

EFEITO DA IMUNOCASTRACÃO SOBRE O PERÍMETRO ESCROTAL E A PRODUÇÃO ESPERMÁTICA EM TOUROS DA RAÇA NELORE¹

T. I. ASSUMPÇÃO^{2*}, J. P. M. M. BARROS³, G. G. MACEDO²

¹Recebido em 15/11/2016. Aprovado em 19/09/2017.

²Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, Brasil.

³Médico Veterinário, Uberlândia, MG, Brasil.

*Autor correspondente: teassumpcao@ufu.br

RESUMO: O medicamento Bopriva® tem ação anti-GnRH (GnRH - hormônio liberador das gonadotrofinas) e é utilizado na imunocastração de bovinos. Este estudo teve por objetivo avaliar o efeito do medicamento Bopriva® no perímetro escrotal e na produção e qualidade dos espermatozoides de touros de raça Nelore. Foram utilizados cinco animais da raça Nelore (*Bos taurus indicus*), com 12 meses de idade, que receberam duas doses de Bopriva® com intervalo de 30 dias, sendo cada dose de 1 mL/animal com 400 µg do produto. Foram realizadas, quinzenalmente, a medida do perímetro escrotal e coleta de sêmen pelo método de eletroejaculação (sete coletas), sendo o sêmen analisado física e morfológicamente. O perímetro escrotal reduziu a partir da 4ª coleta de forma significativa (P=0,0056), a motilidade espermática variou de 20% a 66% (média de 39%), o vigor de 1,0 a 2,8 (média de 1,74), a concentração de 87,8 a 296,2 milhões de espermatozoide por mL (média de 242,9 milhões) e os defeitos totais de 36% a 75,6% (média de 49,51%) com alta incidência de gotas citoplasmáticas, caudas enroladas e cabeças isoladas. O medicamento Bopriva® causa redução do perímetro escrotal e interfere na qualidade do sêmen dos animais da raça Nelore, reduzindo a motilidade do sêmen e elevando a porcentagem de anormalidades espermáticas totais do ejaculado.

Palavras-chave: Bopriva®, motilidade, reprodução, sêmen, touros.

EFFECT OF IMMUNOCASTRATION ON SCROTAL CIRCUMFERENCE AND SPERM PRODUCTION OF NELLORE BULLS

ABSTRACT: Bopriva® exerts anti-gonadotropin-releasing hormone (GnRH) activity and is used for immunocastration of cattle. The objective of this study was to evaluate the effect of Bopriva® on scrotal circumference and sperm production and quality of Nelore bulls. Five Nelore bulls (*Bos taurus indicus*), aged 12 months, received two doses of Bopriva® at an interval of 30 days, with each dose of 1 mL/animal containing 400 µg of the product. At 2-weeks intervals, scrotal circumference was measured and semen was collected by electroejaculation (seven samplings) and submitted to physical and morphological analysis. Scrotal circumference significantly decreased after the 4th sampling (P=0.0056) and sperm motility ranged from 20% to 66% (mean of 39%), sperm vigor from 1.0 to 2.8 (mean of 1.74), and sperm concentration from 87.8 to 296.2 million spermatozoa per mL (mean of 242.9 million). The percentage of total sperm defects ranged from 36% to 75.6% (mean of 49.51%), with a high incidence of cytoplasmic droplets, bent tails and detached heads. Bopriva® reduces scrotal circumference and interferes with semen quality in Nelore animals, reducing sperm motility and increasing the percentage of sperm abnormalities in the ejaculate.

Keywords: Bopriva®, GnRH, motility, reproduction, semen, bulls.

INTRODUÇÃO

Os hormônios que regulam a reprodução dos machos influenciam altamente o comportamento sexual e as características seminais. O hormônio liberador das gonadotrofinas (GnRH) é responsável pela produção e liberação hipofisária de LH (hormônio luteinizante) e FSH (hormônio folículo estimulante), que atuam na produção de andrógenos e na espermatogênese, respectivamente (YITBAREK e REGASA, 2014).

A castração de machos por imunossupressão de hormônios envolvidos nas funções testiculares é menos cruenta e invasiva, contribuindo para o bem estar do animal (NAZ e SAVER, 2015), e têm potencial para produção de carcaças pesadas e com bom acabamento de gordura, sem os fatores negativos relacionados às carcaças de animais inteiros (coloração, sabor, maciez, etc.) (MANELLA e BOIN, 2002; MOREIRA *et al.*, 2015). Antagonistas de GnRH induzem a rápida e profunda supressão da secreção de gonadotrofina, sendo que sua administração prolongada faz o controle do comportamento sexual devido à redução da testosterona, provoca a redução no tamanho dos testículos e a produção espermática, estabelecendo um quadro de infertilidade (HAYDEN, 2008), além de aumentar o potencial de produtividade dos animais (HUXSOLL *et al.*, 1998; ROÇA *et al.*, 2011; JANETT *et al.*, 2012a; AMATAYAKUL-CHANTLER *et al.*, 2013; MARTI *et al.*, 2015). Estes antagonistas são cada vez mais utilizados para modular a fertilidade, comportamento e a produtividade dos machos, inclusive na castração dos animais (ADAMS, 2005; ANDREO *et al.*, 2013).

A imunocastração baseia-se na aplicação de um medicamento contendo uma forma modificada de GnRH conjugada a uma proteína, capaz de estimular o sistema imunológico do animal a produzir anticorpos específicos contra o GnRH (ZAMARATSKAIA *et al.*, 2007). A utilização do próprio sistema imune do animal para suprimir o GnRH interrompe o eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal, através do estabelecimento de barreira imunológica, a qual impede a passagem de GnRH do local de liberação no hipotálamo ao local de ação na hipófise (BAUER *et al.*, 2008). Ainda não se sabe se realmente, ao cessar a aplicação do medicamento, se há o reestabelecimento dos níveis normais de hormônios, comportamento sócio-sexual e de produção espermática.

O mercado tem ofertado alguns produtos imunocastradores, como o Bopriva®, de ação anti-GnRH, que é usado em duas doses, onde a primeira dose sensibiliza o sistema imunológico e a segunda

dose ativa a resposta imune em 7 a 14 dias após a administração, tendo uma ação prolongada a partir de então. Este produto desencadeia a suspensão temporária da fertilidade dos bovinos, reduz o comportamento sexual e também a agressividade dos animais (HENNESSY, 2008; ZOETIS, 2015).

No intuito de verificar o efeito da imunocastração nos testículos de bovinos, o presente estudo teve o objetivo de avaliar o efeito do medicamento anti-GnRH Bopriva® no perímetro escrotal e na produção e qualidade de espermatozoides de touros de raça Nelore.

MATERIAL E MÉTODOS

Cinco animais da raça Nelore (*Bos taurus indicus*), com 12 meses de idade, foram selecionados da fazenda Capim Branco da Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG. Os animais receberam duas doses (via subcutânea) de Bopriva® (Pfizer Animal Health/Zoetis, Victoria, Austrália) com intervalo de 30 dias, sendo cada dose de 1 mL/animal com 400 µg do produto (dose recomendada pelo fabricante). A primeira dose foi administrada aos 12 meses junto com a primeira coleta de sêmen para avaliação da presença e qualidade dos espermatozoides no ejaculado. Os testículos foram avaliados quando a simetria (método visual) e o perímetro escrotal (PE) mensurado com uma fita métrica flexível na maior curvatura testicular. A pesquisa foi autorizada pela Comissão de Ética na Utilização de Animais da Universidade Federal de Uberlândia (protocolo nº 085/2015).

As coletas e análises do sêmen foram realizadas nos cinco animais a cada 15 dias, totalizando sete coletas por animal. Durante toda a pesquisa, os animais foram mantidos em pastagem de boa qualidade, com mineralização balanceada, mantendo escore de condição corporal de 3 a 4 (escala de 1-5, MACHADO *et al.*, 2008).

As amostras de sêmen foram coletadas de todos os animais no mesmo dia utilizando o método de eletroejaculação e foram analisadas física e morfológicamente de acordo com as normas do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA, 2013).

Para as análises físicas de motilidade progressiva (porcentagem) e vigor (1-5) do sêmen feitas a campo em seguida à coleta, foi utilizada uma gota de sêmen sobre a lâmina de vidro recoberta com lamínula e observada em microscópio óptico. Em laboratório foi determinada a concentração de células/mL utilizando a câmara de Neubauer e a

morfologia espermática utilizando o método de preparação úmida, sob microscopia de contraste de fase, verificando a porcentagem de anormalidades dos espermatozoides na cabeça, peça intermediária e cauda, conforme recomendação do CBRA (2013).

A análise estatística foi realizada com auxílio do software SAS (SAS Inst., Inc., Cary, NC). As variáveis contínuas foram avaliadas quanto à normalidade dos resíduos pelo procedimento Univariate e submetidas ao teste de Bartlett para analisar a homogeneidade das variâncias. As variáveis dependentes de distribuição normal (paramétricas) foram expressas em média e erro padrão da média (média \pm EPM). Para determinar o efeito das coletas nas variáveis dependentes, os dados foram analisados por medidas repetidas no tempo usando o procedimento Glimmix do SAS (SAS Inst., Inc., Cary, NC). Foram consideradas como diferença significativa entre as variáveis testadas o $P < 0,05$ e tendência $P < 0,10$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 ilustra as características do perímetro escrotal dos animais da raça Nelore tratados com Bopriva®. Foi verificado redução do perímetro escrotal (PE) a partir da 5ª coleta (60 dias após a primeira aplicação de Bopriva), sendo que até a 4ª coleta não foi observada diferença entre as medições. As coletas 6 e 7 não apresentaram diferença e na coleta 6 foi observada a menor média de PE (26,2 cm). A redução do PE foi significativa ($P=0,0056$) e na média em torno de 2 cm nos animais. Resultados semelhantes foram observados por JANETT *et al.* (2012a) que também verificaram em animais pré-púberes da raça holandesa tratados com duas doses de Bopriva® aos 8 meses, redução no PE em torno de 2,2 cm. Da mesma forma, JANETT *et al.* (2012b)

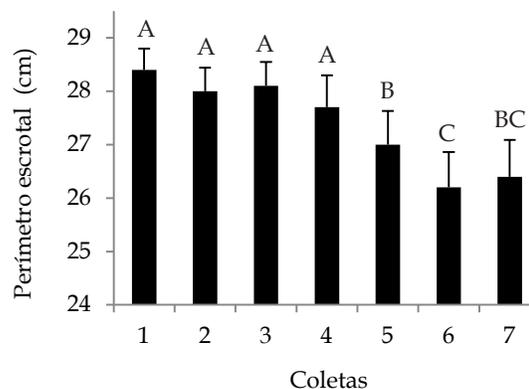


Figura 1. Perímetro escrotal dos animais da raça Nelore tratados com Bopriva®. Letras diferentes indicam diferença estatística.

verificaram inibição da secreção de LH em animais pré-púberes após 10 semanas da primeira aplicação, com queda da concentração de testosterona que ficou muito baixa por 22 semanas, sendo que estes animais mostraram também atraso no crescimento dos testículos e menor perímetro escrotal. THEUBET *et al.* (2010) também relataram que animais tratados com Bopriva® mostravam diminuição do diâmetro dos túbulos seminíferos, levando assim uma redução no crescimento testicular, o que foi confirmado pelos estudos técnicos da ZOETIS (2015).

Considerando a coleta 1 como testemunha, foi observado de acordo com a Tabela 1, que a partir da 3ª coleta (30 dias após a 1ª aplicação de Bopriva®), a motilidade diferiu das demais coletas ($P=0,0183$), com redução de 66% na 1ª coleta para 20% na 5ª coleta, com leve aumento para 26% na última coleta. Em relação ao vigor, tivemos resultados semelhantes aos da motilidade, com diferenças entre as diversas coletas, que mostrou redução de 2,8 para 1,0 e leve crescimento para 1,3 no mesmo

Tabela 1. Motilidade, vigor, concentração espermática e defeitos totais morfológicas totais no sêmen dos animais da raça Nelore tratados com Bopriva®

Coleta	Motilidade (%)	Vigor (1-5)	Concentração (Milhões)	Defeitos totais (%)
1	66 \pm 2,44 A	2,8 \pm 0,2 A	296,2 \pm 135,57 A	42,2 \pm 7,39 BC
2	56 \pm 6,78 AB	2,2 \pm 0,2 AB	187,6 \pm 113,81 A	40,0 \pm 6,48 BC
3	48 \pm 9,69 BC	2 \pm 0,27 ABC	101,8 \pm 30,81 A	36,0 \pm 3,13 C
4	34 \pm 2,44 CD	1,6 \pm 0,29 BCD	284,8 \pm 135,75 A	38,8 \pm 5,77 C
5	20 \pm 4,47D	1,0 \pm 0 CD	291 \pm 130,24 A	55,8 \pm 8,52 B
6	23 \pm 8 D	1,3 \pm 0,2 CD	451,6 \pm 202 A	58,2 \pm 5,02 B
7	26 \pm 12,4 D	1,3 \pm 0,5 D	87,8 \pm 50,73 A	75,6 \pm 11,69 A

Médias seguidas de letras diferentes nas colunas indicam diferença estatística ($P < 0,05$).

período. Esta tendência na queda da motilidade e vigor era esperada devido a ação do Bopriva® sobre os testículos, provocando uma interferência na espermatogênese e qualidade dos espermatozoides.

Resultados de motilidade seminal, semelhantes ao presente estudo, foram observados por JANET *et al.* (2012a) quando utilizaram duas doses de Bopriva® com intervalo de aplicação de 3 semanas em animais de 8 meses da raça holandesa verificando motilidade entre 68% e 26%, com média de 43%, sendo que a média verificada neste estudo foi de 39%. No presente estudo, a redução na qualidade seminal foi possivelmente devido a redução nos níveis circulantes de testosterona, pois a testosterona tem importante papel nos estágios finais da produção espermática (HAN *et al.*, 2015). AMATMYAKUL-CHANTLER *et al.* (2013) também observaram redução significativa nos níveis de testosterona, em torno de 34% quando utilizaram Bopriva® em animais de 20 meses de idade.

Analisando a concentração espermática verificada nas diversas coletas (Tabela 1), foi observado grande variação na quantidade de células, porém com redução ao longo das coletas quando comparada com a inicial. Foi verificada variação de 87,8 a 296,2 milhões de espermatozoides, com média de 242,9 milhões. Vale salientar que a coleta de sêmen foi realizada por eletroejaculação, o que pode trazer grande variação na concentração espermática pois depende da resposta individual do animal, sendo a repetibilidade baixa.

Na primeira coleta, os animais apresentaram 42,2% de patologias espermáticas, semelhante ao relatado por FRENEAU *et al.* (2006) e ASSUMPÇÃO *et al.* (2013) que observaram $43,1 \pm 17,5\%$ e 45% de anormalidades espermáticas, respectivamente, em animais da mesma raça e idade, e que relataram que estas patologias espermáticas diminuem com o

avanço da idade dos animais de forma progressiva. Aumento nas patologias das células espermáticas foi observado a partir de 60 dias da 1ª aplicação de Bopriva® (animais com 14 meses de idade), Tabela 1, semelhante ao observado por THEUBET *et al.* (2010) e, ao contrário do que ocorre com animais que não recebem imunocastrador, mostrando assim que o Bopriva® é capaz provocar uma interferência fisiológica indireta no tecido testicular levando a uma espermatogênese incompleta e uma produção anormal dos espermatozoides. A eficácia da imunocastração por Bopriva® foi verificada na última coleta (7ª) pela porcentagem de espermatozoides com defeitos totais (75,6%) que as demais coletas ($P=0,0162$). A média de defeitos totais verificada foi de 49,51% com variação de 36% a 75,6%.

Os cinco tipos de alterações espermáticas de maior incidência no sêmen dos animais da raça Nelore tratados com Bopriva® pode ser observado na Tabela 2. Foi verificado grande variação nas quantidades de patologias durante as sete coletas, sendo que algumas seguem crescimento progressivo como cauda enrolada, cauda fortemente dobrada e enrolada e cabeça isolada, enquanto que outras se mantêm em médias semelhantes mostrando apenas variações entre as coletas. Vale destacar a alta incidência de gota citoplasmática proximal na 5ª coleta e de cauda enrolada e cabeça isolada nas últimas coletas, o que indica que o Bopriva® afetou a produção normal de testosterona, levando a problemas na produção espermática e na maturação das células no epidídimo, respectivamente, que são dependentes de testosterona. Espermatogênese incompleta com redução na produção de espermátides e da qualidade do sêmen também foi relatada por THEUBET *et al.* (2010) em animais tratados com Bopriva®, como observado neste estudo.

Tabela 2. Médias descritivas das principais alterações morfológicas dos espermatozoides verificadas no sêmen dos animais da raça Nelore tratados com Bopriva®

Coleta	¹ Alterações morfológicas dos espermatozoides (%)				
	GCP	CD	CFDE	CE	CI
1	15,0 ± 5,83	10,4 ± 5,04	7,7 ± 4,80	3,5 ± 1,69	1,8 ± 2,30
2	14,0 ± 3,08	11,6 ± 7,70	4,0 ± 2,39	3,3 ± 0,57	3,5 ± 2,82
3	11,8 ± 4,13	8,8 ± 5,58	5,4 ± 4,97	2,0 ± 2,94	5,1 ± 1,57
4	9,8 ± 3,41	7,2 ± 1,27	7,0 ± 5,95	3,7 ± 1,70	6,6 ± 3,50
5	23,0 ± 10,07	6,7 ± 4,22	9,7 ± 3,63	3,5 ± 2,12	10,2 ± 2,98
6	17,0 ± 8,49	7,5 ± 3,53	10,6 ± 5,94	6,2 ± 1,02	13,8 ± 2,67

¹GCP: gota citoplasmática proximal; CD: cauda dobrada; CFDE: cauda fortemente dobrada e enrolada; CE: cauda enrolada; CI: cabeça isolada.

Valores semelhantes ao presente estudo, nos defeitos totais das células espermáticas, foram observados por JANETT *et al.* (2012a) que detectaram uma porcentagem de 16% a 72% (média de 29%) em animais de 8 meses da raça holandesa imunizados com Bopriva®, e o defeito mais prevalente foi defeito de acrossoma, diferentemente desta pesquisa onde não foi verificado tal defeito.

CONCLUSÃO

O medicamento Bopriva® causa redução do perímetro escrotal e interfere na qualidade do sêmen dos animais da raça Nelore, reduzindo a motilidade do sêmen e elevando a porcentagem de anormalidades espermáticas totais do ejaculado.

AGRADECIMENTO

A Pfizer saúde animal/ Zoetis Brasil pela concessão do medicamento Bopriva® utilizado neste estudo.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, T.E. Using gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and GnRH analogs to modulate testis function and enhance the productivity of domestic animals. **Animal Reproduction Science**, v.88, p.127-139, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2005.05.006>
- AMATAYAKUL-CHANTLER, S., HOE, F., JACKSON, J. A., ROCA, R. O., STEGNER, J. E., KING, V., WALKER, J. Effects on performance and carcass and meat quality attributes following immunocastration with the gonadotropin releasing factor vaccine Bopriva or surgical castration of *Bos indicus* bulls raised on pasture in Brazil. **Meat Science**, v.95, n.1, p.78-84, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.04.008>
- ANDREO, N.; BRIDI, A.M.; TARSITANO, M.A.; PERES, L.M.; BARBON, A.P.A.C.; ANDRADE, E.L.; PROHMANN, P.E.F. Influência da imunocastracão (Bopriva®) no ganho de peso, características de carcaça e qualidade da carne de bovinos Nelore. **Semina: Ciências Agrárias**, v.34, n.6, supl.2, p. 4121-4132, 2013. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2013v34n6supl2p4121>
- ASSUMPÇÃO, T.I.; SOUZA, M.A.; ALBERTON, C.; PALLAORO, R.; KITAGAWA, C.; SILVA, M.A.M. Características reprodutivas de machos bovinos da raça Nelore da fase pré-púbere à maturidade sexual. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v.20, n.3, p.148-154, 2013. <https://doi.org/10.4322/rbcv.2014.062>
- BAUER, A.; LACORN, M.; DANOWSKI, K. e CLAUS, R. Effects of immunization against GnRH on gonadotropins, the GH-IGF-I-axis and metabolic parameters in barrows. **Animal**, v.2, n.8, p.1215-1222, 2008. <https://doi.org/10.1017/s1751731108002346>
- COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL - CBRA. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. 3. ed. Belo Horizonte: CBRA, 2013. 104p.
- FRENEAU, G.E.; VALE FILHO, V.R.; MARQUES JUNIOR, A.P.; MARIA, W.S. Puberdade em touros Nelore criados em pasto no Brasil: características corporais, testiculares e seminais e de índice de capacidade andrológica por pontos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, p. 1107-1115, 2006. <https://doi.org/10.1590/s0102-09352006000600020>
- HAN, X.; GU, L.; XIA, C.; FENG, J.; CAO, X.; DU, X.; ZENG, X.; SONG, T. Effect of immunization against GnRH on hypothalamic and testicular function in rams. **Theriogenology**, v.83, p. 642-649, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.10.029>
- HAYDEN, C. GnRH analogues: applications in assisted reproductive techniques. **European Journal Endocrinology**, v.159, supl. 1, p.17-25, 2008. <https://doi.org/10.1530/eje-08-0354>
- HENNESSY, D. Improvac® mode of action. **Technical bulletin**. New Jersey/USA: Pfizer Animal Health, 2008. 4p.
- HUXSOLL, C.C.; PRICE, E.O.; ADAMS, T.E. Testis function, carcass traits and aggressive behavior of beef bulls actively immunized against gonadotropin-releasing hormone. **Journal of Animal Science**, v.76, p. 1760-1766. 1998. <https://doi.org/10.2527/1998.7671760x>
- JANETT, F., GERIG, T., TSCHUOR, A. C., AMATAYAKUL-CHANTLER, S., WALKER, J., HOWARD, R. BOOLLWEIN, H., THUN, R. Vaccination against gonadotropin-releasing factor (GnRF) with Bopriva significantly decreases testicular development, serum testosterone levels and physical activity in pubertal bulls. **Theriogenology**, n.78, p.182-188, 2012(a). <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.01.035>
- JANETT, F.; GERIG, T.; TSCHUOR, A. C.; AMATAYAKUL-CHANTLER, S.; WALKER, J.; HOWARD, R.; PIECHOTTA, M.; BOOLLWEIN, H.; HARTNACKE, S.; THUN, R. Effect of vaccination against gonadotropin-releasing factor (GnRF) with Bopriva® in the prepubertal bull calf. **Animal Reproduction Science**, v.131, n.1-2, p.72-80, 2012(b). <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.02.012>
- MACHADO, R.; CORRÊA, R. F.; BARBOSA, R. T.; BERGAMASCHI, M. A. C. M. Escore da condição

- corporal e sua aplicação no manejo reprodutivo de ruminantes. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2008. 16p. (Circular Técnica n. 57)
- MANELLA, M.; BOIN, C. **Vacinas para castração de bovinos**. 2002. Disponível em <http://www.beefpoint.com.br/radares-tecnicos>. Acesso em: 07 de outubro de 2016.
- MARTI, S.; DEVANT, M.; AMATAYAKUL-CHANTLER, S.; JACKSON, J.A.; LOPEZ, E.; JANZEN, E.D.; SCHWARTZKOPF-GENSWEIN, K.S. Effect of anti-gonadotropin-releasing factor vaccine and band castration on indicators of welfare in beef cattle. **Journal of Animal Science**, v.93, n.4, p.1581-1591, 2015. <https://doi.org/10.2527/jas.2014-8346>
- MOREIRA, P.S.A.; LOURENÇO, F.J.; LIMA, C.C.; FARIA, F.F.; EL FARRA, A.; ROMERO, N.B. Desempenho produtivo e características de carcaça de bovinos Nelore submetidos a diferentes métodos de castração. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.10, n.4, p.570-575, 2015. <https://doi.org/10.5039/agraria.v10i4a5150>
- NAZ, R.K.; SAVER, A.E. Immunocontraception for animals: current status and future perspective. **American Journal of Reproductive Immunology**, v.75, n.4, p.426-439, 2015. <https://doi.org/10.1111/aji.12431>
- ROÇA, R. O.; JACKSON, J.A., HOE, F.; STEGNER, J.; SALES, F.R.C.; SILVA, C.R.; LOPEZ, E., KING, V.; AMATAYAKUL-CHANTLER, S. Bopriva®: Its effect on meat and carcass quality in male cattle on pasture. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY, 57, 2011, Ghent, Belgium. **Anais...**, Ghent, Belgium: ICoMST, 2011.
- THEUBET, G.; THUN, R.; HILBE, M.; JANETT, F. Effect of vaccination against GnRH (Bopriva®) in the male pubertal calf. **Schweizer Archiv Tierheilkunde**, v.152, n.10, p.459-469, 2010. <https://doi.org/10.1024/0036-7281/a000106>
- YITBAREK, M.B.; REGASA, F. Reproductive Immunization of Domestic and Wild Animals: Review. **International Journal of Scientific & Technology Research**, v.3, n.4, p.399-412, 2014.
- ZAMARATSKAIA, G., GILMORE, W.J.; LUNDSTROM, K., SQUIRES, E.J. Effects of testicular steroids on catalytic activities of cytochrome P450 enzymes in porcine liver microsomes. **Food and Chemical Toxicology**, n.45, p.676-681, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2006.10.023>
- ZOETIS. **Cenário - Anuário 2015. Bopriva®**, v.3, p.141-143. Disponível em: <https://www.zoetis.com.br>. Acesso em: 15 de outubro de 2016.