

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA**

**EFICÁCIA DA OBSERVAÇÃO DE ESTRO ALIADA A PROGRAMAS DE  
IATF**

**Rafael Escobar Bretos Navarro**

**PORTO ALEGRE  
2013/1**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA**

**EFICÁCIA DA OBSERVAÇÃO DE ESTRO ALIADA À PROGRAMAS DE  
IATF**

**Autor: Rafael Escobar Bretos Navarro**

**Coorientador: Bruno Villamil Bangel**

**Orientador: Jorge José Bangel Jr.**

**Monografia apresentada à Faculdade de  
Veterinária como requisito parcial para a  
obtenção da Graduação em Medicina  
Veterinária**

**PORTO ALEGRE**

**2013/1**

## DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Mariza e Carlos por tudo o que fizeram e construíram objetivando fornecer o melhor possível, não mensurando esforços, para dar-nos condições de seguir em frente. Pelas oportunidades, pelo apoio e principalmente por acreditarem em mim, muito obrigado. Ao meu irmão Eduardo pelo companheirismo.

Agradeço aos demais familiares que me apoiaram ao longo desta caminhada, principalmente meus avós, que muitos valores me ensinaram, Aristeu, Vilma, Buenaventura e Ignácio, meu sincero obrigado. À minha namorada Maria Luisa pelo afeto, auxílio e companheirismo.

Agradeço aos inúmeros amigos que fiz durante a faculdade, pelos bons momentos e amizades verdadeiras.

Ao professor Jorge José Bangel Júnior, orientador desta monografia. Agradeço por me colocar num caminho de busca constante pelo conhecimento. Por todos os ensinamentos acadêmicos e experiências de aprendizado, obrigado.

Ao Médico Veterinário Bruno Villamil Bangel, co-orientador deste trabalho e a todos os profissionais que de alguma forma influenciaram em minha formação, principalmente aos que depositaram confiança em meu trabalho, obrigado.

## RESUMO

Este trabalho tem por objetivo avaliar a utilização da observação de estro aliada aos programas de inseminação artificial em tempo fixo. A observação de estros é uma ferramenta importante, pois com ela pode-se aumentar os índices reprodutivos de maneira eficaz e barata. No presente trabalho foi realizada a sincronização do ciclo estral de 262 fêmeas européias e realizada a observação de estros no protocolo de inseminação artificial em tempo fixo. As fêmeas que apresentavam estro eram inseminadas 12 horas após. Com o presente programa obteve-se taxa de concepção aos 45 dias de 65,65%, sendo que 71% das vacas foram inseminadas antes do preconizado. A observação de estros aliada à IATF pode auxiliar na obtenção de maior número de prenhez de inseminação artificial no início da temporada reprodutiva.

**Palavras-chaves:** Inseminação Artificial, IATF, Reprodução, Bovinos de Corte.

## **ABSTRACT**

*This study aims to evaluate the use of estrus observation with artificial insemination programs at fixed time. The estrus observation is an important tool because with it you can increase the reproductive rates with efficiency and inexpensive way. The present work was performed synchronization of oestrus of 262 beef european cattle and performed estrus observation in the artificial insemination at fixed time program. Females who showed estrus were inseminated 12 hours after. With this program was obtained conception rate at 45 days of 65.65% and 70% of cows were inseminated before recommended. The observation of estrus with AIFT may assist in achieving greater number of pregnancies by artificial insemination at the beginning of the breeding season.*

*Key-Words: Artificial Insemination, FTAI, Reproduction, Beef Cattle.*

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>IATF</b>	Inseminação artificial em tempo fixo
<b>FSH</b>	Hormônio folículo estimulante
<b>LH</b>	Hormônio luteinizante
<b>P4</b>	Progesterona
<b>GnRH</b>	Hormônio liberador de gonadotrofinas
<b>PGF<sub>2α</sub></b>	Prostaglandina F <sub>2α</sub>
<b>CL</b>	Corpo lúteo
<b>IA</b>	Inseminação artificial
<b>ECC</b>	Escore de condição corporal
<b>BE</b>	Benzoato de estradiol
<b>CE</b>	Cipionato de estradiol
<b>IBR</b>	Rinotraquite infecciosa bovina
<b>BVD</b>	Diarréia viral bovina
<b>eCG</b>	Gonadotrofina coriônica equina

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>8</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>9</b>
<b>2.1</b>	<b>Fisiologia.....</b>	<b>9</b>
<b>2.2</b>	<b>Inseminação artificial.....</b>	<b>10</b>
2.2.1	Sanidade.....	11
2.2.2	Melhoramento animal.....	13
2.2.3	Nutrição.....	14
2.2.4	Detecção de estros.....	15
<b>2.3</b>	<b>Sincronização do estro e da ovulação.....</b>	<b>15</b>
2.3.1	Prostaglandina F <sub>2α</sub> .....	16
2.3.2	Prostaglandinas associadas à estrógenos.....	17
2.3.3	Prostaglandinas associadas à GnRH.....	17
2.3.4	Progestágenos associados à GnRH.....	18
2.3.5	Progestágenos associados à benzoato de estradiol.....	18
2.3.6	Progestágenos associados à cipionato de estradiol.....	19
2.3.7	Métodos auxiliares.....	19
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>21</b>
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>22</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>24</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>25</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui o segundo maior rebanho bovino efetivo do mundo com mais de 210 milhões de cabeças, e no mercado internacional se destaca sendo o maior exportador de carne bovina desde 2004 (ANIMAL..., 2012; BOVINOS..., [2011?]). A importância da atividade fica evidenciada com a produção bruta dos R\$ 67 bilhões que a atividade gera no Brasil em seus dois segmentos, leite e corte (BOVINOS..., [2011?]).

A pecuária bovina brasileira passa por um momento de intensa tecnificação onde coexistem duas situações distintas: grande parte do rebanho nacional faz utilização de algum nível de tecnologia de produção, enquanto outros rebanhos possuem pouco ou nenhum controle sanitário e praticamente sem qualquer controle reprodutivo (JUNQUEIRA, 2006). Em rebanhos bovinos de corte, quatro pilares são responsáveis pela rentabilidade econômica dos sistemas de produção: a nutrição, a sanidade, a reprodução e o melhoramento genético, havendo grande dependência entre essas áreas (WARLEY *et al.*, 2005).

A eficiência econômica dos sistemas de produção de bovinos de corte depende da taxa anual de terneiros nascidos e desmamados, o que significa que é necessária a utilização de uma estação de monta onde as vacas com cria ao pé estejam novamente gestantes em até 90 dias pós-parto (GONÇALVES *et al.*, 2008). Nesse contexto o retorno a ciclicidade e a sincronização de estros são importantes ferramentas na viabilização do aumento da taxa anual de nascimentos e se possível sua concentração com diminuição da temporada reprodutiva.

A inseminação artificial propicia maiores ganhos genéticos aos rebanhos, porém é de difícil utilização em rebanhos comerciais devido ao tempo e mão de obra capacitada necessários para o emprego da mesma. Os programas de inseminação artificial em tempo fixo (IATF), além de sanar algumas dificuldades do método tradicional, trazem como vantagem: concentrar os partos, padronizar os lotes, aumentar o número de nascimentos por IA, aumentar do peso à desmama, ganho genético, encurtar a estação reprodutiva, otimizar a utilização da mão de obra e principalmente antecipar a ciclicidade das fêmeas em anestro pós-parto.

Este trabalho tem por objetivo elucidar os possíveis comportamentos de fêmeas bovinas de raças européias frente a um programa de inseminação artificial em tempo fixo, avaliando a eficácia da observação de estros aliado à IATF.



## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Fisiologia

A fêmea bovina é poliéstrica anual, manifestando estros em intervalos regulares de, em média, 21 dias (18 a 24). O ciclo estral pode ser dividido em pró-estro, estro, meta-estro e diestro ou ainda em fase folicular e fase progesterônica.

Durante a vida fetal da fêmea tem início o processo de foliculogênese, onde acontece a formação dos folículos primordiais para que, ao nascimento, a fêmea já possua um número estabelecido desses folículos nas gônadas. Nos preparativos para a puberdade irão se iniciar o crescimento e a maturação folicular, os quais se repetirão durante a vida reprodutiva. Ao final, apenas alguns irão conseguir completar sua maturação e ovular enquanto os outros sofrerão degeneração (GONÇALVES *et al.*, 2008).

Durante o ciclo estral de uma vaca européia normalmente ocorrem duas ondas foliculares, onde os folículos são recrutados, através de diversos fatores de crescimento. Após, desenvolvem-se até a expressão de receptores de hormônio folículo-estimulante (FSH) e de hormônio luteinizante (LH) aumentando seu tamanho e com isso, a sua resposta à gonadotrofinas. Com o seu crescimento, inicia-se a produção de estradiol e inibina pelos futuros folículos dominantes. A inibina irá suprimir a secreção de FSH e bloquear o crescimento de outros folículos enquanto o estradiol estimulará a secreção de LH.

Com a presença de altos níveis de progesterona (P4) circulante a onda folicular ocorrerá, porém sem o completo desenvolvimento folicular e ovulação devido à inibição de secreção de hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH). Na ausência de P4, ocorre secreção de GnRH no hipotálamo o qual regula a liberação hipofisária de FSH e LH. Com o aumento do FSH, acontecerá a dominância de um folículo que irá produzir estrógeno, fazendo feedback positivo no GnRH e estimulando ainda mais a produção de LH. Esse é secretado em pulsos que, devido ao intenso estímulo de secreção, serão cada vez mais frequentes e gerarão um pico plasmático. Este pico causa uma série de eventos como a produção de prostaglandina  $F_{2\alpha}$  ( $PGF_{2\alpha}$ ) pelo ovário que desencadeará uma série de contrações no mesmo levando-o à ruptura do folículo e à ovulação (SENGER, 2005).

O pico de LH que ocorreu síncrono ao início do estro também induz a produção de prostaglandina  $E_2$  que, após a ovulação, auxilia a reorganização do folículo para a formação do corpo lúteo (CL). Durante a ruptura do folículo, vasos sanguíneos se rompem formando um coágulo chamado de corpo hemorrágico. No primeiro dia já pode haver secreção de P4,

porém, apenas no terceiro é considerado CL onde ainda irá aumentar de tamanho e perder a aparência hemorrágica, atingindo pleno funcionamento ao quinto dia (GONÇALVES *et al.*, 2008).

A fase luteal tem início no momento da ovulação e segue até a luteólise. Com duração de 16 dias em média, é um período importante pois mantém o trato reprodutivo sob influência da progesterona. A P4 estimula a secreção endometrial viabilizando o desenvolvimento embrionário inicial. Sob ação da P4, o endométrio uterino secreta uma série de proteínas, suas funções não são completamente conhecidas, mas incluem: inibição de proteases, nutrição do concepto, controle do crescimento e supressão do sistema imune materno (KHATIB *et al.*, 2007).

Entre o décimo e o décimo quinto dia o embrião produz proteínas específicas chamadas de interferon- $\tau$  ou proteína trofoblástica bovina 1 que irá ser responsável pela sinalização de prenhez. Essa sinalização impedirá a luteólise garantindo níveis satisfatórios de progesterona e secreção adequada do endométrio para o desenvolvimento adequado do concepto (SENGER, 2005).

Quando não ocorre a sinalização do embrião, inicia-se o processo de luteólise com a desintegração do CL, em no máximo três dias, finalizando a fase luteal. Esta é uma degeneração irreversível e é caracterizada pela queda dos níveis de progesterona sanguínea. O principal hormônio desencadeador é a  $PGF_{2\alpha}$  produzida pelo endométrio uterino. Para deixar o útero e passar para a circulação ovariana, a  $PGF_{2\alpha}$  utiliza a veia uterina que, justaposta à artéria ovárica, forma um mecanismo de contracorrente vascular passando por difusão passiva. Dessa forma a degradação do CL se inicia, diminuindo os níveis de progesterona plasmática e iniciando a fase folicular novamente (SENGER, 2005).

O conhecimento da dinâmica do ciclo estral é fundamental para a eleição de estratégias a fim de obter os melhores desempenhos reprodutivos. A utilização da inseminação artificial (IA) e dos protocolos reprodutivos são exemplos de técnicas que possibilitam uma série de vantagens ao sistema de produção.

## **2.2 Inseminação artificial**

Por definição, a inseminação artificial é a deposição de uma dose viável de sêmen no interior do trato reprodutivo da fêmea por meio de recursos artificiais em condições que permitam obter a fecundação. A larga utilização da IA em bovinos iniciou-se na Rússia com sêmen fresco na década de 1930. Na década posterior, com o desenvolvimento do

congelamento seminal, a IA assumiu uma nova dimensão, tornando a técnica mais rápida e controlada. Hoje é a biotécnica reprodutiva mais importante em termos de produção animal (GONÇALVES *et al.*, 2008).

### 2.2.1 Sanidade

A sanidade do rebanho é requisito básico para que um bom desempenho reprodutivo seja obtido. Diversas doenças causam infertilidade, seja por imunossupressão ou por ação de agentes etiológicos específicos. Atenção especial deve ser dada a brucelose, leptospirose, tricomonose, campilobacteriose, rinotraqueíte infecciosa bovina, diarréia viral bovina, entre outras doenças capazes de causar infertilidade, absorção embrionária e abortos (WARLEY *et al.*, 2005).

A brucelose é uma doença endêmica no Brasil, causada pela bactéria gram negativa *Brucella abortus*. A contaminação geralmente ocorre pela ingestão de resíduos resultantes do aborto causado pelo agente e a maior fonte de contaminação são vacas portadoras. O agente normalmente está presente em descargas uterina de fêmeas contaminadas, duas semanas antes do aborto ou parto e duas a três semanas após o mesmo. O agente penetra pela mucosa nasal ou oral buscando os linfonodos e durante a bacteremia chega ao útero e causa necrose nos trofoblastos e ulceração dos placentomas, tornando ineficientes as trocas gasosas e nutricionais da placenta levando ao aborto (YOUNGQUIST; THRELFALL, 2007). A vacinação com a vacina da amostra B19 em fêmeas entre três e oito meses é imprescindível para o controle dessa enfermidade capaz de causar prejuízos inestimáveis.

As infecções por leptospiros geralmente são subclínicas em vacas não prenhes. Nas prenhas, a infecção fetal resulta em abortos, natimortos e nascimento de terneiros fracos. O diagnóstico é realizado a partir do isolamento da leptospiros do aborto e sorologia. A vacina polivalente ainda é a melhor opção de prevenção e controle da doença, primovacinados devem receber duas doses e após a vacinação anual é indicada. Em rebanhos com alta incidência ou em áreas alagadiças, duas doses anuais passam a ser a melhor estratégia (YOUNGQUIST; THRELFALL, 2007).

O protozoário *trichomonas foetus* e a bactéria *campylobacter foetus* são parasitas obrigatórios do trato reprodutivo dos bovinos. Os touros geralmente são portadores assintomáticos enquanto que as vacas sofrem os efeitos das doenças. A vaca se infecta durante a cópula e a infecção é associada a sinais clínicos como: vaginites, cervicites, endometrites e placentites, descargas mucopurulentas no início da temporada reprodutiva. A infecção produz

um período de perdas embrionárias, infertilidade e abortos, que podem ocorrer na primeira metade da gestação na tricomonose e entre o quarto e o sétimo mês na campilobacteriose. Por se tratarem de enfermidades silenciosas, só são percebidas em rebanhos que utilizam estações reprodutivas e que fazem diagnóstico precoce de gestação. O diagnóstico das enfermidades é realizado com o isolamento dos agentes através da coleta das secreções prepuciais dos touros e das secreções genitais das vacas. A prevenção baseia-se na limitação do contato sexual entre contaminados e sadios, entretanto é muito difícil esse controle nos sistemas extensivos (YOUNGQUIST; THRELFALL, 2007). O tratamento é difícil visto que as drogas não atingem, em concentrações ideais, as mucosas alvo. No Brasil não existem vacinas comerciais com resultados satisfatórios para ambas enfermidades, logo, somente formas de manejo são capazes de controlar efetivamente as mesmas. Indica-se criar um novo rebanho onde entrarão apenas novilhas, esse será o rebanho limpo, com o passar do tempo o rebanho limpo deve crescer e o rebanho sujo será descartado. Em ambos os rebanhos deve ser utilizado IA.

A rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR) causado por um herpes vírus é uma doença que afeta trato respiratório e reprodutivo sendo potencial causador de abortos. A infecção ocorre no trato respiratório superior causando rinite, traqueíte, conjuntivite e imunossupressão. Os abortos ocorrem em todas as fases gestacionais e são mais comuns entre o quarto e oitavo mês de gestação. O vírus infecta o feto causando a sua morte e posterior expulsão. Concomitantemente ocorre a infecção genital se apresentando com a formação de nódulos, vesículas e ulcerações, que causam vulvovaginites pustulares nas fêmeas e balanopostites nos machos. O diagnóstico pode ser realizado através de imunohistoquímica de tecidos fetais, isolamento viral e sorologia. A vacinação é a principal forma de controle e prevenção e deve ser adotada em todos sistemas produtivos (YOUNGQUIST; THRELFALL, 2007).

A diarreia viral bovina (BVD) possui várias apresentações. Na forma subclínica o bovino imunocompetente apresenta suave febre e passageira leucopenia. Na apresentação aguda a severidade dos sinais clínicos variam mas geralmente são suaves com baixa mortalidade. Entre os principais sinais dessa forma estão: letargia, anorexia, febre, descarga ocular e nasal, erosões nasais, diarreia e queda da produção de leite. Outra forma clínica é a persistentemente infectada onde a infecção por uma cepa não citopatogênica ocorre na fase fetal até os 125 dias de gestação e o feto torna-se imunotolerante. Esse feto pode ser abortado, morrer na fase neonatal ou ainda tornar-se adulto e dessa forma eliminar vírus para o ambiente por toda sua vida. Ainda pode ocorrer a doença das mucosas juntamente com a apresentação crônica, essa ocorre quando animais persistentemente infectados com cepa não

citopatogênica, são infectados com outra cepa, essa citopatogênica, e desenvolvem um quadro agudo e crônico até a morte. A última forma é a infecção transplacentária, onde a fêmea gestante infecta o concepto, e o mesmo desenvolve a doença, nascendo com malformações na maioria das vezes sem vida. O diagnóstico pode ser realizado por isolamento viral, imunohistoquímica, ELISA e PCR. A vacinação e a eliminação dos persistentemente infectados são estratégias fundamentais para manter a doença controlada (YOUNGQUIST; THRELFALL, 2007).

Inúmeras outras doenças podem acarretar perdas nos sistemas produtivos de bovinos. A fim de evitá-las, devem-se utilizar ferramentas para garantir a sanidade do rebanho como vacinações e vermifugações estratégicas ao longo do ano, sendo essas medidas necessárias para a manutenção do bom status sanitário e imunitário dos animais. Vacinas contra brucelose, raiva, carbúnculo hemático e clostridioses, IBR, BVD e Leptospiroses são as principais armas no auxílio da manutenção da sanidade e produtividade do rebanho.

### 2.2.2 Melhoramento animal

O aceleramento da melhoria genética é um ganho evidenciado na inseminação artificial. A utilização dessa técnica possibilita o melhor aproveitamento de reprodutores melhoradores com rápida difusão dos ganhos genéticos além de diminuir consideravelmente os custos com a manutenção de reprodutores.

Quando feita em larga escala, a IA possibilita a avaliação de reprodutores bem como de sua progênie. Assim, métodos objetivos de avaliação do desempenho produtivo e reprodutivo do macho foram criados, visando o fornecimento de informações precisas aos usuários com dados confiáveis capazes de interferir positivamente na produção em diferentes realidades. Entretanto, como a confiabilidade está relacionada com o número de descendentes, esta avaliação demanda tempo e custos para chegar em resultados confiáveis.

A avaliação genômica vem sendo desenvolvida, e consiste na descoberta de marcadores genéticos relacionados a características produtivas. Esses marcadores são identificados no genoma de cada animal possibilitando reconhecer um animal melhorador precocemente. Com isso, espera-se diminuir os intervalos entre gerações e acelerar ainda mais os ganhos genéticos.

A avaliação genômica ainda está em fase de experimentação em gado de corte, pois seus dados ainda possuem diferenças dos dados gerados pelas provas de progênie. Num futuro próximo, a avaliação genômica, tende a se tornar um método mais confiável e seus benefícios

poderão ser usufruídos. Nos dias atuais a prova de progênie ainda é a mais confiável ferramenta na eleição de reprodutores para utilização no rebanho apesar de muitos ainda utilizarem métodos subjetivos de eleição.

### 2.2.3 Nutrição

Em rebanhos de corte a nutrição é um fator determinante, e muitas vezes limitante, para a obtenção de bons resultados reprodutivos. A relação entre nutrição e reprodução é bidirecional, isto é, o status reprodutivo altera os requerimentos nutricionais e os nutrientes aportados à vaca alteram a função reprodutiva (YOUNGQUIST; THRELFALL, 2007).

Uma vaca de corte deve desmamar um terneiro por ano, logo, em algum momento deve estar gestando e amamentando ao mesmo tempo. Dessa forma, as exigências nutricionais da vaca variam ao longo do ano. No intervalo entre o parto e a concepção, as exigências são mais altas devido à recuperação do trato reprodutivo e principalmente pelo início e pico de lactação, onde as demandas energéticas são muito altas, fazendo com que as vacas percam condição corporal. Na fase intermediária da gestação as exigências são menores, sendo um bom momento de aportar condição corporal ou para mante-las em pastagens de baixa qualidade. Porém, no terço final da gestação as necessidades nutricionais aumentam rapidamente, pois nessa fase ocorre o maior crescimento fetal sendo que a boa condição nutricional nesse período é fundamental para que ocorra um bom desenvolvimento, sobrevivência neonatal e adequada produção de leite.

A avaliação do escore de condição corporal (ECC) é uma ferramenta importante para o manejo reprodutivo aliado à IA. A boa condição corporal ao parto aumenta taxas de prenhez na próxima temporada e diminui o intervalo entre o parto e a concepção em até 18 dias. (DEROUEN *et al.*, 1994). Procura-se postergar a entrada das fêmeas mais debilitadas nos programas reprodutivos esperando a recuperação das mesmas, a fim de maximizar os resultados. Com as nulíparas procura-se antecipá-las na estação a fim de fornecer mais tempo de recuperação após seu primeiro parto, além de ter o cuidado de encaminhar à reprodução essas fêmeas apenas quando atingirem no mínimo 70% do seu peso adulto e já estiverem ciclando.

A mineralização adequada do rebanho é extremamente importante para o sucesso reprodutivo do mesmo. A deficiência de minerais geralmente ocorre de forma crônica sem sintomatologia clínica evidente, podendo a infertilidade ser um deles (KUNKLE, 2001). A deficiência de fósforo produz diminuição de fertilidade nas fêmeas, redução da atividade

ovariana e aumento da incidência de cistos foliculares. Deficiência de sódio e potássio causam mortalidade embrionária. Deficiência de enxofre diminui fertilidade das fêmeas. Deficiência de manganês aumenta incidência de cistos foliculares, manifestações de estro irregulares e incremento nas taxas de retenção de placenta. Deficiência de cobre causa redução da atividade ovariana, aumento dos índices de reabsorção embrionária e retenção de placenta. Deficiência de selênio aumenta índices de retenção de placenta (WARLEY *et al.*, 2005). A suplementação de cromo reduz o intervalo entre o parto e o primeiro estro e tende a aumentar as taxas de prenhez (ARAGON; GRAÇA; NORTE, 2001).

#### 2.2.4 Detecção de estro

Para realização da inseminação em um momento propício à fecundação, deve-se realizar a observação de estro. As manifestações de estro duram entre 10 e 18 horas, logo, a observação deve ser realizada pelo menos duas vezes ao dia. Aceitar a monta de outras vacas é o sinal mais fidedigno do período, durando em média 2,5 segundos. Vacas que se movem durante a tentativa, não são consideradas em estro (XU *et al.*, 1998). As manifestações são mais comuns a noite, por isso observa-se nas primeiras horas da manhã e ao final da tarde. A vaca que manifestou estro pela manhã deve ser inseminada no final da tarde e a que manifestou estro à tarde, deve ser inseminada no início da próxima manhã.

Falhas de observação de estro são comuns e estão entre as maiores causas de insucesso na IA convencional. Além da falha humana, outros fatores podem causar diminuição na intensidade da manifestação como a temperatura ambiental, influência de animais dominantes e nutrição. Visando solucionar essas falhas, a adoção de programas em tempo fixo surgiu como alternativa.

### 2.3 Sincronização de estros e da ovulação

No início de sua utilização, a IA era aplicada com a observação de estros durante 45 dias a fim de contemplar dois ciclos estrais. Com o passar do tempo e desenvolvimento de novos fármacos, novos métodos foram criados para viabilizar a utilização de inseminação artificial tentando diminuir o tempo demandado para a observação de estros.

A sincronização de estros facilitou o emprego da IA pela redução do tempo de observação de estro ou pelo uso da inseminação artificial em tempo fixo (IATF). Dessa forma permitiu ainda a concentração dos partos em épocas adequadas e auxiliou a padronização dos

lotes (GONÇALVES *et al.*, 2008). Em sua essência consiste na manipulação do ciclo estral em diferentes momentos do mesmo a fim de agrupar as manifestações de estro e as ovulações de um grupo de vacas em um curto período de tempo.

Nas primeiras sincronizações foram usados progestágenos para alongar a fase luteal, controlando o momento de queda dos níveis de progesterona. Após, iniciou-se associação de progestágenos com estrógenos ou gonadotrofinas a fim de melhor manejar o desenvolvimento folicular e posterior ovulação (YOUNGQUIST; THRELFALL, 2007). Em seguida, na década de 1970, começaram os estudos e a utilização das prostaglandinas, as quais junto com seus análogos sintéticos são agentes luteolíticos e causam, em vacas que estão ciclando regularmente, a queda dos níveis de progesterona, dominância folicular e ovulação em até cinco dias após a aplicação. Através dessa utilização iniciou-se a elaboração de programas de inseminação artificial com tempo pré-determinado (GONÇALVES *et al.*, 2008).

Uma nova fase se deu quando iniciou-se o uso em conjunto de prostaglandinas e progestágenos controlando ainda mais a queda dos níveis de progesterona. Com o entendimento das ondas foliculares, através da ultrassonografia ovariana, novos protocolos foram desenvolvidos visando maximizar o sincronismo das ovulações, culminando nos protocolos atuais de sincronização de estros e ovulações (YOUNGQUIST; THRELFALL, 2007).

Atualmente os padrões de desenvolvimento folicular em bovinos podem ser manipulados pelo encurtamento da fase luteal com  $\text{PGF}_{2\alpha}$ , prolongando o período de dominância folicular com progestágenos ou encurtando a fase de desenvolvimento folicular usando GNRH, benzoato de estradiol (BE) ou cipionato de estradiol (CE) (MACMILLAN *et al.*, 2003).

### 2.3.1 Prostaglandina $\text{F}_{2\alpha}$

A grande confiabilidade e eficácia das prostaglandinas sintéticas possibilitaram o rápido desenvolvimento de protocolos com duas aplicações, o que agregou precisão de sincronização devido a sua ação luteolítica específica (JACKSON *et al.*, 1979). Possibilitou ainda testar a inseminação artificial em um ou dois momentos pré-determinados depois da segunda aplicação. Tais protocolos obtiveram sucesso em novilhas, já em vacas de corte amamentando esse resultado não foi tão satisfatório, tampouco em vacas leiteiras em produção (MACMILLAN *et al.*, 1977).



Segundo Odde (1990), apesar a alta eficácia da  $\text{PGF}_{2\alpha}$ , ela causa alta variabilidade nos intervalos entre o tratamento e a manifestação de estros e ovulação. Embora a fertilidade do estro induzido pela  $\text{PGF}_{2\alpha}$  seja muito similar à fertilidade do estro natural, as taxas de prenhez de IATF com protocolos baseados somente em  $\text{PGF}_{2\alpha}$  são geralmente inaceitáveis (PETERS, 1986), dessa forma a observação de estros se faz necessária nesse tipo de protocolo. A variação de tempo para o aparecimento do cio após a  $\text{PGF}_{2\alpha}$  não depende do tempo de regressão do CL, mas sim do tamanho do folículo presente no ovário no momento da regressão do CL ou da retirada do implante de P4 (WILTBANK, 2000), se aplicar  $\text{PGF}_{2\alpha}$  entre o quinto e o sétimo dia ou entre o décimo e o décimo segundo dia do ciclo estral, o cio pode demorar de três a sete dias para ocorrer. Se aplicar  $\text{PGF}_{2\alpha}$  entre o sétimo e o nono dia ou entre o décimo quarto e o décimo sexto dia do ciclo estral, o cio ocorre rapidamente (LUCY *et al.*, 2004).

### 2.3.2 Prostaglandinas associadas à estrógenos

Os estrógenos vêm sendo utilizados a fim de aumentar a sincronia das manifestações de estro nos protocolos baseados em  $\text{PGF}_{2\alpha}$  em vacas cíclicas (MARTINEZ *et al.*, 2004). Tratamentos com 0,4 mg de BE 40 ou 48 horas após administração de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  em vacas de corte reduzem a variação nos intervalos de liberação de LH e os intervalos de manifestação de estros (WELCH *et al.*, 1975). Sem afetar os índices de prenhez à IA nem as manifestações de estro em novilhas ou vacas de corte. Estrógenos, em doses elevadas, também são capazes de promover a luteólise. Nesses protocolos o estradiol é usado para sincronizar a emergência das ondas foliculares e sincronizar as ovulações, sendo possível o uso da IATF obtendo altas taxas de concepção (MARTINEZ *et al.*, 2004).

### 2.3.3 Prostaglandinas associadas à GnRH

Um dos mais clássicos programas de IATF, o “*Ovsynch*”, foi desenvolvido em meados dos anos 90 e objetiva a sincronização das ovulações das vacas cíclicas. Desenvolvido para vacas de produção de leite esse programa preconiza uma aplicação de GnRH do dia zero, uma aplicação de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  no dia sete do programa, após 48 horas da última deve ser realizada outra aplicação de GnRH e a IA 24 horas após. Nesse programa a primeira dose de GnRH causa a formação de uma nova onda folicular dois ou três dias após, ocorrendo seleção e dominância em sete dias em média. No sétimo dia com a aplicação da  $\text{PGF}_{2\alpha}$  ocorre

a luteólise do CL existente, desencadeando diferenciação e maturação do folículo dominante. A aplicação de GnRH 48 horas após, induz o pico de LH causando a ovulação. Com esse protocolo a ovulação pode ser sincronizada dentro de um período de oito horas viabilizando a IATF (PURSLEY *et al.*, 1995). Variações desse anterior foram elaboradas com bons resultados como no caso do “*Co-synch*” onde a IA é realizada no momento da segunda dose de GnRH, ou o “*Select-synch*” onde não é realizada a segunda dose de GnRH e a IA é realizada com observação de estro (PETTERSON *et al.*, 2003).

#### 2.3.4 Progestágenos associados à GnRH

Tendo em vista que os programas baseados em GnRH e PGF<sub>2α</sub> não garantiam bons resultados em novilhas, devido à falhas na primeira aplicação de GnRH que causava ovulação e luteólise prematura (AMBROSE *et al.*, 2005), alternativas começaram a ser desenvolvidas a fim de aperfeiçoar os resultados de sincronização e concepção. Melhores taxas foram obtidas quando foi adicionado um dispositivo de liberação lenta de P4 junto à administração do primeiro GnRH no protocolo “*Ovsynch*”, com remoção no momento da aplicação da PGF<sub>2α</sub>. O dispositivo é eficiente na função de mimetizar uma pequena fase luteal (BRIDGES *et al.*, 1999), e ao controlar o momento da queda dos níveis de progesterona, espera-se a presença de um folículo dominante capaz de ovular em resposta à segunda aplicação de GnRH.

Ao fazer a associação, Kasimanickama *et al.* (2012), obteve 66% de vacas prenhes em um protocolo onde era realizado a colocação do dispositivo e aplicação de GnRH no dia zero, a retirada do dispositivo e aplicação de PGF<sub>2α</sub> no quinto dia e 56 horas após era realizada a IA e aplicação de outra dose de GnRH. Resultado que demonstra boa aplicabilidade da técnica.

#### 2.3.5 Progestágenos associados à benzoato de estradiol

Com o passar do tempo, diversos protocolos de sincronização passaram a ser desenvolvidos visando bons resultados e o aumento de sua capacidade de utilização, isto é, poder utilizar essa ferramenta nas diferentes categorias animais e em diferentes momentos da vida produtiva da vaca. Com associação entre progestágenos e BE busca-se controlar a fase luteal e a fase folicular do ciclo estral.

Como já citado anteriormente, o estradiol vem sendo utilizado para promover a sincronia das ovulações após a queda dos níveis de progesterona em vacas cíclicas

(MARTINEZ *et al.*, 2004). Vacas em anestro pós parto eram um problema, pois não se enquadravam em nenhuma ferramenta que fosse capaz de trazê-las a ciclicidade. Segundo Bridges *et al.* (1999), o dispositivo intravaginal de liberação lenta de P4 é eficiente na função de mimetizar uma pequena fase luteal em vacas de corte que estejam em anestro pós parto. Dentre os protocolos propostos por Bridges *et al.* (1999), taxas de 60% de prenhez foram obtidas utilizando uma aplicação de 2 mg de BE no momento da colocação do dispositivo sendo esse o dia zero, no sétimo dia realizava-se a aplicação de PGF<sub>2α</sub> e a retirada do dispositivo, 1 mg de BE 30 horas após a retirada do dispositivo e a IATF realizada entre 28 e 30 horas após a segunda dose de BE. A principal diferença desses protocolos para os anteriores são os custos, sendo o programa com duas doses de BE, metade do valor dos programas com duas doses de GnRH.

#### 2.3.6 Progestágenos associados à cipionato de estradiol

O cipionato de estradiol vem sendo utilizado com sucesso na sincronização da onda folicular e da ovulação em programas que usam progestágenos tanto em vacas de leite quanto em vacas de corte (COLAZO *et al.*, 2003). O programa proposto por Meneghetti *et al.*, (2005), preconiza a colocação do implante intravaginal de liberação lenta de P4 e a aplicação de 2 mg de BE no dia zero, aplicação de PGF<sub>2α</sub> no sétimo dia. 48 horas após. No dia nove o dispositivo deve ser retirado, deve ser aplicado 0,5 mg de cipionato de estradiol e os terneiros separados das mães até o momento da IATF que é realizada 48 horas após a retirada do dispositivo. Com esse protocolo obteve-se taxas de concepção de 48,9% em experimento realizado com 7527 vacas (MENEGETTI *et al.*, 2005). As características favoráveis à utilização do cipionato de estradiol em protocolos desse tipo são seu custo muito parecido aos custos dos programas com duas doses de BE. Além disso, por ser um Ester com baixa solubilidade em água, o cipionato de estradiol acaba sendo liberado lentamente do local da aplicação e por esse fator as concentrações plasmáticas de estradiol se prolongam por até 170 horas após a injeção de altas doses (5-10 mg) de ECP (VYNCHIER *et al.*, 1990). Essas características viabilizam sua utilização e possibilita a redução de um manejo durante o programa, o que em grandes lotes de gado de corte é fundamental.

#### 2.3.7 Mecanismos auxiliares

A suplementação de LH ao final de protocolos de IATF melhora o desenvolvimento folicular resultando em incremento nas taxas de sincronização e concepção. Este efeito pode ser obtido através da aplicação de gonadotrofina coriônica equina (eCG) ou com o desmame temporário dos bezerros. A aplicação de eCG não tem efeito aditivo à remoção de bezerros quando utilizadas em protocolo de IATF a base de estrógeno e dispositivo intravaginal de progesterona (MENEGETTI *et al.*, 2005).

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

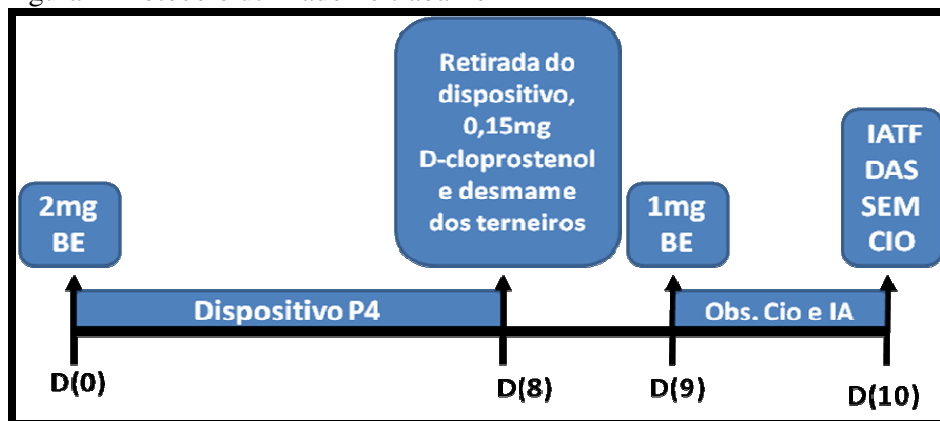
Para a obtenção dos dados, protocolos reprodutivos foram realizados em 262 fêmeas, alojadas em uma propriedade situada na microrregião de Camaquã que pertence à mesorregião metropolitana de Porto Alegre situada ao extremo sul do Brasil. Em todas as fêmeas foram realizados exames reprodutivos, avaliações de escore corporal, de dentição e de sistema locomotor com o intuito de eliminar fêmeas não aptas á reprodução. Nas fêmeas aprovadas no exame reprodutivo, iniciou-se o programa de IATF.

As fêmeas aptas recebiam no dia zero (D0) um implante intravaginal de liberação lenta impregnado com 0,558 g de progesterona natural e aplicação de 2 mg de benzoato de estradiol por via intramuscular. Após oito dias (D8), às oito horas da manhã, foi realizada a retirada do dispositivo intravaginal de liberação lenta, aplicação de 0,15 mg de D-cloprostenol, por via intramuscular, e feito o desmame dos bezerros filhos das fêmeas em lactação. No dia seguinte (D9), 24 horas após aplicação de D-cloprostenol, foi realizada a aplicação 1 mg de benzoato de estradiol por via intramuscular em todas fêmeas e iniciou-se a observação de estros a cada 12 horas.

As fêmeas que manifestavam estro foram inseminadas no turno seguinte à observação do estro. E as que não manifestavam eram inseminadas 56 horas após a retirada do dispositivo intravaginal. Após as inseminações artificiais do dia dez do programa, os bezerros foram devolvidos ao convívio de suas mães. Nas inseminações artificiais foi utilizado sêmen de diversos reprodutores variando de acordo com os interesses do produtor.

Passados em média 45 dias das inseminações foram realizados os diagnósticos de gestação através de palpação retal.

Figura1- Protocolo utilizado no trabalho

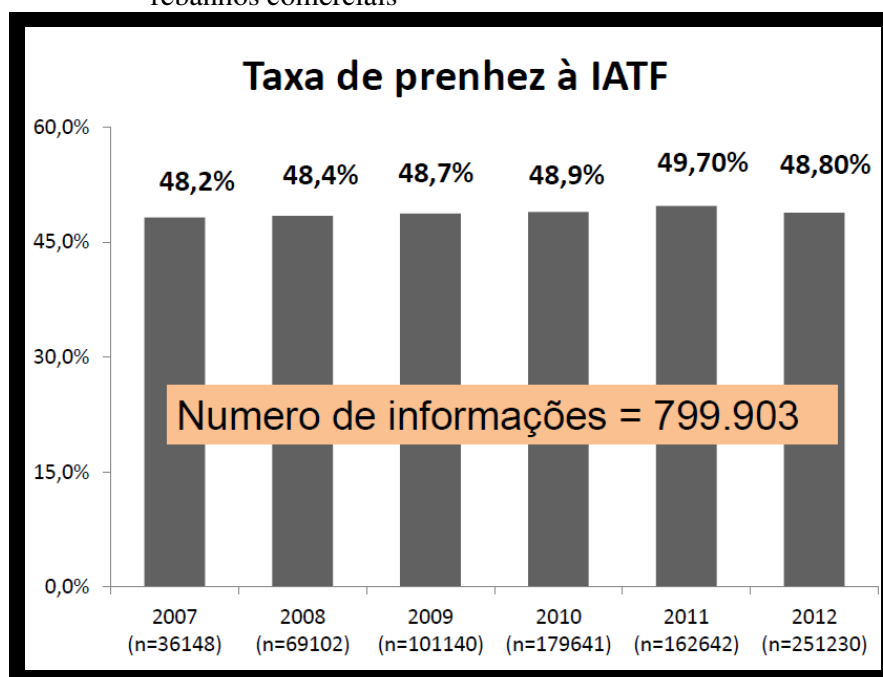


Fonte: o próprio autor

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através do protocolo realizado, percebe-se que os resultados estão semelhantes aos melhores obtidos em trabalhos realizados sem a observação de estro, somente com a IATF. Entretanto observa-se que as taxas de concepção obtidas na maioria dos protocolos comerciais dificilmente ultrapassam os 55%. Ou ainda segundo Dutra (2013), ao acompanhar resultados de IATF em rebanhos comerciais, figura 2, no decorrer de seis anos obtendo 799.903 dados, não obteve nenhum resultado acima de 50% como média anual.

Figura 2 - Resultados de IATF dos últimos seis anos em diversos rebanhos comerciais



Fonte: Dutra (2013)

Das 262 vacas sincronizadas, 172 tiveram diagnóstico positivo de gestação, alcançando a taxa concepção de 65,65% que é considerada satisfatória. Pode-se atribuir os bons resultados à observação de estro, pois ao avaliarmos os momentos de IA, como mostra a tabela 1, das 262 vacas, 51 (19%) manifestaram estro 36 horas antes da inseminação prevista pela IATF e 135 (51%) vacas manifestaram estro 24 horas antes, ou seja, 70,1% dos animais que não estariam sendo inseminados no momento mais oportuno caso fosse utilizado o momento preconizado pela IATF.

Tabela 1 - Vacas inseminadas em diferentes momentos do programa

<b>Momento da IA</b>	<b>D(9) Tarde</b>	<b>D(10) Manhã</b>	<b>D(10) Tarde</b>	<b>D(10) Tarde IATF</b>	<b>Total</b>
<b>Número de vacas inseminadas</b>	51	135	14	62	262
<b>Número de vacas prenhes</b>	30	86	11	45	172
<b>Percentual de vacas prenhes</b>	58,82	63,70	78,57	72,58	65,65

Fonte: o próprio autor

Ao inseminar conforme o estro aumenta-se as chances de promover a fecundação. Sob ponto de vista econômico a adição destes métodos de manejo é justificável, sejam pelos acréscimos nos índices de prenhez, pelo aumento da quantidade de terneiros filhos de inseminação ou ainda por emprenhar maior número de vacas no início da estação reprodutiva fazendo com que os terneiros sejam desmamados mais pesados. Todos esses benefícios acabam remunerando melhor o produtor. Tornando, dessa forma, a atividade mais sustentável.

## 5 CONCLUSÃO

Nos dias atuais, o mercado pecuário encontra-se cada vez mais competitivo, onde imensas áreas são direcionadas para a agricultura. No sul do Brasil, cada vez menos áreas são destinadas às fazendas produtoras de carneiros. Isso vem aquecendo o mercado de maneira que poucos carneiros nascidos no início da temporada podem aumentar consideravelmente os lucros, tendo em vista que as margens na atividade de cria são muito baixas.

Nesse contexto, a observação de estros unida à IATF é uma ferramenta de baixo custo e de fácil implementação que contribui para o aumento da rentabilidade da atividade. A constante busca por alternativas que otimizem os lucros deve ser mantida, não deixando de lado fundamentos básicos como sanidade, nutrição e melhoramento genético do rebanho.



## REFERÊNCIAS

AMBROSE, J. D. *et al.* Progesterone (CIDR)- based timed AI protocols using GnRH, porcine LH or estradiolcypionate for dairy heifers: Ovarian and endocrine responses and pregnancy rates. **Theriogenology**, Los Altos, v. 64, n. 7, p. 1457- 1474, Oct. 2005.

ANIMAL population: population summary: all species. **World Animal Health Information Database (WAHID) – Version**, Paris: OIE, Aug. 2012. Disponível em: <[http://www.oie.int/wahis\\_2/public/wahid.php/Countryinformation/Animalpopulation](http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Countryinformation/Animalpopulation)>. Acesso em: 21 jun. 2013.

ARAGON, V. E. F.; GRAÇA, D. S.; NORTE, A. L. Supplemental high chromium yeast and reproductive performance of grazing primiparous Zebu cows. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 2001, n. 5, p. 624-628, out. 2001.

BOVINOS e bubalinos. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, [2011?]. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/bovinos-e-bubalinos>>. Acesso em: 21 jun. 2013.

BRIDGES, P. J. *et al.* Follicular growth, estrus and pregnancy after fixed-time insemination in beef cows treated with intravaginal progesterone inserts and estradiol benzoate. **Theriogenology**, Los Altos, v. 52, n. 4, p. 573-583, Sep. 1999.

COLAZO, M. G.; KASTELIC, J. P.; MAPLETOFT, R. J. Effects of estradiol cypionate (ECP) on ovarian follicular dynamics synchrony of ovulation and fertility in CIDR-based fixed time AI programs in beef heifers. **Theriogenology**, Los Altos, v. 60, n. 5 p. 855-865, Sep. 2003.

DEROUEN S. M.; FRANKE D. E.; MORRISON D. G. Parturition body condition and weight influences on reproductive performance of first calf beef cows. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.72, n 5. p.1119, May. 1994.

DUTRA, P. C. F. Eficiência produtiva em rebanhos bovinos. *In*: SEMANA ACADÊMICA DE MEDICINA VETERINÁRIA, 13., 2013, Porto Alegre. [**Ciclo de palestras**]. Porto Alegre: UFRGS, Faculdade de Veterinária, 2013. Palestra proferida em 21 maio 2013.

GONÇALVES, P. B. D.; FIGUEIREDO, J. R.; FREITAS, V. J. F. (Ed.). **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2008. 395 p.

HERSOM, M; KUNKLE, W. E. **Strategies of cost effective supplementation of beef cattle**. Florida University, Institute of Food and Agricultural Science, 2001. Disponível em: <<http://edis.ifas.ufl.edu/an085>>. Acesso em: 2 jul. 2013.

JACKSON, P. S. *et al.* Influence of stage of oestrus cycle on time to oestrus following cloprostenol treatment in the bovine. **Theriogenology**, Los Altos, v.12, n. 3 p.153-167, Sep. 1979.

JUNQUEIRA, J. R. C.; ALFIERI, A. A. Falhas da reprodução na pecuária bovina de corte com ênfase para causas infecciosas. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina v.27, n. 2, p. 289-298, abr. 2006.

KASIMANICKAM, R. *et al.* Artificial insemination at 56 h after intravaginal progesterone device removal improved AI pregnancy rate in beef heifers synchronized with five-day CO-Synch + controlled internal drug (CIDR) protocol. **Theriogenology**, Los Altos v. 77, n. 8 p. 1624- 1631, May. 2012.

KHATIB, H. *et al.* Pattern of Expression of the Uterine Milk Protein Gene and its Association with Productive Life in Dairy Cattle. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v.90, n.5, p.2427-2433, May. 2007.

LUCY, M. C.; MCDUGALL, S.; NATION, D. P. The use of hormonal treatments to improve the reproductive performance of lactating dairy cows in feedlot or pasture-based management systems. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 82-83, p. 495-512, Jul. 2004.

MACMILLAN, K. L.; CURNOW, R. J.; MORRIS, G. R. Oestrus synchronisation with a prostaglandin analogue: I. Systems in lactating dairy cattle. **New Zealand Veterinary Journal**, Wellington, v. 25, n. 12, p. 366-372, Dec. 1977.

MACMILLAN, K. L.; SEGWAGWE B. V. E.; PINO C. S. Associations between the manipulation of patterns of follicular development and fertility in cattle. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v.78, n. 3-4, p. 327-344, Oct. 2003.

MARTÍNEZ, M. F.; KASTELIC, J.P.; MAPLETOFT, R. J. The use of estradiol and/or GnRH in a two-dose PGF protocol for breeding management of beef heifers. **Theriogenology**, Los Altos, v.62, n. 1-2, p. 363-372, Jul. 2004.

MENEGHETTI, M. *et al.* **Uso de protocolo de IATF associado a diagnóstico precoce de gestação e ressincronização como estratégia para maximizar o número de vacas gestantes por IA em estação de monta reduzida.** Mineiros: Lajeado Consultoria Agropecuária, jan. 2012. Disponível em: <<http://lajeado.com/artigo/6/0>>. Acesso em: 1 jul. 2013.

ODDE, K. G. A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 68, n. 3, p. 817-830, Mar. 1990.

PETERS, A. R. Hormonal control of the oestrous cycle. II: pharmacological principles. **The British Veterinary Journal**, London, v.142, n. 1, p.20-29, Jan-Feb. 1986.

PETTERSON, D. J.; KOJIMA, F. N.; SMITH, M. F. A review of methods to synchronize estrus in replacement beef heifers and postpartum cows. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 81, n. 14, p. E166- E177, Feb. 2003.

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

SENGER, P. L. **Pathways to pregnancy and parturition**. 2. ed. Pullman: Current Conceptions, 2005. 373 p.

VYNCHIER, L. *et. al.* Plasma estradiol-17 $\beta$  concentrations in the cow during induced estrus and afeter injection of estradiol-17 $\beta$  cypionate – a preliminary study. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, Oxford, v. 13, n. 1, p. 36-42, 1990.

WARLEY, E. C. *et. al.* F. **Manejo reprodutivo em gado de corte**. Brasília: Embrapa Cerrados, 2005. 54 p. (Documentos, 134).

WELCH, J. A. *et. al.* Control of estrus in lactating beef cows with prostaglandin F $2\alpha$  and estradiol benzoate. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 41, n. 6, p. 1686- 1692, Dec. 1975.

WILTBANK, M.C. Uso eficaz de hormônios de reprodução: II. Programas de reprodução. *In*: NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS, 4., 2000, Passos. **Anais...**, Passos: UNESP, 2000. p. 71-85.

XU, Z. Z. *et. al.* Estrus Detection Using Radiotelemetry or Visual Observation and Tail Painting for Dairy Cows on Pasture. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v.81, n.11, p. 2890-2896, Nov. 1998.

YOUNGQUIST, R. S.; THRELFALL, W. R. (Ed.). **Current therapy in large animal theriogenology**. 2. ed. St. Louis: Saunders Elsevier, 2007. v. 2, 508 p.