
- SAWA, A.; SIATKA, K.; KREZEL-CZOPEK, S. Effect of age at first calving on first lactation milk yield, lifetime milk production and longevity of cows. **Annals of Animal Science**, v. 19, n. 1, p. 189–200, 2019.
- SCHNEIDER, F.; TOMEK, W.; GRÜNDKER, C. Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and its natural analogues: a review. **Theriogenology**, v. 66, n. 4, p. 691-709, 2006.
- SOUZA, A. H. *et al.* Comparison of gonadorelin products in lactating dairy cows: Efficacy based on induction of ovulation of an accessory follicle and circulating luteinizing hormone profiles. **Theriogenology**, v. 72, n. 2, p. 271–279, 2009.
- TOLEDO-ALVARADO, H. *et al.* Changes in milk characteristics and fatty acid profile during the estrous cycle in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 10, p. 9135–9153, 2018.

TREVISOL, E. *et al.* Luteolysis in cattle: review. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.37, n.1, p. 29-36, 2013.

USDA. Dairy: World markets and trade. July. **United States Department of Agriculture Foreign Agricultural Service**, n. July, 2024.

WILTBANK, M. C. *et al.* Positive and negative effects of progesterone during timed AI protocols in lactating dairy cattle. **Animal Reproduction**, v. 9, n.3, p. 231–241, 2012.

ZAPLETAL, D.; PAVLIK, A. The effect of leirelin (GnRH) dosage on the reproductive performance of nulliparous and lactating rabbit does. **Animal reproduction science**, v. 104, n. 2, p. 306-315, 2008.

1.4 Objetivo

Avaliar o efeito de diferentes análogos sintéticos ao GnRH sobre o desempenho reprodutivo de vacas da raça Holandesa submetidas a IATF após passarem por pré-sincronização.

CAPÍTULO 2

ARTIGO

**EFEITO DE TRÊS DIFERENTES PRINCÍPIOS ATIVOS ANÁLOGOS AO
HORMÔNIO LIBERADOR DE GONADOTROFINAS NA RESPOSTA
REPRODUTIVA DE VACAS LEITEIRAS SUBMETIDAS A IATF**

Artigo editado de acordo com as normas de publicação da Revista Semina: Ciências Agrárias
– ISSN 1676-546X.

**EFEITO DE TRÊS DIFERENTES PRINCÍPIOS ATIVOS ANÁLOGOS AO
HORMÔNIO LIBERADOR DE GONADOTROFINAS NA RESPOSTA
REPRODUTIVA DE VACAS LEITEIRAS SUBMETIDAS A IATF**

RESUMO

O presente estudo avaliou o efeito de diferentes análogos sintéticos do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) sobre o desempenho reprodutivo de vacas da raça Holandesa. O trabalho foi realizado na Fazenda D'Água Verde, localizada em Arapoti - PR. Um total de 314 vacas da raça Holandesa, com produção acima de 40 litros/vaca/dia, foram pré-sincronizadas e submetidas a um protocolo de sincronização de ovulação para inseminação artificial em tempo fixo (IATF). No dia inicial do protocolo (D0) as vacas foram divididas em três grupos experimentais para avaliar diferentes princípios ativos de análogos sintéticos ao GnRH. As fêmeas do primeiro grupo (G1, n=107) foram submetidas a um protocolo de sincronização utilizando como análogo ao GnRH a lecorelina, o segundo grupo (G2, n=102) a gonadorelina e o terceiro grupo (G3= 105) a buserelina. As vacas foram inseminadas utilizando sêmen do mesmo touro e aos 30 e 60 dias após as inseminações foram realizados os diagnósticos de gestação. Em todas as vacas do experimento, no dia inicial (D0) e no sétimo dia do protocolo (D7) foi realizada a avaliação ultrassonográfica ovariana para contar a quantidade de corpos lúteos (CLs) presentes nos ovários. Os dados de taxa de concepção, produção de leite diária, número de lactações, número de CLs no D0 e o número de CLs no D7 foram comparados entre os grupos e a quantidade de CLs do D0 com a do D7 foi comparada dentro de cada grupo. Dados paramétricos foram comparados entre os grupos utilizando o teste ANOVA. Para os dados não paramétricos, utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis. A comparação entre o número de CLs do D0 para o D7 dentro de cada grupo foi realizada com o teste de Mann-Whitney. A taxa de concepção foi comparada utilizando o teste Exato de Fisher. A taxa de concepção aos 30 dias após a IATF do G1 foi de 38,32% (41/107), do G2 31,37% (32/102) e do G3 de 37,14% (39/105), não havendo diferença na comparação entre os grupos. Com relação ao número de CLs, não houve diferença entre a quantidade de CLs no D0 e no D7, contudo, houve aumento no número de CLs do D0 para o D7 nos grupos G1 e G3, não ocorrendo o mesmo aumento no G2. Em vacas pré-sincronizadas, a gonadorelina não foi eficiente para aumentar o número de corpos lúteos do D0 para o D7, como os demais fármacos foram, contudo, a taxa de concepção não diferiu entre os três análogos testados.

Palavras-chave: Bovinocultura de Leite. Buserelina. Gonadorelina. Inseminação Artificial em Tempo Fixo. Lecirelina.

ABSTRACT

The present study evaluated the effect of different synthetic analogues of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) on the reproductive performance of Holstein cows. The study was carried out at Fazenda D'Água Verde, located in Arapoti - PR. A total of 314 Holstein cows, with production above 40 liters/cow/day, were pre-synchronized and submitted to an ovulation synchronization protocol for fixed-time artificial insemination (FTAI). On the initial day of the protocol (D0), the cows were divided into three experimental groups to evaluate different active principles of synthetic analogues of GnRH. The females of the first group (G1, n=107) were submitted to a synchronization protocol using lecorelin as analogue to GnRH, the second group (G2, n=102) went to gonadorelin and the third group (G3=105) went to buserelin. The cows were inseminated using semen from the same bull and pregnancy diagnoses were performed 30 and 60 days after insemination. In all cows in the experiment, on the initial day (D0) and on the seventh day of the protocol (D7), ovarian ultrasound was performed to count the number of corpora lutea (CLs) present in the ovaries. Data on conception rate, daily milk production, number of lactations, number of CLs on D0 and number of CLs on D7 were compared between groups and the number of CLs from D0 to D7 was compared within each group. Parametric data were compared between groups using the ANOVA test. For nonparametric data, the Kruskal-Wallis test was used. The comparison between the numbers of CLs from D0 to D7 within each group was performed using the Mann-Whitney test. The conception rate was compared using Fisher's exact test. The conception rate at 30 days after FTAI in G1 was 38.32% (41/107), in G2 31.37% (32/102) and in G3 37.14% (39/105), with no difference in the comparison between the groups. Regarding the number of CLs, there was no difference between the number of CLs on D0 and D7; however, there was an increase in the number of CLs from D0 to D7 in groups G1 and G3, but the same increase did not occur in G2. In pre-synchronized cows, gonadorelin was not efficient in increasing the number of corpora lutea from D0 to D7, as the other drugs were; however, the conception rate did not differ between the three analogues tested.

Keywords: Dairy cattle farming. Buserelin. Gonadorelin. Lecirelin. Animal reproduction.

Introdução

Alcançar um bom desempenho reprodutivo das vacas é um dos maiores desafios encontrados na bovinocultura de leite (Brzozowski et al., 2018). Diversos estudos foram realizados para entender o motivo pelo qual vacas de alta produção leiteira tem baixo desempenho reprodutivo e, uma das principais causas descritas, é que a alta taxa metabólica resulta em depuração dos hormônios estrógeno e progesterona (Sartori et al., 2002; Wiltbank et al., 2012). Neste contexto, Consentini, Wiltbank e Sartori (2021) descrevem que o uso de um protocolo de sincronização de ovulação, em que previamente é realizado uma pré-sincronização, melhora os índices reprodutivos de vacas leiteiras, pois aumenta a produção de progesterona, compensando a fração que é depurada pelo fígado.

No protocolo descrito por Consentini, Wiltbank e Sartori (2021) o uso da pré-sincronização tem como objetivo fazer com que no início do protocolo de sincronização a vaca tenha um corpo lúteo produzindo progesterona, além de ter um folículo com condições de ovular se for administrado na vaca o GnRH. Com isso, forma-se um novo corpo lúteo e além do corpo lúteo formado na pré-sincronização, a vaca terá o novo corpo lúteo que auxiliará na produção de progesterona no momento do desenvolvimento folicular, algo que de acordo com Martins et al. (2018) melhora a qualidade oocitária.

Contudo, os autores não explicam qual seria o melhor análogo sintético de GnRH para ser utilizado vacas pré-sincronizadas, tendo em vista que, de acordo com (Giordano et al., 2012), pelo fato de já ter um corpo lúteo produzindo progesterona, isso pode bloquear o pico ovulatório de LH. Comercialmente, existem como análogos sintéticos ao GnRH a lecorelina, a gonadorelina e a busarelina para uso em bovinos (Armengol-Gelonch et al., 2017; de Carvalho Fernandes et al., 2021; Leão et al., 2024).

Picard-Hagen et al. (2015) ao avaliarem o efeito de três análogos de GnRH no pico ovulatório de LH em animais em estro, identificou que a gonadorelina promovia um pico mais baixo de LH em comparação com os outros análogos. Contudo, o trabalho de Picard-Hagen et al. (2015) não foi avaliado em animais na fase progesterônica do ciclo, além disso, outros trabalhos sugerem doses mais altas do que as testadas no estudo (Kim et al., 2007; Consentini et al., 2025). Neste contexto, a presente pesquisa teve por objetivo comparar o efeito dos três diferentes análogos de GnRH em vacas leiteiras pré-sincronizadas, utilizando as doses mais altas encontradas na literatura para induzir uma ovulação.

Material e Métodos

Local, animais e manejo

O estudo foi realizado na Fazenda D'Água Verde, na cidade de Arapoti - PR. Um total de 314 vacas da raça Holandesa, multíparas, lactantes e com período pós-parto variando de 30 a 37 dias foram submetidas a um protocolo de pré-sincronização para ficarem na mesma condição ovariana para o protocolo experimental. Após a pré-sincronização as vacas foram divididas em três grupos experimentais, as fêmeas do primeiro grupo (G1, n=107) foram submetidas a um protocolo de sincronização utilizando a lecirelina no dia inicial (D0), o segundo grupo (G2, n=102) recebeu a gonadorelina e o terceiro grupo (G3= 105) a buserelina, todos os fármacos são análogos ao GnRH.

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Experimentação Animal (CEPEEA) da Universidade Paranaense - UNIPAR de acordo com o protocolo 40195/2023.

Protocolo farmacológico

As fêmeas foram submetidas a um protocolo de pré-sincronização que iniciou-se com a inserção de um dispositivo intravaginal de segundo uso, impregnado com 2g de progesterona (CIDR®, Zoetis, São Paulo, Brasil). No sétimo dia do protocolo de pré-sincronização foi removido o implante intravaginal, aplicado por via intramuscular 1mg de cipionato de estradiol (E.C.P®, Zoetis, São Paulo, Brasil) e 0,526mg de cloprostenol sódico (análogo sintético a prostaglandina - PGF2 α , Ciclase®, Zoetis, São Paulo, Brasil). Dez dias após a pré-sincronização as vacas foram submetidas ao protocolo farmacológico experimental para a IATF, que iniciou-se com a inserção de um dispositivo intravaginal de primeiro uso, impregnado com 2g de progesterona e a aplicação por via intramuscular do respectivo análogo sintético ao GnRH. Os animais do grupo G1 receberam 50 μ g de lecirelina (TEC-relin®, União Química, São Paulo, Brasil), seguindo a dosagem descrita por Picard-Hagen et al. (2015). Para as fêmeas do G2, seguindo a metodologia descrita por Kim et al. (2007), foram aplicados 250 μ g de gonadorelina (Fertagyl®, MSD Saúde Animal, São Paulo, Brasil). Seguindo a metodologia descrita por Madureira et al. (2020), nos animais do G3 foi administrado 16,8 μ g de buserelina (Maxrelin®, GlobalGen, Jaboticabal, São Paulo, Brasil).

No sétimo dia (D7) do protocolo de IATF, as vacas dos três grupos receberam por via intramuscular uma dose de 0,526mg de cloprostenol sódico e no nono dia (D9) receberam

novamente uma dose de 0,526mg de cloprostenol sódico, associado a administração de 1mg de cipionato de estradiol, além de terem o implante intravaginal removido. Após 48h da remoção do implante (D11), todas as vacas foram inseminadas utilizando o sêmen comercial de um único touro previamente avaliado e trinta dias após a inseminação foi realizado o diagnóstico de gestação, através de confirmação da presença de um concepto viável no útero por meio de exame ultrassonográfico transretal.

Índices zootécnicos e avaliações ultrassonográficas

Do controle zootécnico do rebanho foi levantado a informação do número de partos para saber quantas lactações completas cada vaca tinha. No D0, todas as vacas utilizadas no experimento tiveram a produção de leite pesada. No D0 e no D7 do protocolo, nas vacas participantes do experimento foi realizado uma avaliação ultrassonográfica ovariana para contar a quantidade de corpos lúteos presentes nos ovários, identificando se o análogo ao GnRH possibilitou aumentar o número de corpos lúteos no D7. Nas avaliações ultrassonográficas utilizou-se um equipamento (SonoScape™, Modelo A5V, Domed, Valinhos, Brasil) com transdutor linear transretal de 5 a 10 MHz.

Análise Estatística

Entre os grupos foi comparada a produção de leite diária, o número de lactações, o número de CLs no D0, o número de CLs no D7 e a taxa de concepção. Com o objetivo de avaliar se a aplicação do análogo de GnRH resultou em uma ovulação e conseqüentemente a formação de um corpo lúteo, dentro de cada grupo foi realizada uma comparação entre as quantidades de CLs do D0 com a quantidade de CLs do D7.

As variáveis numéricas foram avaliadas quanto a normalidade de distribuição pelo teste Shapiro-Wilk. Os dados paramétricos foram comparados entre os grupos utilizando o teste ANOVA. Dados não paramétricos, foram comparados pelo teste de Kruskal-Wallis, a comparação entre o número de CLs do D0 para o D7 dentro de cada grupo foi feita utilizando o teste de Mann-Whitney.

A taxa de concepção foi comparada utilizando o teste Exato de Fisher. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software estatístico R, versão 4.4.1, sendo considerado como significativo o valor de $p \leq 0,05$.

Resultados

Os resultados obtidos na avaliação dos três diferentes análogos sintéticos de GnRH estão descritos na Tabela 1, em que é possível observar que não houve diferença em nenhuma das variáveis comparadas entre os grupos, havendo apenas, diferença na comparação do número de corpos lúteos do D0 para o D7 em cada grupo.

Tabela 1 – Desempenho reprodutivo de vacas leiteiras pré-sincronizadas submetidas ao protocolo farmacológico utilizando diferentes análogos do Hormônio Liberador de Gonadotrofinas (GnRH).

Variáveis	Grupo 1 (Lecirelina)	Grupo 2 (Gonadorelina)	Grupo 3 (Buserelina)
Animais (n)	107	102	105
Número de lactações	2,7 ± 0,7 ^a	2,5 ± 0,44 ^a	2,5 ± 0,5 ^a
Produção de leite	41,1 ± 10,2 ^a	41,4 ± 10,5 ^a	42 ± 10,99 ^a
Número de CLs no D0	0,94 ± 0,5 ^{aA}	0,94 ± 0,4 ^{aA}	0,87 ± 0,5 ^{aA}
Número de CLs no D7	1,62 ± 0,8 ^{aB}	1,25 ± 0,6 ^{aA}	1,5 ± 0,6 ^{aB}
Tx. concepção 30 dias	38,32% (41/107) ^a	31,37% (32/102) ^a	37,14% (39/105) ^a
Tx. concepção 60 dias	35,51% (38/107) ^a	29,41% (30/102) ^a	34,28% (36/105) ^a

Legenda: CLs – Corpos lúteos, n – Número de animais, D0 – dia inicial do protocolo, D7 – sétimo dia do protocolo, Tx. concepção 30 dias – taxa de concepção no diagnóstico de gestação realizado aos 30 dias de gestação, Tx. concepção 60 dias – taxa de concepção no diagnóstico de gestação realizado aos 60 dias de gestação. Letras minúsculas iguais sobrescritas na mesma linha representam que não houve diferença na avaliação estatística ($p > 0,05$). Letras maiúsculas sobrescritas na mesma coluna indicam diferença entre as variáveis ($p < 0,05$).

Discussão

A lecirelina e a buserelina foram eficientes para aumentar o número de corpos lúteos na comparação entre o D0 e o D7. Contudo, não houve diferença na taxa de concepção na comparação entre os grupos, inclusive com o G2 que recebeu a gonadorelina, que o único fármaco que não teve a mesma eficiência para aumentar o número de CLs do D0 para o D7.

Como demonstrado na tabela 1, os grupos comparados no estudo eram homogêneos, sendo compostos por vacas multíparas, não havendo diferença na comparação do número de

lactações entre os grupos. Outra variável que não houve diferença, que também demonstra homogeneidade nos grupos comparados, é a produção diária de leite no início do protocolo de sincronização, em que ambos os grupos tinham produção diária acima de 40 kg de leite. Além disso, ambos os grupos apresentavam valores médios de CLs no D0 próximos de 1, demonstrando que as vacas do estudo responderam ao protocolo de pré-sincronização.

Os resultados da comparação do número de CLs entre o D0 e o D7 dentro de cada grupo corroboram com os achados de Picard-Hagen *et al.* (2015), que compararam os mesmos princípios ativos análogos ao GnRH e identificaram que a gonadorelina resulta em um pico ovulatório de LH mais baixo em comparação com a buserelina e lecirelina. Provavelmente esse pico mais baixo de GnRH induzido pela gonadorelina seja a causa de não ter sido significativo o aumento do número de corpos lúteos entre o D0 e o D7 nos animais do G2.

A gonadorelina é a forma sintética mais semelhante à molécula endógena de GnRH, sendo também formada por uma cadeia de 10 aminoácidos (Chenault *et al.*, 1990). Em contrapartida, a lecirelina e a buserelina são nonapeptídeos (Zapletal; Pavlik, 2008) que possuem substituições de glicinas por d-aminoácidos (isômeros dextrogiros) na posição seis de ambas, algo que permite a estabilização da conformação em dobradiça da molécula, tornando-as mais resistentes as peptidases e aumentando a afinidade da molécula ao seu receptor, que resulta no prolongamento da meia-vida na circulação (Padula, 2005; Herbert; Trigg, 2005).

Além disso, as substituições das glicinas da décima posição por alquilaminas na lecirelina e na buserelina, resultou em análogos nonapeptídicos com maior potência de indução da ovulação (Romagnoli *et al.*, 2009). Desta forma, é compreensível que no presente estudo, a lecirelina e a buserelina tenham sido mais eficientes para induzir novas ovulação em animais pré-sincronizados, ou seja, em animais que já apresentavam corpos lúteos e que, conseqüentemente, estavam na fase progesterônica do ciclo. Mesmo com um corpo lúteo ativo, a lecirelina e a buserelina conseguiram induzir uma quantidade de ovulações suficientes para aumentar de forma significativa o número de CLs no D7.

No trabalho de que Picard-Hagen *et al.* (2015), em que a gonadorelina teve menor pico de LH, os autores testaram em novilhas a dose de dose de 100 µg de gonadorelina por animal, enquanto no presente estudo, seguindo a dose sugerida por Kim *et al.* (2007), foram aplicados 250µg, esperando que uma dose mais alta conseguiria induzir de forma eficiente a ovulação em animais com CLs formados na pré-sincronização. Desta forma, em vacas pré-

sincronizadas talvez seja pertinente testar outras dosagens ou optar por análogos que consigam induzir picos de LH mais altos, como a lecirelina e a busarelina (Romagnoli *et al.*, 2009), principalmente se for nas respectivas doses de 50 μ g e 16,8 μ g, como foi feito no presente estudo.

Contudo, na realidade avaliada, não houve diferença significativa na taxa de concepção, mesmo tendo na eficiência de formação de novos CLs. A taxa de concepção das vacas do presente estudo, aos 30 dias de gestação, ficou entre 31,37 e 38,32%, inferior aos dados apresentados por Consentini *et al.* (2025), que em vacas múltiparas pré-sincronizadas e com produção leiteira semelhante, utilizaram como análogo de GnRH no D0 a busarelina na mesma dose administrada nos animais do presente estudo, além disso, usaram o mesmo indutor de ovulação, o cipionato de estradiol e obtiveram taxa de concepção de 41,8%.

A diferença entre o presente estudo e a pesquisa de Consentini *et al.* (2025), é que no presente estudo, no protocolo de sincronização, as vacas receberam a primeira dose de PGF2 α no D7 e a remoção do implante impregnado com progesterona, juntamente com a segunda dose de PGF2 α , aconteceu no D9, tendo a inseminação acontecido somente no D11. No estudo de Consentini *et al.* (2025), a primeira dose de PGF2 α foi aplicada no sexto dia do protocolo (D6) e no D7 a segunda dose de PGF2 α , associado a remoção do implante, acontecendo a inseminação no D9. Consentini, Wiltbank e Sartori (2021) citam que, folículos velhos em vacas leiteiras podem resultar em ovulações de oócitos já degenerados e talvez esse possa ser o motivo de que os dados da taxa de concepção do presente estudo tenham sido inferiores aos encontrados por Consentini *et al.* (2025). Nesse sentido, se a comparação entre os análogos de GnRH fosse realizada utilizando um protocolo mais curto, talvez fosse possível obter uma taxa de concepção significativa.

Nesse contexto, tratando-se de vacas de alta produção leiteira, não somente a inclusão de uma pré-sincronização, que de acordo com Consentini, Wiltbank e Sartori (2021), foi algo que trouxe melhorias significativas ao desempenho reprodutivo de vacas leiteiras, mas também outras pesquisas com ajustes no protocolo de sincronização devem ser realizadas com intuito de buscar melhor índices reprodutivos das vacas leiteiras. Principalmente pelo fato de que Middleton *et al.* (2019), descrevem que a vaca de alta produção deve ficar gestante até os 130 dias após o parto, evitando problemas de saúde na lactação seguinte e consequentemente tendo animais mais longevos e com maior produção de leite considerando toda a vida produtiva.

Conclusão

Vacas leiteiras, que passaram por pré-sincronização e que foram submetidas ao protocolo de IATF no primeiro serviço pós-parto usando 50µg de lecirelina, 250µg de gonadorelina ou 16,8µg de buserelina no D0 da sincronização, tiveram a mesma taxa de concepção, mas a gonadorelina resultou em menor taxa de ovulação avaliada pelo número de corpos lúteos comparados entre o D0 e o D7.

Referências

- Armengol-Gelonch, R., Mallo, J. M., Ponté, D. Jimenez, A., Valenza, A. & Souza, A. H. (2017). Impact of phase of the estrous cycle and season on LH surge profile and fertility in dairy cows treated with different GnRH analogs (gonadorelin vs. buserelin). *Theriogenology*, 91, 121-126.
- Brzozowski, M., Piwczynski, D., Sitkowska, B. & Kolenda, M. (2018). The impact of installation of automatic milking system on production and reproduction traits of dairy cows. *Reproduction in Domestic Animals*, 53(5), 1123-1129.
- Chenault, J. R., Kratzer, D. D., Rzepkowski, R. A. & Goodwin, M. A. (1990). LH and FSH 211 response of Holstein heifers to fertirelin acetate, gonadorelin and buserelin. *Theriogenology*, 34, 81–98.
- Consentini, C. E., Wiltbank, M. C. & Sartori, R. (2021). Factors that optimize reproductive efficiency in dairy herds with an emphasis on timed artificial insemination programs. *Animals*, 11(2), 1–30.
- Consentini, C. E. C., Melo, L. F., Motta, J. C. L., Silva, L. O., Folchini, N. P., Alves, R. L. O. R., Madureira, G., Carneiro, T. O., Abadia, T., Moroz, L., Fortes, R. V. S., Soriano, S., Gonzales, B., Wiltbank, M. C. & Sartori, R. (2025). Reproductive outcomes of lactating dairy cows submitted to first timed artificial insemination protocols with different strategies to induce final ovulation. *Journal of Dairy Science*, 108(1), 1138-1149.
- de Carvalho Fernandes, C. A., Pereira, J. R., Souza, V. O., de Figueiredo, A. C. S., Viana, J. H. M., Siqueira, L. G. B. & Palhao, M. P. (2021). Timing of early resynchronization protocols affects subsequent pregnancy outcome in dairy cows. *Theriogenology*, 167, 61-66.
- Giordano, J. O., Fricke, P. M., Guenther, J. N., Lopes Júnior, G., Herlihy, M. M., Nascimento, A. B., & Wiltbank, M. C. (2012). Effect of progesterone on magnitude of the luteinizing

- hormone surge induced by two different doses of gonadotropin-releasing hormone in lactating dairy cows. *Journal of dairy science*, 95(7), 3781-3793.
- Herbert, C. A.; Trigg, T. E. (2005). Applications of GnRH in the control and management of fertility in female animals. *Animal reproduction science*, 88 (1), 141-153.
- Kim, UH., Suh, GH., Hur, TY., Kang, SJ., Kang, HG., Park, SB., Kim, HS. & Kim, IH. (2007). Comparison of Two Types of CIDR-based Timed Artificial Insemination Protocols for Repeat Breeder Dairy Cows. *J Reprod Dev*, 53(3), 639-45.
- Leão, I. M. R., Azzi, M. S. E., Anta-Galván, E., Valdés-Arciniega, T. & Martins, J. P. N. (2024). Effect of 200 µg of gonadorelin at the first gonadotropin-releasing hormone of the Resynch-25 on ovarian dynamics and fertility in lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 107(5), 3319-3334.
- Madureira, G., Consentini, C. E. C., Motta, J. C. L., Drum, J. N., Prata, A. B., Monteiro Júnior, P. L. J., Melo, L. F., Goncalves, J. R. S., Wiltbank, M. C. & Sartori, R. (2020). Progesterone-based timed AI protocols for *Bos indicus* cattle II: Reproductive outcomes of either EB or GnRH-type protocol, using or not GnRH at AI, *Theriogenology*, 145, 86-93.
- Martins, J. P. N., Wang, D., Mu, N., Rossi, G. F., Martini, A. P., Martins, V. R. & Pursley, J. R. (2018). Level of circulating concentrations of progesterone during ovulatory follicle development affects timing of pregnancy loss in lactating dairy cows. *Journal of dairy science*, 101(11), 10505-10525.
- Padula, A. M. (2005) GnRH analogues - agonists and antagonists. *Animal reproduction science*, 88(1) 115-126.
- Picard-Hagen, N., Lhermie, G., Florentin, S., Merle, D., Frein, P. & Gayrard, V. (2015). Effect of gonadorelin, lecorelin, and buserelin on LH surge, ovulation, and progesterone in cattle. *Theriogenology*, 84(2), 177–183.
- Romagnoli, S., Estela, C., Milani, C., Gelli, D., Falomo, E. U. & Mollo, U. M. (2009) Clinical use of deslorelin for the control of reproduction in the bitch. *Reproduction in domestic animals*, 44(s2), 36-39.
- Sartori, R., Sartor-Bergfelt, R., Mertens, S. A., Guenther, J. N., Parrish, J. J. & Wiltbank, M. C. (2002). Fertilization and early embryonic development in heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in winter. *Journal of dairy science*, 85(11), 2803-2812.

Silva, L. O., Motta, J. C. L., Oliva, A. L., Madureira, G., Alves, R. L. O. R., Folchini, N. P., da Silva, M. A., da Silva, T. J. B., Consentini, C. E. C., Wiltbank, M. C. & Sartori, R. (2024). Influence of GnRH analog and dose on LH release and ovulatory response in *Bos indicus* heifers and cows on day seven of the estrous cycle. *Theriogenology*, 214, 215-223.

Wiltbank, M. C., Souza, J. O., Giordano, J. O., Nascimento, A. B., Vasconcelos, J. M., Pereira, M. H. C., Fricke, P. M., Surjus, R. S., Zinsly, F. C. S., Carvalho, P. D., Bender, R. W. & Sartori, R. (2012). Positive and negative effects of progesterone during timed AI protocols in lactating dairy cattle. *Animal Reproduction*, [9\(3\), 231–241](#).

Zapletal, D. & Pavlik, A. (2008). The effect of lecorelin (GnRH) dosage on the reproductive performance of nulliparous and lactating rabbit does. *Animal Reproduction Science*, 104(2) 306-315.

3. CONCLUSÃO

Em vacas pré-sincronizadas, não houve diferença na taxa de concepção aos 30 e 60 dias de gestação nos animais que receberam diferentes análogos sintéticos de GnRH. Contudo, semelhante a outros estudos, a gonadorelina, mesmo testada na dose de 250µg, não foi eficiente para aumentar o número de CLs do D0 para o D7. Desta forma, são necessários mais estudos, talvez incluindo mais animais em cada grupo e testando protocolos mais curtos, para comprovar se o aumento de CLs do D0 para o D7, causado pela lecirelina ou pela busereлина, é eficiente para melhorar a resposta reprodutiva de vacas leiteiras que são submetidas a IATF após passarem por pré-sincronização.

4. ANEXOS

ANEXO 1 - Normas da Revista da Semina

PARA A ÁREA DE ZOOTECNIA NÃO SERÃO ACEITOS MANUSCRITOS EM QUE:

- As referências bibliográficas sejam muito antigas.

Somente serão aceitas referências antigas em Material e Métodos. Não utilizar resumos simples ou expandidos e trabalhos em anais de eventos como referências. Teses, dissertações e monografias somente serão aceitas dos últimos três anos, se não tiverem sido publicados como artigos científicos em periódico.

- Não tenham realizados análises estatísticas adequadas.

- Não incluam dados do período completo de produção em experimentos em avicultura (frangos de corte e poedeiras).

- Experimento de campo ou laboratorial apresentem resultados de baixo impacto científico.

- Apresentem levantamentos locais (cidade, região, abatedouro específico, granja, etc.) de dados de manejo, alimentação, saúde, entre outros, de baixo impacto científico.

Categorias dos Trabalhos

a) Artigos científicos: no máximo 20 páginas incluindo figuras, tabelas e referências bibliográficas;

b) Comunicações científicas: no máximo 12 páginas, com referências bibliográficas limitadas a 16 citações e no máximo duas tabelas ou duas figuras ou uma tabela e uma figura;

c) Artigos de revisão: no máximo 25 páginas incluindo figuras, tabelas e referências bibliográficas.

Apresentação dos Trabalhos

Os originais completos dos artigos, comunicações, e revisões podem ser escritos em português ou inglês no editor de texto Word for Windows, em papel A4, com numeração de linhas por página, espaçamento 1,5, fonte Times New Roman, tamanho 11 normal, com margens esquerda e direita de 2 cm e superior e inferior de 2 cm, respeitando-se o número de páginas, devidamente numeradas no canto superior direito, de acordo com a categoria do trabalho.

FIGURAS: Em APA, deve-se utilizar apenas tabelas e figuras. Sendo consideradas como figuras: gráficos, fotografias, mapas, organogramas e retratos. A identificação das figuras deve aparecer na **parte inferior**, precedida da palavra designativa, seguida de seu número de ordem de ocorrência no texto

TABELA: O título de tabela precisa ser breve, claro e explicativo. Ele deve ser colocado **acima da tabela**, no canto superior esquerdo, e logo abaixo da palavra Tabela (com a inicial maiúscula), acompanhada do número que a designa.

OBS. Citar a autoria da fonte somente quando as tabelas ou figuras **não forem do autor**.

PREPARAÇÃO DOS MANUSCRITOS

Artigo científico:

Deve relatar resultados de pesquisa original das áreas afins, com a seguinte organização dos tópicos: Título; Título em inglês; **3 à 5 pontos principais (Highlights)**; Resumo com Palavras-chave (no máximo seis palavras, em ordem alfabética); Abstract com Key words (no máximo seis palavras, em ordem alfabética); Introdução; Material e Métodos; "Resultados e Discussão" ou "Resultados" e "Discussão"; Conclusões; Agradecimentos; Fornecedores, quando houver e Referências Bibliográficas. Os tópicos devem ser destacados em negrito, sem numeração, quando houver a necessidade de subitens dentro dos tópicos, os mesmos devem ser destacados em itálico e se houver dentro do subitem mais divisões, essas devem receber números arábicos. (Ex. **Material e Métodos...** *Áreas de estudo...1. Área rural....2. Área urbana*).

O trabalho submetido não pode ter sido publicado em outra revista com o mesmo conteúdo, exceto na forma de resumo em Eventos Científicos, Nota Prévia ou Formato Reduzido.

A apresentação do trabalho deve obedecer à seguinte ordem:

1. TÍTULO DO TRABALHO: acompanhado de sua tradução para o inglês.

2. ADICIONAR 3 à 5 PONTOS PRINCIPAIS (Highlights): Consiste de 3 à 5 pontos principais do artigo que permite ao leitor uma visão dos principais resultados do manuscrito. Cada "Highlight" deve conter no máximo 85 caracteres incluindo espaçamentos.

3. RESUMO E PALAVRAS-CHAVE: Deve ser incluído um resumo informativo com um mínimo de 200 e um máximo de 400 palavras, na mesma língua que o artigo foi escrito, acompanhado de sua tradução para o inglês (*Abstract e Key words*).

4. INTRODUÇÃO

Deverá ser concisa e conter revisão estritamente necessária à introdução do tema e suporte para a metodologia e discussão.

5. MATERIAL E MÉTODOS

Poderá ser apresentado de forma descritiva contínua ou com subitens, de forma a permitir ao leitor a compreensão e reprodução da metodologia citada com auxílio ou não de citações bibliográficas.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO ou "RESULTADOS e DISCUSSÃO"

Os resultados e a discussão poderão ser apresentados juntos (Capítulo único "Resultados e Discussão") ou separados (Capítulo de "Resultados" e Capítulo de "Discussão"), sendo opcional para os autores.

Devem ser apresentados de forma clara, com auxílio de tabelas, gráficos e figuras, de modo a não deixar dúvidas ao leitor, quanto à autenticidade dos resultados e pontos de vistas discutidos.

7. CONCLUSÕES

Devem ser claras e de acordo com os objetivos propostos no trabalho.

8. AGRADECIMENTOS

As pessoas, instituições e empresas que contribuíram na realização do trabalho deverão ser mencionadas no final do texto, antes do item Referências Bibliográficas.

Observações:

Notas: Notas referentes ao corpo do artigo devem ser indicadas com um símbolo sobrescrito, imediatamente depois da frase a que diz respeito, como notas de rodapé no final da página.

Figuras: Deverão ser inseridas no final do artigo, um em cada página, após as referências. Quando indispensáveis figuras poderão ser aceitas e deverão ser assinaladas no texto pelo seu número de ordem em algarismos arábicos. Se as ilustrações enviadas já foram publicadas, mencionar a fonte e a permissão para reprodução.

Tabelas: Deverão ser inseridas no final do artigo, um em cada página, após as referências. As tabelas deverão ser acompanhadas de cabeçalho que permita compreender o significado dos dados reunidos, sem necessidade de referência ao texto.

Grandezas, unidades e símbolos:

- a) Os manuscritos devem obedecer aos critérios estabelecidos nos Códigos Internacionais de cada área.
- b) Utilizar o Sistema Internacional de Unidades em todo texto.
- c) Utilizar o formato potência negativa para notar e inter-relacionar unidades, e.g.: kg ha⁻¹. Não inter-relacione unidades usando a barra vertical, e.g.: kg/ha.
- d) Utilizar um espaço simples entre as unidades, g L⁻¹, e não g.L⁻¹ ou gL⁻¹.
- e) Usar o sistema horário de 24 h, com quatro dígitos para horas e minutos: 09h00, 18h30.

9. CITAÇÕES

Informações não contempladas nestas diretrizes, consultar o [Manual APA 7ª ed.](#)

Ou [Apostila da Biblioteca Central UEL](#)

Quando nas citações, os autores estiverem fora dos parênteses, utilizar sempre "e" (português); "and" (inglês) e "y" (espanhol); para separar o penúltimo do último autor citado. O "&" é inserido sempre entre o penúltimo e último autor quando citados entre parênteses e nas referências.

Citação:

Dois Autores

Almeida e Parisi (2020, p. 379) ou (Almeida & Parisi, 2020, pp. 372-373)

Três ou mais autores

Lopes et al. (2021) ou (Lopes et al., 2021).

Exemplo: modelo de citação com um, seis ou mais autores

Figura 1

Estilo de citação no texto

Tipo de Citação	1ª citação fora do parêntese	Citações subsequentes	1ª citação dentro do parênteses	Citações subsequentes
1-2 autores	Minosso e Toso (2019)	Minosso e Toso (2019)	(Minosso & Toso, 2019)	(Minosso & Toso, 2019)
3 ou mais autores	Werner et al. (2017)	Werner et al. (2017)	(Werner et al., 2017)	(Werner et al., 2017)
Autor entidade / individual	Instituto Brasileiro de Ciência e Tecnologia (IBICT) (2018)	IBICT (2018)	(Instituto Brasileiro de Ciência e Tecnologia [IBICT], 2018)	(IBICT, 2018)
Organização sem abreviatura	Simply Cats (2019)	Simply Cats (2019)	(Simply Cats, 2019)	(Simply Cats, 2019)

Citação direta com supressão de parte do texto: Use reticências com cada ponto separado por espaço para indicar que o texto foi suprimido. Quando a supressão for entre duas frases, utilize quatro pontos separados por espaço.

Exemplo:

“Ao centrar-se sobre esses aspectos, da forma como o fazem, os textos privilegiam uma determinada visão de profissional, . . . calcada na análise ocupacional, e que carece de individualidade, singularidade e vida.” (Ferretti, 1997, p. 58).

“O novo conhecimento começa sempre com o indivíduo. . . Tornar o conhecimento pessoal disponível para outros é a atividade central da empresa criadora de conhecimento.” (Nonaka, pp. 41-42)

Ficht, N. (2020). *A informação e sua representação conceitual no domínio da arquivologia e da biblioteconomia no Brasil* [Dissertação de mestrado, Universidade Estadual de Londrina]. Biblioteca Digital. <http://www.bibliotecadigital.uel.br/document/?code=vtls000233096>

Documentos da Internet

Organização Pan-Americana da Saúde. (2020, Dezembro 9). *OMS revela principais causas de morte e incapacidade em todo o mundo entre 2000 e 2019*. <https://www.paho.org/pt/noticias/9-12-2020-oms-revela-principais-causas-morte-e-incapacidade-em-todo-mundo-entre-2000-e>

Ricardo, A. (2021, Dezembro 14). *Cansaço mental? Saiba o que fazer para o seu cérebro relaxar*. Metrôpoles. <https://www.metropoles.com/saude/cansaco-mental-saiba-o-que-fazer-para-o-seu-cerebro-relaxar>

Leis, decretos, portarias e documentos governamentais

Lei n. 11.638, de 28 de setembro de 2007. Altera e revoga dispositivos da Lei n. 6.404, de 15 de dezembro de 1976, e da Lei n. 6.385, de 7 de dezembro de 1976, e estende às sociedades de grande porte disposições relativas à elaboração e divulgação de demonstrações financeiras. http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/ato2007-2010/2007/lei/l11638.htm

Decreto Lei nº 238/98 de 1 de Agosto. *Diário da República nº 176/98 – I Série A*. Ministério do Ambiente. Lisboa.

Constituição da República Federativa do Brasil de 1988. (1998). Brasília. http://www.planalto.gov.br/CCIVIL_03/Constituicao/Constitui%7Ao.htm

Portaria nº 809/90 de 10 de Setembro. *Diário da República nº 209/90 – I Série*. Ministério da Agricultura, Pesca e Alimentação, da Saúde e do Ambiente e Recursos Naturais.

Ministério da Saúde (BR). (2004). *Sistema de monitoramento de indicadores Programa Nacional de DST e Aids*. <http://www.aids.gov.br/9>

A exatidão e adequação das referências a trabalhos que tenham sido consultados e mencionados no texto do artigo, bem como opiniões, conceitos e afirmações são da inteira responsabilidade dos autores.

Observação: Consultar os últimos fascículos publicados para mais detalhes de como fazer as referências do artigo.

ANEXO 2 - Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Experimentação Animal (CEPEEA)



UNIVERSIDADE PARANAENSE - UNIPAR

Reconhecida pela Portaria - MEC Nº 1580, DE 09/11/93 - D.O.U. 10/11/93

Mantenedora: Universidade Paranaense - UNIPAR LTDA

Coordenadoria de Pós-Graduação - COPG

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ENVOLVENDO EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CEPEEA)

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado "EFEITO DE TRÊS DIFERENTES PRINCÍPIOS ATIVOS ANÁLOGOS AO HORMÔNIO LIBERADOR DE GONADOTROFINAS NA RESPOSTA REPRODUTIVA DE VACAS DE ALTA PRODUÇÃO LEITEIRA SUBMETIDAS A IATF", protocolo 40195/2023, sob a responsabilidade de DENIS VINICIUS BONATO, - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº. 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), tendo sido aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da Universidade Paranaense - UNIPAR em reunião realizada em 09/03/2023.

We hereby certify that the project "EFEITO DE TRÊS DIFERENTES PRINCÍPIOS ATIVOS ANÁLOGOS AO HORMÔNIO LIBERADOR DE GONADOTROFINAS NA RESPOSTA REPRODUTIVA DE VACAS DE ALTA PRODUÇÃO LEITEIRA SUBMETIDAS A IATF", protocol n.40195/2023, under the responsibility of DENIS VINICIUS BONATO – involving production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (with the exception of Man), for scientific or teaching purposes – complies with Law n. 11,794, published on October 8, 2008, by Decree n. 6,899 of July 15, 2009, and with norms published by the Brazilian Council for the Control of Animal Experiments (CONCEA), and approved by the COMMITTEE FOR ETHICS IN THE USE OF ANIMALS (CEUA) of UNIPAR - Universidade Paranaense at the meeting held on 03/09/2023.

UMUARAMA - PR, 17/10/2023.

Salviano Tramontin Belettini
Presidente CEPEEA/UNIPAR