

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
ESCOLA DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA  
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL NOS TRÓPICOS**

**DOUTORADO**

**MARCADORES DE FERTILIDADE E ASSOCIAÇÃO DA  
SUPLEMENTAÇÃO EXÓGENA COM PROGESTERONA A  
PROTOCOLOS DE IATF EM GADO DE CORTE**

**MARCUS VINÍCIUS GALVÃO LOIOLA**

**SALVADOR-BAHIA  
NOVEMBRO/2016**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
ESCOLA DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA  
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL NOS TRÓPICOS**

**DOUTORADO**

**MARCADORES DE FERTILIDADE E ASSOCIAÇÃO DA  
SUPLEMENTAÇÃO EXÓGENA COM PROGESTERONA A  
PROTOCOLOS DE IATF EM GADO DE CORTE**

**MARCUS VINÍCIUS GALVÃO LOIOLA**

**SALVADOR-BAHIA  
NOVEMBRO/2016**

**MARCUS VINÍCIUS GALVÃO LOIOLA**

**MARCADORES DE FERTILIDADE E ASSOCIAÇÃO DA  
SUPLEMENTAÇÃO EXÓGENA COM PROGESTERONA A  
PROTOCOLOS DE IATF EM GADO DE CORTE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em  
Ciência Animal nos Trópicos, da Universidade Federal da  
Bahia, como requisito parcial para obtenção do título de  
Doutor em Ciência Animal nos Trópicos.

Orientador: Prof. Dr. Antonio de Lisboa Ribeiro Filho

**SALVADOR-BAHIA  
NOVEMBRO/2016**

Loiola, Marcus Vinícius Galvão

Marcadores de fertilidade e associação da suplementação exógena com progesterona a protocolos de IATF em gado de corte / Marcus Vinícius Galvão Loiola. --

Salvador, 2016.

127 f.

Orientador: Antonio de Lisboa Ribeiro Filho.

Tese (Doutorado - PPG Ciência Animal nos Trópicos) --  
Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2016.

1. Acetato de melengestrol. 2. anestro. 3. diâmetro folicular. 4. estro. 5. fertilidade. I. Ribeiro Filho, Antonio de Lisboa. II. Título.

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

**MARCUS VINÍCIUS GALVÃO LOIOLA** – Filho de Jaime Gonçalves Loiola Sobrinho e Anita Dourado Galvão Loiola nasceu em vinte e seis de julho de 1986, na cidade de Irecê, Bahia. Concluiu o ensino médio em 2003 e iniciou o Curso de Graduação em 2004 na Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal da Bahia. Formou em Medicina Veterinária no dia 05 de agosto de 2010. Em 2011 ingressou no Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal nos Trópicos, pela Universidade Federal da Bahia, sob a orientação do professor Antonio de Lisboa Ribeiro Filho, defendendo a Dissertação de Mestrado intitulada: “Validação de um Programa de Produção *in vitro* de Embriões bovinos com transporte de oócitos e de embriões por longas distâncias” no ano de 2013. No mesmo ano, iniciou o curso de Doutorado no mesmo Programa de Pós-Graduação e sob a mesma orientação. Apresenta esta Tese à consideração e análise da Douta Banca Examinadora como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Doutor em Ciência Animal nos Trópicos.

“FÉ, FORÇA E FOCO!”

Dedico este trabalho à minha família, em especial minha esposa e meu filho pela força, carinho, dedicação e companhia diária e meu pai pelo incentivo e apoio sempre. Aos professores, colegas, amigos e alunos com os quais compartilhei momentos importantes e decisivos para seguir em frente nesta caminhada na busca incessante pelo crescimento espiritual, pessoal e profissional.

## AGRADECIMENTOS

À Deus, pelo dom da vida, fidelidade, bênçãos, amor e perdão. Por escutar minhas orações e colocar pessoas maravilhosas em minha vida. A ti toda honra e toda glória!

À toda a minha família, base de sustentação e princípios. Fonte inesgotável de força, carinho e afeto. Agradeço em especial ao meu filho Emerson e minha esposa Tamira, vocês são os responsáveis por mais esta vitória. Muito obrigado pelas orações sinceras, por cada sorriso, cada lágrima, pelos momentos de alegria e descontração durante a realização deste trabalho, tão importante para me dar força e perseverança.

Aos meus pais Jaime, Anita (*in memoriam*), Dene e Dadá, exemplos que me inspira. O carinho e o amor de vocês para comigo foi necessário e importante em muitas circunstâncias, muito obrigado pelo incentivo e confiança de sempre.

Aos irmãos Jardel, Fernando, Emerson (*in memoriam*), Ricardo, Ana e Denise. A vida nos levou a trilhar por horizontes diferentes, mas vocês estão nas melhores lembranças de tudo que vivi até o momento, vale muito a pena cada instante que estamos juntos.

Aos demais familiares, tios, tias, sobrinhos, sobrinhas, primos e primas pela constante presença, carinho e consideração, mesmo com as dificuldades da distância em muitos momentos.

Ao professor Dr. Antonio de Lisboa Ribeiro Filho, exemplo de ser humano e profissional que inspira a todos em sua volta. Agradeço por todos os ensinamentos, oportunidades e conselhos. “Professores excelentes ensinam para uma profissão. Professores brilhantes ensinam para a vida.” Muito obrigado pela confiança depositada, pelo convívio durante todos esses anos e pelas proveitosas e agradáveis conversas sobre a medicina veterinária e sobre a vida.

Ao professor Marcos Chalhoub Coelho Lima, um grande mestre e amigo. Obrigado por todas as oportunidades, pela enorme contribuição na minha carreira profissional e por disponibilizar de seu tempo para me ouvir, aconselhar e ensinar.

À todos os funcionários e professores da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia (EMEVZ) da UFBA. O professor Rodrigo Bittencourt pela disponibilidade sempre que necessário e pelas contribuições relevantes para este trabalho, o professor

Alberto Gusmão pela amizade e ensinamentos, a professora Thereza e Caio pela colaboração nas análises estatísticas.

Aos colegas de pós-graduação, Alexandra, Priscila, Bruno Henrique, Endrigo Adonis, Mariana Andrade, Gabriel e Elisiane e os amigos de profissão, Carlos Henrique, Velho Berty, Zé de Bia e Sidinelson, pelo convívio, amizade, e ensinamentos nestes últimos anos.

Aos Pombalenses Alessandro e Aloísio pela amizade, respeito e pelo auxílio no desenvolvimento dos experimentos e construção do trabalho.

À todos os estagiários, funcionários e residentes do Grupo de Estudo em Reprodução Animal (GERA) pelas contribuições e aprendizados. Quando todos se juntam, o melhor acontece e as conquistas aparecem.

À EMEVZ da UFBA e o PPG em Ciência Animal nós Trópicos pela oportunidade e por proporcionar a realização de mais uma etapa importante da minha vida.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos de suma importância para desenvolvimento deste trabalho.

À Fazenda Api, pela parceria nos últimos anos que permitiu a realização destes experimentos, em especial aos proprietários, família Mariani Bittencourt em nome do Dr. Marcos Mariani e o responsável técnico Dr. Francisco Nogueira. Aos funcionários que colaboraram direta ou indiretamente para a obtenção destes resultados. Em especial a competente e animada equipe técnica formada por Dil, Manha, Nino, Toinho, Roberto, Bida, Viviane e Uires.

A empresa Zoetis, pelos produtos cedidos para a realização dos experimentos e seus representantes Dr. Paulo Dultra, Alexandre Silva, Leonardo e Waldir (Insemine).

## LISTA DE TABELAS

### **Capítulo 1 - Marcadores associados à fertilidade de fêmeas bovinas da raça Nelore em programas de inseminação artificial em tempo fixo.**

		Página
Tabela 1.	Taxa de concepção de fêmeas bovinas da raça Nelore submetidas a um programa de IATF de acordo com a presença (C/CL) ou não (S/CL) de CL no início do protocolo.....	43
Tabela 2	Taxa de concepção de fêmeas bovinas da raça Nelore submetidas a um protocolo de IATF de acordo com o Índice de Escore Corporal (IEC).....	45
Tabela 3.	Taxa de concepção de fêmeas bovinas da raça Nelore submetidas a um protocolo de IATF de acordo com a expressão do estro durante o protocolo.....	47
Tabela 4.	Taxa de concepção de fêmeas bovinas da raça Nelore submetidas a um protocolo de IATF de acordo com o diâmetro do folículo pré-ovulatório no momento da inseminação (DFOL).....	49

### **Capítulo 2 - Suplementação com uma fonte exógena de progesterona após inseminação como alternativa para incrementar a taxa de concepção de fêmeas bovinas da raça Nelore em programas de IATF.**

		Página
Tabela 1.	Taxa de concepção de fêmeas bovinas da raça Nelore submetidas a um protocolo de IATF e tratadas (C/MGA) ou não (S/MGA) com 2,28g de MGA <sup>®</sup> Premix entre os dias 13 a 18 após as inseminações.....	71
Tabela 2.	Taxa de concepção de fêmeas bovinas da raça Nelore submetidas a um protocolo de IATF e tratadas (C/MGA) ou não (S/MGA) com 2,28g de MGA <sup>®</sup> Premix entre os dias 13 a 18 após as inseminações de acordo com a ciclicidade durante o protocolo.....	74
Tabela 3.	Taxa de concepção de fêmeas bovinas da raça Nelore submetidas a um protocolo de IATF e tratadas (C/MGA) ou não (S/MGA) com 2,28g de MGA <sup>®</sup> Premix entre os	

	dias 13 a 18 após as inseminações de acordo com a expressão (C/ESTRO) ou não (S/ESTRO) de estro.....	76
Tabela 4.	Taxa de concepção de fêmeas bovinas da raça Nelore submetidas a um protocolo de IATF e tratadas (C/MGA) ou não (S/MGA) com 2,28g de MGA <sup>®</sup> Premix entre os dias 13 a 18 após as inseminações de acordo com o diâmetro do folículo pré-ovulatório no momento da IATF (DFOL).....	77

**LISTA DE FIGURAS****Capítulo 1 - Marcadores associados à fertilidade de fêmeas bovinas da raça Nelore em programas de inseminação artificial em tempo fixo.**

Figura 1.	Diagrama esquemático do desenho experimental.....	Página 41
-----------	---------------------------------------------------	--------------

**Capítulo 2 - Suplementação com uma fonte exógena de progesterona após inseminação como alternativa para incrementar a taxa de concepção de fêmeas bovinas da raça Nelore em programas de IATF.**

Figura 1.	Diagrama esquemático do desenho experimental.....	Página 69
-----------	---------------------------------------------------	--------------

**LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

ABIEC: Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne

BE: Benzoato de estradiol

CE: Cipionato de estradiol

CL: corpo lúteo

DFOL: Diâmetro do folículo pré-ovulatório no momento da IATF

E2: Estrógeno

eCG: Gonadotrofina Coriônica equina

FSH: Hormônio folículo estimulante

GnRH: Hormônio liberador de gonadotrofina

h: horas

HDL: Lipoproteína de alta densidade

IA: Inseminação artificial

IATF: Inseminação artificial em tempo fixo

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IEC: Índice de Escore Corporal

IFN-  $\tau$ : Interferon tau

im: intramuscular

LDL: Lipoproteína de baixa densidade

LH: Hormônio luteinizante

LLC: Grandes células luteais

MAP: Medroxiprogesterona

mg: Miligrama

MGA: Acetato de Melengestrol

MHZ: Mega hertz

mm: Milímetro

P<sub>4</sub>: progesterona

PGF<sub>2</sub> $\alpha$ : prostaglandina F<sub>2</sub> $\alpha$

PIB : Produto Interno Bruto

S: Desvio-padrão

SLC: Pequenas células luteais

SPSS: *Statistical Package for Social Science*

UI: Unidades internacionais

VE: Valerato de estradiol

$\chi^2$ : Qui-quadrado

## SUMÁRIO

<b>Marcadores de fertilidade e associação da suplementação exógena com progesterona a protocolos de IATF em gado de corte.</b>	<b>Página</b>
Resumo geral.....	1
Abstract.....	3
Introdução geral.....	5
Revisão de literatura.....	8
Fisiologia do ciclo estral em bovinos.....	8
Controle da dinâmica folicular e da ovulação em fêmeas bovinas.....	11
Sincronização da emergência da nova onda de crescimento folicular	12
Controle da fase luteínica/progesterônica.....	15
Indução sincronizada da ovulação.....	17
Fertilização e desenvolvimento embrionário em bovinos.....	19
Perdas embrionárias em bovinos.....	21
Reconhecimento materno da gestação.....	23
A importância da progesterona para a sobrevivência do concepto.....	26
Acetato de Melengestrol (MGA).....	28
Objetivos.....	30
Hipóteses.....	31

## Capítulo 01

<b>Marcadores associados à fertilidade de fêmeas bovinas da raça Nelore em programas de inseminação artificial em tempo fixo.</b>	<b>Página</b>
Resumo.....	34
Abstract.....	36
Introdução.....	38
Material e Métodos.....	39
Local e animais experimentais.....	39
Manejo reprodutivo e tratamento.....	40
Análise estatística.....	41
Resultados e Discussão.....	42
Presença de CL no início do protocolo.....	42
Índice de escore corporal (IEC).....	44
Expressão do estro.....	46
Diâmetro do folículo pré-ovulatório.....	48
Conclusões.....	51
Referências Bibliográficas.....	52

**Capítulo 02****Suplementação com uma fonte exógena de progesterona após inseminação como alternativa para incrementar a taxa de concepção de fêmeas bovinas da raça Nelore em programas de IATF. Página**

Resumo.....	61
Abstract.....	63
Introdução.....	65
Material e Métodos.....	67
Local e animais experimentais.....	67
Manejo reprodutivo e tratamento.....	68
Análise estatística.....	70
Resultados e Discussão.....	71
Taxa de concepção geral.....	71
Ciclicidade ovariana.....	74
Expressão do estro e diâmetro do folículo pré-ovulatório.....	76
Conclusões.....	78
Referências Bibliográficas.....	79
Considerações finais e implicações.....	86
Referências Bibliográficas.....	87

## RESUMO GERAL

O objetivo deste trabalho foi avaliar possíveis marcadores de fertilidade e a associação com uma suplementação exógena de progesterona após a inseminação sobre a taxa de concepção de fêmeas bovinas da raça Nelore em programas de IATF. Assim, avaliaram-se as implicações práticas do uso de marcadores de fertilidade para o direcionamento da suplementação com progesterona exógena após a inseminação e melhoria dos programas de IATF em bovinos de corte. Esta tese foi dividida em dois capítulos. No primeiro capítulo, estudou-se o efeito da presença ou não de CL no início do protocolo, do índice de escore corporal (IEC), da expressão do estro e do diâmetro do folículo pré-ovulatório sobre a taxa de concepção de fêmeas bovinas da raça Nelore submetidas a um programa de IATF. Observou-se que não houve efeito da presença ou não de CL no início do protocolo e do IEC nas taxas de concepção. Entretanto, animais que expressaram estro entre a retirada do implante intravaginal e a inseminação artificial e tiveram maior diâmetro do folículo pré-ovulatório no momento da inseminação, tiveram maior taxa de concepção após a IATF. O segundo capítulo estudou o efeito da suplementação com acetato de melengestrol (MGA) após a IATF sobre a taxa de concepção de fêmeas bovinas da raça Nelore de forma geral e de acordo com a ciclicidade durante o protocolo, o diâmetro do folículo pré-ovulatório no momento da inseminação e a expressão do estro entre a retirada do implante intravaginal e a inseminação. Observou-se que houve efeito positivo do tratamento com MGA sobre a taxa de concepção em relação aos animais não suplementados. O tratamento com MGA melhorou a taxa de concepção dos animais em anestro, mas não influenciou na taxa de concepção dos animais que estavam ciclando. Melhorou a taxa de concepção independente da expressão ou não de estro, entretanto, em relação ao diâmetro do folículo pré-ovulatório no momento da inseminação, apenas os animais com DFOL >14mm tiveram efeito positivo da suplementação com MGA em relação a taxa de concepção. Os resultados indicam que o diâmetro do folículo pré-ovulatório no momento da inseminação e a expressão de estro após o protocolo de sincronização foram associados a melhores taxas de concepção de fêmeas bovinas da raça Nelore, sendo importantes marcadores de fertilidade, podendo ser utilizados para escolha de estratégias após a IATF que melhorem as taxas de concepção. Além disso, foi possível

obter maiores taxas de concepção através da suplementação com MGA após a IATF em fêmeas bovinas da raça Nelore lactantes e a avaliação da ciclicidade ovariana previamente ao protocolo de IATF mostrou ser um marcador importante na escolha dos animais a serem suplementados com progestágeno, assim como o marcador expressão do estro.

**Palavras- chave:** Acetato de melengestrol, anestro, diâmetro folicular, estro, fertilidade

## ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate possible fertility markers and the association with exogenous progesterone supplementation after insemination on the design rate of Nelore cattle in TAI programs. Thus, the practical implications of the use of fertility markers for the targeting of exogenous progesterone supplementation after insemination and improvement of TAI programs in beef cattle. This thesis was divided into two chapters. In the first chapter, the effect of the presence or not of CL at the beginning of the protocol, the body condition score (BCS), the estrus expression and the preovulatory follicle diameter on the conception rate of bovine Nelore breed submitted to an TAI program. It was observed that there was no effect of the presence or not of CL at the beginning of the protocol and of the BCS at conception rates. However, animals that expressed estrus between intravaginal implant withdrawal and artificial insemination and had a larger preovulatory follicle diameter at the time of insemination, had a higher conception rate after TAI. The second chapter studied the effect of supplementation with melengestrol acetate (MGA) after TAI on the conception rate of Nelore cattle in general and according to the cyclicity during the protocol, the diameter of the preovulatory follicle in the moment of insemination and estrus expression between intravaginal implant withdrawal and insemination. It was observed that there was a positive effect of MGA treatment on conception rate over non-supplemented animals. MGA treatment improved the conception rate of animals in anestrous, but did not influence the design rate of the animals that were cycling. However, in relation to the diameter of the preovulatory follicle at the time of insemination, only animals with  $DFOL > 14$  mm had a positive effect of supplementation with MGA in relation to conception rate. The results indicate that the diameter of the preovulatory follicle at the time of insemination and the expression of estrus after the synchronization protocol were associated with better conception rates of Nelore cattle, being important fertility markers and could be used to choose of strategies after TAI what improve conception rates. In addition, it was possible to obtain higher conception rates through the supplementation with MGA after the TAI in lactating Nelore cattle and the evaluation of the ovarian cyclicity prior to the TAI protocol proved to be an important marker in the choice of animals to be supplemented, as the expression marker of estrus.

**Key-words:** Melengestrol acetate, anestrous, follicular diameter, estrus, fertility.

## INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil está entre os maiores produtores e exportadores de carne bovina do mundo, detém o maior rebanho comercial, com mais de 212 milhões de cabeças, sendo 80% dos animais de raças zebuínas (*Bos taurus indicus*) (IBGE, 2015). Esse setor da economia contribui para o contínuo crescimento do setor agropecuário elevando o agronegócio como um dos principais pilares do desenvolvimento econômico e base de sustentação da balança comercial do país (ABIEC, 2016). Entretanto, apesar da posição de destaque no mercado mundial, o Brasil possui uma pecuária bovina caracterizada por baixos índices de produtividade e o melhoramento genético e a eficiência reprodutiva são metas perseguidas pela pecuária de corte nacional (SÁ FILHO, 2012).

Diversas estratégias e biotecnologias da reprodução estão disponíveis para o incremento dos índices reprodutivos na bovinocultura de corte (BARUSELLI et al., 2004). Dentre elas, a inseminação artificial (IA) destaca-se como uma das ferramentas de grande impacto no melhoramento genético, na produtividade e rentabilidade dos rebanhos (RODRIGUEZ-MARTINEZ et al., 2012). Porém, a grande proporção de animais em anestro no início da estação de monta e as limitações na detecção de cio são entraves à disseminação desta técnica em fêmeas bovinas, principalmente as zebuínas (BÓ et al., 2003; BARUSELLI et al., 2004). Esses animais apresentam estro de menor duração, quando comparadas às fêmeas taurinas e de maior probabilidade de ocorrência noturna, iniciando-se durante a noite ou mesmo ocorrendo apenas durante o período noturno (GALINA et al., 1996; PINHEIRO et al., 1998).

Para difundir o uso desta biotecnologia, diversos protocolos hormonais foram desenvolvidos e aperfeiçoados nos últimos anos. Estes tratamentos permitem a manipulação da dinâmica folicular, sincronização do estro, ovulação e a inseminação de 100% dos animais trabalhados em tempo pré-determinado, sem a necessidade de observação do cio (Inseminação Artificial em Tempo Fixo – IATF) (PURSLEY et al., 1995; SÁ FILHO et al., 2009). Esses protocolos têm aumentado o uso da IA no território nacional e melhorado a eficiência reprodutiva em propriedades de corte (MENEHETTI et al., 2009; SÁ FILHO et al., 2009).

Além de permitir a sincronização do estro e da ovulação, a IATF concentra as inseminações e os nascimentos em épocas programadas, reduzindo o intervalo entre partos e proporcionando ao produtor uma maior flexibilidade no manejo da propriedade

(FURTADO et al., 2011). Estes protocolos evoluíram bastante e atualmente estão consolidados no Brasil e no mundo, todavia, os resultados ainda necessitam ser melhorados (BARUSELLI et al., 2012). Muitos fatores podem interferir no sucesso dos programas de IATF, como por exemplo: a condição corporal dos animais, o status reprodutivo (ciclicidade), a categoria animal, o tipo de protocolo utilizado, o inseminador, a fazenda, o tamanho do folículo pré-ovulatório e a expressão do estro (RIBEIRO FILHO et al., 2013; SARAN JUNIOR et al., 2016; SILVA et al., 2016).

As taxas de gestação alcançadas em bovinos de corte com a utilização dessa tecnologia estão em torno de 40 a 60%, indicando que grande proporção das fêmeas submetidas aos protocolos não atingem resultados satisfatórios com uma única inseminação (MENEGETTI et al., 2009; PERES et al., 2009). Considerando que a taxa de fertilização (oócito fertilizado/ovulação) é alta, atingindo cerca de 90 a 95%, em bovinos de uma forma geral em condições favoráveis, uma parte considerável desta falha pode ser atribuída às perdas embrionárias, ocorrendo principalmente, durante as três primeiras semanas de gestação (SARTORI et al., 2002; FERREIRA, 2010; DISKIN et al., 2011).

Trabalhos recentes têm demonstrado elevadas taxas de mortalidade embrionária em fêmeas bovinas, chegando a 30% até o 27º dia de gestação (WILTBANK et al., 2016). Estes números refletem a complexidade do período de pré-implantação embrionária, compreendido entre a fertilização do oócito e a implantação do concepto, crucial para a determinação do sucesso ou não de uma gestação (DISKIN et al., 2011).

Durante este período o concepto está sobre influência do endométrio uterino para o seu desenvolvimento (BAZER et al., 2011). Toda regulação endometrial como transcrição, secreção e composição do leite uterino (secreções histotróficas) é altamente influenciada pelas concentrações de progesterona (P4) (FORDE et al., 2009). Níveis ideais deste hormônio são fundamentais para a harmonia do ambiente uterino, estabelecimento e manutenção da gestação (MANN et al., 2006).

A deficiência na concentração de P4 no início da gestação tem sido relacionada com alterações na função uterina e modificações na transcrição de genes envolvidos com a produção e composição das secreções histotróficas (ATKINS et al., 2013; MINTEN et al., 2013). Em contrapartida, concentrações ideais de P4 após as inseminações, são benéficas em aumentar a receptividade uterina, melhorar o

desenvolvimento do conceito, favorecer a produção de Interferon- $\tau$  (IFN- $\tau$ ) e, conseqüentemente, incrementar o sucesso gestacional.

Portanto, manipular o ambiente endócrino no início da gestação, alterando os níveis séricos de P4, pode ser uma alternativa eficiente para melhoria dos índices reprodutivos (SOUZA, 2015). Recentemente, Wiltbank et al. (2014) verificaram que muitos grupos de pesquisa tentaram elevar as concentrações de P4 após as inseminações em fêmeas bovinas usando uma variedade de estratégias, como por exemplo, a suplementação com fontes exógenas deste hormônio. Em grande parte dos experimentos o sucesso na elevação dos seus níveis séricos foi alcançado, entretanto, quando avaliado o efeito na melhoria da fertilidade, os resultados são bastante inconsistentes, apresentam efeitos positivos, negativos ou não interferem nas taxas de concepção (MANN e LAMMING, 1999; FUNSTON et al., 2005; WILTBANK et al., 2011; NASCIMENTO et al., 2013).

Nestes trabalhos, a taxa de concepção foi avaliada de forma global, não levou em consideração uma variedade de fatores existentes dentro de um mesmo grupo de fêmeas, que pode comprometer os níveis plasmáticos de P4 no início da gestação de forma diferente, podendo existir ou não a necessidade de um suporte exógeno deste hormônio dentro de um mesmo grupo de animais tratados, como por exemplo, a ciclicidade das fêmeas antes do protocolo, a categoria animal trabalhada, o índice de escore corporal (IEC), o diâmetro do folículo pré-ovulatório e a expressão do estro (RIBEIRO FILHO et al., 2013; BARUSELLI et al., 2004; BARREIROS et al., 2014; WILTBANK et al., 2014; PLUGIESI et al., 2016)

Sendo assim, o conhecimento prévio desses marcadores de fertilidade em programas de IATF e a categorização dos animais de acordo com os mesmos antes do tratamento com P4, apresenta-se como uma importante estratégia, pois permite um direcionamento dos animais que realmente precisam ser suplementados e com isto resultados mais fidedignos.

## REVISÃO DE LITERATURA

### Fisiologia do ciclo estral em bovino

O ciclo estral é o período compreendido entre duas ovulações, de maneira mais perceptível, abrange o intervalo entre dois estros (HAFEZ e HAFEZ, 2004). Durante este ciclo, tem-se um conjunto de modificações endócrinas, regidas pela interação dos hormônios secretados pelo hipotálamo, hipófise, ovários e útero, na qual possibilitam alterações comportamentais e a nível de órgãos genitais (FERREIRA, 2010).

Nesta espécie, o ciclo estral tem duração média de 21 dias, com uma variabilidade de 16 a 25 dias, a depender do número de ondas foliculares que se desenvolve durante o mesmo, apresenta normalmente duas a três, e com menor frequência, uma ou quatro ondas de desenvolvimento folicular (SIROIES e FORTUNE, 1988; ALVES et al., 2002). Neste sentido, Ginther et al. (1989) verificaram correlação positiva entre o número de ondas e a extensão do ciclo estral, visto que, as fêmeas bovinas com duas e três ondas foliculares apresentavam 20,4 e 22,8 dias de duração do ciclo, respectivamente.

As fêmeas bovinas são classificadas como poliéstrica anual, dado que apresentam estro durante todo ano (HAFEZ; HAFEZ, 2004). Apesar da possibilidade de ciclar durante todo ano, nas regiões tropicais, um importante fator que limita esses animais a reprodução é a nutrição, visto que durante períodos de escassez de alimento, se observa um alto índice de vacas em anestro (SHORT et al., 1990).

O ciclo estral pode ser dividido em duas fases distintas, a depender da estrutura dominante que se encontra no ovário, caracterizando-se como fase folicular quando se tem um folículo pré-ovulatório e fase luteal, quando o corpo lúteo está presente (FORDE et al., 2011).

A fase luteal ou progesterônica consiste na etapa mais longa do ciclo, é definida por alta concentração sanguínea de P4, estendendo-se da ovulação, considerada o dia “0” do ciclo estral, até a luteólise, que ocorre aproximadamente no 16º dia. Esta fase é constituída pelos estágios de metaestro, período pós-ovulatório em que o CL inicia o seu desenvolvimento, com duração média de dois a três dias, e por fim, o estágio de

diestro, no qual observa-se um corpo lúteo já maduro e produzindo níveis significantes de P4, com duração de 13 a 15 dias, em média (SENGER, 2003).

A fase folicular ou estrogênica é caracterizada por altas concentrações de estrógeno (E2) produzido pelo folículo dominante, iniciando com a lise do corpo lúteo e cessando no momento da ovulação, o que compreende em média do 17º ao 21º dia do ciclo estral. O período estrogênico é caracterizado pelo proestro, com duração média de três dias, inicia-se após a regressão do CL e termina com o aparecimento do estro, que possui duração de 14 horas em média (PETER et al., 2009).

Para manter uma constante ciclicidade, passando por todos os eventos que compõe o ciclo estral, é necessária uma regulação na liberação de diversos hormônios, os quais, agem por mecanismos de retroalimentação (feedback), desencadeando uma cascata neuroendócrina nas glândulas que compõe o sistema reprodutivo (FERREIRA, 2010). O eixo hipotálamo-hipófise gonadal é a unidade funcional de integração dos sistemas nervoso central e endócrino, que regula importantes funções metabólicas, tais como crescimento, lactação, reprodução e equilíbrio hídrico (GONZÁLEZ, 2002).

O principal hormônio produzido pelo hipotálamo que regula a reprodução, o GnRH (hormônio liberador de gonadotrofina), apresenta dois locais distintos de produção e secreção: centros controladores de secreção tônica, que secretam o GnRH de maneira contínua e os centros controladores da onda pré-ovulatória, que liberam grandes quantidades deste hormônio de uma só vez (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

Uma vez secretado pelo hipotálamo, o GnRH é liberado no sistema porta-hipotalâmico-hipofisário, chegando até a hipófise e, desta maneira, estimula a produção e liberação das gonadotrofinas: Hormônio Folículo Estimulante (FSH) e Hormônio Luteinizante (LH) (RATHBONE et al., 2001).

Ao serem distribuídas na circulação sanguínea, as gonadotrofinas chegam até o ovário, estimulando a gametogênese e a produção de hormônios esteróides e proteicos. O ovário participa de forma ativa, ao desenvolver glândulas acessórias transitórias: folículo, que produz o E2 e a inibina e, o corpo lúteo, principal produtor de P4 (SENGER, 2003). Finalizando a cascata, o endométrio atua por meio da produção e liberação da prostaglandina (PGF2 $\alpha$ ) (TREVISOL et al., 2013).

Nos zebuínos, cerca de 30 a 50 folículos são recrutados a cada onda de desenvolvimento folicular, no entanto, normalmente apenas um folículo da última onda

é ovulado (SARTORI et al., 2010). Cada onda tem duração média de 9 a 10 dias, sendo caracterizada pela ocorrência de cinco eventos: emergência, desvio, seleção, dominância e atresia folicular (IRELAND et al., 2001)

No dia 0, logo após a ovulação, inicia-se o ciclo estral. Nesse momento, há uma reorganização das células da granulosa e da teca (que compõe o folículo) para o processo de luteinização, formando um corpo lúteo capaz de produzir altas concentrações de P4 a partir do terceiro ou quarto dia (FIELDS e FILEDS, 1996). Com a ovulação, tem-se uma queda drástica de E2 e inibina, deste modo, o FSH que estava sendo regulado negativamente por esses hormônios, passa a ser significativo na circulação, levando a emergência da primeira onda de desenvolvimento folicular (ADAMS et al, 1992).

Estes folículos continuam a crescer igualmente sob estímulo do FSH até a fase de desvio, quando atingem aproximadamente 6mm de diâmetro, neste momento, começam a diminuir os níveis de FSH, devido a retroalimentação negativa do E2 e da inibina, e ocorre a divergência no crescimento folicular, onde apenas alguns folículos continuam o crescimento, mesmo com a diminuição dos níveis de FSH (MIHM et al., 2002). Após a fase de desvio, tem-se a seleção folicular, quando normalmente apenas um único folículo torna-se dominante, ao adquirir diâmetro aproximado de 9,5mm, com isso, este folículo continua a se desenvolver, pois é capaz de trocar a dependência da gonadotrofina, de FSH para LH (GONG et al., 1996).

Com o desenvolvimento do folículo dominante, verifica-se maior concentração de E2 e inibina, o que leva a queda nos níveis de FSH e conseqüentemente atresia dos folículos subordinados (IRELAND et al, 2001). Com o corpo lúteo ativo, existem altas concentrações de P4, que exercem retroalimentação negativa sobre a liberação de LH na hipófise anterior, impedindo assim, o desenvolvimento e maturação do folículo dominante, que logo entra em regressão (MIHM et al., 2002).

Uma vez cessada a produção de estrógeno e inibina pelo folículo dominante que entrou em regressão, verifica-se novamente a liberação de FSH pela hipófise, promovendo a emergência de uma nova onda folicular, que ocorre por volta do décimo dia no ciclo com duas ondas e, no nono dia do ciclo com três ondas (SIROIES; FORTUNE, 1988; GONG et al., 1996). Nas vacas que apresentam três ondas durante o ciclo estral, a terceira onda de desenvolvimento folicular surge aproximadamente no

décimo sexto dia (GUINThER et al., 1989). Cerca de 16 a 18 dias após a ovulação, quando o útero não identifica a presença de um embrião, o endométrio secreta  $PGF2\alpha$ , causando a luteólise (TREVISOL et al., 2013).

Neste momento, com baixos níveis circulantes de P4, os pulsos de liberação do LH ocorrerão em alta frequência e baixa amplitude, o que promove o crescimento e maturação do folículo dominante, agora denominado de pré-ovulatório (MIHM et al., 2002). O folículo pré-ovulatório possui diâmetro de aproximadamente 11 a 14mm, produz E2 suficiente para induzir o comportamento de estro e posteriormente estimular os centros controladores da onda pré-ovulatório no hipotálamo, possibilitando um pico de GnRH seguido de LH, e assim, promover a ovulação (SARTORI et al., 2010; FORDE et al, 2011).

Os bovinos em estro são caracterizados por alterações comportamentais e morfológicas, podendo-se evidenciar inquietação, vocalização excessiva, inapetência, vulva edemaciada e brilhante, secreção vaginal, comportamento homossexual de montar e, principalmente, deixar ser montada por vacas e touros, demonstrando assim, a receptividade para a realização da cópula (FERREIRA, 2010). A identificação correta do cio é muito importante para a realização da IA, visto que estes sinais precedem o momento da ovulação, possibilitando a deposição do sêmen na hora mais adequada (NEBEL et al., 2000).

### **Controle da dinâmica folicular e da ovulação em fêmeas bovinas**

A definição da dinâmica folicular nos termos inicialmente propostos por Savio et al. (1988) e Sirois e Fortune (1988) tornou possível o embasamento para elaboração dos atuais protocolos hormonais. Segundo Barros e Ereno (2004), a ampliação do conhecimento sobre a fisiologia do ciclo estral e particularmente, ovariana ocorrido na última década permitiu o desenvolvimento de diversos protocolos hormonais, capazes de regular o crescimento folicular e o momento da ovulação, possibilitando a IATF consolidar-se como uma ferramenta de melhoramento genético e da eficiência reprodutiva no rebanho bovino.

Para Ribeiro Filho (2001), os protocolos de sincronização/indução do estro visando à prática da IATF devem ser empregados objetivando: sincronizar a emergência de uma nova onda de crescimento folicular, terminar a fase luteínica de forma sincronizada e sincronizar as ovulações.

#### *Sincronização de uma nova onda de crescimento folicular*

Os tratamentos visando o controle do ciclo estral inicialmente concentraram-se sobre a sincronização do comportamento do cio como base para a inseminação. Os primeiros fármacos utilizados com esta finalidade foram progestágenos sintéticos empregados com o objetivo de alongar o período do diestro, de maneira que a supressão do tratamento resultava em sincronização do comportamento estral (MACMILLAN, 2010).

Contudo, a necessidade de melhorar os índices de concepção utilizando estes protocolos fez com que pesquisadores buscassem novas estratégias para os programas de sincronização existentes. Nesse sentido, um dos estudos precursores e que provavelmente resultou em atresia e emergência de uma nova onda folicular surgiu do trabalho de Wiltbank et al. (1965), que atribuíram as baixas taxas de fertilidade às altas concentrações de P4 e resolveram incluir o valerato de estradiol (VE) como um agente luteolítico nos protocolos. A hipótese dos autores quanto à regressão luteal foi confirmada, no entanto, a possível regressão do pool de folículos com surgimento de uma nova onda folicular subsequente não puderam ser observadas pela falta de ferramentas tecnológicas.

Na década de 90, com o conhecimento sobre os padrões de ondas foliculares e a possibilidade da utilização da ultrassonografia para acompanhamento da dinâmica folicular, foi possível o entendimento do efeito dos protocolos que utilizavam P4 e associavam seu uso aos estrógenos (MACMILLAN, 2010).

Desta forma, Bo et al. (1991) constataram que a administração do VE junto a inserção de um implante de P4 estava associado a uma redução no diâmetro médio dos maiores folículos por um período de cinco dias; posteriormente, os folículos maiores tornavam a aparecer nas imagens ecográficas, possivelmente originados de uma nova onda folicular.

Posteriormente, uma série de experimentos buscou avaliar o efeito de diferentes ésteres de estradiol sobre o surgimento de uma nova onda de desenvolvimento folicular. Thundathil et al. (1998), ao iniciarem o tratamento em um estágio aleatório do ciclo estral, com a utilização de 1mg de Cipionato de estradiol (CE) associado a um dispositivo de P4, constataram uma limitada sincronia no surgimento da nova onda folicular ( $3,4 \pm 2,1$  dias). Fato semelhante foi observado por Colazo et al. (2003) ao compararem o efeito de 5,0mg de  $17\beta$ -estradiol ou 1,0mg de CE, empregados junto a inserção do dispositivo de P4, os autores concluíram que a meia vida prolongada do CE resultava em uma menor sincronia da onda ( $4,1 \pm 0,4$  dias), em relação a utilização do  $17\beta$ -estradiol ( $3,3 \pm 0,1$  dias).

Rhinehart et al. (2002) realizaram um experimento para comparar a eficácia do  $17\beta$ -estradiol, do benzoato de estradiol (BE) e do CE em induzir regressão do folículo dominante e estimular o recrutamento de nova onda de crescimento folicular em novilhas de corte. Os autores realizaram duas avaliações ultrassonográficas, três e um dia antes da administração de 1,0mg dos E2 (considerado D0) para classificá-los nas seguintes fases: em crescimento, estático ou em regressão. Foi verificado que a atresia do folículo dominante três dias após o tratamento ocorreu em 60% das novilhas que receberam o CE, em 80% das novilhas que receberam o  $17\beta$ -estradiol, e em 100% para aquelas tratadas com BE. O número de dias para emergência de nova onda folicular (presença de vários folículos com 5mm) tendeu a ser antecipado nas novilhas tratadas com  $17\beta$ -estradiol ( $3,0 \pm 0,22$  dias) e BE ( $3,2 \pm 0,2$  dias), comparado àquelas que receberam o CE (4,0 dias).

Estudos têm atribuído à meia-vida longa do CE e do VE a emergência de uma onda com intervalo de tempo menos previsível do que a determinada por fármacos de ação mais curta, como o  $17\beta$ -estradiol (THUNDATHIL et al., 1998; COLAZO et al., 2003) ou o BE (RHINEHART et al., 2002). Na presença de P4, todos esses ésteres de estradiol foram eficientes em causar a regressão dos folículos antrais e a emergência de uma nova onda de crescimento folicular, entretanto, o  $17\beta$ -estradiol e o BE, por apresentarem um tempo de meia vida curto, consegue sincronizar de forma mais eficiente à emergência da nova onda de três a quatro dias após o tratamento, tanto em fêmeas *Bos taurus taurus* quanto em fêmeas *Bos taurus indicus* (BO et al., 2002).

Além dos E2 associado a P4, a emergência de uma nova onda pode ser obtida pela administração de análogos do GnRH. Kittok et al. (1973) observaram que repetidas ou a prolongada exposição a este hormônio podia mimetizar uma onda pré-ovulatória de LH em vacas, promovendo a retomada de ciclos estrais fisiológicos em fêmeas portadoras de cistos foliculares.

Macmillan e Thatcher (1991) puderam estabelecer que o GnRH quando utilizado em um determinado momento do ciclo estral tem a capacidade de induzir a ovulação de folículos com mais de 9,0 mm ou promover a atresia de folículos menores; como resultado, ocorre uma padronização do tamanho folicular, predominando folículos de tamanhos intermediários. Associado a esta padronização, em animais que tinham o crescimento da onda interrompida havia um recrutamento de uma nova onda folicular.

Estes resultados foram complementados pelos estudos de Twagiramungu et al. (1995), os quais observaram que a administração de GnRH induzia o pico de LH, resultando na ovulação do folículo dominante ou atresia de folículos menores, com uma nova onda emergindo dentro de 3 a 4 dias após o tratamento. Pursley et al. (1995) desenvolvendo um esquema hormonal baseado no emprego do GnRH observaram que uma nova onda folicular surgia em cerca de 2 a 3 dias em vacas leiteiras e tal evento era observado em 1,5 dias após o tratamento em novilhas.

Martinez et al. (1999) confirmaram que o tempo de emergência da onda está relacionado com a fase de crescimento em que se encontra o folículo no momento do tratamento, adicionalmente, puderam observar que a emergência somente é induzida quando ocorre ovulação em resposta ao tratamento e que a probabilidade deste acontecimento se torna maior quando os folículos estão em fase final de crescimento ou na fase estática de desenvolvimento. Além disso, de acordo com Baruselli et al (2004), o uso do GnRH para a indução da ovulação com a finalidade de sincronizar a emergência de uma nova onda de desenvolvimento folicular, apresenta baixa eficiência em fêmeas *Bos taurus indicus*, principalmente àquelas em anestro pós-parto.

Estudos ainda demonstraram que a cauterização do folículo dominante (KO et al., 1991) ou a sua ablação guiada por ultra-sonografia (BERFELT et al., 1994; BO et al., 1995) anula os efeitos de dominância, levando a uma descarga de FSH e induzindo a emergência de uma nova onda de crescimento folicular em aproximadamente 2 dias (BERFELT et al., 1994).

Todavia, Bó et al. (2003) concluíram que apesar da eficiência desta técnica na sincronização da emergência folicular, é um método que apresenta alto grau de dificuldade de aplicação a campo, sendo pouco utilizada.

#### *Controle da fase luteínica/progesterônica*

Os primeiros trabalhos relatando a manipulação da fase luteínica surgiram na década de 20 quando cobaias submetidas à histerectomia, durante a fase luteal, apresentavam persistência do corpo lúteo, sendo os principais aspectos observados nestes indivíduos, a inibição da ovulação e manutenção do epitélio vaginal em um estágio secretório equivalente ao período de gestação (ROWLANDS e SHORT, 1959).

Posteriormente, conhecendo os efeitos de vasoconstrição da prostaglandina e que estava presente em abundância no tecido uterino, Pharriss e Wyngarden (1969) propuseram-na como um agente potencialmente envolvido com a regressão do corpo lúteo.

Desta forma, a  $PGF2\alpha$  se consolidou como o tratamento mais empregado na sincronização de estro em bovinos (ODDE, 1990). No entanto, existem algumas limitações em seu emprego, pois o sucesso do tratamento depende da presença de um corpo lúteo, já que a ação da luteolisina é provocar a regressão morfológica e funcional dessa estrutura, porém, a resposta à administração de  $PGF2\alpha$  também é influenciada pela sua maturidade, logo, tratamentos realizados no início ou final do ciclo estral não induzem efetivamente a luteólise (WILTBANK, 2000). Para Odde (1990), a responsividade do corpo lúteo à  $PGF2\alpha$  inicia-se no quinto dia do ciclo estral, aumenta até o 12º dia e permanece em fase de platô até o 17º dia; a partir deste momento, inicia-se a regressão espontânea causada pela liberação endógena deste hormônio.

Outra limitação é a grande variabilidade no período de manifestação do estro em fêmeas submetidas ao tratamento com  $PGF2\alpha$ . Somente a partir do conhecimento dos fatores associados a esta variação, foi possível a inclusão deste hormônio nos atuais protocolos para IATF. Sendo assim, Macmillan e Henderson (1984), ao administrarem 0,5 mg de  $PGF2\alpha$  nos dias 6, 10 e 16 do ciclo estral (considerando a observação de cio como dia zero), observaram que o tempo médio de retorno ao estro foi de, respectivamente, 3,7; 4,9 e 3,4 dias. Esta taxa de retorno apresentou uma grande

variabilidade: cerca de 70% dos animais tratados nos dias 6 e 16 apresentaram cio entre 48 a 72h após o tratamento, e menos de 30% dos animais tratados no dia 10 retornaram ao cio entre os dias 4 e 5 pós tratamento. Estes resultados mostraram claramente que a indução da luteólise não resultou em sincronização do estro ou das ovulações, permanecendo a observação de cio um componente necessário nos protocolos. Adicionalmente a resposta ao tratamento parecia ser fortemente influenciada pelo estágio do ciclo estral.

Estas observações foram mais bem compreendidas a partir do trabalho de Kastelic et al. (1990). Os autores observaram que novilhas tratadas com 25 mg de PGF2 $\alpha$ , quando apresentavam folículos em fase final de crescimento ou no início da fase estática, retornavam ao estro 48 a 60 horas após o tratamento. Animais que apresentavam folículos cujo processo de atresia já havia iniciado, exibiam estro cinco a sete dias depois da aplicação da prostaglandina, a este intervalo prolongado de retorno ao estro foi atribuído ao tempo requerido para o folículo originado da nova onda, crescer e desenvolver-se até um estágio pré-ovulatório.

Diante destes resultados e conhecendo os efeitos do GnRH e seus análogos sobre a dinâmica folicular, reportados por Macmillan e Thatcher (1991), diversos protocolos passaram a ser empregados em programas de sincronização de estro combinando a ação da prostaglandina e do GnRH. Nesse sentido, a emprego do GnRH objetiva sincronizar a luteinização folicular para que a utilização da PGF2 $\alpha$  ocorra na presença de um corpo lúteo responsivo à sua ação luteolítica.

Twagiramungu et al. (1992) avaliaram os efeitos de 8  $\mu$ g de busirelina aplicados 6 dias antes de uma injeção de 500  $\mu$ g prostaglandina, em um programa de inseminação artificial. As fêmeas tiveram seu estro controlado do dia 0 (início do tratamento) ao dia 10, sendo inseminadas 12h após a manifestação do cio. Durante o experimento, o número de vacas em estro, taxas de concepção e prenhez foram idênticas em relação ao grupo controle (apenas prostaglandina). A proporção de fêmeas exibindo estro entre os dias 0 e 6 foi inferior em relação ao grupo controle (GnRH: 4,2%; controle: 34,6%), no entanto, a taxa de sincronização foi superior após o dia 6 para os animais tratados com GnRH (83,3% para os animais do tratamento e 50,0% para os animais controle). Através destes resultados, os pesquisadores sugeriram que o pré-tratamento com um

análogo do GnRH para sincronizar a onda folicular e induzir a formação de um corpo lúteo, minimizavam a variabilidade das respostas ao tratamento com a prostaglandina.

Posteriormente, Pursley et al. (1995) propuseram um esquema hormonal que tornou-se conhecido pelo nome de *Ovsynch*. No modelo apresentado, um grupo de animais foram submetidos a aplicação do GnRH em um estágio aleatório do ciclo, com a finalidade de promover a luteinização do folículo dominante e recrutamento de uma nova onda folicular. Se decorrente deste tratamento houvesse a formação de um corpo lúteo funcional, ficava estabelecida a fase de diestro, permitindo o desenvolvimento do folículo selecionado. Desta forma, o término da fase lútea era realizado pela aplicação de uma dose de prostaglandina 7 dias após o primeiro tratamento (GnRH) e esperava-se que neste intervalo, o folículo já tivesse ultrapassado a fase de divergência. Nas 48h seguintes, uma segunda dose de GnRH era empregada com a finalidade de promover a ovulação do folículo dominante.

Da mesma forma que a utilização do GnRH se faz eficiente em promover a ovulação e induzir a formação de um corpo lúteo, a utilização de progesterona/progestágenos são empregadas para simular a fase luteínica. Neste caso, segundo Bo et al. (2002) e Baruselli, et al. (2006), o tratamento padrão consiste na inserção de um dispositivo impregnado de P4 e administração de estradiol (considerado dia zero), utilizados com a finalidade de induzir a emergência de uma nova onda de crescimento folicular e controlar o seu crescimento até o estágio pré-ovulatório. Devido as limitações de alguns ésteres de estradiol em promover a regressão do corpo lúteo, são utilizados a prostaglandina junto com a remoção do dispositivo de P4 no dia 7, 8 ou 9, para assegurar a luteólise, caso haja um corpo lúteo presente e finalizar a fase luteínica de forma sincronizada.

#### *Indução sincronizada da ovulação*

O conhecimento e a precisão do momento das ovulações é um evento determinante sobre os resultados de fertilidade em programas de IATF (PURSLEY et al., 1995; CIPRIANO et al., 2011). Diversos estudos têm demonstrado que o tempo para realização das inseminações artificiais deve estar em consonância com a previsão das ovulações (ROELOFS et al., 2006; AYRES et al., 2008), desta maneira, pensando em

sincronizar os eventos envolvidos com os mecanismos ovulatórios, são empregados indutores hormonais.

Segundo Driancourt (2001), a utilização do GnRH e E2 está entre as possibilidades disponíveis para se induzir as ovulações, estes hormônios passam a estimular a secreção e liberação do LH, fazendo ovular os folículos LH-dependentes. Hafez e Hafez (2004) afirmaram que substâncias que atuam diretamente sobre o processo ovulatório como o LH, ou hormônios cuja estrutura permitam interagir com seus receptores (gonadotrofinas), também são alternativas para estimular as ovulações.

Ferreira (2010) resumiu a utilização dos hormônios que estimulam a liberação do LH baseado em seus respectivos mecanismo de ação: O fato do GnRH estimular diretamente o pico de LH faz com que sua aplicação seja realizada mais tardiamente nos protocolos (dois dias após o término da fase progesterônica). Os E2 por sua vez, precisam estimular a liberação de GnRH a nível hipotalâmico, para então induzir o pico de LH, o que certamente exige maior tempo e por isso sua aplicação deve ser antecipada em um dia ou dois dias.

Diante do exposto, quando o GnRH foi aplicado 48h após a administração da prostaglandina no protocolo denominado *Ovsynch*, Pursley et al. (1995) observaram que as ovulações ocorriam em média 32h depois. Posteriormente, seus resultados foram confirmados por Bodensteiner et al. (1996) ( $32,0 \pm 0,0$ ), Barros et al. (2000) ( $31,7 \pm 1,8$ ) e Fernandes et al. (2001) ( $32,8 \pm 1,6$ h). Baruselli et al. (2003) encontraram valores semelhantes aos autores acima ( $28,5 \pm 9,6$ h), entretanto, o grupo que não recebeu GnRH como indutor, apresentou ovulações mais dispersas ( $24,6 \pm 21,8$ h), salientando a necessidade de agentes que sincronizem as ovulações em programas onde se planeja a IATF.

Quando administrado na ausência da P4, os E2 são capazes de estimular a liberação de GnRH/LH e promover a ovulação do folículo dominante (HAFEZ e HAFEZ, 2004). Para Crepaldi (2009), esta característica fez com que uma variedade de compostos sintéticos com atividade similar aos esteróides naturais fossem sintetizados, e atualmente seu uso têm sido frequentemente associado a programas reprodutivos. Nesse sentido, os E2 mais utilizados como indutores da ovulação são o  $17\beta$ -estradiol, o BE, o CE e o VE (SOUZA et al., 2005).

Souza (2008) salientou que diferenças relacionadas com a estrutura e polaridade molecular entre os ésteres de estradiol resultam em diferentes padrões de liberação da molécula biologicamente ativa, o estradiol-17 $\beta$ . Ainda segundo este autor, a quantidade de estradiol-17 $\beta$  disponível nestes ésteres pode determinar a ação farmacológica destes compostos sobre o desenvolvimento folicular e o surgimento do pico pré-ovulatório de LH.

Sendo assim, a administração de BE induz a ocorrência de pico de LH entre 16 a 24 horas e a ovulação sincronizada entre 44 e 45 horas após o tratamento (HANLON et al., 1997; SALES et al., 2012). O CE, quando administrado no momento da retirada do dispositivo intravaginal, induz o pico de LH entre 45 a 49 horas e a ovulação entre 67 a 70 horas após o tratamento (SALES et al., 2012). Dessa forma, o intervalo entre a retirada da fonte de P4 e a ovulação é semelhante entre o protocolo que administra CE no momento ou BE 24 horas após a retirada do dispositivo de P4 (ANDRADE et al., 2012).

### **Fertilização e desenvolvimento embrionário em bovinos**

As espécies domésticas diferem quanto ao local de deposição de sêmen no trato reprodutivo feminino durante a cópula. Em bovinos na monta natural, uma grande quantidade de espermatozoides é ejaculado na porção cranial da vagina (HAFEZ e HAZEZ, 2004). Entretanto, a utilização da IA permite a deposição do sêmen diretamente no útero, ultrapassando a cérvix e possibilitando o uso de um número reduzido de espermatozoides (GONÇALVES, 2002).

Após a inseminação, o sêmen é exposto a uma série de ambientes distintos que alteram significativamente o número e a função espermática, tendo uma grande perda pelo transporte retrógrado (MULLINS e SAACKE, 1989). Os espermatozoides viáveis que são retidos no trato genital feminino devem atravessar o útero, passar para a tuba uterina pela junção útero-tubárica, interagir com o seu epitélio e sofrer capacitação antes de poder fertilizar o oócito (BERGER, 1996).

Em fêmeas bovinas, ao início do estro, altas concentrações de LH desencadeadas pelas elevadas concentrações circulantes de E2 induzem o reinício da meiose no oócito

e iniciam uma sequência de eventos que levam à ovulação (SENGER, 2003). Quando o folículo se rompe, o oócito rodeado por células do cumulus é liberado na cavidade peritoneal e capturado pelas células epiteliais ciliadas do infundíbulo. O oócito é então transportado através da ampola para a junção istmo-ampolar, onde ocorre a fertilização (SARTORI e DODE, 2008).

Diversos estudos têm relatado uma alta taxa de fertilização após IA de novilhas ou vacas de corte, através de estruturas colhidas da tuba uterina ou do útero, independente de idade ou raça (ROCHE et al., 1981; BREUEL et al., 1993; AHMAD et al., 1995; DUNNE et al., 2000). De acordo com Diskin et al. (2011) a taxa de fertilização de novilhas e vacas de corte ou vacas de leite de produção moderada excede 90%, já vacas de leite de alta produção apresentam taxas menores e com mais variações.

Em revisão efetuada por Santos et al. (2004) é citada uma média de 88,0% de fertilização (75-100%) em rebanhos leiteiros, enquanto Robinson et al. (2008) citam alta taxa de fertilização (90-95%) em condições favoráveis como, sêmen de boa qualidade, correta inseminação e apropriada detecção do cio em bovinos leiteiros. Contudo, resultados inferiores de taxa de fertilização foram observados em circunstâncias específicas. Almeida (1995) observou em vacas leiteiras repetidoras de serviço (repeat-breeders) taxa de fertilização de 62 e 72% e Sartori et al. (2002) encontraram em vacas de leite de alta produção em lactação taxa de fertilização variando de acordo com a estação do ano, com 55% no verão e 87,8% no inverno.

Após a fertilização, o zigoto passa por uma série de divisões celulares (clivagem) e permanece na tuba uterina até o dia 3 ou 4, quando então entra no útero (HAFEZ e HAFEZ, 2004). Diversos estágios do desenvolvimento embrionário inicial são importantes para o crescimento e sobrevivência do embrião. O embrião move-se da tuba uterina para o útero no estágio de oito a 16 células (GREALY et al., 1996).

Com cinco a seis dias de idade o embrião atinge o estágio de 16 a 32 células e estas células começam a se juntar para formar uma esfera compacta denominada mórula. A compactação celular e as junções intercelulares representam o primeiro estágio crítico em que o embrião começa a atuar como um organismo individual. Nos dias sete ou oito, uma cavidade se forma e as células do blastocisto inicial diferenciam-se em massa celular interna, destinada a formar o feto, e trofoblasto, destinado a formar os anexos placentários (PRESTES e ALVARENGA, 2006).

Entre os dias nove e dez, o blastocisto expandido eclode da zona pelúcida e continua a se expandir antes de começar a alongar por volta do dia 13. O alongamento ocorre ao redor do momento do reconhecimento materno da gestação e é acompanhado por um aumento na atividade metabólica e secreção de IFN- $\tau$  (MANN e LAMMING., 1999; THATCHER et al., 2001). Contudo, o alongamento característico do concepto antes da implantação é dependente das secreções do útero. Este alongamento não ocorre *in vitro* (FLECHON et al., 1986) e não ocorre *in vivo* na ausência das glândulas uterinas (GRAY et al., 2002; SPENCER e GRAY, 2006). Vários autores têm tentado induzir o alongamento *in vitro* pelo crescimento de blastocistos em espaços confinados (BRANDAO et al., 2004; ZHAO et al., 2015), mas à medida que a expansão lateral ocorre, os eventos da forma como ocorrem *in vivo* não são reproduzidos, evidenciando a necessidade da exposição ao ambiente uterino para o alongamento do concepto.

A fixação do embrião ao endométrio começa aproximadamente no dia 19 estando à implantação embrionária completa por volta do 42º dia de gestação. A sobrevivência embrionária e o estabelecimento da gestação envolve comunicação ativa e passiva com o útero, um ótimo diálogo entre o embrião em desenvolvimento e sua mãe é essencial para o sucesso do reconhecimento gestacional e a manutenção da prenhez durante o período crítico de peri-implantação (HUE et al., 2012; SPENCER et al., 2015).

A manutenção do CL, como resultado dos sinais embrionários para a mãe, garante a produção continuada de P4, a qual é necessária para preparar o endométrio para implantação e nutrição embrionária. A presença do embrião por volta do dia 16 do ciclo inibe a síntese e liberação de PGF 2 $\alpha$  do endométrio, prevenindo assim a luteólise e o conseqüente o declínio na produção de P4 (MANN e LAMMING, 1999; SENGER, 2003).

### **Perdas embrionárias em bovinos**

Embora falhas na fertilização após a inseminação não pareça ser um grande problema para o estabelecimento da gestação em bovinos, a mortalidade embrionária no estágio inicial de desenvolvimento é apontada como a maior causa de problemas

reprodutivos nestes animais e contribui negativamente com a eficiência reprodutiva e o avanço genético dos rebanhos de corte e de leite, levando a perdas significativas (HANSEN, 2002; PEREIRA et al., 2015). De acordo com Ferreira (2010) o termo morte ou perdas embrionárias deve ser utilizado em casos de perdas gestacionais ocorridas da concepção até o 45º dia de gestação, sendo denominada mortalidade embrionária precoce quando anterior a 24 dias e mortalidade embrionária tardia quando entre 24 a 45 dias de gestação.

Com visto anteriormente, o processo de fertilização, em condições favoráveis, gera índices em torno de 90% (ROBINSON et al., 2008; DISKIN et al., 2011), já as perdas embrionárias em bovinos tem alcançado 29 a 39%, com maior incidência entre os dias oito e dezesseis após a inseminação ou cobertura e com números ainda maiores em bovinos selecionados para a produção de leite (DUNNE et al., 2000).

Muitos trabalhos foram realizados sobre perda embrionária em bovinos há muitos anos atrás (BOYD et al., 1969; AYALON et al., 1978; DISKIN e SREENAN, 1980; ROCHE et al., 1981; MAURER e CHENAULT, 1983). As condutas utilizadas para está avaliação têm sido abater animais em intervalos específicos após a inseminação e colher embriões da tuba uterina ou útero, e mais recentemente, colher embriões *in vivo* do útero utilizando-se lavados uterinos (SARTORI e DODE, 2008).

Diversos fatores que podem estar envolvidos com a mortalidade embrionária em bovinos, são causados por doenças infecciosas (BEARDEN e FUQUAY, 2000; VANROOSE et al., 2000), ou infecções localizadas e restritas a órgãos específicos tais como útero (NAKAO et al., 1992; LOEFFLER et al., 1999) ou glândula mamária (MOORE et al., 1991; SANTOS et al., 2004).

Causas não infecciosa, entretanto, provavelmente contribuem para a maioria das perdas (THATCHER et al., 1994; VANROOSE et al., 2000). Algumas dessas causas são anormalidades cromossômicas, fatores externos (estresse, produtos tóxicos, teratogênicos ou abortivos, e nutrição) e fatores maternos (desbalanços hormonais, lactação e idade). Aspectos técnicos ou relacionados à anatomia e fisiologia que estão associados à fertilidade reduzida em bovinos também foram estudados e incluem: ambiente tubárico e/ou uterino inapropriados (WIEBOLD, 1988; BINELLI et al., 1999) e fertilidade ovocitária reduzida devido a anormalidades foliculares (EICKER et al., 1996).

Recentemente, Wiltbank et al. (2016) descreveram os períodos cruciais para a perda da prenhez durante o primeiro trimestre de gestação em bovinos. Do Dia 8 ao 27, concomitante com o alongamento embrionário e o reconhecimento materno da gestação, as perdas médias são de aproximadamente 30%. Do Dia 28 ao 60, as perdas são de aproximadamente 12%, enquanto que, durante o terceiro mês de gestação, as perdas gestacionais são reduzidas (aproximadamente 2%), mas podem ser elevadas em algumas vacas, particularmente naquelas que carregam gêmeos no mesmo corno uterino.

Essas perdas na fase inicial da gestação, ocorridas devido a problemas inerentes ao próprio embrião ou ao ambiente uterino, estão relacionadas, em sua grande maioria, à ocorrência de problemas de sinalização conceito-maternal (SPENCER et al., 2004). Estudos realizados por Thatcher et al. (2001) mostraram mais de 40% de mortalidade embrionária entre o oitavo e 17º dia de gestação, coincidindo com o período em que o embrião necessita inibir a secreção de PGF 2 $\alpha$ , apontando a mortalidade embrionária precoce como a principal responsável por perdas reprodutivas em bovinos.

Isto por que o período embrionário é considerado um dos principais desafios biológicos para o estabelecimento da prenhez durante este período ocorre complexas interações entre o ovário, o endométrio e o embrião, necessárias para que a gestação se estabeleça e o conceito permaneça viável (GOFF, 2002).

### **Reconhecimento materno da gestação**

O CL pode ser descrito como uma glândula temporária, formada a partir da ovulação de um folículo, tendo como principal secreção a P4, um esteróide necessário tanto para a ciclicidade ovariana quanto para o estabelecimento e manutenção da gestação na maioria dos mamíferos (MCCRACKEN et al., 1999). Sua manutenção é necessária para garantir a produção continuada de P4 e conseqüentemente, preparar o endométrio para implantação e nutrição embrionária (BAZER et al., 2011).

O papel do útero na determinação do tempo de vida do CL foi primeiramente demonstrado em cobaias, mostrando que o mesmo foi mantido após a histerectomia (LOEB, 1927). Em ruminantes, uma demonstração clara do papel do útero na

manutenção ou regressão desta glândula temporária foi publicada em 1956 usando a histerectomia em ovinos e bovinos (WILTBANK e CASIDA, 1956). Os ovinos e bovinos que tiveram remoção completa do útero não retornaram ao cio e a vida útil do CL foi prolongada.

Curiosamente, quando parte do útero (ipsilateral ao CL) permaneceu após a histerectomia, ocorreu a sua regressão e os animais voltaram ao estro. Logo se percebeu que a luteolisina derivada do útero responsável pela regressão foi capaz de chegar ao CL ipsilateral através de um caminho de transferência local veno-arterial. A artéria ovariana em ruminantes é extremamente enovelada e em estreita justaposição à veia uterina, permitindo assim a transferência desta luteolisina uterina para a artéria ovariana (GINTHER e DELCAMPO, 1974).

A possibilidade de que a PGF 2 $\alpha$  fosse a responsável pelos efeitos luteolíticos foi sugerida em 1965, em um workshop reprodutivo e comprovada posteriormente com sua utilização levando a luteólise em ratos e ovinos (GUTKNECHT et al., 1969; MCCRACKEN, 1971). Atualmente diversas evidências demonstram convincentemente sua ação luteolítica em ruminantes (WILTBANK et al., 2016).

Dessa forma, a luteólise pode ser definida como o processo responsável pela lise do CL, resultando em sua destruição funcional e estrutural, sendo causada pela secreção pulsátil episódica uterina de PGF 2 $\alpha$ , que age localmente no CL, onde chega por um mecanismo de circulação contracorrente (da veia útero-ovárica direto para a artéria ovariana). A regressão luteal em cada ciclo estral propicia o desenvolvimento final e a maturação de um novo folículo e sua ovulação, criando uma nova oportunidade de concepção (SENGER, 2003; HAFEZ e HAFEZ, 2004).

Em bovinos, a luteólise ocorre entre os dias 15 a 18 do ciclo estral, ou seja, um a três dias antes do fim da fase luteal e é caracterizado por mudanças funcionais e estruturais das células esteroideogênicas e não esteroideogênicas do CL, conduzindo a uma gradual involução do mesmo, até formar uma pequena cicatriz composta de tecido conectivo e colágeno, conhecida como *corpus albicans*, que persiste no ovário por várias semanas (FERREIRA, 2010).

Sendo assim, em fêmeas não fertilizadas ou com o conceito (embrião e membranas associadas) incapaz de bloquear a luteólise ocorre à regressão funcional e estrutural do CL, determinando o início de um novo ciclo estral. Entretanto, para a

ocorrência de uma gestação, deve ser estabelecido um diálogo bioquímico eficiente entre o concepto e a unidade materna no microambiente uterino, o qual deve resultar no bloqueio da luteólise, na manutenção da secreção de progesterona pelo CL e na consequente manutenção da gestação (MARQUES et al., 2007). Esse processo, onde o concepto sinaliza a sua presença para a mãe por meio de mecanismos bioquímicos, morfológicos e fisiológicos, é definido por reconhecimento materno da gestação (ANTONIAZZI et al., 2011).

Durante este processo, células mononucleares do trofoblasto do concepto secretam uma proteína denominada IFN- $\tau$  entre os dias 10 e 21-25 (SPENCER et al., 2004), a qual apresenta atividade antiviral, inibe a proliferação celular, regula as células do sistema imune e ativa fatores de transcrição induzindo a expressão de genes (BINELLI et al., 2001).

No início da década de 80, essa proteína secretada pelo concepto ovino e que expressava características antiluteolíticas foi purificada. Inicialmente foi chamada de proteína X e posteriormente definida como trofoblastina ovina (TP-1) e foi o principal produto de conceptos ovinos em cultura entre os dias dez e 12 de gestação (GODKIN et al., 1982). Em experimentos posteriores foi sequenciada e renomeada como proteína interferon – tau ou IFN- $\tau$ , tendo a sua função antiluteolítica comprovada e associada ao reconhecimento materno da gestação (ROBERTS et al., 1989; ROBERTS et al., 2008).

Em ruminantes a fase de reconhecimento materno da gestação ocorre entre o 12º e o 26º dia quando incide a secreção de IFN- $\tau$ , com pico entre os dias 15 e 16 (FARIN et al., 1989; ROBERTS, 1996). Nesta fase há o alongamento do embrião, que coincide com sua máxima produção (ZARCO et al., 1988). O IFN- $\tau$ , classificado como interferon do tipo I e secretado em grandes quantidades pelas células trofoblásticas dos ruminantes antes da implantação tem como principal função evitar o retorno a ciclicidade, preservando o funcionamento do corpo lúteo durante a gestação (GRAY et al., 2002; ROBERTS et al., 2008). Possui um efeito parácrino no útero, inibindo a expressão dos receptores de estrógeno e de ocitocina no epitélio luminal do endométrio, evitando assim a liberação de PGF2 $\alpha$ , hormônio responsável pela luteólise (SPENCER e BAZER, 1996).

O IFN- $\tau$  também tem o papel de estimular a produção de prostaglandina E2, (um agente luteotrófico), e de aumentar a produção de diversas proteínas secretórias de

origem uterina, que podem estar envolvidas na manutenção da viabilidade do conceito. Essa expressão de IFN- $\tau$  termina com a implantação, pois o contato do trofoblasto com o endométrio inibe a sua produção (NAGAOKA et al., 2003). Dentre os vários fatores que interferem na comunicação materno-fetal, a P4 é apontada como o principal hormônio que controla o processo de reconhecimento materno (MANN e LAMMING, 1999).

### **Importância da progesterona para a sobrevivência do conceito**

A P4 é um hormônio esteroide, lipossolúvel e derivado do colesterol sintetizado no ovário pelo CL, na placenta e na córtex da glândula adrenal. Como a maioria dos hormônios esteroides presente no sangue está ligado a proteínas como a globulina, uma importante proteína transportadora. Além dos efeitos hormonais, ela atua como precursora dos estrogênios, androgênios e esteroides do córtex da glândula adrenal (SWENSON e REECE, 1996; HAFEZ e HAFEZ, 2004).

Sua produção no CL é realizada pelas pequenas células luteais (SLC) e principalmente, pelas grandes células luteais (LLC) (RIGOGGIO et al., 2013). Para isso, as células luteais captam na corrente sanguínea o colesterol nas formas de lipoproteínas de alta densidade (HDL), baixa densidade (LDL) e dos ésteres de colesterol (HWANG e MENON, 1983). Quando o colesterol adentra as células luteais, a enzima P450<sub>scc</sub> o converte em pregnenolona, que ao sofrer ação da enzima 3 $\beta$ -HSD é convertida em P4 (NISWENDER et al., 2000).

A P4 induz a diferenciação do estroma uterino, estimula as secreções das glândulas endometriais, o acúmulo de vacúolos basais no epitélio glandular e modifica o padrão de secreção de proteínas pelas células endometriais, proporcionando o ambiente uterino apropriado para o desenvolvimento inicial do embrião (NISWENDER, 2002). Dessa forma, atua na manutenção da gestação, possibilitando a quiescência da contratilidade uterina e estimulando às glândulas endometriais a produzirem secreções histotróficas (leite uterino), consideradas a fonte de nutrientes disponíveis para o conceito até a placentação (LONERGAN et al., 2013).

Em bovinos, os níveis plasmáticos de P4 variam de acordo com o desenvolvimento, a manutenção e a regressão do corpo lúteo (HAFEZ e HAFEZ, 2004). MANN e LAMMING (2001) detectaram que o desenvolvimento embrionário é prejudicado quando há baixa exposição de P4 após a concepção. Consequentemente, houve pouca liberação de IFN- $\tau$  e ocorreu transcrição de receptores de ocitocina no epitélio luminal do endométrio, liberando PGF2 $\alpha$ . Estudos realizados em fêmeas bovinas por DISKIN e MORRIS (2008) detectaram correlação positiva entre a elevada concentração de P4 pós-concepção até o dia 7 e o aumento no alongamento do concepto.

De acordo com Kenyon et al. (2013), um aumento mais rápido na concentração de P4 durante o metaestro e início do diestro está associado com o estabelecimento da gestação após a transferência de embriões, o que sugere que a concentração de P4 tem um efeito indireto sobre o desenvolvimento do embrião através da modulação do ambiente uterino e secreção de histotrófica.

Lonergan et al. (2007) compararam o desenvolvimento embrionário oriundo de receptoras com altas concentrações de P4, promovidas pela superovulação neste grupo, e de receptoras com um único CL. Embriões inovulados no dia 07 e colhidos 6 dias após a transferência, foram significativamente maiores no grupo com altos níveis de P4, obtendo área de 3,6mm<sup>2</sup> nos embriões oriundos de receptoras superovuladas e 1,6mm<sup>2</sup> para embriões colhidos das receptoras com ovulação simples.

Ao coletar embriões de 16 dias, em novilhas suplementadas com P4 após a IA, Carter et al. (2008) observaram um incremento no crescimento embrionário, medindo 14,06  $\pm$  1,18 vs 5,97  $\pm$  1,18cm para embriões oriundos de novilhas com alta concentração de P4 e novilhas não suplementadas, respectivamente. Os autores também observaram que essa suplementação só elevou a concentração sanguínea de P4 no grupo suplementado e mesmo com níveis diferentes de P4 no momento da transferência, os três dias em que a P4 foi maior no grupo suplementado possibilitou um melhor ambiente uterino que resultou em maiores embriões.

Com as evidências da importância da P4 sobre o desenvolvimento embrionário e manutenção da gestação, vários estudos comprovaram a correlação positiva entre concentração de P4 e taxa de concepção, observando um maior número de prenhez nos animais com maiores concentrações deste hormônio, seja adquirida de maneira exógena

(implantes de liberação lenta; P4 injetável de longa duração) ou utilizando hormônios como hCG ou GnRH que possibilitam elevação na sua produção pela indução da ovulação e emergência de CL acessório (LARSON et al., 2007; NASCIMENTO et al., 2013; LOIOLA et al., 2014; PUGLIESI et al., 2015).

Neste sentido, ferramentas que possibilitem uma maior concentração sérica de P4 no período inicial de gestação, podem contribuir para melhores resultados nos programas de IATF, por propiciar menor taxa de mortalidade embrionária (PUGLIESI et al., 2016).

#### *Acetato de Melengestrol (MGA)*

O Acetato de Melengestrol (6 $\alpha$ -methyl-6-dehydro-16-methylene-17-acetoxypregnosterone, MGA) é um esteróide gestacional sintético de atividade oral, desenvolvido em 1962, a partir da adição de um radical metil a medroxiprogesterona (MAP). Foi usado inicialmente em confinamentos de novilhas como promotor de crescimento, aumentando a eficiência e ganho de peso dos animais (O'BRIEN et al., 1968).

Devido a sua ação semelhante a P4 foi bastante utilizado objetivando a manutenção da gestação em fêmeas bovinas. Zimbelman e Smith (1966) avaliaram essa característica em novilhas leiteiras ovariectomizadas bilateralmente aos 56 dias de gestação, onde o MGA na dose de 4mg/dia foi eficiente em manter a gestação em 86% dos animais suplementados até os 270 dias de gestação.

Imwalle et al. (1998) avaliaram o efeito do tratamento com MGA por oito dias sobre a liberação de LH, crescimento folicular e indução da puberdade de novilhas pré-púberes. Os animais tiveram as concentrações de P4 e morfologia ovariana monitorada durante 14 dias após o tratamento. De acordo com esses autores os animais tratados com MGA tiveram aumento nos pulsos de LH e todas as novilhas se tornaram púberes ao término do tratamento, enquanto no grupo controle não houve mudança na liberação do LH e na indução da puberdade durante o período analisado.

As principais vantagens de se utilizar MGA como fonte de P4, consistem em fácil administração do produto, onde os animais não precisam ser manipulados individualmente e o custo é relativamente baixo, quando comparado com outros

progestágenos (PEREZ, 2005). Essas características chamam a atenção para a utilização deste fármaco após a inseminação, como estratégia para melhorar os níveis séricos de P4, melhorar o ambiente uterino e conseqüentemente diminuir as perdas embrionárias, incrementando os índices destes animais em protocolos de IATF (SILVA JÚNIOR et al., 2014). Entretanto, a literatura ainda é escassa em relação a sua utilização para este propósito.

## OBJETIVOS

### **CAPÍTULO 1 - Marcadores associados à fertilidade de fêmeas bovinas da raça Nelore em programas de inseminação artificial em tempo fixo (IATF).**

- Avaliar a relação entre a presença ou não de CL no início do protocolo e a taxa de concepção de fêmeas bovinas da raça Nelore submetidas a um protocolo de sincronização da ovulação para IATF;
- Verificar o efeito do índice de escore corporal (IEC) sobre a taxa de concepção de fêmeas bovinas da raça Nelore submetidas a um protocolo de sincronização da ovulação para IATF;
- Verificar a taxa de concepção de fêmeas bovinas da raça Nelore que expressaram ou não o estro entre a retirada do dispositivo intravaginal de P4 e a IATF;
- Verificar a taxa de concepção, de acordo com o diâmetro do folículo pré-ovulatório no momento da inseminação de fêmeas bovinas da raça Nelore submetidas a um protocolo de sincronização da ovulação para IATF.

### **CAPÍTULO 2 - Suplementação com uma fonte exógena de progesterona após inseminação como alternativa para incrementar a taxa de concepção de fêmeas bovinas da raça Nelore em programas de IATF.**

- Verificar o efeito da suplementação com progesterona após IATF sobre a taxa de concepção de fêmeas bovinas da raça Nelore;
- Avaliar o efeito da suplementação com progesterona após IATF sobre a taxa de concepção de fêmeas bovinas da raça Nelore de acordo com a ciclicidade ovariana durante o protocolo;
- Avaliar o efeito da suplementação com progesterona após IATF sobre a taxa de concepção das fêmeas bovinas da raça Nelore de acordo com a expressão do estro;

- Avaliar o efeito da suplementação com progesterona após IATF sobre a taxa de concepção de fêmeas bovinas da raça Nelore de acordo o diâmetro do folículo pré-ovulatório no momento da inseminação.

## **HIPÓTESES**

### **CAPÍTULO 1 - Marcadores associados à fertilidade de fêmeas bovinas da raça Nelore em programas de inseminação artificial em tempo fixo (IATF).**

- Fêmeas bovinas da raça Nelore que possuem CL no início do protocolo de IATF apresentam melhores taxas de concepção após serem submetidas a um protocolo de sincronização da ovulação para IATF;
- Fêmeas bovinas da raça Nelore com melhores condições corporais têm maior taxa de concepção após IATF;
- Fêmeas bovinas da raça Nelore que expressam estro durante o protocolo de sincronização da ovulação têm maior taxa de concepção após IATF;
- Fêmeas bovinas da raça Nelore que apresentam folículo pré-ovulatório de maior diâmetro no momento da inseminação têm maiores taxas de concepção após serem submetidas a um protocolo de sincronização da ovulação para IATF.

### **CAPÍTULO 2 - Suplementação com uma fonte exógena de progesterona após inseminação como alternativa para incrementar a taxa de concepção de fêmeas bovinas da raça Nelore em programas de IATF.**

- A suplementação com uma progesterona oral entre os dias 13 a 18 após a IATF melhora a taxa de concepção de fêmeas zebuínas de corte;
- O tratamento com progesterona oral entre os dias 13 a 18 após as inseminações melhora a taxa de concepção, especialmente em animais que estão em anestro no início do protocolo de IATF;

- O tratamento com progesterona oral entre os dias 13 a 18 após as inseminações melhora a taxa de concepção, especialmente em animais que não apresentam estro após o protocolo de IATF;
- O tratamento com progesterona oral entre os dias 13 a 18 após as inseminações melhora a taxa de concepção, especialmente em animais que apresentam menor folículo pré-ovulatório no momento da IATF.

## **CAPÍTULO 01**

---

Marcadores associados à fertilidade de fêmeas bovinas da raça Nelore em programas de inseminação artificial em tempo fixo (IATF)

## Marcadores associados à fertilidade de fêmeas bovinas da raça Nelore em programas de inseminação artificial em tempo fixo (IATF)

### RESUMO

Objetivou-se avaliar o efeito da presença ou não de CL no início do protocolo, índice de escore corporal (IEC), expressão do estro e diâmetro do folículo pré-ovulatório sobre a taxa de concepção de fêmeas bovinas da raça Nelore submetidas a um programa de IATF. Para tanto, 515 fêmeas lactantes com 32 a 51 dias pós-parto foram avaliadas e categorizadas em IEC <2,5 (n=56), 2,5 a 3,5 (n=176) e >3,5 (n=266). Posteriormente, foram submetidas ao exame ginecológico, classificadas de acordo com a presença (C/CL – n=143) ou não de CL (S/CL – n=296) e ao seguinte protocolo de sincronização: em um dia aleatório do ciclo estral (Dia -10) receberam um implante intravaginal de progesterona (DIB<sup>®</sup>, Zoetis, São Paulo, Brasil) associado a 2mg de Benzoato de Estradiol por via intramuscular (i.m.) (GONADIOL<sup>®</sup>, Zoetis, São Paulo, Brasil). No dia -2 (D-2), foi removido o implante intravaginal e administrados 12,5mg de Dinoprost Trometamina i.m. (LUTALYSE<sup>®</sup>, Zoetis, São Paulo, Brasil) seguido por 1,0mg de Cipionato de Estradiol i.m. (ECP<sup>®</sup>, Zoetis, São Paulo, Brasil) e 300UI de eCG i.m. (NOVORMON<sup>®</sup>, Zoetis, São Paulo, Brasil). Neste momento, os animais foram pintados com bastão marcador (RAIDEX<sup>®</sup>, GmbH, Dettingen/Erms, Alemanha) na base da cauda. No dia 0 (D0) os animais foram distribuídos em dois grupos de acordo com a expressão (C/ESTRO – n=247) ou não (S/ESTRO – n=105) do estro. Em seguida, procedeu-se a mensuração do diâmetro do folículo pré-ovulatório (DFOL) por ultrassonografia transretal, a categorização em DFOL<11 mm (n=174), 11 a 14 mm (n=197) ou >14 mm (n=125) e realizou a inseminação artificial em todos os animais. O diagnóstico de gestação foi realizado por exame ultrassonográfico 35 dias após a IATF. Não houve efeito da presença ou não de CL no início do protocolo (P=0,76) e do IEC (P=0,411) nas taxas de concepção. Entretanto, os animais que expressaram estro entre a retirada do implante intravaginal e a inseminação artificial tiveram maior (P<0,001) taxa de concepção (59,51%) quando comparados aos animais que não expressaram estro (39,05%). Assim como as fêmeas que apresentaram DFOL entre 11 e 14mm e

DFOL>14mm tiveram maiores ( $P=0,029$ ) taxas de concepção (55,83% e 57,60%, respectivamente) em relação aos animais com DFOL<11mm (44,83%). Os resultados sugerem que, nas condições do presente estudo, o DFOL e a expressão do estro foram importantes marcadores de melhoria na fertilidade de fêmeas bovinas da raça Nelore em programas de IATF.

**Palavras- chave:** Concepção, corpo lúteo, diâmetro folicular, estro

Factors associated with fertility of Nelore cows in artificial insemination programs at fixed time (TAI)

**ABSTRACT**

This study aimed to evaluate the effect of the presence or absence of CL at the beginning of the protocol, body condition score (BCS), estrus expression and diameter of the pre-ovulatory follicle on the conception rate of Nelore cows subjected to a TAI program. Therefore, 515 lactating females from 32 to 51 days postpartum were evaluated and categorized in BCS <2.5 (n=56), 2.5 to 3.5 (n=176) and > 3.5 (n=266). Subsequently, they were subjected to gynecological examination, sorted according to the presence (C/CL - n=143) or not of CL (S/CL - n=296) and subjected to the following synchronization protocol: on a random day of the estrous cycle (Day -10) the animals received an intravaginal progesterone implant (DIB®, Zoetis, São Paulo, Brazil) associated with 2mg of estradiol benzoate intramuscularly (im) (GONADIOL®, Zoetis, São Paulo Brazil). On day 2 (D-2) the intravaginal transplant was removed and 12.5mg of Dinoprost Tromethamine was administered (i.m.) (Lutalyse®, Zoetis, São Paulo, Brazil), followed by 1.0mg of Estradiol Cypionate i.m. (ECP®, Zoetis, São Paulo, Brazil) and 300IU of eCG i.m. (NOVORMON®, Zoetis, São Paulo, Brazil). At this point, the animals were painted with marker stick (RAIDEX®, GmbH, Dettingen / Erms, Germany) at the base of the tail. On day 0 (D0) the animals were divided into two groups according to the expression (W/ ESTRUS - n=247) or not ( W/O ESTRUS - n=105) of estrus. Then proceeded to measure the of the preovulatory follicle diameter (POFD) by transrectal ultrasound, categorize them into POFD <11mm (n=174), 11 to 14mm (n=197) or >14mm (n=125), and carried out artificial insemination in all animals. The pregnancy diagnosis was performed by ultrasound examination 35 days after TAI. There wasn't effect related to the presence or absence of CL at the beginning of the protocol (P=0.76) and BCS (P=0.411) in conception rates. However, animals that express estrus between the intravaginal transplant withdraw and Artificial Insemination had higher (P<0,001) pregnancy rate (59.51%) compared to animals that did not express estrus (39.05%). As well as the females that had POFD between 11 and 14 mm and

POFD >14 mm had higher (P=0.029) conception rates (55.83% and 57.60%, respectively) compared to animals with POFD <11mm (44 , 83%). The results suggest that under the conditions of this study, POFD and estrus expression were important improvement indicators on the fertility of Nelore cows in TAI programs.

**Key-words:** Conception, Corpus luteum, follicular diameter, estrus

## INTRODUÇÃO

Diversas vantagens adaptativas, como a resistência climática e a boa resposta às gramíneas tropicais, colocaram as raças zebuínas como as de maior evidência em áreas tropicais e subtropicais (SALES et al., 2011). O Brasil possui o maior rebanho comercial do mundo, chegando a mais de 212 milhões de animais, composto por cerca de 80% de animais *Bos taurus indicus* (IBGE, 2015).

Técnicas como a inseminação artificial (IA) convencional trouxeram grandes benefícios à pecuária de corte, porém, ainda não são largamente utilizadas (BARREIROS et al., 2014). Para tanto, são apontadas algumas limitações como a variação de ciclicidade, a observação de estro constantemente, baixa taxa de serviço e mão de obra desqualificada (SOUZA et al., 2016).

Os protocolos para a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) estão bem estabelecidos e são utilizados com praticidade no manejo reprodutivo da bovinocultura de corte. Desta forma, a técnica que se baseia na sincronização do estro/ovulação transpôs as barreiras da IA convencional sendo aplicada em larga escala. Dentre as vantagens, conseguiu-se melhorar o intervalo entre o parto e a concepção, garantindo melhor eficiência reprodutiva, ganho genético e otimização do manejo nas grandes propriedades (MENEGHETTI et al., 2009; MARQUES et al., 2015; SALES et al., 2015).

Um aspecto comum entre os protocolos utilizados em bovinos de corte está relacionado com a média dos resultados obtidos, aproximadamente 40-60% das fêmeas inseminadas concebem (LAMB et al., 2010). À estes índices são atribuídos fatores como perdas embrionárias, categoria animal, índice de escore corporal (IEC), presença de corpo lúteo (CL) no início do protocolo, manifestação de estro, localidade, raças e tratamentos hormonais (BÓ et al., 2007; SÁ FILHO et al., 2009; LAMB et al., 2010).

Em vacas de corte, tanto a amamentação quanto o balanço energético negativo aumentam a duração do anestro, devido ao seu efeito negativo sobre a frequência de pulsos de LH e desenvolvimento folicular, afetando os índices em programas de IATF (WILT BANK et al., 2002).

Outro fator relatado é o diâmetro do folículo pré-ovulatório ao fim dos protocolos de IATF, tendo influência na ovulação e taxas de prenhez (PERRY et al., 2007; SÁ FILHO et al., 2009). Esse mesmo parâmetro compara-se à manifestação de estro durante os protocolos, que alguns estudos mostraram elevar as chances de concepção em vacas lactantes de corte (RIBEIRO FILHO et al., 2012).

Trabalhos como o de Baruselli et al. (2004), relataram efeito da presença de CL no início do protocolo de sincronização da ovulação nas taxa de concepção de vacas Nelore e mestiças de corte. Enquanto Sá Filho et al. (2010) observaram diferenças nas taxas ovulação e de gestação de acordo com o tamanho do folículo dominante no momento da inseminação de fêmeas zebuínas em programas de IATF.

Desta forma, a identificação dos fatores que influenciam na resposta aos protocolos de sincronização do estro/ovulação em vacas Nelore, principal raça criada no Brasil, torna-se essencial para o desenvolvimento de novas estratégias que melhore os índices reprodutivos em programas de IATF (SÁ FILHO et al., 2010).

Objetivou-se avaliar no referido estudo o efeito da presença de CL no início do protocolo, IEC, expressão do estro e diâmetro do folículo pré-ovulatório sobre a taxa de concepção de fêmeas bovinas da raça Nelore submetidas a um protocolo de sincronização da ovulação a base de progesterona e estradiol para IATF.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Local e animais experimentais

Este experimento foi realizado no período de outubro a dezembro de 2014, em uma fazenda comercial na região do recôncavo da Bahia, apresentando localização geográfica de latitude 12° 21' 11'' e longitude 38° 22' 44''. A região apresenta pluviosidade média anual de 1.400mm, está inserida em uma área de clima tropical úmido com vegetação predominante de mata atlântica.

Foram utilizadas 515 fêmeas da raça Nelore (*Bos taurus indicus*) lactantes, com média para idade de  $6,36 \pm 3,10$  anos, índice de escore corporal de  $3,35 \pm 0,35$  (escala de 1 a 5 - AYRES et al., 2009) e 32 a 51 dias pós-parto. Os animais foram mantidos em

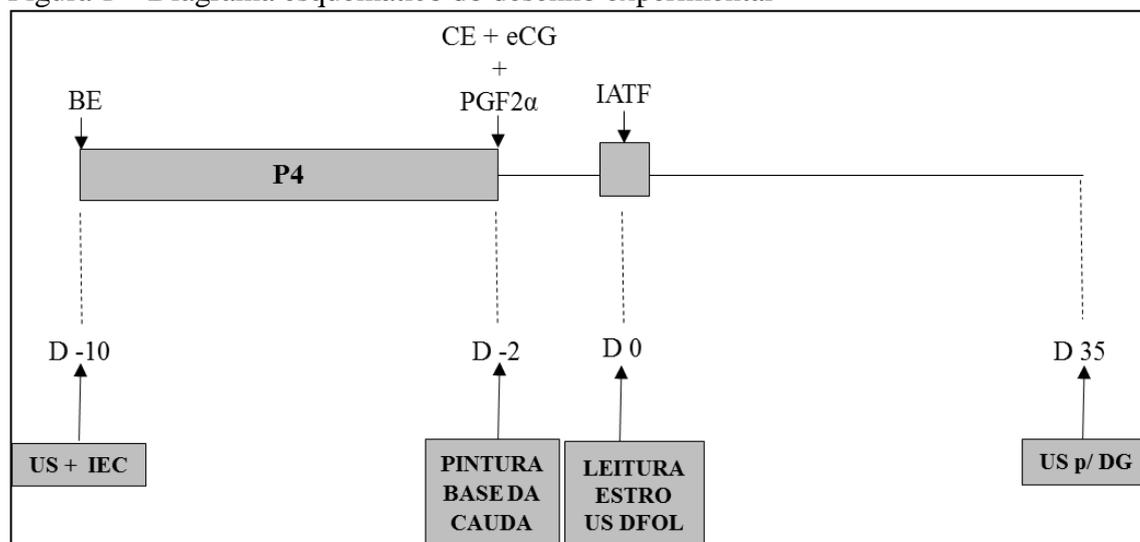
piquetes com pastagem predominante de *Brachiaria decumbens*, com suplementação mineral e água *ad libitum*. A fazenda obedecia ao calendário sanitário oficial e todas as fêmeas foram imunizadas contra doenças da esfera reprodutiva. Dentre os animais trabalhados, 17 perderam o implante intravaginal de P4 durante protocolo e foram excluídas do experimento, permanecendo 498 animais.

### **Manejo reprodutivo e tratamento**

Previamente ao início da sincronização, esses animais foram submetidos ao exame ginecológico com o auxílio da ultrassonografia transretal, utilizando-se um transdutor linear com frequência de 6,0MHz (Mindray, DP 2200 VET, São Paulo, Brasil), sendo consideradas aptas a participarem do experimento, fêmeas que apresentaram na avaliação ausência de anormalidades no trato reprodutivo. Nesse momento, as fêmeas foram examinadas em relação ao status ovariano, presença (C/CL) ou não de CL (S/CL) no início do protocolo.

Os animais foram submetidos ao seguinte protocolo de sincronização (Figura 1): em um dia aleatório do ciclo estral (Dia -10) todos os animais receberam um dispositivo intravaginal de P4 (DIB<sup>®</sup>, Zoetis, São Paulo, Brasil) associado a 2mg de Benzoato de Estradiol por via intramuscular (i.m.) (GONADIOL<sup>®</sup>, Zoetis, São Paulo, Brasil). No dia -2 (D-2), foi removido o dispositivo intravaginal de P4 e administrados 12,5mg de Dinoprost Trometamina i.m. (LUTALYSE<sup>®</sup>, Zoetis, São Paulo, Brasil) seguido por 1,0mg de Cipionato de Estradiol i.m. (ECP<sup>®</sup>, Zoetis, São Paulo, Brasil) e 300UI de eCG i.m. (NOVORMON<sup>®</sup>, Zoetis, São Paulo, Brasil). No momento da remoção do dispositivo intravaginal os animais foram pintados com bastão marcador (RAIDEX<sup>®</sup>, GmbH, Dettingen/Erms, Alemanha) na base da cauda para detecção do estro. No dia 0 (D0) foram realizadas as inseminações, 48 à 54h após a remoção do dispositivo de P4 utilizando sêmen criopreservado de touros da raça Nelore com fertilidade previamente comprovada. No momento da IATF, o sêmen foi descongelado a 37°C por 30 segundos e todos os procedimentos foram realizados por um mesmo técnico treinado e com experiência comprovada.

Figura 1 – Diagrama esquemático do desenho experimental



IEC= Índice de Escore Corporal; US= Ultrassonografia; BE= Benzoato de estradiol; P4= Progesterona oriunda do dispositivo; CE= Cipionato de estradiol; eCG= Gonadotrofina coriônica equina; PGF2 $\alpha$ = Prostaglandina F 2 $\alpha$ ; DFOL= Diâmetro do folículo pré-ovulatório; DG= Diagnostico de gestação.

Neste momento, previamente a realização da IATF, foi realizada a mensuração do diâmetro do folículo pré-ovulatório (DFOL) por meio da ultrassonografia transretal, utilizando-se transdutor linear com frequência de 6,0MHz (Mindray, DP 2200 VET, São Paulo, Brasil). O DFOL foi calculado através da média do maior diâmetro e do diâmetro perpendicular a ele e categorizado em < 11mm, 11 a 14mm ou > 14mm de acordo com Pugliesi et al. (2016). A expressão (C/ESTRO) ou não (S/ESTRO) do estro foi verificada de acordo com a remoção ou não da pintura na base da cauda respectivamente, no momento da inseminação.

O diagnóstico de gestação foi realizado por ultrassonografia transretal 35 dias após as inseminações. Foi considerado diagnóstico de gestação positivo a presença da vesícula embrionária com um embrião viável (batimento cardíaco). A taxa de concepção foi calculada dividindo-se o total de vacas gestantes pelo total de vacas inseminadas.

### Análise estatística

Informações individuais das fêmeas foram dispostas em uma única planilha para análise estatística. Os dados foram analisados por regressão logística multivariada utilizando-se o *Statistical Package for Social Science* (SPSS, versão 19), considerando

nível de significância de 5%. Para a análise da taxa de concepção após a IATF de todos os animais foi incluído no modelo inicial o efeito do índice de escore corporal (<2,5, 2,5 a 3,5 e > 3,5), diâmetro do folículo pré-ovulatório (< 11mm, 11 a 14mm ou > 14mm), a presença ou não de CL no início do protocolo e a expressão ou não do estro entre a retirada do dispositivo de P4 e as inseminações, além do efeito do sêmen utilizado e dos lotes de animais.. A média e desvio padrão das variáveis foram obtidas por meio da análise descritiva e a taxa de concepção entre os grupos experimentais foi comparada aplicando-se um estudo de dispersão de frequências utilizando-se o teste do Qui-quadrado ( $\chi^2$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo a taxa de concepção média foi de 52,4%, semelhante ao observado por diversos outros autores que trabalharam com vacas zebuínas de corte em programas de IATF (SÁ FILHO et al., 2012; RIBEIRO FILHO et al., 2013; MARQUES et al., 2015). A presença ou não de CL no início do protocolo, o IEC, o tipo de sêmen utilizado e os diferentes lotes de animais não impactaram a taxa de concepção. Porém, o diâmetro do folículo pré-ovulatório no momento da inseminação e a expressão do estro entre a retirada do implante intravaginal e a inseminação influenciaram significativamente nas taxas de concepção de fêmeas bovinas da raça Nelore submetidas ao programa de IATF.

### *Presença de CL no início do protocolo*

O exame ginecológico no início do protocolo não foi realizado em 59 fêmeas por questões referentes ao manejo da propriedade e as mesmas foram excluídas desta etapa do experimento, sendo assim, 439 fêmeas foram avaliadas em relação a presença ou não

de CL no início do protocolo e deste total, 67,43% não possuíam CL neste momento (Tabela 1).

Tabela 1 – Taxa de concepção de fêmeas bovinas da raça Nelore submetidas a um programa de IATF de acordo com a presença (C/CL) ou não (S/CL) de CL no início do protocolo

Variáveis	Número de animais (%)	Taxa de concepção % (n)
C/CL	143 (32,57)	51,05 (73)
S/CL	296 (67,43)	52,37 (155)
Total	439 (100)	51,81 (228)

(P=0,796)

Similarmente, Rodrigues et al. (2015) observaram em fêmeas Nelore multíparas lactantes criadas a pasto, uma alta porcentagem (74,26%) de animais sem a presença do CL no início do protocolo. De acordo com Baruselli et al. (2004), vacas zebuínas lactantes criadas em condições de pastagens tropicais apresentam alta incidência de anestro pós-parto, o que aumenta o intervalo entre o parto e uma nova concepção e consequentemente, afeta negativamente o desempenho reprodutivo desses animais. Sendo assim, neste experimento, o grande número de fêmeas sem a presença de CL no início do protocolo de sincronização é sugestivo de alta incidência de anestro pós-parto nestes animais.

A taxa de concepção neste trabalho, não foi influenciada (P=0,796) pela presença ou ausência de CL no início do protocolo (Tabela 1). Resultados semelhantes foram descritos por Sá filho et al. (2009), esses autores não encontraram diferença nas taxas de ovulação, concepção e prenhez de vacas Nelore lactantes consideradas em anestro ou ciclando no início da estação reprodutiva. Neste trabalho, foram considerados em anestro os animais que não apresentaram CL em dois exames ultrassonográficos sequenciais, no dia zero e dia sete do protocolo de sincronização a base de progesterona e estradiol.

Entretanto, Rodrigues et al. (2015) notaram melhores taxa de prenhez em fêmeas multíparas Nelore que apresentaram CL no início da sincronização em relação aos animais que não apresentaram esta estrutura. Os autores consideraram as primeiras com

maior capacidade de resposta à terapia hormonal e atribuíram a ausência do CL em um único exame ultrassonográfico a uma alta taxa de anestro pós-parto.

Fêmeas bovinas em anestro pós-parto apresentam comprometimento da secreção pulsátil de LH, determinando insuficientes níveis dessa gonadotrofina para apoiar o desenvolvimento folicular e a ovulação (YAVAS e WALTON et al., 2000; WILTBANK et al., 2002). Esses animais, quando submetidos à programas de sincronização, normalmente, apresentam baixa taxa de concepção e elevada perda de prenhez em comparação a vacas cíclicas (SANTOS et al., 2004; 2009; BISINOTTO et al., 2010).

Um aspecto importante que deve ser ressaltado no presente estudo, é que todos os animais utilizados foram tratados com eCG concomitantemente ao início do proestro, ou seja, no momento da retirada do implante intravaginal. Segundo Murphy (2012) o eCG oferece um suporte de gonadotrofinas, pois liga-se a receptores de FSH e LH no folículo e de LH no CL, aumentando o diâmetro e a capacidade esteroidogênica destas estruturas.

De acordo com Barreiros et al. (2014) o tratamento com eCG no momento da retirada do implante intravaginal, melhora a fertilidade de fêmeas bovinas em anestro, fornecendo taxas de crescimento folicular e tamanho de folículos dominantes semelhantes às vacas cíclicas. Dessa forma, a utilização de eCG em todos os animais neste experimento pode ter fornecido um suporte de gonadotrofina para o desenvolvimento folicular final e com isso ter beneficiado principalmente, o grupo de animais que não apresentavam CL no início do protocolo.

Além disso, o protocolo utilizado neste estudo, pode não ter favorecido animais com presença de CL no início do tratamento, pois níveis mais elevados de progesterona obtidos pela soma da P4 exógena e endógena advindas, respectivamente, do implante intravaginal e do CL, no início do proestro, podem impactar negativamente a modulação da liberação do LH e conseqüentemente afetar de forma negativa a maturação folicular e ovulação (PERES et al., 2009).

*Índice de escore corporal (IEC)*

Neste trabalho, o IEC no início do protocolo não influenciou as taxas de concepção ( $P=0,411$ ) de fêmeas Nelore submetidas a um protocolo de sincronização da ovulação para IATF (Tabela 2).

Tabela 2 – Taxa de concepção de fêmeas bovinas da raça Nelore submetidas a um protocolo de IATF de acordo com Índice de Escore Corporal (IEC)

IEC	Número de animais	Taxa de concepção % (n)
< 2,5	56	55,36 (31)
2,5 a 3,5	176	55,68 (98)
> 3,5	266	49,62 (132)
Total	498	52,41 (261)

( $P=0,411$ )

Corroborando com os achados do presente estudo, Meneghetti et al. (2008), trabalharam com fêmeas primíparas Nelore e mestiças (Nelore x Red Angus) e não detectaram efeito do IEC na taxa de concepção dos animais efetivamente sincronizados. Os autores atribuíram esses resultados a aplicação de estradiol no dia oito do protocolo. Segundo os mesmos, elevando os níveis circulantes deste hormônio, que estariam mais baixo nas vacas de menor IEC devido à reduzida capacidade esteroidogênica de seus folículos pré-ovulatório, resultaria em um efeito positivo sobre a motilidade uterina e o transporte espermático através do trato reprodutivo, explicando assim, a similaridade na taxa de prenhez das vacas com diferentes IEC em seu experimento.

Contrastando com os resultados citados acima, Torres et al. (2015) avaliaram a influência do escore corporal na probabilidade de prenhez de fêmeas Nelore em programas de IATF e observaram aumento na probabilidade de prenhez de acordo com o aumento no IEC. Segundo esses autores, o aumento em 0,5 unidades de IEC implicaria em um aumento de 39 % na probabilidade de prenhez dos animais.

Sá Filho et al. (2009) avaliaram o efeito do IEC na taxa de concepção de fêmeas zebuínas de corte submetidas a IATF e perceberam uma associação entre a menor condição corporal no início do protocolo e os menores índices reprodutivos. Resultados similares, foram reportados por Santos et al. (2009) e Sonohata et al. (2009) ao observarem maior taxa de prenhez em fêmeas bovinas de corte com maior IEC.

A maneira como o IEC interfere na reprodução está intimamente relacionada com o balanço energético negativo, afetando os níveis sistêmicos de IGF-I, insulina e glicose, os quais podem alterar a frequência de liberação de hormônios gonadotróficos, comprometendo, conseqüentemente, o crescimento folicular, a ovulação e a manutenção de uma possível gestação (GRIMARD et al., 1995; SARTORI et al., 2010).

No presente estudo, 88,76% (442/498) dos animais apresentavam IEC igual ou maior a 3,0. De acordo com Baruselli et al. (2006) a condição corporal acima de 3,0 é considerada satisfatória, com pouco ou nenhum prejuízo no desenvolvimento folicular e na ovulação. Portanto, a maior proporção de animais com boa condição corporal neste experimento, possivelmente não permitiu a atuação desta variável nas taxas de concepção. Dessa forma, a redução das perdas de peso no início da lactação e o melhor suporte nutricional durante os períodos pré e pós-parto com a finalidade de melhorar o IEC no início da estação reprodutiva devem ser metas importantes a serem buscadas com o objetivo de incrementar os índices reprodutivos nos programas de IATF (SARTORI et al., 2010; SÁ FILHO, 2012).

Além disso, o IEC encontrado nos animais deste experimento pode ter sido beneficiado pelo período pós-parto em que os mesmos foram submetidos ao protocolo de IATF. Normalmente, o pico de produção de leite de vacas de corte é alcançado entre 8,8 e 11,1 semanas de lactação (OLIVEIRA et al., 2007). É possível uma melhor condição corporal dos animais quando os protocolos de sincronização para IATF iniciam antes do período de maior exigência nutricional, ou seja, antes do pico de produção de leite (SÁ FILHO, 2012), como aconteceu nesta pesquisa, onde as fêmeas apresentavam 32 a 51 dias de paridas.

#### *Expressão de estro*

Para a variável expressão do estro, 146 fêmeas não foram avaliadas, sendo excluídas desta parte do experimento. Desta forma, foi avaliada a expressão do estro em 352 animais dos 498 trabalhados no presente estudo. Os animais que expressaram estro entre a retirada do implante intravaginal e a inseminação artificial tiveram maior

( $P < 0,001$ ) taxa de concepção (59,51%) quando comparados aos animais que não expressaram estro (39,05% - Tabela 3).

Tabela 3 – Taxa de concepção de fêmeas bovinas da raça Nelore submetidas a um protocolo de IATF de acordo com a expressão do estro durante o protocolo

Variáveis	Número de animais	Taxa de concepção % (n)
C/ESTRO	247	59,51 (147) <sup>a</sup>
S/ESTRO	105	39,05 (41) <sup>b</sup>
Total	352	53,40 (188)

Valores seguidos de letras distintas na mesma coluna diferem entre si ( $P < 0,001$ )

Resultados semelhantes foram encontrados por Sá Filho (2012) utilizando o bastão marcador para detecção do estro em fêmeas Nelore e mestiças (Nelore x Angus). Estes autores observaram maior taxa de concepção nos animais que expressaram estro (61,9% - 258/417) em relação aos animais que não expressaram (41,4% - 128/309). Reforçando esses achados, Pereira et al. (2012) observaram efeito positivo da ocorrência do estro na taxa de concepção em vacas Nelore utilizando como método de detecção, a marcação na base da cauda com o bastão marcador (58,2% vs 41,8%, respectivamente).

Sá Filho et al. (2010) ao utilizarem um adesivo detector de estro (EstroTECT<sup>®</sup>) em programas de IATF, encontraram maiores taxas de concepção nos animais com ocorrência de estro (67,7%) em comparação aos animais que não apresentaram esta característica (36,2%). Corroborando com este trabalho, Ribeiro Filho et al. (2012) também ao utilizar o EstroTECT<sup>®</sup> em vacas zebuínas verificaram diferença na taxa de concepção para fêmeas que expressaram estro em comparação com as vacas que não expressaram estro (56,3% vs 26,9%, respectivamente).

Dessa forma, a expressão do estro pode ser considerada um importante marcador de fertilidade em fêmeas Nelore submetidas a protocolos de sincronização da ovulação para IATF. A informação da expressão do estro no momento da inseminação pode ser uma ferramenta interessante para identificar fêmeas com maiores chances de ficarem gestantes, possibilitando, por exemplo, maior segurança na utilização de sêmen de

maior valor agregado e permitindo a utilização de estratégias após a IATF para melhorar as taxas de concepção de fêmeas que não expressaram o estro (BARUSELLI et al., 2011).

A ocorrência do estro está associada à elevados níveis séricos circulantes de estrógeno (E2), estimulando regiões específicas do centro comportamental (ROELOFS et al., 2010). Altas concentrações de E2 próximo à inseminação artificial são apontadas como principal responsável pela melhoria na fertilidade dos animais que expressaram estro. Isto por que, possibilitam uma modulação do pH uterino, levando a uma redução no metabolismo espermático e conseqüentemente, aumentando o tempo de viabilidade dos espermatozoides no trato reprodutivo das vacas (PERRY e PERRY, 2008). Este fato é de grande importância ao se trabalhar com a IATF, pois nestes protocolos mais de 90% das vacas são inseminadas em um momento pré-ovulatório, o que exige maior viabilidade da célula espermática no trato feminino (NEVES, 2010).

Os efeitos benéficos de maiores concentrações de estradiol são também associados a alterações nas secreções do oviduto (BUHI, 2002) e modulação da ação da P4 via indução dos seus receptores no útero e/ou aumentando sua secreção pelo corpo lúteo (ING e TORNESI, 1997; DICKINSON et al., 2016).

Segundo Perry et al. (2007), E<sub>2</sub> melhora nas taxas de concepção em fêmeas que expressam estro, pode ainda ser explicada pelo fato desses animais apresentarem uma melhor sincronia no momento da ovulação associada a maiores taxas de ovulação em comparação as fêmeas que não expressam estro, sendo desencadeada pelo tamanho do folículo pré-ovulatório no momento da IATF e pela elevada concentração de estradiol que favorece a uma maior taxa de concepção.

#### *Diâmetro do folículo pré-ovulatório*

A média do diâmetro folicular no momento da inseminação foi de  $11,86 \pm 3,18$ mm. A distribuição das vacas de acordo com a classe de DFOL foi de 35,1% <11mm, 39,7% entre 11 e 14mm, e 25,2% para >14mm de diâmetro. A mensuração do DFOL de dois animais foi perdida e eles foram excluídos desta avaliação. Vacas

categorizadas por apresentar DFOL entre 11 e 14 mm apresentaram taxa de concepção similar daquelas vacas com DFOL >14mm, mas ambas as categorias foram melhores ( $P<0,05$ ) do que aquelas fêmeas que apresentaram DFOL <11mm (Tabela 4).

Tabela 4 – Taxa de concepção de fêmeas bovinas da raça Nelore submetidas a um protocolo de IATF de acordo com o diâmetro do folículo pré-ovulatório no momento da inseminação (DFOL)

DFOL	Número de animais	Taxa de concepção % (n/n)
< 11mm	174	44,83 (78) <sup>b</sup>
11 a 14mm	197	55,84 (110) <sup>a</sup>
> 14mm	125	57,60 (72) <sup>a</sup>
Total	496	52,42 (260)

Valores seguidos de letras distintas na mesma coluna diferem entre si ( $P<0,005$ )

Estes resultados corroboram aos encontrados por Pugliesi et al. (2016) que avaliaram a taxa de prenhez de vacas Nelore lactantes de acordo com o diâmetro do maior folículo no momento da inseminação e encontraram maiores taxas de concepção (56,9%) nos animais que tiveram maiores folículos, em comparação aos animais com folículos menores (30,9%). Ainda neste estudo, os animais que apresentaram folículos maiores e mais irrigados no dia da inseminação, possuíam no dia sete do diestro subsequente, CLs maiores e com mais irrigação, sugerindo assim uma maior capacidade para secretar P4 e maiores chances de manutenção da gestação, quando comparados com os animais com folículos menores. Apoiando essas informações, Peres (2008) encontrou maiores concentrações circulante de P4 sete dias após a ovulação em vacas que tinham maior diâmetro folicular no dia da IATF.

Ribeiro Filho et al. (2013) avaliaram a probabilidade de concepção de fêmeas zebuínas categorizadas em três grupos experimentais de acordo com o diâmetro folicular. Como no presente estudo, os animais que apresentaram DFOL acima de 13,60mm, a probabilidade de concepção média foi de 78,83%, significativamente superior àqueles que apresentavam diâmetros de até 11,20 mm e entre 11,20 e 13,60 mm, cujos valores foram respectivamente de 33,68% e 59,17%.

Sá filho (2012) verificou uma associação positiva e significativa entre o diâmetro folicular e a taxa de concepção em fêmeas Nelore submetidas em programas

de IATF. Os folículos nas categorias acima de 11 mm tiveram taxas de concepção similares, mas diferiram daqueles categorizados com menos de 11 mm de diâmetro, assim como foi observado neste experimento. Os resultados positivos do maior diâmetro folicular na probabilidade de concepção em novilhas Nelore sincronizadas para IATF também foram confirmados por Dias et al. (2009) e Peres et al. (2009).

Pugliesi et al. (2016) atribuíram as menores taxas de concepção encontradas em vacas Nelore que apresentaram menor diâmetro do folículo pré-ovulatório no momento da IATF a diminuição na taxa de ovulação em relação aos animais com folículos maiores. No entanto, vacas com maiores folículos no momento da inseminação, tiveram melhores taxas de concepção, mesmo quando foram considerados apenas os animais que ovularam, mostrando efeitos adicionais dos hormônios esteroides (E2 e P4) no ambiente uterino e na tuba uterina destes animais. Essas informações condiz com resultados reportados anteriormente por Meneghetti et al. (2009) e Sá Filho et al. (2014) que observaram efeito positivo dos maiores folículos pré-ovulatórios no momento da IATF na taxa de concepção de fêmeas zebuínas de corte, levando em consideração todos os animais sincronizados ou apenas os animais que ovularam.

A presença de um maior folículo pré-ovulatório no momento da IA está associado com uma elevada concentração de estradiol (ATKINS et al., 2010). Sá Filho et al. (2009) verificaram uma proporção linear entre o diâmetro do folículo pré-ovulatório e a concentração de estradiol em vacas Nelore. Da mesma forma, Atkins et al. (2010) verificaram uma correlação positiva e significativa entre a concentração de estradiol e o diâmetro do folículo pré-ovulatório.

O estradiol aumenta a responsividade da hipófise ao GnRH pelo aumento de seus receptores ou por ação direta estimulando a secreção de LH (BARATTA et al., 2001; NETT et al., 2002). O aumento nos níveis de E2 durante o proestro e/ou estro está envolvido no controle de diversos processos fisiológicos que contribuem para o estabelecimento e manutenção da gestação, incluindo efeitos sobre as células foliculares, o oócito, o transporte de gametas e preparação do ambiente uterino (POHLER et al., 2012).

Vasconcelos et al. (2001) observaram em fêmeas de corte que ovularam folículos de menor diâmetro baixa capacidade de produzir progesterona pelo corpo lúteo promovendo um efeito negativo na fertilidade destes animais devido o insuficiente

desenvolvimento embrionário e menor produção de IFN-  $\tau$  pelo embrião (MANN e LAMMING, 2001). Sendo assim, essas maiores taxas de concepção encontradas em fêmeas com maiores folículos no momento da inseminação podem ser atribuídas às ações conjuntas das concentrações de E2 pré-ovulatório e de P4 pós-ovulatório.

## CONCLUSÕES

Nas condições que foi realizado este experimento, a presença ou não de CL e o IEC no início do protocolo não influenciou a taxa de concepção de fêmeas bovinas da raça Nelore em programas de IATF.

Entretanto, o diâmetro do folículo pré-ovulatório no momento da inseminação e a expressão do estro foram associados à melhores taxas de concepção de fêmeas bovinas sincronizadas e inseminadas em tempo fixo, o que os confirma como marcadores de fertilidade, podendo ser utilizada em situações específicas ou para escolha de estratégias após a IATF que melhorem as taxas de concepção.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ATKINS, J. A.; SMITH, M. F.; WELLS, K. J.; GEARY, T. W. Factors affecting preovulatory follicle diameter and ovulation rate after gonadotropin-releasing hormone in postpartum beef cows. Part I: Cycling cows. **Journal Animal Science**, v. 88, p. 2300–2310, 2010.
- AYRES, H.; FERREIRA, R. M.; TORRES-JÚNIOR, J. R.S.; DEMÉTRIO, C.G.B.; DE LIMA, C. G.; BARUSELLY, P. S. Validation of body condition score as a predictor of subcutaneous fat in Nelore (*Bos indicus*) cows. **Livestock Science**, v.123, n. 2-3, p. 175-179, 2009.
- BARATTA, M.; WEST, L. A.; TURZILLO, A. M.; NETT, T. M. Activin modulates differential effects of estradiol on synthesis and secretion of follicle-stimulating hormone in ovine pituitary cells. **Biology Reproduction**, v. 64, p. 714–719, 2001.
- BARREIROS, T. R. R.; BLASCHI, W.; SANTOS, G. M. G.; MOROTTI, F.; ANDRADE, E. R.; BARUSELLI, P. S.; SENEDA, M. M. Dynamics of follicular growth and progesterone concentrations in cyclic and anestrous suckling Nelore cows (*Bos indicus*) treated with progesterone, equine chorionic gonadotropin, or temporary calf removal. **Theriogenology**, v. 81, p. 651-656, 2014.
- BARUSELLI, P. S.; ABE, E. K.; SALA, R. V.; NICHI, M.; CAMPOS FILHO, E. P.; SÁ FILHO, M. F. A ocorrência do estro após a sincronização melhora a eficiência do uso do sêmen sexado na IATF. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 39, p. 370, 2011.
- BARUSELLI, P. S.; AYRES, H.; SOUZA, A. H.; MARTINS, C. M.; GIMENES, L. U.; TORRES-JÚNIOR, J. R. S. Impacto da IATF na eficiência reprodutiva em bovinos de corte. In: Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, 2., 2006, Londrina. **Anais...** Londrina: Biotecnologia da Reprodução em Bovinos, 2006.
- BARUSELLI, P. S.; REIS, E. L.; MARQUES, M. O.; NASSER, L. F.; BÓ, G. A. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrous beef cattle in tropical climates. **Animal Reproduction Science**. v. 82-83, p. 479–486, 2004.

BISINOTTO, R. S.; CHEBEL, R.C.; SANTOS, J. E. P. Follicular wave of the ovulatory follicle and not cyclic status influences fertility of dairy cows. **Journal Dairy Science**, v. 93, p. 3578-3587, 2010.

BÓ, G. A.; CUTAIA, A. L.; PERES, L. C.; PINCINATO, D.; MARANA, D.; BARUSELLI, P. S. Technologies for fixed-time artificial insemination and their influence on reproductive performance of *Bos indicus* cattle. **Society of Reproduction Fertility Supplement**, v. 64, p. 223-236, 2007.

BUHI, W. C. Characterization and biological roles of oviduct-specific, oestrogen-dependent glycoprotein. **Reproduction**, v. 123, p. 355-362, 2002.

DIAS, C. C.; WECHSLER, F. S.; DAY, M. L.; VASCONCELOS, J. L. M. Progesterone concentrations, exogenous equine chorionic gonadotropin, and timing of prostaglandin F<sub>2α</sub> treatment affect fertility in postpuberal Nelore heifers. **Theriogenology**, v. 72, p. 378-385, 2009.

DICKINSON, S. E.; GEARY, T. W.; MONNIG, J. M.; POHLER, K. G.; GREEN, J. A.; SMITH, M. F. Efeito da maturação do folículo pré-ovulatório no estabelecimento da prenhez em bovinos: o papel da competência oocitária e do ambiente materno. In: Reunião anual da sociedade brasileira de tecnologia de embriões, artigo da conferência principal, 2016, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões, 2016. v. 25. p. 107.

GRIMARD, B.; HUMBLLOT, P.; PONTER, A. A. Influence of postpartum energy restriction on energy status, plasma LH and oestradiol secretion and follicular development in suckled beef cows. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 104, p. 173-179, 1995.

IBGE, **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. 2015. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2015/default.shtm>>. Acesso em 06 jul. 2016.

ING, N. H.; TORNESI, M. B. Estradiol up-regulates estrogen receptor and progesterone receptor gene expression in specific ovine uterine cells. **Biology Reproduction**, v. 56, p. 1205-1215, 1997.

LAMB, G. C.; DAHLEN, C. R.; LARSON, J. E.; MARQUEZINI, G.; STEVENSON, J. S. Control of the estrous cycle to improve fertility for fixed-time artificial insemination in beef cattle: a review. **Journal Animal Science**, v. 88, (Suppl E), p.181-192, 2010.

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**, v. 78, p. 327–344, 2003.

MANN, G. E.; LAMMING, G. E. Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. **Reproduction**, v. 121, p. 175-180, 2001.

MARQUES, M. O.; MOROTTI, F.; SILVA, C. B.; JÚNIOR, M. R.; SILVA, R. C. P.; BARUSELLI, P. S.; SENEDA, M. M. Influence of category heifers, primiparous and multiparous lactating cows in a large scale resynchronization fixed time artificial insemination program. **Journal Veterinary Science**, v. 16, n. 3, p. 367-371, 2015.

MENEGHETTI, M.; SÁ FILHO, O. G.; PERES, R. F. G.; LAMB, G. C.; VASCONCELOS, J. L. M. Fixed-timed artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows I: Basis for development of protocols. **Theriogenology**, v. 72, p. 179-189, 2009.

MENEGHETTI, M. E.; VASCONCELOS, J. L. M. Mês de parição, condição corporal e resposta ao protocolo de inseminação artificial em tempo fixo em vacas de corte primíparas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, p. 786-793, 2008.

MURPHY, B. D. Equine chorionic gonadotrophin: an enigmatic but essential tool. **Animal Reproduction**, v. 9, n. 3, p. 223–230, 2012.

NETT, T.M.; TURZILLO, A. M.; BARATTA, M.; RISPOLI, L.A. Pituitary effects of steroid hormones on secretion of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 23, p. 33-42, 2002.

NEVES, K. A. L. **Efeito do intervalo entre a inseminação e a ovulação na taxa de concepção de vacas Nelore inseminadas em tempo fixo com sêmen sexado**. 2010. 89 f. Dissertação (mestrado) – Universidade de São Paulo, São Paulo.

OLIVEIRA, V. C. D.; FONTES, C. A. D. A.; SIQUEIRA, J. G. D.; FERNANDES, A. M.; SANTANA, N. D. F.; CHAMBELA NETO, A. Produção de leite e desempenho dos bezerros de vacas Nelore e mestiças. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p. 2074-2081, 2007.

PEREIRA, L. L.; PITALUGA, P. C. S. F.; BORGES, R. R. C.; SALA, R. V.; SÁ FILHO, M. F.; BARUSELLI, P. S. O éster de estradiol utilizado como estímulo ovulatório no protocolo de IATF não altera as taxas de ocorrência de estro e de prenhez em fêmeas de corte. **Animal Reproduction**, v. 9, n. 3, p. 520, 2012.

PERES, R. F. G. **Efeito da concentração pré e pós-ovulatória de progesterone em protocolos de IATF em fêmeas Nelore**. 2008. 87 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

PERES, R. F. G.; CLARO JUNIOR, I.; SÁ FILHO, O. G.; NOGUEIRA, G. P.; VASCONCELOS, J. L. M. Strategies to improve fertility in *Bos indicus* postpubertal heifers and nonlactating cows submitted to fixed-time artificial insemination. **Theriogenology**, v. 72, p. 681-689, 2009.

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

PERRY, G. A.; SMITH, M. F.; ROBERTS, A. J.; MACNEIL, M. D.; GREARY, T. W. Relationship between size of the ovulatory follicle and pregnancy success in beef heifers. **Journal Animal Science**, v. 85, p. 684-689, 2007.

POHLER, K. G.; GEARY, T. W.; ATKINS, J. A.; PERRY, G. A.; JINKS, E. M.; SMITH, M. F. Follicular determinants of pregnancy establishment and maintenance. **Cell Tissue Research**, v. 349, p. 649-664, 2012.

PUGLIESI, G.; SANTOS, F. B.; LOPES, E.; NOGUEIRA, E.; MAIO, J. R. G.; BINELLI, M. Improved fertility in suckled beef cows ovulating large follicles or supplemented with long-acting progesterone after timed-AI. **Theriogenology**, v. xx, p. 01-10, 2016.

RIBEIRO FILHO, A. L.; FERRAZ, P. A.; RODRIGUES, A. S.; BITTENCOURT, T. C. B. S. C.; LOIOLA, M. V. G.; CHALHOUB, M. Diâmetro do folículo no momento da inseminação artificial em tempo fixo e taxa de concepção em vacas Nelore. **Ciência Animal Brasileira**, v. 14, n. 4, p. 501-507, 2013.

RIBEIRO FILHO, A. L.; FERRAZ, P. A.; RODRIGUES, A. S.; LOIOLA, M. V. G.; ANDRADE, B. H. A. COUTINHO, T. P.; OLIVEIRA, C. H. C.; ARAUJO, E. A. B.; OLIVEIRA, S.N. BITTENCOURT, T. C. C.; CHALHOUB, M. Conception rate and diameter of the ovulatory follicle from zebu cattle submitted to FTAI protocol with estrus detection. **Animal Reproduction**, v. 9, n. 3, p. 540, 2012.

RODRIGUES, L. A.; FIGUEIREDO, V. S. F.; RIBEIRO, J. A. C. M.; RODRIGUES, F. A.; BARBOSA, L. K. G.; MURTA, D. V. F. Avaliação da dinâmica ovariana de fêmeas bovinas. **Caderno de Ciências Agrárias**, v. 7, n. 1, p. 91-94, 2015.

ROELOFS, J.; LÓPEZ-GATIUS, F.; HUNTER, R. H. F.; VAN EERDENBURG, F. J. C. M.; HANZEN, CH. When is a cow in estrus? Clinical and practical aspects. **Theriogenology**, v. 74, p. 327-344, 2010.

SÁ FILHO, M. F. **Importância da ocorrência de estro e do diâmetro folicular no momento da inseminação em protocolos de sincronização da ovulação para inseminação artificial em tempo fixo em fêmeas zebuínas de corte**. 2012. 124f. Tese (doutorado) - Universidade de São Paulo, São Paulo.

SÁ FILHO, M. F.; CRESPILO, A. M.; SANTOS, J. E. P.; PERRY, G. A.; BARUSELLI, P. S. Ovarian follicle diameter at timed insemination and estrous

response influence likelihood of ovulation and pregnancy after estrous synchronization with progesterone or progestin-based protocols in suckled *Bos indicus* cows. **Animal Reproduction Science**, v. 120, p. 23-30, 2010.

SÁ FILHO, M. F.; MARQUES, M. O.; GIMENES, L. U.; TORRES-JÚNIOR, J. R. S.; BATISTA, E. O. S.; CARVALHO, J. P. B.; BARUSELLI, P. S. Prostaglandin treatment at the onset of norgestomet and estradiol-based synchronization protocols did not alter the ovarian follicular dynamics or pregnancy per timed artificial insemination in cyclic *Bos indicus* heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 144, p. 1-5, 2014.

SÁ FILHO, M. F.; TORRES-JÚNIOR, J. R. S; PENTEADO, L.; GIMENES, L. U; FERREIRA, R. M; AYRES, H.; CASTRO, E.; PAULA, L. A.; SALES, J. N. S.; BARUSELLI, P. S. Equine chorionic gonadotropin improves the efficacy of a progestin-based fixed-time artificial insemination protocol in Nelore (*Bos indicus*) heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 118, p. 182-187, 2010.

SÁ FILHO, O. G.; MENEGHETTI, M.; PERES, R. F. G.; LAMB, G. C.; VASCONCELOS, J. L. M. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows II: Strategies and factors affecting fertility. **Theriogenology**, v.72, p. 210–218, 2009.

SÁ FILHO, O. G.; THATCHER, W. W.; VASCONCELOS, J. L. M. Effect of progesterone and/or estradiol treatments prior to induction of ovulation on subsequent luteal lifespan in anestrous Nelore cows. **Animal Reproduction Science**, v. 112, p. 95-106, 2009.

SALES, J. N. S.; CARVALHO, J. B. P.; CREPALDI, G. A.; SOARES, J. G.; GIROTTO, R. W.; MAIO, J. R. G.; SOUZA, J. C.; BARUSELLI, P. S. Effect of circulating progesterone concentration during synchronization for fixed-time artificial insemination on ovulation and fertility in *Bos indicus* (Nelore) beef cows. **Theriogenology**, v. 83, p. 1093–1100, 2015.

SALES, J. N. S.; CREPALDI, G. A.; GIROTTO, R. W.; SOUZA, A. H.; BARUSELLI, P. S. Fixed-time AI protocols replacing eCG with a single dose of FSH were less

effective in stimulating follicular growth, ovulation, and fertility in suckled-anestrus Nelore beef cows. **Animal Reproduction Science**, v. 124, p. 12–18, 2011.

SANTOS, J. E. P.; RUTIGLIANO, H. M.; SÁ FILHO, M. F.. Risk factors for resumption of postpartum estrous cycles and embryonic survival in lactating dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v. 110, p. 207-221, 2009.

SANTOS, J. E. P.; THATCHER, W. W.; CHEBEL, R. C.; CERRI, R. L. A.; GALVÃO, K. N. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. **Animal Reproduction Science**, v. 82, p. 513– 535, 2004.

SANTOS, S. A.; ABREU, U. G. P.; SOUZA, G. S.; CATTO, J.B. Condição corporal, variação de peso e desempenho reprodutivo de vacas de cria em pastagem nativa no Pantanal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, p. 354-360, 2009.

SARTORI, R.; GUARDIEIRO, M. M. Fatores nutricionais associados à reprodução da fêmea bovina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 422-432, 2010.

SONOHATA, M. M.; OLIVEIRA, C. A. L.; CANUTO, N. G. D.; ABREU, U. G. P.; FERNANDES, D. D. Escore de condição corporal e desempenho reprodutivo de vacas no Pantanal do Mato Grosso do Sul. Brasil. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 10, p. 988-998, 2009.

SOUZA, A. L. B.; SEGUI, M. S.; KOZICKI, L. E.; WEISS, R. R.; ABREU, A.; BERTOL, M. A. F.; OLIVEIRA, D. M. A. Impact of Equine Chorionic Gonadotropin Associated with Temporary Weaning, Estradiol Benzoate, or Estradiol Cypionate on Timed Artificial Insemination in Primiparous Bos Indicus Cows. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.59, 2016.

TORRES, H. A. L.; TINEO, J. S. A.; RAIDAN, F. S. S. Influência do escore de condição corporal na probabilidade de prenhez em bovinos de corte. **Arquivo de Zootecnia**, v. 64, p. 255-260, 2015.

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

WILTBANK, M. C.; GUMEN, A.; SARTORI, R. Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. **Theriogenology**, v. 57, n. 1, p. 21-52, 2002.

YAVAS, Y.; WALTON, J. S. Postpartum acyclicity in suckled beef cows: A review. **Theriogenology**, v. 54, n. 1, p. 25-55, 2000.

## **CAPÍTULO 02**

---

Suplementação com uma fonte exógena de progesterona após inseminação como alternativa para incrementar a taxa de concepção de fêmeas bovinas da raça Nelore em programas de IATF

## Suplementação com uma fonte exógena de progesterona após inseminação como alternativa para incrementar a taxa de concepção de fêmeas bovinas da raça Nelore em programas de IATF

### RESUMO

Objetivou-se avaliar o efeito da suplementação com acetato de melengestrol (MGA) após a IATF sobre a taxa de concepção de fêmeas bovinas da raça Nelore de acordo com a ciclicidade durante o protocolo, o diâmetro do folículo pré-ovulatório no momento da inseminação e a expressão do estro entre a retirada do implante intravaginal e a inseminação. Para tanto, 598 fêmeas zebuínas da raça Nelore lactantes foram submetidas a dois exames ginecológicos ultrassonográficos com intervalo de oito dias, a fim de identificar a ciclicidade ovariana, sendo consideradas em anestro as fêmeas que não apresentaram tecido lúteo em nenhum dos exames e ciclando os animais que apresentaram tecido lúteo em pelo menos um exame. Posteriormente, foram submetidas ao seguinte protocolo de sincronização: em um dia aleatório do ciclo estral (Dia -10) os animais receberam um implante intravaginal de progesterona (DIB<sup>®</sup>, Zoetis, São Paulo, Brasil) associado a 2mg de Benzoato de Estradiol por via intramuscular (i.m.) (GONADIOL<sup>®</sup>, Zoetis, São Paulo, Brasil). No dia -2 (D-2), foi removido o implante intravaginal e administrado 12,5mg de Dinoprost Trometamina i.m. (LUTALYSE<sup>®</sup>, Zoetis, São Paulo, Brasil) seguido por 1,0mg de Cipionato de Estradiol i.m. (ECP<sup>®</sup>, Zoetis, São Paulo, Brasil) e 300UI de eCG i.m. (NOVORMON<sup>®</sup>, Zoetis, São Paulo, Brasil). Neste momento, os animais foram pintados com bastão marcador (RAIDEX<sup>®</sup>, GmbH, Dettingen/Erms, Alemanha) na base da cauda. No dia 0 (D0) os animais foram analisados em relação à expressão (C/ESTRO) ou não (S/ESTRO) do estro, de acordo com a remoção da tinta na base da cauda. Em seguida, procedeu-se a mensuração do diâmetro do folículo pré-ovulatório (DFOL) por ultrassonografia transretal, categorizando em DFOL <11mm; 11 a 14mm e >14mm e a inseminação artificial foi realizada em todos os animais. Após a IATF, os animais foram distribuídos em dois grupos experimentais: no grupo C/MGA (n=327) foram suplementados por seis dias, 13<sup>o</sup> ao 18<sup>o</sup> dia após IATF, com 0,50mg de Acetato de

Melengestrol e no grupo S/MGA (n=250) receberam apenas o suplemento mineral sem a presença do MGA. O diagnóstico de gestação foi realizado por exame ultrassonográfico 35 dias após a IATF. Houve um efeito positivo (P=0,004) do tratamento com MGA sobre a taxa de concepção em relação ao grupo controle (58,41% vs 46,40%, respectivamente). O tratamento com MGA melhorou a taxa de concepção dos animais em anestro e independente da expressão ou não de estro. Em relação às taxas de concepção nos animais tratados com MGA de acordo com o DFOL apenas os animais com DFOL >14mm tiveram melhores taxas de concepção quando suplementados com MGA em relação aos não suplementados.

**Palavras- chave:** Acetato de melengestrol, anestro, bovino, fertilidade, inseminação

Supplementation with an exogenous source of progesterone after  
insemination as an alternative to increase the conception rate of cows  
Nelore in TAI programs

**ABSTRACT**

This study aimed to evaluate the effect of supplementation with melengestrol acetate (MGA) after TAI on the conception rate of cows Nelore according to cyclicity in the protocol, the diameter of the pre-ovulatory follicle at the time of insemination and estrus expression of withdrawing the intravaginal implants and insemination. Therefore, 598 zebu females lactating breed Nelore were subjected to two gynecological exams eight days apart in order to identify ovarian cyclicity, being considered in anestrus females who did not have luteal tissue in any of the tests and cycling the animals luteum tissue showed at least one test. Posteriorly, underwent the following synchronization protocol: on a random day of the estrous cycle (Day -10) the animals received an intravaginal progesterone implant (DIB<sup>®</sup>, Zoetis, São Paulo, Brazil) associated with 2mg of estradiol benzoate intramuscularly (im) (GONADIOL<sup>®</sup>, Zoetis, São Paulo Brazil). On day 2 (D-2) the intravaginal transplant was removed and 12.5mg of Dinoprost Tromethamine was administered (i.m.) (Lutalyse<sup>®</sup>, Zoetis, São Paulo, Brazil), followed by 1.0mg of Estradiol Cypionate i.m. (ECP<sup>®</sup>, Zoetis, São Paulo, Brazil) and 300IU of eCG i.m. (NOVORMON<sup>®</sup>, Zoetis, São Paulo, Brazil). At this point, the animals were painted with marker stick (RAIDEX<sup>®</sup>, GmbH, Dettingen / Erms, Germany) at the base of the tail. On day 0 (D0) the animals were analyzed for expression (W/ ESTRUS) or not (W/O ESTRUS) of estrus. Then proceeded to measure the of the preovulatory follicle diameter (POFD) by transrectal ultrasound, categorize them into POFD <11mm, 11 to 14mm or > 14mm, and carried out artificial insemination in all animals. After TAI, the animals were divided into two groups: the C / MGA group (n=327) were supplemented by six days, 13th to 18th day after TAI, with 0.50 mg of melengestrol acetate and Group S / MGA (n=250) received only mineral supplement without the presence of MGA. Pregnancy diagnosis was performed by ultrasound examination 35 days after TAI. There was a positive effect (P=0.004) of

treatment with MGA on the conception rate in the control group (58.41% vs 46.40%, respectively). Treatment with MGA improved conception rate of animals anestrous and independent of the expression or absence of estrus. Regarding the conception rate in animals treated with MGA according to POFD only animals with POFD >14mm had better conception rates when supplemented with MGA compared to supplemented.

**Key-words:** melengestrol acetate, anestrus, cattle, fertility, insemination

## INTRODUÇÃO

A eficiência reprodutiva é o fator que individualmente mais influencia a produtividade e a lucratividade da exploração pecuária de corte (MACHADO et al., 2010). Entretanto, apesar de altas taxas de fertilização (90 a 95%), a taxa de concepção em programas de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) situa-se em torno de 40 a 60% em fêmeas bovinas (MENEGETTI et al., 2009; PERES et al., 2009; DISKIN et al., 2011).

Entre os principais fatores que contribuem para estes baixos índices, destaca-se a mortalidade no estágio inicial de desenvolvimento embrionário, em torno de 29 a 39% dos embriões não conseguem desenvolver-se a termo, refletindo negativamente no resultado final de programas reprodutivos (DISKIN e MORRIS, 2008; LONERGAN et al., 2016; WILTBANK et al., 2016).

Estas perdas na fase inicial da gestação é um reflexo da complexidade do período de pré-implantação embrionária, o qual compreende o intervalo entre a fecundação do oócito e a implantação do concepto. Ocorrem interações complexas entre o ovário, o endométrio e o embrião, durante esse período, que são necessárias para o estabelecimento da gestação e para a consequente produção de bezerros viáveis (GOFF, 2002).

Nesta fase gestacional o epitélio glandular do endométrio é estimulado a se proliferar e produzir substratos, aminoácidos, fatores de crescimento, entre outras secreções histotróficas (leite uterino) que irão nutrir os embriões até o momento da implantação. Estas secreções correspondem à primeira fonte de nutrientes disponíveis para o concepto e são produzidas sob estímulos da progesterona (P4), sendo esta, essencial para sua sobrevivência e seu crescimento até o final da gestação (SPENCER et al., 2004).

A P4 além de fundamental para a nutrição embrionária até a placentação, também se mostra indispensável na prevenção da luteólise e manutenção da gestação a termo (LIMA e SOUZA, 2009). Isto porque, em bovinos o reconhecimento materno da gestação ocorre através da ação de uma proteína sintetizada pelas células trofoblásticas embrionárias, denominada interferon-tau (IFN-  $\tau$ ), secretada em grande quantidade entre os dias 15 e 17 da gestação (SANTOS et al., 2004).

O IFN- $\tau$  age inibindo ou alterando os padrões de síntese e secreção de prostaglandina F $2\alpha$  (PGF $2\alpha$ ) pelo endométrio, sendo esse efeito obtido através do bloqueio da expressão de receptores de ocitocina nas células endometriais, o qual determina o impedimento da ação da ocitocina no estímulo para a síntese e a liberação de PGF $2\alpha$  (DEMMERS et al., 2001).

Estudos têm demonstrado que a produção de IFN- $\tau$  pelo concepto é positivamente correlacionada com a concentração de P4 plasmática materna, evidenciando que quando seus níveis estão baixos no início da gestação podem influenciar o desenvolvimento embrionário, presumivelmente por causar alteração nas secreções endometriais, a qual resulta em redução na secreção de IFN- $\tau$ , sendo apontada como um dos principais fatores que leva a mortalidade embrionária precoce em bovinos (LARSON et al., 2007).

Baixas concentrações circulantes de P4 durante o período pós ovulatório foram associadas com embriões menores no dia 16 e menor secreção de IFN- $\tau$ , ineficaz para bloquear o processo luteolítico e para manter a gestação (MANN e LAMMING, 2001). Por outro lado, o aumento em suas concentrações após a IATF foi associado com alteração na expressão de genes endometriais (FORDE et al., 2009), o que levou a um progressivo alongamento do concepto (CARTER et al., 2008; O'HARA et al., 2014), aumento na produção de IFN- $\tau$  (MANN e LAMMING, 1999) e maiores taxas de prenhez em vacas de corte (DISKIN e MORRIS, 2008).

Com esta perspectiva, muitos trabalhos têm buscado estratégias para melhorar as concentrações plasmáticas de P4 após a inseminação e conseqüentemente, incrementar os índices de fertilidade nos programas de IATF. A utilização de hCG, GnRH ou seus análogos, objetivando a formação de um CL acessório e a suplementação com diversas fontes de P4 (oral, injetável, intravaginal ou auricular) estão entre as alternativas (WILTBANK et al., 2011; LOIOLA et al., 2014; MONTEIRO JR et al., 2015). Dentre as fontes de progesterona disponíveis no mercado, o acetato de melengestrol (MGA) destaca-se por ser um esteróide progestacional sintético de administração oral, apresentando como vantagem à praticidade e a não necessidade de manejo adicional do rebanho para a sua administração (PEREZ, 2005).

O sucesso na elevação dos níveis plasmáticos de P4 tem sido alcançado por grande parte dos pesquisadores. Entretanto, quando avaliado o efeito na melhoria da

fertilidade, os resultados são bastante inconsistentes, apresentando efeitos positivos, negativos ou não interferindo nas taxas de concepção (LARSON et al., 2007; MONTEIRO JR et al., 2014; PARR et al., 2014).

Entre as justificativas para as controvérsias nos resultados alcançados, pode-se destacar a avaliação da taxa de concepção de forma geral na maioria destas pesquisas, não levando em consideração a variedade de fatores existentes dentro de um mesmo grupo de fêmeas, o que pode comprometer os níveis plasmáticos de P4 no início da gestação de forma diferente, podendo existir ou não a necessidade de um suporte exógeno deste hormônio dentro de um mesmo grupo de animais tratados (PUGLIESI et al., 2015).

Desta forma, este trabalho buscou avaliar o efeito da suplementação com MGA após a IATF sobre a taxa de concepção de fêmeas bovinas da raça Nelore de forma geral e de acordo com a ciclicidade durante o protocolo, a expressão do estro entre a retirada do implante intravaginal e a inseminação e o diâmetro do folículo pré-ovulatório no momento da inseminação.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Local e animais experimentais

Este experimento foi realizado no período de outubro a dezembro de 2015, em uma fazenda comercial localizada na região do recôncavo da Bahia, apresentando localização geográfica de latitude 12° 21' 11'' e longitude 38° 22' 44''. A região apresenta pluviosidade média anual de 1.400mm e está inserida em uma área de clima tropical úmido com vegetação predominante de mata atlântica.

Para tanto, foram utilizadas 598 fêmeas zebuínas da raça Nelore lactantes, com média para idade de  $6,74 \pm 3,25$  anos, índice de escore corporal (IEC) de  $3,29 \pm 0,48$  (escala de 1 a 5 - AYRES et al., 2009) e 31 a 58 dias pós-parto. Todos os animais foram mantidos em piquete com pastagem predominante de *Brachiaria decumbens* com suplementação mineral e água *ad libitum*. A fazenda obedecia ao calendário sanitário oficial e todas as fêmeas foram imunizadas contra doenças da esfera reprodutiva. Dentre

os animais trabalhados, 21 perderam o implante intravaginal de P4 durante o protocolo e foram excluídas do experimento, permanecendo 577 animais.

### **Manejo reprodutivo e tratamento**

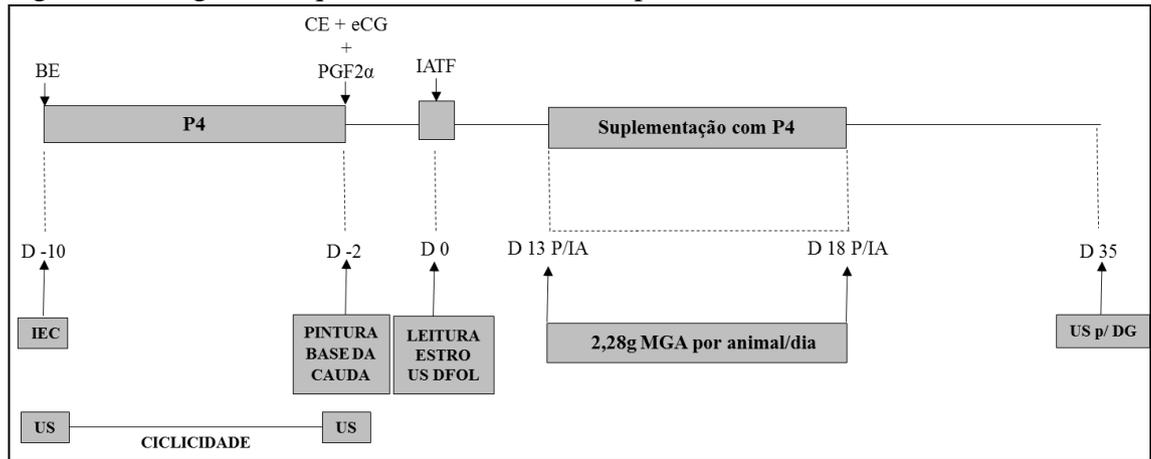
Previamente ao início da sincronização, esses animais foram submetidos ao exame ginecológico com o auxílio da ultrassonografia transretal utilizando-se um transdutor linear com frequência de 6,0MHz (Mindray, DP 2200 VET, São Paulo, Brasil), sendo consideradas aptas a participarem do experimento, fêmeas que apresentaram na avaliação ausência de anormalidades no trato reprodutivo. Com o intuito de avaliar a ciclicidade ovariana, esse exame foi repetido no oitavo dia do protocolo, sendo consideradas em anestro as fêmeas que não apresentaram tecido lúteo em nenhum dos dois exames ginecológicos e ciclando os animais que apresentaram tecido lúteo em pelo menos um dos exames.

Os animais foram submetidos ao seguinte protocolo de sincronização (Figura 1): em um dia aleatório do ciclo estral (Dia -10) receberam um dispositivo intravaginal de P4 (DIB<sup>®</sup>, Zoetis, São Paulo, Brasil), associado a 2mg de Benzoato de estradiol por via intramuscular (i.m.) (GONADIOL<sup>®</sup>, Zoetis, São Paulo, Brasil). No dia -2 (D-2) foi removido o dispositivo intravaginal de P4 e administrados 12,5mg de Dinoprost trometamina i.m. (LUTALYSE<sup>®</sup>, Zoetis, São Paulo, Brasil) seguido por 1,0mg de Cipionato de Estradiol i.m. (ECP<sup>®</sup>, Zoetis, São Paulo, Brasil) e 300UI de eCG i.m. (NOVORMON<sup>®</sup>, Zoetis, São Paulo, Brasil). No momento da remoção do dispositivo intravaginal os animais foram pintados com bastão marcador (RAIDEX<sup>®</sup>, GmbH, Dettingen/Erms, Alemanha) na base da cauda para detecção do estro. No dia 0 (D0) foi realizada as inseminações, 48 à 54h após a remoção do dispositivo de P4 utilizando sêmen criopreservado de touros da raça Nelore com fertilidade previamente comprovada. No momento da IATF, o sêmen foi descongelado a 37°C por 30 segundos e todos os procedimentos foram realizados por um mesmo técnico treinado e com experiência comprovada.

Neste momento, previamente a realização da IATF, foi realizada a mensuração do diâmetro do folículo pré-ovulatório (DFOL) por meio da ultrassonografia transretal, utilizando-se transdutor linear com frequência de 6,0MHz (Mindray, DP 2200 VET,

São Paulo, Brasil). O DFOL foi calculado através da média do maior diâmetro e do diâmetro perpendicular a ele e categorizado em < 11mm, 11 a 14mm ou > 14mm de acordo com Pugliesi et al. (2016). A expressão (C/ESTRO) ou não (S/ESTRO) do estro foi verificada de acordo com a remoção ou não da pintura na base da cauda respectivamente, no momento da inseminação.

Figura 1 – Diagrama esquemático do desenho experimental



IEC= Índice de Escore Corporal; US= Ultrassonografia; BE= Benzoato de estradiol; P4= Progesterona oriunda do dispositivo; CE= Cipionato de estradiol; eCG= Gonadotrofina coriônica equina; PGF2α= Prostaglandina F 2α; DFOL= Diâmetro do folículo pré-ovulatório; MGA= Acetato de melengestrol; DG= Diagnóstico de gestação.

No dia da IATF, os animais foram aleatoriamente distribuídos em dois grupos experimentais de acordo com a suplementação com uma fonte exógena de P4. Os animais do grupo C/MGA (n=327), foram suplementados por seis dias, 13º ao 18º dia após IATF, com 0,50mg de Acetato de Melengestrol, o que corresponde a 2,28g/animal/dia do MGA<sup>®</sup> Premix (MGA) fornecido no cocho, junto com o sal mineral de acordo com Peixoto et al. (2005). Os animais do grupo S/MGA (n=250) receberam o mesmo tipo de sal mineral, entretanto, sem a presença do MGA, nas mesmas condições do grupo tratado.

O sal mineral utilizado durante o experimento já vinha sendo fornecido para esses animais desde o início da estação reprodutiva, sendo específico para fêmeas bovinas de corte em reprodução e o consumo por animal era monitorado pela equipe técnica da fazenda. Mesmo assim, a fim de precisar a quantidade exata de sal mineral

consumida/lote/dia, foi realizada a leitura de cocho diariamente a partir do oitavo dia após a inseminação. Para isso, o consumo foi observado e registrado pela manhã e pela tarde, pesando as sobras caso fosse preciso, até ajustar a quantidade necessária por lote/dia, de forma que, quando iniciou o tratamento com o MGA, o consumo médio exato de sal mineral por animal já estava definido em cada lote.

A quantidade de MGA correspondente ao consumo diário do lote foi adicionada à quantidade diária de sal mineral, estabelecida e ajustada pela leitura de cocho prévia, homogeneizadas e distribuída. Com o objetivo de verificar a ingestão do MGA, também foi feita a leitura do cocho, pela manhã e pela tarde todos os dias durante o tratamento. Ocorreu o consumo total da suplementação em todos os dias que foram ofertados. A partir do 19º dia o consumo de MGA foi suspenso e os animais de ambos os grupos passavam a consumir apenas o sal mineral.

O diagnóstico de gestação foi realizado por ultrassonografia transretal 35 dias após as inseminações. Foi considerado diagnóstico de gestação positivo a presença da vesícula embrionária com um embrião viável (batimento cardíaco). A taxa de concepção foi calculada dividindo-se o total de vacas gestantes pelo total de vacas inseminadas.

### **Análise estatística**

Informações individuais das fêmeas foram dispostas em uma única planilha para análise estatística. Os dados foram analisados por regressão logística multivariada utilizando-se o *Statistical Package for Social Science* (SPSS, versão 19), considerando nível de significância de 5%. Para a análise da taxa de concepção após a IATF de todos os animais foi incluído no modelo inicial o efeito do índice de escore corporal, da ciclicidade ovariana no início do protocolo (ciclando ou anestro), do diâmetro do folículo pré-ovulatório (DFOL < 11mm, 11 a 14mm ou > 14mm), da expressão ou não do estro entre a retirada do implante intravaginal e a inseminação e da suplementação ou não com MGA entre o 13º ao 18º dia após IATF, além do efeito do sêmen utilizado e dos lotes de animais. Posteriormente, a taxa de concepção entre os grupos experimentais foi comparada aplicando-se um estudo de dispersão de frequências utilizando-se o teste do Qui-quadrado ( $\chi^2$ ). Na primeira fase das análises levou-se em consideração apenas a aplicação ou não do MGA, em uma segunda etapa comparou-se as variáveis,

ciclicidade, diâmetro do folículo pré-ovulatório e expressão ou não do estro, com o tratamento ou não com MGA.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### *Taxa de concepção geral*

Neste estudo a taxa de concepção média foi de 53,21% (307/577), semelhante ao observado por diversos outros autores que trabalharam com vacas zebuínas de corte em programas de IATF (SÁ FILHO et al., 2012; RIBEIRO FILHO et al., 2013; RODRIGUES et al., 2014). O tipo de sêmen utilizado e os diferentes lotes de animais não impactaram a taxa de concepção. Porém, a ciclicidade ovariana no início do protocolo, o diâmetro do folículo pré-ovulatório, a expressão ou não do estro entre a retirada do implante intravaginal e a inseminação e o tratamento com MGA foram associados à taxa de concepção após a IATF.

Houve efeito positivo ( $P=0,004$ ) do fornecimento de acetato de melengestrol entre o 13º e 18º dia após a IATF sobre a taxa de concepção de fêmeas bovinas da raça Nelore quando avaliadas de forma geral em relação aos animais do grupo controle (58,41% vs 46,40%, respectivamente) (Tabela 1).

Tabela 1 – Taxa de concepção de fêmeas bovinas da raça Nelore submetidas a um protocolo de IATF e tratadas (C/MGA) ou não (S/MGA) com 2,28g de MGA entre os dias 13 a 18 após as inseminações

Tratamentos	Número de animais	Taxa de concepção % (n)
C/MGA	327	58,41 (191) <sup>a</sup>
S/MGA	250	46,40 (116) <sup>b</sup>
Total	577	53,21 (307)

Valores seguidos de letras distintas na mesma coluna diferem entre si ( $P=0,004$ )

Os achados deste experimento corroboram aos de Silva Júnior et al. (2014) que conseguiram maior taxa de prenhez suplementando vacas multíparas da raça Nelore com MGA entre o 13º ao 17º dia após protocolo de IATF. Seguindo esta mesma linha

de pesquisa, os dados de 2.301 vacas múltíparas lactantes da raça Nelore que receberam o mesmo tratamento deste experimento foram divulgados recentemente por Costa et al. (2015), mostrando um efeito significativo ( $p < 0,05$ ) na taxa de prenhez (62,7%) dos animais suplementados em relação ao controle (56,2%).

Em contrapartida, Rodrigues et al. (2014) avaliaram o efeito da suplementação com progesterona na fertilidade de vacas da raça Nelore fornecendo 2,28g de MGA entre 13° e 18° dia após as inseminações e não observaram diferença significativa na taxa de concepção dos animais tratados (50,00%) em relação ao controle (42,16%).

Utilizando outra fonte de P4, Monteiro Jr et al. (2015) avaliaram o efeito da suplementação com um dispositivo intravaginal de P4 entre os dias três a 20 após a ovulação de vacas de leite de alta produção. Apesar de conseguirem aumento nos níveis circulantes de P4 dos animais suplementados, nenhuma diferença foi observada nas taxas de concepção em relação à suplementação. Em compensação, Larson et al. (2007) utilizaram o mesmo tratamento em vacas leiteiras, entretanto, em período diferente (3° ao 10° dia após a IATF), e observaram efeito positivo na taxa de concepção dos animais tratados (48%) em relação ao grupo controle (35%).

De acordo com a literatura, muitos fatores podem influenciar na taxa de concepção de animais suplementados com P4. Larson et al. (2009) encontraram efeitos positivos na fertilidade quando vacas de leite foram suplementadas com um dispositivo intravaginal de P4, mas nenhuma melhoria foi visualizada em vacas de corte com o mesmo tratamento e no mesmo momento, sugerindo uma diferença na resposta ao tratamento de acordo com o tipo de animal tratado (corte ou leite).

Para Mann e Lamming (1999), o momento da suplementação com P4 é outro fator importante para a sobrevivência embrionária. Analisando estudos retrospectivos em vacas de leite, encontraram efeito benéfico da suplementação apenas quando realizada na primeira semana após a inseminação e nenhum benefício foi visualizado quando a suplementação ocorreu durante a segunda ou terceira semana.

De forma contraditória, foi encontrado efeito satisfatório na taxa de concepção no presente estudo, onde a suplementação com o MGA ocorreu entre os dias 13 a 18 após a inseminação. A diferença no tipo de progestágenos utilizado (MGA) e nos animais suplementados (vacas de corte) poderia justificar esses achados. De acordo com Rodrigues et al. (2014), vacas de corte suplementadas com MGA mais cedo (5° ao 10°

dia após IA) tiveram piores taxas de concepção quando comparadas ao controle (28,00% vs 47,87%, respectivamente).

Os autores supracitados justificaram que o fornecimento deste progestágeno precocemente, na primeira semana após IATF, reduziu as taxas de concepção em vacas de corte devido ao seu modo de ação, promovendo um ambiente endócrino inadequado, talvez por variações de pH uterino, ou outro fator que possa inviabilizar o desenvolvimento e crescimento embrionário neste período, concordando com Shams-Esfandabadi e Shirazi (2007) e Silva et al. (2015) que também observaram redução na taxa de concepção em vacas que receberam o mesmo tratamento em período similar.

Buscando avaliar um melhor momento para a suplementação com MGA em vacas de corte, Costa et al. (2015) testaram o efeito deste progestágeno em dois períodos distintos (5° ao 18° ou 13° ao 18° dia após a inseminação) em vacas Nelore submetidas à programas de IATF. Com este trabalho, concluíram que ambos os tratamentos tiveram efeitos satisfatórios em relação à taxa de concepção quando comparados com o controle, não diferindo entre si. Desta forma, os autores indicaram como melhor opção, o tratamento similar ao deste estudo (13° ao 18° dia), devido ao menor custo e duração. Diante dessas informações, a suplementação com MGA em vacas de corte aparenta expressar melhores resultados quando realizada mais tarde no diestro.

Wiltbank et al. (2014) analisaram diversos trabalhos que tinham como objetivo, melhorar os níveis circulantes de P4 em fêmeas bovinas durante o período de pré-implantação embrionária e conseqüentemente, favorecer a taxa de concepção destes animais em programas reprodutivos. Esses autores encontraram um consenso em relação à elevação nos níveis séricos de P4, entretanto, quanto à fertilidade, mostravam uma grande divergência em seus resultados, sugerindo a interferência de fatores outros que não estariam sendo analisados nestes experimentos.

Com o objetivo de minimizar os efeitos destes fatores em relação ao tratamento com MGA na taxa de concepção e ciente da escassez na literatura de pesquisas que tiveram essa preocupação, buscou-se na segunda etapa deste trabalho avaliar o efeito do tratamento com P4 de acordo com as seguintes variáveis: ciclicidade ovariana durante o protocolo, expressão do estro e diâmetro pré-ovulatório no momento da IATF.

A hipótese é que o tratamento com MGA atue de forma diferente em cada uma destas variáveis, melhorando a taxa de concepção principalmente, dos animais que

apresentaram comprometimento da fertilidade por deficiência da função folicular ou lútea.

### *Ciclicidade ovariana*

Animais em anestro no início do protocolo e que não foram suplementados com MGA tiveram taxas de concepção significativamente inferiores aos demais grupos experimentais (Tabela 2).

Tabela 2 – Taxa de concepção de fêmeas bovinas da raça Nelore submetidas a um protocolo de IATF e tratadas ou não com 2,28g de MGA entre os dias 13 a 18 após as inseminações de acordo com a ciclicidade durante o protocolo

Tratamentos	Número de animais	Taxa de concepção % (n)
Ciclando com MGA	130	61,54 (80) <sup>a</sup>
Ciclando sem MGA	75	58,67 (44) <sup>a</sup>
Anestro com MGA	196	56,63 (111) <sup>a</sup>
Anestro sem MGA	133	36,84 (49) <sup>b</sup>
Total	534	53,18 (284)

Valores seguidos de letras distintas na mesma coluna diferem entre si ( $P < 0,05$ )

Sendo assim, a hipótese proposta foi sustentada, visto que, o tratamento com MGA teve efeito significativo apenas nos animais que estavam em anestro durante o protocolo, mostrando um possível comprometimento na fertilidade desses animais e maior necessidade de um suporte exógeno de P4 em relação aos animais que estavam ciclando.

De acordo com a literatura, vacas de leite e de corte em anestro pós-parto no início dos protocolos de IATF, ovulam folículos menores, que resultam em CLs menores ou menos funcional em relação à produção de P4 (MACMILLAN et al., 2003; BARREIROS et al., 2004), justificando a melhor resposta dos animais em anestro no início do protocolo à suplementação com MGA, quando comparados com os animais ciclando.

Essas informações foram reforçadas por Baruselli et al. (2004) que avaliaram a taxa de concepção de acordo com as estruturas identificadas nos ovários durante o exame ginecológico prévio ao protocolo de fêmeas bovinas da raça Nelore submetidas à programas de IATF. De acordo com esses autores, os animais que possuíam CL no início do protocolo tiveram maiores taxas de concepção (55,5%) em relação aos animais que possuíam apenas folículos  $\geq 8\text{mm}$  (34,4%) ou aqueles que tinham apenas folículos  $< 8\text{mm}$  (29,4%), mostrando diferença na resposta ao protocolo de sincronização de acordo com o status reprodutivo dos animais previamente ao protocolo.

Seguindo está mesma linha de pesquisa, recentemente Pugliesi et al. (2016) testaram uma suplementação com outra fonte de P4 (injetável de longa ação), quatro dias após a ovulação, sobre a taxa de concepção de fêmeas bovinas da raça Nelore em programas de IATF. Esses autores não encontraram efeito significativo deste tratamento quando foi aplicado em animais com o status reprodutivo desconhecido (anestro ou ciclando), entretanto, quando o mesmo tratamento foi realizado apenas em vacas lactantes que estavam em anestro no início do protocolo as taxas de concepção melhoraram significativamente.

Muitos estudos têm apontado em rebanhos de fêmeas zebuínas lactantes criadas a pasto, uma alta porcentagem (74,26%) de animais em anestro no início do protocolo (RODRIGUES et al., 2015). Marques et al. (2003) e Baruselli et al. (2002) verificaram baixo percentual (24,3% e 14,0%) de vacas de corte lactantes ciclando entre 60 a 70 dias pós parto e de acordo com Wheaton et al. (2007) a taxa de anestro pode chegar até 90% em vacas de corte amamentando em sistemas de pastagem com 30 a 40 dias pós-parto, momento em que são incluídas em programas de IATF.

Portanto, o alto percentual de fêmeas zebuínas de corte criadas a pasto em anestro pós-parto no início da estação reprodutiva e a menor taxa de concepção, quando comparadas com fêmeas cíclicas em programas de IATF parece ser uma realidade em grande parte da pecuária extensiva de corte no território nacional, sendo importante a utilização de estratégias que possibilitem melhores resultados neste grupo de animais. Dessa forma, o aumento na taxa de concepção de fêmeas em anestro que foram suplementadas com P4 observado neste estudo, indica uma nova e interessante alternativa para melhorar a fertilidade de vacas de corte nos grandes sistemas de criação do Brasil. Essa alternativa se torna ainda mais expressiva, levando em consideração a

praticidade na utilização deste tratamento, o qual não exige nenhum manejo adicional aos animais.

*Expressão do estro e diâmetro do folículo pré-ovulatório*

Houve um efeito positivo do fornecimento do MGA entre o 13º ao 18º dia após a IATF sobre a taxa de concepção de fêmeas bovinas da raça Nelore independente da expressão ou não de estro (Tabela 3).

Tabela 3 – Taxa de concepção de fêmeas bovinas da raça Nelore submetidas a um protocolo de IATF e tratadas ou não com 2,28g de MGA entre os dias 13 a 18 após as inseminações de acordo com a expressão (C/ESTRO) ou não (S/ESTRO) do estro

Tratamentos	Número de animais	Taxa de concepção % (n)
C/ESTRO com MGA	168	68,45 (115) <sup>a</sup>
C/ESTRO sem MGA	104	52,88 (55) <sup>b</sup>
S/ESTRO com MGA	158	48,10 (76) <sup>b</sup>
S/ESTRO sem MGA	104	36,54 (38) <sup>c</sup>
Total	534	53,18 (284)

Valores seguidos de letras distintas na mesma coluna diferem entre si (P<0,05)

Em relação às taxas de concepção nos animais tratados com MGA de acordo com o DFOL não se observou efeito significativo do tratamento entre os animais com DFOL<11mm. Os animais com DFOL11 a 14mm também não foram beneficiados pelo tratamento, entretanto, os animais com DFOL>14mm apresentaram melhores taxas de concepção quando suplementados com MGA entre os dias 13 e 18 após as inseminações em relação aos não suplementados (Tabela 4).

De acordo com Peres et al. (2009), fêmeas zebuínas submetidas a programas de IATF que expressam estro durante o protocolo (entre a remoção do dispositivo intravaginal e o momento da inseminação) apresentam maior taxa de concepção, quando comparadas com os animais que não são detectados em estro. De forma semelhante, os animais com maior diâmetro folicular no momento da inseminação tem maior probabilidade de ficarem gestantes em relação àqueles com folículos de menor diâmetro (RIBEIRO FILHO et al., 2013).

Tabela 4 – Taxa de concepção de fêmeas bovinas da raça Nelore submetidas a um protocolo de IATF e tratadas ou não com 2,28g de MGA entre os dias 13 e 18 após as inseminações de acordo com o diâmetro do folículo pré-ovulatório no momento da IATF (DFOL)

Tratamentos	Número de animais	Taxa de concepção % (n)
DFOL <11mm com MGA	109	44,04 (48) <sup>c</sup>
DFOL <11mm sem MGA	79	40,51 (32) <sup>c</sup>
DFOL 11 a 14mm com MGA	124	62,90 (78) <sup>ab</sup>
DFOL 11 a 14mm sem MGA	85	50,59 (43) <sup>bc</sup>
DFOL >14mm com MGA	93	69,89 (65) <sup>a</sup>
DFOL >14mm sem MGA	44	40,91 (18) <sup>c</sup>
Total	534	53,18 (284)

Valores seguidos de letras distintas na mesma coluna diferem entre si ( $P < 0,05$ )

Esses resultados satisfatórios na taxa de concepção de animais que são observados em estro durante o protocolo de sincronização e que possuem maiores folículos no momento da IA estão associados a maiores níveis circulantes de E2 durante o proestro/estro (VASCONCELOS et al., 2001). Concentrações adequadas de E2 durante o crescimento final do folículo são necessárias para aumentar a responsividade da hipófise aos estímulos de GnRH, modular o padrão de liberação pulsátil de LH e proporcionar um adequado ambiente tubárico e uterino, favorecendo o estabelecimento e manutenção da gestação (BARATTA et al., 2001; MANN e LAMMING, 2001; NETT et al., 2002).

Além disso, Atkins et al. (2013) demonstraram associação positiva entre a concentração circulante de E2 no momento da inseminação e os níveis séricos de P4 após a ovulação, favorecendo as taxas de concepção. Sendo assim, a hipótese que os animais com menores folículos pré-ovulatórios e/ou que não expressaram estro durante o protocolo terão um comprometimento de sua função lútea e conseqüentemente, serão mais beneficiados pelo tratamento com o MGA, quando comparados com aqueles que expressaram estro ou possuíam folículos pré-ovulatórios maiores não se confirmou. Uma vez que o tratamento com MGA influenciou de forma significativa a taxa de concepção dos grupos independente da expressão do estro e não foi efetivo nos animais com folículos pequenos (<11mm) ou médios (11 a 14mm).

Mesmo assim, em condições práticas especiais, como redução dos custos com a suplementação, o marcador expressão do estro pode ser útil no direcionamento de animais para serem suplementados, pois os animais que não expressaram estro e foram suplementados com MGA, melhoraram a taxa de concepção e equipararam aos animais que expressaram estro.

Possivelmente, a melhoria nas taxas de concepção ocorreu por uma ação conjunta da P4 endógena e exógena, oriundas do CL e da suplementação com MGA, respectivamente, o que favoreceu a regulação das secreções endometriais, produção de IFN- $\tau$ , bloqueio da luteólise e consequentemente, melhorou as taxas de concepção dos animais tratados (FORDE et al., 2009).

## CONCLUSÕES

Conclui-se que o tratamento com 2,28g de MGA entre o 13º e 18º dia após a inseminação foi eficiente em melhorar a taxa de concepção de fêmeas bovinas da raça Nelore lactantes em programas de IATF. A avaliação da ciclicidade ovariana previamente ao protocolo de IATF mostrou ser uma ferramenta importante na escolha dos animais a serem suplementados, pois permite selecionar os animais que apresentam inatividade ovariana e direcioná-los para o tratamento, reduzindo assim, custos desnecessários com o tratamento dos animais que estão ciclando. Observou-se também que a variável expressão do estro e diâmetro do folículo pré-ovulatório em geral, nas condições do presente estudo, não foram eficientes como preditoras na escolha de animais para serem suplementados com MGA. Entretanto, em situações práticas especiais o marcador expressão do estro pode ser útil no direcionamento da utilização desta tecnologia.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ATKINS, J. A. M. F.; SMITH, M. D.; MACNEIL, E. M.; JINKS, F. M.; ABREU, L. J.; ALEXANDER, T. W.; GEARY. Pregnancy establishment and maintenance in cattle. **Journal Animal Science**, v. 91, p. 722–733, 2013.

AYRES, H.; FERREIRA, R. M.; TORRES-JÚNIOR, J. R.S.; DEMÉTRIO, C.G.B.; DE LIMA, C. G.; BARUSELLY, P. S. Validation of body condition score as a predictor of subcutaneous fat in Nelore (*Bos indicus*) cows. **Livestock Science**, v.123, n. 2-3, p. 175-179, 2009.

BARATTA, M.; WEST, L. A.; TURZILLO, A. M.; NETT, T. M. Activin modulates differential effects of estradiol on synthesis and secretion of follicle-stimulating hormone in ovine pituitary cells. **Biology Reproduction**, v. 64, p. 714–719, 2001.

BARUSELLI, P. S.; MARQUES, M. O.; CARVALHO, N. A. T.; MADUREIRA, E. H.; CAMPOS FILHO, E. P. Efeito de diferentes protocolos de inseminação artificial em tempo fixo na eficiência reprodutiva de vacas de corte lactantes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 26, n. 3, p. 218-221, 2002.

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

CARTER, F.; FORDE, N.; DUFFY, P.; WADE, M.; FAIR, T.; CROWE, M. A.; EVANS, A. C. O.; KENNY, D. A.; ROCHE, J. F.; LONERGAN, P. Effect of increasing progesterone concentration from day 3 of pregnancy on subsequent embryo survival and development in beef heifers. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 20, p. 368–375, 2008.

COSTA, W. M. ; CARVALHO, E. R. ; PEREIRA, M. H. C. ; PERES, R. F. G. ; VASCONCELOS, J.L.M. . Supplementation with melengestrol acetate (MGA) post TAI improves fertility in suckled Nelore cows. In: XXIX Reunião Anual da Sociedade

Brasileira de Tecnologia de Embriões, 2015, Gramado. **Anais XXIX Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões**, 2015. v. 29, p. 660-660.

DEMMERS, K. J.; DERECKA, K.; FLINT, A. Trophoblast interferon and pregnancy. **Reproduction**, v. 121, p. 41-49, 2001.

DISKIN, M. G.; MORRIS, D. G. Embryonic and early foetal losses in cattle and other ruminants. **Reproduction Domestic Animal**, v. 43, p. 260–267, 2008.

DISKIN, M. G.; PARR, M. H.; MORRIS, D. G. Embryo death in cattle: an update. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 24, p. 244-251, 2011.

FORDE, N.; CARTER, F.; FAIR, T.; CROWE, M.A.; EVANS, A.C.O.; SPENCER, T. E.; BAZER, F.W.; MCBRIDE, R.; BOLAND, M.P.; O'GAORA, P.; LONERGAN, P.; ROCHE, J.F. Progesterone-regulated changes in endometrial gene expression contribute to advanced conceptus development in cattle. **Biology of Reproduction**, v. 81, p. 784-794, 2009.

GOFF, A. K. Embryonic signals and survival. **Reproduction Domestic Animal**, v. 37, p. 133-139, 2002.

LARSON, J. E.; THIELEN, K. N.; FUNNELL, B. J.; STEVENSON, J. S.; KESLER, D. J.; LAMB, G. C. Influence of a CIDR after fixed-time AI on pregnancy rates and returns to estrus of non pregnant cows. **Journal Animal Science**, v. 87, p. 914-921, 2009.

LARSON, S. F.; BUTLER, W. R.; CURRIE, W. B. Pregnancy rates in lactating dairy cattle following supplementation of progesterone after artificial insemination. **Animal Reproduction Science**. v. 102, p. 172-179, 2007.

LIMA, I. M. T.; SOUZA, A. L. Desenvolvimento e sobrevivência de embriões no período de pre-implantação: enfoque em ruminantes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v. 33, n. 4, p. 194-202, 2009.

LOIOLA, M. V. G.; PEREIRA, D. F. C.; VASCONCELOS, L. V.; CHALHOUB, M.; FERRAZ, P. A.; RODRIGUES, A. S.; BITTENCOURT, R. F.; JESUS, E. O.;

RIBEIRO FILHO, A. L. Taxa de gestação de receptoras de embriões bovinos tratadas com um análogo de GnRH no momento da inovulação. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 15, n. 3, p. 782-789, 2014.

LONERGAN, P.; FORDE, N.; SPENCER, T. E. Role of progesterone in embryo development in cattle. **Reproduction Fertility and Development**, V. 28, p. 66–74, 2016.

MACHADO, R.; BERGAMASCHI, M. A. C. M.; SILVA, J. C. B.; BINELLI, M. Estratégias para reduzir a mortalidade embrionária em bovinos: II. Protocolo para reduzir a mortalidade embrionária em vacas de leite e em receptoras de embrião. **Boletim de pesquisa e desenvolvimento**, v. 27, p. 1981-2078, 2010.

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**, v. 78, p. 327–344, 2003.

MANN, G. E.; LAMMING, G. E. Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. **Reproduction**. v. 121, p. 175-180, 2001.

MANN, G. E.; LAMMING, G. E. The influence of progesterone during early pregnancy in cattle. **Reproduction Domestic Animal**, v. 34, p. 269-274, 1999.

MARQUES, M. O; REIS, E. L.; MELLO, J. E.; CAMPOS FILHO, E. P; BARUSELLI, P. S. Taxa de concepção de diferentes protocolos de inseminação artificial em tempo fixo em vacas *Bos taurus taurus* x *Bos taurus indicus* durante o período pós-parto In: V SIMPOSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCIÓN ANIMAL, Huerta Grande, v. 1, p. 392, 2003.

MENEGHETTI, M.; SÁ FILHO, O. G.; PERES, R. F. G.; LAMB, G. C.; VASCONCELOS, J. L. M. Fixed-timed artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows I: Basis for development of protocols. **Theriogenology**, v. 72, p. 179-189, 2009.

MONTEIRO JR, P. L. J.; NASCIMENTO, A. B.; PONTES, G. C. S.; FERNANDES, G. O.; MELO, L. F.; WILTBANK, M. C.; SARTORI, R. Progesterone supplementation after ovulation: Effects on corpus luteum function and on fertility of dairy cows subjected to AI or ET. **Theriogenology**, v. 84, p. 1215-1224, 2015.

MONTEIRO JR, P. L. J.; RIBEIRO, E. S.; MACIEL, R. P.; DIAS, A. L. G.; SOLE, E.; LIMA, F. S. Effects of supplemental progesterone after artificial insemination on expression of interferon stimulated genes and fertility in dairy cows. **Journal Dairy Science**, v. 97, p. 4907–4921, 2014.

NETT, T.M.; TURZILLO, A. M.; BARATTA, M.; RISPOLI, L.A. Pituitary effects of steroid hormones on secretion of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 23, p. 33-42, 2002.

O'HARA, L.; FORDE, N.; KELLY, A. K.; LONERGAN, P. Effect of bovine blastocyst size at embryo transfer on day 7 on conceptus length on day 14: can supplementary progesterone rescue small embryos? **Theriogenology**, v. 81, p. 1123–1128, 2014.

PARR, M. H.; CROWE, M. A.; LONERGAN, P.; EVANS, A. C. O.; RIZOS, D.; DISKIN, M. G. Effect of exogenous progesterone supplementation in the early luteal phase post-insemination on pregnancy per artificial insemination in Holstein-Friesian cows. **Animal Reproduction Science**, v. 150, p. 7–14, 2014.

PEIXOTO, P. V.; MALAFAIA, P.; BARBOSA, J. D.; TOKARNIA, C. H. Princípios de suplementação mineral em ruminantes. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 25, n. 3, p. 195-200, 2005.

PERES, R. F.; CLARO, I.; SÁ FILHO, O. G.; NOGUEIRA, G.P.; VASCONCELOS, J. L. Strategies to improve fertility in *Bos indicus* postpubertal heifers and nonlactating cows submitted to fixed-time artificial insemination. **Theriogenology**, v. 72, p. 681-689, 2009.

PEREZ, G. C. **Uso do acetato de melengestrol (MGA), associado a PGF 2 $\alpha$  e a GnRH ou Benzoato de estradiol em protocolos de inseminação artificial em tempo**

**fixo (IATF) para vacas Nelores paridas.** 2005. 80 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de São Paulo. São Paulo.

PUGLIESI, G.; SANTOS, F. B.; LOPES, E.; NOGUEIRA, E.; MAIO, J. R. G.; BINELLI, M. Improved fertility in suckled beef cows ovulating large follicles or supplemented with long-acting progesterone after timed-AI. **Theriogenology**, v. xx, p. 01-10, 2016.

PUGLIESI, G.; SANTOS, F.B.; LOPES, E.; NOGUEIRA, É.; MAIO, J. R. G.; BINELLI, M. Fertility response in suckled beef cows supplemented with long-acting progesterone after timed artificial insemination. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 27, p.93-270, 2015.

RIBEIRO FILHO, A. L.; FERRAZ, P. A.; RODRIGUES, A. S.; BITTENCOURT, T. C. B. S. C.; LOIOLA, M. V. G.; CHALHOUB, M. Diâmetro do folículo no momento da inseminação artificial em tempo fixo e taxa de concepção em vacas Nelore. **Ciência Animal Brasileira**, v. 14, n. 4, p. 501-507, 2013.

RODRIGUES, L. A.; FIGUEIREDO, V. S. F.; RIBEIRO, J. A. C. M.; RODRIGUES, F. A.; BARBOSA, L. K. G.; MURTA, D. V. F. Avaliação da dinâmica ovariana de fêmeas bovinas. **Caderno de Ciências Agrárias**, v. 7, n. 1, p. 91-94, 2015.

RODRIGUES, M. C.; LEAO, K. M. SILVA, N. C.; SILVA, R. P.; VIU, M. A. O.; CARDOSO, L. M.. Administração de acetato de melengestrol após inseminação artificial em tempo fixo em vacas nelore lactantes. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.15, n.2, p.361-368, 2014.

SÁ FILHO, M. F. **Importância da ocorrência de estro e do diâmetro folicular no momento da inseminação em protocolos de sincronização da ovulação para inseminação artificial em tempo fixo em fêmeas zebuínas de corte.** 2012. 124f. Tese (doutorado) - Universidade de São Paulo, São Paulo.

SANTOS, J. E.P.; THATCHER, W. W.; CHEBEL, R. C.; CERRI, R. L. A; GALVÃO, K. N. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. **Animal Reproduction Science**, v. 82-83, p. 513-535, 2004.

SHAMS-ESFANDABADI, N.; SHIRAZI, A. Evaluation of the effect of muscular injection of progesterone on Days 2-5 following insemination on pregnancy rate in dairy cows. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 10. p. 152-155, 2007.

SILVA JUNIOR, L. de S.; FREIRIA, L. B. da; ANGREVESSILVA, G. M.; POSSAMAI, A. J.; HATAMOTOZERVOUDAKIS, L. K.; SILVA, M. R. Uso do acetato de melengestrol após protocolos de inseminação artificial em tempo fixo em vacas nelore multíparas. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.15, n.2, p. 425-429, 2014.

SILVA, R. P.; LEÃO, K. M.; RODRIGUES, M. C.; MARQUES, T. C.; SILVA, N. C.; VIU, M. A. O. Aplicação de GnRH no dia da inseminação artificial em tempo fixo (IATF) e administração de acetato de melengestrol (MGA) após iatf em vacas nelore solteiras. **Semina**, v. 36, n. 4, p. 3149-3160, 2015.

SPENCER, T. E.; BURGHARDT, R. C.; JOHNSON, G. A.; BAZER, F. W. Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy. **Animal Reproduction Science**, v. 82, p. 537-550, 2004.

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

WHEATON, J. E.; LAMB, G.C. Induction of cyclicity in postpartum anestrous beef cows using progesterone, GnRH and estradiol cypionate (ECP). **Animal Reproduction Science**, v. 102, p. 208-216, 2007.

WILTBANK, M. C.; BAEZ, G. M.; GARCIA-GUERRA, A.; TOLEDO, M. Z.; MONTEIRO, P. L.; MELO, L. F.; OCHOA, J. C.; SANTOS, J. E.; SARTORI, R. Pivotal periods for pregnancy loss during the first trimester of gestation in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v. 86, p. 239-253, 2016.

WILTBANK, M. C.; SOUZA, A. H.; CARVALHO, P. D.; BENDER, R. W.; NASCIMENTO, A. B. Improving fertility to timed artificial insemination by

manipulation of circulating progesterone concentrations in lactating dairy cattle.

**Reproduction Fertility Development**, v. 24, p.238–243, 2011.

WILTBANK, M. C.; SOUZA, A. H.; CARVALHO, P. D.; CUNHA, A. P.;

GIORDANO, J. O.; FRICKE, P. M. Physiological and practical effects of progesterone on reproduction in dairy cattle. **Animal**, v. 8, Suppl 1, p. 70–81, 2014.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS E IMPLICAÇÕES

Este estudo estabeleceu critérios para identificar fêmeas com maiores chances de ficarem gestantes em programas de IATF. O diâmetro do folículo pré-ovulatório no momento da inseminação e a expressão de estro após o protocolo de sincronização foram associados a melhores taxas de concepção de fêmeas bovinas da raça Nelore em programas de IATF. Esses procedimentos são fáceis de serem aplicados e podem ser incorporados ao manejo das propriedades de pecuária de corte, permitindo, maior segurança na utilização de sêmen de maior valor agregado e a utilização de estratégias após a IATF para melhoria nas taxas de concepção.

A suplementação com acetato de melengestrol entre o 13º e 18º dia após a IATF mostrou ser uma eficiente estratégia para a melhoria nas taxas de concepção de fêmeas zebuínas de corte em programas de IATF. Seus benefícios podem contribuir bastante para a pecuária bovina de corte brasileira, a qual é caracterizada por sistemas de criação extensivos em pastagens tropicais, com um número elevado de animais lactantes com curto período pós-parto quando são submetidos aos programas reprodutivos, apresentando, portanto, alto percentual de fêmeas em anestro e comprometimento na fertilidade e que com o tratamento com MGA podem ter seus índices melhorados. Além disso, a praticidade na utilização deste tratamento, o qual não exige nenhum manejo adicional aos animais, é um importante quesito quando se pensa em pecuária de corte de larga escala.

O mecanismo de ação do acetato de melengestrol ainda não está totalmente esclarecido. Futuras pesquisas devem investigar sua interação com o ambiente endócrino e uterino dessas fêmeas, além da utilização em outros períodos e outras categorias animal.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIEC. **Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de carne**, 2016.

Disponível em: <<http://www.abiec.com.br/>> Acesso em 06 jul. 2016.

ADAMS, G. P.; MATTERI, R. L.; KASTELIC, J. P.; KO, J. C.; GINTHER, O. J.

Association between surges of follicle-stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. **Journal of reproduction and fertility**, v. 94, n. 1, p. 177–188, 1992.

AHMAD, N.; SCHRICK, F. N.; BUTCHER, R. L.; INSKEEP, E. K. Effect of persistent follicles on early embryonic losses in beef cows. **Biology of Reproduction**, v. 52, p. 1129-1135, 1995.

ALMEIDA, L. A. P. Early embryonic mortality in "repeat-breeder" cows. **ARS Veterinaria**, v. 11, p. 18-34, 1995.

ALVES, N. G.; COSTA, E. P. Da; GUIMARÃES, J. D.; SILVA, M. R.; ZAMPERLINI, B.; COSTA, F. M. J.; SANTOS, A. D. F.; MIRANDA NETO, T. Atividade Ovariana em Fêmeas Bovinas da Raça Holandesa e Mestiças Holandês x Zebu, Durante Dois Ciclos Estrais Normais Consecutivos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 2, p. 627–634, 2002.

ANDRADE, B. H. A.; FERRAZ, P. A.; RODRIGUES, A. S.; LOIOLA, M. V. G. L.; CHALHOUB, M.; RIBEIRO FILHO, A. L. Eficiência do cipionato de estradiol e do benzoato de estradiol em protocolos de indução da ovulação sobre a dinâmica ovariana e taxa de concepção de fêmeas Nelore inseminadas em diferentes momentos. **Archives of Veterinary**, v. 17, n. 4, p. 70-80, 2012.

ANTONIAZZI, A. Q.; LUIZ, E. H.; JOÃO, F. C. O.; THOMAS, R. H. The role of interferontau during maternal recognition of pregnancy in ruminants. **Ciência Rural**, v. 41, n. 1, p. 176-185, 2011.

ATKINS, J. A. M. F.; SMITH, M. D.; MACNEIL, E. M.; JINKS, F. M.; ABREU, L. J.; ALEXANDER, T. W.; GEARY. Pregnancy establishment and maintenance in cattle. **Journal Animal Science**, v. 91, p. 722–733, 2013.

ATKINS, J. A.; SMITH, M. F.; WELLS, K. J.; GEARY, T. W. Factors affecting preovulatory follicle diameter and ovulation rate after gonadotropin-releasing hormone in postpartum beef cows. Part I: Cycling cows. **Journal Animal Science**, v. 88, p. 2300–2310, 2010.

AYALON, N. Review of embryonic mortality in cattle. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 54, p. 483-493, 1978.

AYRES, H.; FERREIRA, R. M.; TORRES-JÚNIOR, J. R.S.; DEMÉTRIO, C.G.B.; DE LIMA, C. G.; BARUSELLY, P. S. Validation of body condition score as a predictor of subcutaneous fat in Nelore (*Bos indicus*) cows. **Livestock Science**, v.123, n. 2-3, p. 175-179, 2009.

AYRES, H.; MARTINS, C.M.; FERREIRA, R.M.; MELLO, J.E.; DOMINGUEZ, J.H.; SOUZA, A.H.; VALENTIN, R.; SANTOS, I.C.C.; BARUSELLI, P.S. Effect of timing of estradiol benzoate administration upon synchronization of ovulation in suckling Nelore cows (*Bos indicus*) treated with a progesterone-releasing intravaginal device. **Animal Reproduction Science**, v. 109, n. 1-4, p. 77-87, 2008.

BARATTA, M.; WEST, L. A.; TURZILLO, A. M.; NETT, T. M. Activin modulates differential effects of estradiol on synthesis and secretion of follicle-stimulating hormone in ovine pituitary cells. **Biology Reproduction**, v. 64, p. 714–719, 2001.

BARREIROS, T. R. R.; BLASCHI, W.; SANTOS, G. M. G.; MOROTTI, F.; ANDRADE, E. R.; BARUSELLI, P. S.; SENEDA, M. M. Dynamics of follicular growth and progesterone concentrations in cyclic and anestrous suckling Nelore cows (*Bos indicus*) treated with progesterone, equine chorionic gonadotropin, or temporary calf removal. **Theriogenology**, v. 81, p. 651-656, 2014.

BARROS, C.M.; ERENO, R.L. Avanços em tratamentos hormonais para a inseminação artificial com tempo fixo (IATF) em bovinos de corte. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32, p. 23-34, 2004.

BARROS, C.M.; MOREIRA, M.B.P.; FIGUEIREDO, R.A.; TEIXEIRA, A.B.; TRINCA, L.A. Synchronization of ovulation in beef cows (*Bos indicus*) using gnrh, PGF2 $\alpha$  and estradiol benzoate. **Theriogenology**, v. 53, n. 5, p. 1121-1134, 2000.

BARUSELLI, P. S.; ABE, E. K.; SALA, R. V.; NICHI, M.; CAMPOS FILHO, E. P.; SÁ FILHO, M. F. A ocorrência do estro após a sincronização melhora a eficiência do uso do sêmen sexado na IATF. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 39, p. 370, 2011.

BARUSELLI, P. S.; AYRES, H.; SOUZA, A. H.; MARTINS, C. M.; GIMENES, L. U.; TORRES-JÚNIOR, J. R. S. Impacto da IATF na eficiência reprodutiva em bovinos de corte. In: Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, 2., 2006, Londrina. **Anais...** Londrina: Biotecnologia da Reprodução em Bovinos, 2006.

BARUSELLI, P. S.; MARQUES, M. O.; CARVALHO, N. A. T.; MADUREIRA, E. H.; CAMPOS FILHO, E. P. Efeito de diferentes protocolos de inseminação artificial em tempo fixo na eficiência reprodutiva de vacas de corte lactantes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 26, n. 3, p. 218-221, 2002.

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

BARUSELLI, P. S.; SALES, J. N. S.; SALA, R. V.; VIEIRA, L. M.; SÁ FILHO, M. F. History, evolution and perspectives of timed artificial insemination programs in Brazil. **Animal Reproduction**, v. 9, p. 139-152, 2012.

BARUSELLI, P.S.; MARQUES, M.D.O.; CARVALHO, N.A.T.D.; BERBER, R.C.D.A.; VALENTIM, R.; CARVALHO FILHO, A.F.D.; COSTA NETO, W.P. Dinâmica folicular e taxa de prenhez em novilhas receptoras de embrião (*Bos taurus indicus x Bos taurus taurus*) tratadas com o protocolo "Ovsynch" para inovulação em

tempo fixo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 40, p. 96-106, 2003.

BAZER, F. W.; SPENCER, T. E.; JOHNSON, G. A; BURGHARDT, R. C. Uterine receptivity to implantation of blastocysts in mammals. **Frontiers in Bioscience**, v. 3, p. 745-767, 2011.

BEARDEN, H. J.; FUQUAY, J. W. Applied animal reproduction. **Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall; 2000.**

BERFELT, D.R.; LIGHTFOOT, K.C.; ADAMS, G.P. Ovarian synchronization following ultrasound-guided transvaginal follicle ablation in heifers. **Theriogenology**, v. 42, n. 6, p. 895-907, 1994.

BERGER, T. Fertilization in ungulates. **Animal Reproduction Science**, v. 42, p. 351-360, 1996.

BINELLI, M.; HAMPTON, J.; BUHI, W. C.; THATCHER, W. W. Persistent dominant follicle alters pattern of oviductal secretory proteins from cows at estrus. **Biology of Reproduction** v, 61,p. 127-134, 1999.

BINELLI, M.; THATCHER, L. W. W.; MATTO, R.; BARUSELLI, P.S. Antiluteolytic strategies to improve fertility in cattle. **Theriogenology**, v. 56, p. 1451-1463, 2001.

BISINOTTO, R. S.; CHEBEL, R.C.; SANTOS, J. E. P. Follicular wave of the ovulatory follicle and not cyclic status influences fertility of dairy cows. **Journal Dairy Science**, v. 93, p. 3578-3587, 2010.

BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S.; MARTINEZ, M. F. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 78, p. 307-326, 2003.

BO, G. A.; BARUSELLI, P. S.; MORENO, D.; CUTAIA, L.; CACCIA, M.; TRIBULO, R.; TRIBULO, H.; MAPLETOFT, R. J. The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. **Theriogenology**, v. 57, n. 1, p. 53-72, 2002.

- BÓ, G. A.; CUTAIA, A. L.; PERES, L. C.; PINCINATO, D.; MARANA, D.; BARUSELLI, P. S. Technologies for fixed-time artificial insemination and their influence on reproductive performance of *Bos indicus* cattle. **Society of Reproduction Fertility Supplement**, v. 64, p. 223-236, 2007.
- BO, G. A.; PIERSON, R. A.; MAPLETOFT, R. J. The effect of estradiol valerate on follicular dynamics and superovulatory response in cows with Syncro-Mate-B implants. **Theriogenology**, v. 36, n. 2, p. 169-183, 1991.
- BO, G.A.; ADAMS, G.P.; PIERSON, R.A.; MAPLETOFT, R.J. Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. **Theriogenology**, v. 43, n. 1, p. 31-40, 1995.
- BODENSTEINER, K. J.; KOT, K.; WILTBANK, M. C.; GINTHER, O. J. Synchronization of emergence of follicular waves in cattle. **Theriogenology**, v. 45, n. 6, p. 1115-1128, 1996.
- BOYD, H.; BACSICH, P. YOUNG, A.; MCCRACKEN, J.A. Fertilization and embryonic survival in dairy cattle. **British Veterinary Journal**, v. 125, p. 87-97, 1969.
- BRANDAO, D. O.; MADDUX-HYTTEL, P.; LOVENDAHL, P.; RUMPF, R.; STRINGFELLOW, D.; CALLESEN, H. Post hatching development: a novel system for extended in vitro culture of bovine embryos. **Biology of Reproduction**, v. 71, p. 2048-2055, 2004.
- BREUEL, K. F.; LEWIS, P. E.; SCHRICK, F. N.; LISHMAN, A. W.; INSKEEP, E. K.; BUTCHER, R. L. Factors affecting fertility in the postpartum cow - Role of the oocyte and follicle in conception rate. **Biology of Reproduction**, v. 48, p. 655-661, 1993.
- BUHI, W. C. Characterization and biological roles of oviduct-specific, oestrogen-dependent glycoprotein. **Reproduction**, v. 123, p. 355-362, 2002.
- CARTER, F.; FORDE, N.; DUFFY, P.; WADE, M.; FAIR, T.; CROWE, M. A.; EVANS, A. C. O.; KENNY, D. A.; ROCHE, J. F.; LONERGAN, P. Effect of increasing progesterone concentration from day 3 of pregnancy on subsequent embryo

survival and development in beef heifers. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 20, p. 368–375, 2008.

CIPRIANO, R. S.; CARVALHO, B. A.; MARANGONI, N. R.; NOGUEIRA, G. P. LH and FSH concentration and follicular development in Nelore heifers submitted to fixed-time artificial insemination protocols with different progesterone concentrations. **Animal Reproduction Science**, v. 127, n. 1, p. 16-22, 2011.

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**, v. 60, n. 5, p. 855-865, 2003.

COSTA, W. M. ; CARVALHO, E. R. ; PEREIRA, M. H. C. ; PERES, R. F. G.; VASCONCELOS, J.L.M. . Supplementation with melengestrol acetate (MGA) post TAI improves fertility in suckled Nelore cows. In: XXIX Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões, 2015, Gramado. **Anais XXIX Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões**, 2015. v. 29, p. 660-660.

CREPALDI, G.A. **Eficácia de diferentes protocolos de indução da ovulação e de intervalos de inseminação em vacas de corte submetidas à IATF**. 2009. 88 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, São Paulo.

DEMMERS, K. J.; DERECKA, K.; FLINT, A. Trophoblast interferon and pregnancy. **Reproduction**, v. 121, n. 1, p. 41–49, 2001.

DIAS, C. C.; WECHSLER, F. S.; DAY, M. L.; VASCONCELOS, J. L. M. Progesterone concentrations, exogenous equine chorionic gonadotropin, and timing of prostaglandin F2 $\alpha$  treatment affect fertility in postpuberal Nelore heifers. **Theriogenology**, v. 72, p. 378-385, 2009.

DICKINSON, S. E.; GEARY, T. W.; MONNIG, J. M.; POHLER, K. G.; GREEN, J. A.; SMITH, M. F. Efeito da maturação do folículo pré-ovulatório no estabelecimento da prenhez em bovinos: o papel da competência oocitária e do ambiente materno. In:

Reunião anual da sociedade brasileira de tecnologia de embriões, artigo da conferência principal, 2016, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões, 2016. v. 25. p. 107.

DISKIN, M. G.; MORRIS, D. G. Embryonic and early foetal losses in cattle and other ruminants. **Reproduction Domestic Animal**, v. 43, p. 260–267, 2008.

DISKIN, M. G.; PARR, M. H.; MORRIS, D. G. Embryo death in cattle: an update. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 24, p. 244-251, 2011.

DISKIN, M. G.; SREENAN, J. M. Fertilization and embryonic mortality-rates in beef heifers after artificial insemination. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 59, p. 463-468, 1980.

DRIANCOURT, M.A. Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. **Theriogenology**, v. 55, n. 6, p. 1211-1239, 2001.

DUNNE, L. D.; DISKIN, M. G.; SREENAN, J. M. Embryo and foetal loss in beef heifers between day 14 of gestation and full term. **Animal Reproduction Science**, v. 58, p. 39-44, 2000.

EICKER, S. W.; GROHN, Y. T.; HERTL, J. A. The association between cumulative milk yield, days open, and days to first breeding in New York Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 79, p. 235-241, 1996.

FARIN, C. E.; IMAKAWA, K.; ROBERTS, R. M. In situ localization of mRNA for the interferon, ovine trophoblast protein-1, during early embryonic development of the sheep. **Molecular Endocrinology**, v. 3, n. 7, p. 1099-1107, 1989.

FERNANDES, P.; TEIXEIRA, A.B.; CROCCI, A.J.; BARROS, C.M. Timed artificial insemination in beef cattle using GnRH agonist, PGF2alpha and estradiol benzoate (EB). **Theriogenology**, v. 55, n. 7, p. 1521-1532, 2001.

FERREIRA, A. D. M. **Reprodução da fêmea bovina: fisiologia aplicada e problemas mais comuns (causas e tratamentos)**. 1.ed. Juiz de Fora/MG: Editar Editora Associada, 2010. 422 p.

FIELDS, M. J.; FIELDS, P. A. Morphological characteristics of the bovine corpus luteum during estrous cycle and pregnancy. **Theriogenology**, n. 96, p. 1295–1325, 1996.

FLECHON, J. E.; GUILLOMOT, M.; CHARLIER, M.; FLECHON, B.; MARTAL, J. Experimental studies on the elongation of the ewe blastocyst. **Reproduction, Nutrition, Development**, v. 26, p. 1017-1024, 1986.

FORDE, N.; BELTMAN, M. E.; LONERGAN, P.; DISKIN, M.; ROCHE, J. F.; CROWE, M. A. Oestrous cycles in *Bos taurus* cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 124, n. 3–4, p. 163–169, 2011.

FORDE, N.; CARTER, F.; FAIR, T.; CROWE, M.A.; EVANS, A.C.O.; SPENCER, T. E.; BAZER, F.W.; MCBRIDE, R.; BOLAND, M.P.; O'GAORA, P.; LONERGAN, P.; ROCHE, J.F. Progesterone-regulated changes in endometrial gene expression contribute to advanced conceptus development in cattle. **Biology of Reproduction**, v. 81, p.784-794, 2009.

FUNSTON, R. N.; LIPSEY, R. J; GEARY, T. W.; ROBERTS, A. J. Effect of administration of human chorionic gonadotropin after artificial insemination on concentrations of progesterone and conception rates in beef heifers. **Journal Animal Science**, v. 83, p. 1403-1405, 2005.

FURTADO, D. A.; TOZZETTI, D. S.; AVANZA, M. F. B.; DIAS, L. G. G. G. Inseminação Artificial em Tempo Fixo em bovinos de corte. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, n. 16, 2011.

GALINA, C. S.; ORIHUELA, A.; RUBIO, I. Behavioural trends affecting oestrus detection in Zebu cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 42, p. 465-470, 1996.

GINTHER, O. J.; DELCAMPO, C. H. Vascular anatomy of uterus and ovaries and unilateral luteolytic effect of uterus - cattle. **American of Journal Veterinary Research**, v. 35, p. 193-203, 1974.

GINTHER, O. J.; KNOPF, L.; KASTELIC, J. P. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrous cycles with two and three follicular waves. **Journal of reproduction and fertility**, v. 87, n. 1, p. 223–230, 1989.

GODKIN, J. I.; BAZER, F. W.; MOFIATT, J.; SESSIONS, F.; ROBERTS, R. M. Purification and properties of a major low molecular weight protein released by the trophoblast of sheep blastocysts at Day 13-21. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 65, p. 141-150, 1982.

GOFF, A. K. Embryonic signals and survival. **Reproduction Domestic Animal**, v. 37, p. 133-139, 2002.

GONÇALVES, P.B; FIGUEIREDO, J.R.; FREITAS, V.J.F. **Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal**. 2. ed. São Paulo: Rocca, 2008, 408p.

GONG, J. G.; CAMPBELL, B. K.; BRAMLEY, T. A.; GUTIERREZ, C. G.; PETERS, A. R.; WEBB, R. Suppression in the secretion of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone, and ovarian follicle development in heifers continuously infused with a gonadotropin-releasing hormone agonist. **Biology of reproduction**, v. 55, n. 1, p. 68–74, 1996.

GONZÁLEZ, F. H. D. **Introdução à endocrinologia reprodutiva veterinária**. 1.ed., Porto Alegre: UFRGS, 2002. p. 1-53.

GRAY, C. A.; BURGHARDT, R. C.; JOHNSON, G. A.; BAZER, F. W.; SPENCER, T. E. Evidence that absence of endometrial gland secretions in uterine gland knockout ewes compromises conceptus survival and elongation. **Reproduction**, v. 124, p. 289-300, 2002.

GREALY, M.; DISKIN, M. G.; SREENAN, J. M. Protein content of cattle oocytes and embryos from the two-cell to the elongated blastocyst stage at day 16. **Journal Reproduction Fertility**, v.107, p. 229-233, 1996.

GRIMARD, B.; HUMBLLOT, P.; PONTER, A. A. Influence of postpartum energy restriction on energy status, plasma LH and oestradiol secretion and follicular development in suckled beef cows. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 104, p. 173-179, 1995.

GUTKNECHT, G. D.; CORNETTE, J. C.; PHARRISS, B. B. Antifertility properties of prostaglandin F<sub>2</sub>. **Biology of Reproduction**, v. 1, p. 367-371, 1969.

HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. **Reprodução Animal**. 7. ed. Rio de Janeiro: Manole, 2004. 513 p.

HANLON, D.W.; WILLIAMSON, N.B.; WICHTEL, J.J.; STEFFERT, I.J.; CRAIGIE, A.L.; PFEIFFER, D.U. Ovulatory responses and plasma luteinizing hormone concentrations in dairy heifers after treatment with exogenous progesterone and estradiol benzoate. **Theriogenology**, v. 47, n. 5, p. 963-975, 1997.

HANSEN, P. J. Embryonic mortality in cattle from the embryo's perspective. **Journal Animal Science**, v. 80, p. 33-44, 2002.

HUE, I.; DEGRELLE, S. A.; TURENNE, N. Conceptus elongation in cattle: genes, models and questions. **Animal Reproduction Science**, v. 134, p.19-28, 2012.

HWANG, J.; MENON, K. M. Characterization of low density and high density lipoprotein receptors in the rat corpus luteum and regulation by gonadotropin. **Journal of Biological Chemistry**, v. 258, n. 13, p. 8020–8027, 1983.

IBGE, **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. 2015. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2015/default.shtm>>. Acesso em 06 jul. 2016.

IMWALLE, D. B., PATTERSON, D. J., SCHILLO, K. K. Effects of melengestrol acetate on onset of puberty, follicular growth, and patterns of luteinizing hormone secretion in beef heifers. **Biology of Reproduction**, v. 58, p. 1432 – 1436, 1998.

ING, N. H.; TORNESI, M. B. Estradiol up-regulates estrogen receptor and progesterone receptor gene expression in specific ovine uterine cells. **Biology Reproduction**, v. 56, p. 1205-1215, 1997.

IRELAND, J. J.; MIHM, M.; AUSTIN, E.; DISKIN, M. G.; ROCHE, J. F. Historical Perspective of Turnover of Dominant Follicles During the Bovine Estrous Cycle: Key Concepts, Studies, Advancements, and Terms. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 7, p. 1648–1658, 2001.

KASTELIC, J.P.; BERGFELT, D.R.; GINTHER, O.J. Relationship between ultrasonic assessment of the corpus luteum and plasma progesterone concentration in heifers. **Theriogenology**, v. 33, n. 6, p. 1269-1278, 1990.

KENYON, A. G.; MENDONCA, L. G.; LOPES, G.; LIMA, J. R.; SANTOS, J. E.; CHEBEL, RC. 2013. Minimal progesterone concentration required for embryo survival after embryo transfer in lactating Holstein cows. **Animal Reproduction Science**, v. 136, p. 223-230, 2013.

KITTOK, R.J.; BRITT, J.H.; CONVEY, E.M. Endocrine response after gnrh in luteal phase cows and cows with ovarian follicular cysts. **Journal of Animal Science**, v. 37, n. 4, p. 985-989, 1973.

KO, J.C.H.; KASTELIC, J.P.; DEL CAMPO, M.R.; GINTHER, O.J. Effects of a dominant follicle on ovarian follicular dynamics during the oestrous cycle in heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 91, n. 2, p. 511-519, 1991.

LAMB, G. C.; DAHLEN, C. R.; LARSON, J. E.; MARQUEZINI, G.; STEVENSON, J. S. Control of the estrous cycle to improve fertility for fixed-time artificial insemination in beef cattle: a review. **Journal Animal Science**, v. 88, (Suppl E), p.181-192, 2010.

LARSON, J. E.; THIELEN, K. N.; FUNNELL, B. J.; STEVENSON, J. S.; KESLER, D. J.; LAMB, G. C. Influence of a CIDR after fixed-time AI on pregnancy rates and returns to estrus of non pregnant cows. **Journal Animal Science**, v. 87, p. 914-921, 2009.

LARSON, S. F.; BUTLER, W. R.; CURRIE, W. B. Pregnancy rates in lactating dairy cattle following supplementation of progesterone after artificial insemination. **Animal Reproduction Science**, v. 102, n. 1–2, p. 172–179, 2007.

LIMA, I. M. T.; SOUZA, A. L. Desenvolvimento e sobrevivência de embriões no período de pre-implantação: enfoque em ruminantes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v. 33, n. 4, p. 194-202, 2009.

LOEB, L. The effects of hysterectomy on the system of sex organs and on the periodicity of the sexual cycle in the guinea pig. **American Journal of Physiology**, v. 83, p. 202-208, 1927.

LOEFFLER, S. H.; DE VRIES, M. J.; SCHUKKEN, Y. H. The effects of time of disease occurrence, milk yield, and body condition on fertility of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 2589-2604, 1991.

LOIOLA, M. V. G.; PEREIRA, D. F. C.; VASCONCELOS, L. V.; CHALHOUB, M.; FERRAZ, P. A.; RODRIGUES, A. S.; BITTENCOURT, R. F.; JESUS, E. O.; RIBEIRO FILHO, A. L. Taxa de gestação de receptoras de embriões bovinos tratadas com um análogo de GnRH no momento da inovulação. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 15, n. 3, p. 782-789, 2014.

LONERGAN, P.; FORDE, N.; SPENCER, T. E. Role of progesterone in embryo development in cattle. **Reproduction Fertility and Development**, V. 28, p. 66–74, 2016.

LONERGAN, P.; HARA, L. O.; FORDE, N. Role of diestrus progesterone on endometrial function and conceptus development in cattle. **Animal Reproduction**, v. 10, n. 3, p. 223–227, 2013.

LONERGAN, P.; WOODS, A.; FAIR, T.; CARTER, F.; RIZOS, D.; WARD, F.; QUINN, K.; EVANS, A. Effect of embryo source and recipient progesterone environment on embryo development in cattle. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 19, n. 7, p. 861–868, 2007.

MACHADO, R.; BERGAMASCHI, M. A. C. M.; SILVA, J. C. B.; BINELLI, M. Estratégias para reduzir a mortalidade embrionária em bovinos: II. Protocolo para reduzir a mortalidade embrionária em vacas de leite e em receptoras de embrião. **Boletim de pesquisa e desenvolvimento**, v. 27, p. 1981-2078, 2010.

MACMILLAN, K. L. Recent advances in the synchronization of estrus and ovulation in dairy cows. **The Journal of Reproduction and Development**, v. 56, n. S, p. 42-47, 2010.

MACMILLAN, K. L.; HENDERSON, H. V. Analyses of the variation in the interval from an injection of prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$  to oestrus as a method of studying patterns of follicle development during dioestrus in dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v. 6, n. 4, p. 245-254, 1984.

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**, v. 78, p. 327–344, 2003.

MACMILLAN, K.L.; THATCHER, W.W. Effects of an agonist of gonadotropin-releasing hormone on ovarian follicles in cattle. **Biology of Reproduction**, v. 45, n. 6, p. 883-889, 1991 1991.

MANN, G. E.; FRAY, M. D.; LAMMING, G. E. Effects of time of progesterone supplementation on embryo development and interferon – t production in the cow. **Veterinary Journal**, v. 171, p. 500-503, 2006.

MANN, G. E.; LAMMING, G. E. Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. **Reproduction**, v. 121, n. 1, p. 175–180, 2001.

MANN, G. E.; LAMMING, G. E. The influence of progesterone during early pregnancy in cattle. **Reproduction Domestic Animal**, v. 34, p. 269-274, 1999.

MARQUES, M. O.; MOROTTI, F.; SILVA, C. B.; JÚNIOR, M. R.; SILVA, R. C. P.; BARUSELLI, P. S.; SENEDA, M. M. Influence of category heifers, primiparous and

multiparous lactating cows in a large scale resynchronization fixed time artificial insemination program. **Journal Veterinary Science**, v. 16, n. 3, p. 367-371, 2015.

MARQUES, M. O.; REIS, E. L.; MELLO, J. E.; CAMPOS FILHO, E. P.; BARUSELLI, P. S. Taxa de concepção de diferentes protocolos de inseminação artificial em tempo fixo em vacas *Bos taurus taurus* x *Bos taurus indicus* durante o período pós-parto In: V SIMPOSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCIÓN ANIMAL, Huerta Grande, v. 1, p. 392, 2003.

MARQUES, V. B.; BERTAN, C. M.; ALMEIDA, A. B.; MEIRELLES, F. V.; PAPA, P. C.; BINELLI, M. Interferon-tau e o reconhecimento da gestação em bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 3, n. 4, p.479-488, 2007.

MARTINEZ, M.F.; ADAMS, G.P.; BERGFELT, D.R.; KASTELIC, J.P.; MAPLETOFT, R.J. Effect of LH or GnRH on the dominant follicle of the first follicular wave in beef heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 57, n. 1-2, p. 23-33, 1999.

MAURER, R. R.; CHENAULT, J. R. Fertilization failure and embryonic mortality in parous and nonparous beef cattle. **Journal Animal Science**, v. 56, p. 1186-1189, 1983.

MCCRACKEN, J. A. Prostaglandin-F2-Alpha and corpus luteum regression. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 180, p. 456-472, 1971.

MCCRACKEN, J. A.; CUSTER, E. E.; LAMSA, J. C.. Luteolysis: A neuroendocrine-mediated event. **Physiological Reviews**, v. 79, p. 263-323, 1999.

MENEGHETTI, M. E.; VASCONCELOS, J. L. M. Mês de parição, condição corporal e resposta ao protocolo de inseminação artificial em tempo fixo em vacas de corte primíparas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, p. 786-793, 2008.

MENEGHETTI, M.; SÁ FILHO, O. G.; PERES, R. F. G.; LAMB, G. C.; VASCONCELOS, J. L. M. Fixed-timed artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows I: Basis for development of protocols. **Theriogenology**, v. 72, p. 179-189, 2009.

MIHM, M.; CROWE, M. A.; KNIGHT, P. G.; AUSTIN, E. J. Follicle wave growth in cattle. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 37, n. 4, p. 191–200, 2002.

MINTEN, M. A.; BILBY, T. R.; BRUNO, R. G. S.; ALLEN, C. C.; MADSEN, C. A.; WANG, Z.; SAWYER, J. E.; TIBARY, A.; NEIBERGS, H. L.; GEARY, T. W.; BAUERSACHS, S.; SPENCER, T. E.. Effects of Fertility on Gene Expression and Function of the Bovine Endometrium. **Journal Plos one**, v. 8, p. 69-44, 2013.

MONTEIRO JR, P. L. J.; NASCIMENTO, A. B.; PONTES, G. C. S.; FERNANDES, G. O.; MELO, L. F.; WILTBANK, M. C.; SARTORI, R. Progesterone supplementation after ovulation: Effects on corpus luteum function and on fertility of dairy cows subjected to AI or ET. **Theriogenology**, v. 84, p. 1215-1224, 2015.

MONTEIRO JR, P. L. J.; RIBEIRO, E. S.; MACIEL, R. P.; DIAS, A. L. G.; SOLE, E.; LIMA, F. S. Effects of supplemental progesterone after artificial insemination on expression of interferon stimulated genes and fertility in dairy cows. **Journal Dairy Science**, v. 97, p. 4907–4921, 2014.

MOORE, D. A.; CULLOR, J. S.; BONDURANT, R. H.; SISCHO, W. M. Preliminary field evidence for the association of clinical mastitis with altered interestrus intervals in dairy-cattle. **Theriogenology**, v. 36, p. 257-265, 1991.

MULLINS, K. J.; SAACKE, R. G. Study of the functional anatomy of bovine cervical mucosa with special reference to mucus secretion and sperm transport. **The Anatomical Record**, v. 225, p. 106-117, 1989.

MURPHY, B. D. Equine chorionic gonadotrophin: an enigmatic but essential tool. **Animal Reproduction**, v. 9, n. 3, p. 223–230, 2012.

NAGAOKA, K.; SAKAI, A.; NOJIMA, H.; SUDA, Y.; YOKOMIZO, Y.; IMAKAWA, K. A chemokine, interferon (IFN)-gamma-inducible protein 10 kDa, is stimulated by IFN-tau and recruits immune cells in the ovine endometrium. **Biology of Reproduction**, v. 68, p. 1413-1421, 2003.

NAKAO, T.; MORIYOSHI, M.; KAWATA, K. The effect of postpartum ovarian dysfunction and endometritis on subsequent reproductive-performance in high and medium producing dairy-cows. **Theriogenology** v. 37, p. 341-349 1992.

NASCIMENTO, A. B.; BENDER, R. W.; SOUZA, A. H.; AYRES, H.; ARAUJO, R. R.; GUENTHER, J. N.; SARTORI, R.; WILTBANK, M.C. Effect of treatment with human chorionic gonadotropin on day 5 after timed artificial insemination on fertility of lactating dairy cows. **Journal Dairy Science**, v. 96, p. 2873-288, 2013.

NEBEL, R. L.; DRANSFIELD, B. G.; DALTON, J. C.; BAME, J. H.; SAACKE, R. G. Timing Of AI – Have We Been Wrong All These Years ? **Advances in Dairy Technology**, v. 12, p. 195-209, 2000.

NETT, T.M.; TURZILLO, A. M.; BARATTA, M.; RISPOLI, L.A. Pituitary effects of steroid hormones on secretion of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 23, p. 33-42, 2002.

NEVES, K. A. L. **Efeito do intervalo entre a inseminação e a ovulação na taxa de concepção de vacas Nelore inseminadas em tempo fixo com sêmen sexado**. 2010. 89 f. Dissertação (mestrado) – Universidade de São Paulo, São Paulo.

NISWENDER, G. D. Molecular control of luteal secretion of progesterone. **Reproduction**, v. 123, n. 3, p. 333-339, 2002.

NISWENDER, G. D.; JUENGEL, J. L.; SILVA, P. J.; ROLLYSON, M. K.; MCINTUSH, E. W. Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. **Physiological reviews**, v. 80, n. 1, p. 1–29, 2000.

O'BRIEN, C. A.; BLOSS R. E.; NICKS, E. F. Effect of melengestrol acetate on the growth and reproductive physiology of fattening heifers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 27, p.664-667, 1968.

O'HARA, L.; FORDE, N.; KELLY, A. K.; LONERGAN, P. Effect of bovine blastocyst size at embryo transfer on day 7 on conceptus length on day 14: can supplementary progesterone rescue small embryos? **Theriogenology**, v. 81, p. 1123–1128, 2014.

- ODDE, K.G. A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. **Journal of Animal Science**, v. 68, n. 3, p. 817-830, 1990.
- OLIVEIRA, V. C. D.; FONTES, C. A. D. A.; SIQUEIRA, J. G. D.; FERNANDES, A. M.; SANTANA, N. D. F.; CHAMBELA NETO, A. Produção de leite e desempenho dos bezerros de vacas Nelore e mestiças. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p. 2074-2081, 2007.
- PARR, M. H.; CROWE, M. A.; LONERGAN, P.; EVANS, A. C. O.; RIZOS, D.; DISKIN, M. G. Effect of exogenous progesterone supplementation in the early luteal phase post-insemination on pregnancy per artificial insemination in Holstein-Friesian cows. **Animal Reproduction Science**, v. 150, p. 7-14, 2014.
- PEIXOTO, P. V.; MALAFAIA, P.; BARBOSA, J. D.; TOKARNIA, C. H. Princípios de suplementação mineral em ruminantes. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 25, n. 3, p. 195-200, 2005.
- PEREIRA, L. L.; PITALUGA, P. C. S. F.; BORGES, R. R. C.; SALA, R. V.; SÁ FILHO, M. F.; BARUSELLI, P. S. O éster de estradiol utilizado como estímulo ovulatório no protocolo de IATF não altera as taxas de ocorrência de estro e de prenhez em fêmeas de corte. **Animal Reproduction**, v. 9, n. 3, p. 520, 2012.
- PEREIRA, M. A.; OLIO, R. L.; SANTOS, A. C.; VIANA, D. C.; FAVARON, P. O.; MIGLINO, M. A. Reconhecimento materno da gestação em animais de produção **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 13, n. 1 p. 30-35, 2015.
- PERES, R. F. G. **Efeito da concentração pré e pós-ovulatória de progesterone em protocolos de IATF em fêmeas Nelore**. 2008. 87 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- PERES, R. F. G.; CLARO JUNIOR, I.; SÁ FILHO, O. G.; NOGUEIRA, G. P.; VASCONCELOS, J. L. M. Strategies to improve fertility in *Bos indicus* postpubertal heifers and nonlactating cows submitted to fixed-time artificial insemination. **Theriogenology**, v. 72, p. 681-689, 2009.

PEREZ, G. C. **Uso do acetato de melengestrol (MGA), associado a PGF 2 $\alpha$  e a GnRH ou Benzoato de estradiol em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) para vacas Nelores paridas.** 2005. 80 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de São Paulo. São Paulo.

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

PERRY, G. A.; SMITH, M. F.; ROBERTS, A. J.; MACNEIL, M. D.; GREARY, T. W. Relationship between size of the ovulatory follicle and pregnancy success in beef heifers. **Journal Animal Science**, v. 85, p. 684-689, 2007.

PETER, A. T.; LEVINE, H.; DROST, M.; BERGFELT, D. R. Compilation of classical and contemporary terminology used to describe morphological aspects of ovarian dynamics in cattle. **Theriogenology**, v. 71, n. 9, p. 1343–1357, 2009.

PHARRISS, B.B.; WYNGARDEN, L.J. The Effect of Prostaglandin F2 $\alpha$  on the Progesterone Content of Ovaries from Pseudopregnant Rats. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**. v. 130, n. 1, p. 92-94, 1969.

PINHEIRO, O. L.; BARROS, C. M.; FIGUEIREDO, R. A.; DO VALLE, E. R.; ENCARNAÇÃO, R. O.; PADOVANI, C. R. Estrous behavior and estrus to ovulation interval in Nelore cattle (*Bos indicus*) with natural estrus or estrus induced with prostaglandin F2 $\alpha$  or Norgestomet and estradiol valerate. **Theriogenology**, v. 49, p. 667-681, 1998.

POHLER, K. G.; GEARY, T. W.; ATKINS, J. A.; PERRY, G. A.; JINKS, E. M.; SMITH, M. F. Follicular determinants of pregnancy establishment and maintenance. **Cell Tissue Research**, v. 349, p. 649-664, 2012.

PRESTES, N.C.; LANDIM-ALVARENGA, F.C. **Medicina veterinária, obstetrícia veterinária.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006, 241p.

PUGLIESI, G.; SANTOS, F. B.; LOPES, E.; NOGUEIRA, E.; MAIO, J. R. G.; BINELLI, M. Improved fertility in suckled beef cows ovulating large follicles or

supplemented with long-acting progesterone after timed-AI. **Theriogenology**, v. xx, p. 01-10, 2016.

PUGLIESI, G.; SANTOS, F.B.; LOPES, E.; NOGUEIRA, É.; MAIO, J. R. G.; BINELLI, M. Fertility response in suckled beef cows supplemented with long-acting progesterone after timed artificial insemination. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 27, p.93-270, 2015.

PURSLEY, J. R.; MEE, M. O.; WILTBANK, M. C. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2 $\alpha$  and GnRH. **Theriogenology**, v. 44, p. 915-923, 1995.

RATHBONE, M. J.; KINDER, J. E.; FIKE, K.; KOJIMA, F.; CLOPTON, D.; OGLE, C. R.; BUNT, C. 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.

RHINEHART, J.D.; ARNETT, A.M.; HIGHTSHOE, R.B.; ANDERSON, L.H. Comparison of the efficiency of estradiol 17  $\beta$ , estradiol benzoate, and estradiol cypionate in stimulating atresia of dominant follicles in beef heifers. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 1, p. 135, 2002.

RIBEIRO FILHO, A. L.; FERRAZ, P. A.; RODRIGUES, A. S.; BITTENCOURT, T. C. B. S. C.; LOIOLA, M. V. G.; CHALHOUB, M. Diâmetro do folículo no momento da inseminação artificial em tempo fixo e taxa de concepção em vacas Nelore. **Ciência Animal Brasileira**, v. 14, n. 4, p. 501-507, 2013.

RIBEIRO FILHO, A. L.; FERRAZ, P. A.; RODRIGUES, A. S.; LOIOLA, M. V. G.; ANDRADE, B. H. A. COUTINHO, T. P.; OLIVEIRA, C. H. C.; ARAUJO, E. A. B.; OLIVEIRA, S.N. BITTENCOURT, T. C. C.; CHALHOUB, M. Conception rate and diameter of the ovulatory follicle from zebu cattle submitted to FTAI protocol with estrus detection. **Animal Reproduction**, v. 9, n. 3, p. 540, 2012.

RIBEIRO FILHO, A.L. . **Indução, sincronização e resincronização do estro em vacas zebuínas**. 2001. 113 p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

RIGOGLIO, N. N.; FÁTIMA, L. A.; HANASSAKA, J. Y.; PINTO, G. L.; MACHADO, A. S. D.; GIMENES, L. U.; BARUSELLI, P. S.; RENNÓ, F. P.; MOURA, C. E. B.; WATANABE, I. S.; PAPA, P. C. Equine chorionic gonadotropin alters luteal cell morphologic features related to progesterone synthesis. **Theriogenology**, v. 79, n. 4, p. 673–679, 2013.

ROBERTS, R. M.; CHEN, Y.; EZASHI, T.; WALKER, A. M. Interferons and the maternal-conceptus dialog in mammals. **Seminars in Cell and Developmental Biology**, v. 19, n. 2, p. 170-177, 2008.

ROBERTS, R. M.; IMAKAWA, K.; NIWANO, Y.; KAZEMI, M.; MALATHY, P. V.; HANSEN, T. R.; GLASS, A. A.; KRONENBERG, L. H. Interferon production by the pre implantation sheep embryo. **Journal of Interferon and Cytokine Research**, v. 9, n. 2, p. 175-187, 1989.

ROBERTS, R. M.; XIE, S.; MATHIALAGAN, N. Maternal recognition of pregnancy. **Biology of Reproduction**, v. 54, n. 2, p. 294-302, 1996.

ROBINSON, R. S.; HAMMOND, A. J.; WATHES, D. C. Corpus luteum-endometrium-embryo interactions in the dairy cow: underlying mechanisms and clinical relevance. **Reproduction Domestic Animal**, v. 43, n. 2, p. 104-112, 2008.

ROCHE, J. F.; BOLANDL, M. P.; MCGEADY, T. A. Reproductive wastage following artificial-insemination of heifers. **Veterinary Record**, v. 109, p. 401-404, 1981.

RODRIGUES, L. A.; FIGUEIREDO, V. S. F.; RIBEIRO, J. A. C. M.; RODRIGUES, F. A.; BARBOSA, L. K. G.; MURTA, D. V. F. Avaliação da dinâmica ovariana de fêmeas bovinas. **Caderno de Ciências Agrárias**, v. 7, n. 1, p. 91-94, 2015.

RODRIGUES, M. C.; LEO, K. M. SILVA, N. C.; SILVA, R. P.; VIU, M. A. O.; CARDOSO, L. M.. Administração de acetato de melengestrol após inseminação

artificial em tempo fixo em vacas nelore lactantes. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.15, n.2, p.361-368, 2014.

RODRIGUEZ-MARTINEZ, H. Assisted reproductive techniques for cattle breeding in developing countries: A critical appraisal of their value and limitations. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 47, p. 21-26, 2012

ROELOFS, J.; LÓPEZ-GATIUS, F.; HUNTER, R. H. F.; VAN EERDENBURG, F. J. C. M.; HANZEN, CH. When is a cow in estrus? Clinical and practical aspects. **Theriogenology**, v. 74, p. 327–344, 2010.

ROELOFS, J.B.; GRAAT, E.A. M.; MULLAART, E.; SOEDE, N.M.; VOSKAMP-HARKEMA, W.; KEMP, B. Effects of insemination–ovulation interval on fertilization rates and embryo characteristics in dairy cattle. **Theriogenology**, v. 66, n. 9, p. 2173-2181, 2006.

ROWLANDS, I.W.; SHORT, R.V. The progesterone content of the guinea-pig corpus luteum during the reproductive cycle and after hysterectomy. **Journal of Endocrinology**, v. 19, n. 1, p. 81-86, 1959.

SÁ FILHO, M. F. **Importância da ocorrência de estro e do diâmetro folicular no momento da inseminação em protocolos de sincronização da ovulação para inseminação artificial em tempo fixo em fêmeas zebuínas de corte**. 2012. 124f. Tese (doutorado) - Universidade de São Paulo, São Paulo.

SÁ FILHO, M. F.; CRESPILO, A. M.; SANTOS, J. E. P.; PERRY, G. A.; BARUSELLI, P. S. Ovarian follicle diameter at timed insemination and estrous response influence likelihood of ovulation and pregnancy after estrous synchronization with progesterone or progestin-based protocols in suckled *Bos indicus* cows. **Animal Reproduction Science**, v. 120, p. 23-30, 2010.

SÁ FILHO, M. F.; MARQUES, M. O.; GIMENES, L. U.; TORRES-JÚNIOR, J. R. S.; BATISTA, E. O. S.; CARVALHO, J. P. B.; BARUSELLI, P. S. Prostaglandin treatment at the onset of norgestomet and estradiol-based synchronization protocols did

not alter the ovarian follicular dynamics or pregnancy per timed artificial insemination in cyclic *Bos indicus* heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 144, p. 1-5, 2014.

SÁ FILHO, M. F.; TORRES-JÚNIOR, J. R. S; PENTEADO, L.; GIMENES, L. U; FERREIRA, R. M; AYRES, H.; CASTRO, E.; PAULA, L. A.; SALES, J. N. S.; BARUSELLI, P. S. Equine chorionic gonadotropin improves the efficacy of a progestin-based fixed-time artificial insemination protocol in Nelore (*Bos indicus*) heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 118, p. 182-187, 2010.

SÁ FILHO, O. G.; MENEGHETTI, M.; PERES, R. F. G.; LAMB, G. C.; VASCONCELOS, J. L. M. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows II: Strategies and factors affecting fertility. **Theriogenology**, v. 72, p. 210–218, 2009.

SÁ FILHO, O. G.; THATCHER, W. W.; VASCONCELOS, J. L. M. Effect of progesterone and/or estradiol treatments prior to induction of ovulation on subsequent luteal lifespan in anestrous Nelore cows. **Animal Reproduction Science**, v. 112, p. 95-106, 2009.

SALES, J. N. S.; CARVALHO, J. B. P.; CREPALDI, G. A. ; CIPRIANO, R. S.; JACOMIN, J. O.; MAIO, J. R. G.; SOUZA, J. C.; NOGUEIRA, G. P.; BARUSELLI, P. S. Effects of two estradiol esters (benzoate and cypionate) on the induction of synchronized ovulation in *Bos indicus* cows submitted to a timed artificial insemination protocol. **Theriogenology**, v. 78, n. 3, p. 510-516, 2012.

SALES, J. N. S.; CARVALHO, J. B. P.; CREPALDI, G. A.; SOARES, J. G.; GIROTTO, R. W.; MAIO, J. R. G.; SOUZA, J. C.; BARUSELLI, P. S. Effect of circulating progesterone concentration during synchronization for fixed-time artificial insemination on ovulation and fertility in *Bos indicus* (Nelore) beef cows. **Theriogenology**, v. 83, p. 1093–1100, 2015.

SALES, J. N. S.; CREPALDI, G. A.; GIROTTO, R. W.; SOUZA, A. H.; BARUSELLI, P. S. Fixed-time AI protocols replacing eCG with a single dose of FSH were less effective in stimulating follicular growth, ovulation, and fertility in suckled-anestrus Nelore beef cows. **Animal Reproduction Science**, v. 124, p. 12–18, 2011.

SANTOS, J. E. P.; RUTIGLIANO, H. M.; SÁ FILHO, M. F.. Risk factors for resumption of postpartum estrous cycles and embryonic survival in lactating dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v. 110, p. 207-221, 2009.

SANTOS, J. E. P.; THATCHER, W. W.; CHEBEL, R. C.; CERRI, R. L. A.; GALVÃO, K. N. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. **Animal Reproduction Science**, v. 82, p. 513– 535, 2004.

SANTOS, S. A.; ABREU, U. G. P.; SOUZA, G. S.; CATTO, J.B. Condição corporal, variação de peso e desempenho reprodutivo de vacas de cria em pastagem nativa no Pantanal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, p. 354-360, 2009.

SARAN JUNIOR, A. J.; CONTI, T. L.; GONÇALVES, R. L.; SANTOS, G. P.; PERSICO, J. M. R.; SALES, J. N. S.; BARUSELLI, P. S.; FERREIRA, R. M. Comparação da taxa de concepção de novilhas nelore cíclicas com ou sem CL no início do protocolo de IATF com dispositivo intravaginal cronipres® mono dose com 1g de P4. In: Reunião anual da sociedade brasileira de tecnologia de embriões, 25, 2016, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões, 2016. v. 25. p. 1503.

SARTORI, R.; BASTOS, M. R.; BARUSELLI, P. S.; GIMENES, L. U.; ERENO, R. L.; BARROS, C. M. Physiological differences and implications to reproductive management of *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle in a tropical environment. **Society of Reproduction and Fertility supplement**, v. 67, p. 357–375, 2010.

SARTORI, R.; DODE, M. A. N. Mortalidade embrionária na IA, TE, FIV e clonagem. In: Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, 3., 2008, Londrina. **Anais...** Londrina: Biotecnologia da Reprodução em Bovinos, 2008. v.1. p. 174-194.

SARTORI, R.; GUARDIEIRO, M. M. Fatores nutricionais associados à reprodução da fêmea bovina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 422-432, 2010.

SARTORI, R.; SARTOR-BERGFELT, R.; MERTENS, S. A.; GUENTHER, J. N.; PARRISH, J. J.; WILTBANK, M. C. Fertilization and early embryonic development in

heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in Winter. **Journal Dairy Science**, v. 85, p. 2803-2812, 2002.

SAVIO, J.D.; KEENAN, L.; BOLAND, M.P.; ROCHE, J.F. Pattern of growth of dominant follicles during the oestrous cycle of heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 83, n. 2, p. 663-671, 1988.

SENGER, P. **Pathways to pregnancy and parturition**. 2.ed. Washington: Current Conceptions, 2003. 368 p.

SHAMS-ESFANDABADI, N.; SHIRAZI, A. Evaluation of the effect of muscular injection of progesterone on Days 2-5 following insemination on pregnancy rate in dairy cows. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 10. p. 152-155, 2007.

SHORT, R. E.; BELLOWS, R. A.; STAIGMILLER, R. B.; BERNARDINELLI, J. G.; CUSTER, E. E. Physiological Mechanisms Controlling Anestrus and Infertility in Postpartum Beef Cattle. **Journal of Animal Science**, v. 68, p. 799–816, 1990.

SILVA JUNIOR, L. de S.; FREIRIA, L. B. da; ANGREVESSILVA, G. M.; POSSAMAI, A. J.; HATAMOTOZERVOUDAKIS, L. K.; SILVA, M. R. Uso do acetato de melengestrol após protocolos de inseminação artificial em tempo fixo em vacas nelore múltiparas. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.15, n.2, p. 425-429, 2014.

SILVA, E. P.; DIAS, M. M.; MACHADO, A B.; GAMBIN, L. S.; BONADIMAN, H.B.; SILVA, M.; KLAFKE, M. V.; GONSIOROSKI, A. V.; CHAIBEN, M. F. C.; BORGES, J. B. S. Impacto na manifestação de estro, diâmetro do folículo ovulatório, taxa de ovulação e prenhez utilizando CE ou GnRH como indutores da ovulação em protocolos de IATF em novilhas de corte. In: Reunião anual da sociedade brasileira de tecnologia de embriões, 25, 2016, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões, 2016. v. 25. p. 1485.

SILVA, R. P.; LEÃO, K. M.; RODRIGUES, M. C.; MARQUES, T. C.; SILVA, N. C.; VIU, M. A. O. Aplicação de GnRH no dia da inseminação artificial em tempo fixo

(IATF) e administração de acetato de melengestrol (MGA) após iatf em vacas nelore solteiras. **Semina**, v. 36, n. 4, p. 3149-3160, 2015.

SIROIS, J.; FORTUNE2, J. E. Ovarian Follicular Dynamics during the Estrous Cycle in Heifers Monitored by Real-Time Ultrasonography. **Biology of Reproduction**, v. 39, p. 308–3, 1988.

SONOHATA, M. M.; OLIVEIRA, C. A. L.; CANUTO, N. G. D.; ABREU, U. G. P.; FERNANDES, D. D. Escore de condição corporal e desempenho reprodutivo de vacas no Pantanal do Mato Grosso do Sul. Brasil. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 10, p. 988-998, 2009.

SOUZA, A. H. D. **Inseminação artificial em tempo fixo em vacas de alta produção**. 2008. 152 p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Universidade de São Paulo, São Paulo.

SOUZA, A. L. B.; SEGUI, M. S.; KOZICKI, L. E.; WEISS, R. R.; ABREU, A.; BERTOL, M. A. F.; OLIVEIRA, D. M. A. Impact of Equine Chorionic Gonadotropin Associated with Temporary Weaning, Estradiol Benzoate, or Estradiol Cypionate on Timed Artificial Insemination in Primiparous Bos Indicus Cows. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.59, 2016.

SOUZA, A.H.; CUNHA, A.P.; CARAVIELLO, D.Z.; WILTBANK, M.C. Profiles of circulating estradiol-17 $\beta$  after different estrogen treatments in lactating dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v. 2, n. 4, p. 224-232, 2005.

SOUZA, E. D. F. **Efeito da progesterona injetável de longa ação na função luteínica e na taxa de concepção de vacas Holandesas de alta produção submetidas à IATF**. 2015. 68f. Dissertação (mestrado) – Universidade de São Paulo, São Paulo.

SPENCER, T. E.; BAZER, F. W. Ovine interferon tau suppresses transcription of the estrogen receptor and oxytocin receptor genes in the ovine endometrium. **Endocrinology**, v. 137, n. 3, p. 1144-1147, 1996.

- SPENCER, T. E.; BURGHARDT, R. C.; JOHNSON, G. A.; BAZER, F. W. Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy. **Animal Reproduction Science**, v. 82, p. 537-550, 2004.
- SPENCER, T. E.; FORDE, N.; LONERGAN, P. The role of progesterone and conceptus-derived factors in uterine biology during early pregnancy in ruminants. **Journal Dairy Science**, v.99, p. 5941- 5950,, 2015.
- SPENCER, T. E.; GRAY, C. A. Sheep uterine gland knockout (UGKO) model. **Methods in Molecular Medicine**, v. 121, p. 85-94, 2006.
- SWENSON, M. J.; REECE, W. O. **Dukes - Fisiologia dos animais domésticos**. 11° ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro: 1996, 902 p.
- THATCHER, W. W.; BINELLI, M.; ARNOLD, D.; MATTOS, R.; BADINGA, L.; MOREIRA, F. STAPLES, C. R.; GUZELOGLU, A. Endocrine and physiological events from ovulation to establishment of pregnancy in cattle. In: Fertility in the high producing dairy cow. **26° Publications British Society Animal Science**; p. 81-91, 2001.
- THATCHER, W. W.; STAPLES, C. R.; DANET-DESNOYERS, G.; OLDICK, B.; SCHMITT, E. P. Embryo health and mortality in sheep and cattle. **Journal Animal Science**, v. 72, n. 3, p. 16-30, 1994.
- THUNDATHIL, J.; KASTELIC, J.; MAPLETOFT, R. The effect of estradiol cypionate (ECP) on ovarian follicular development and ovulation in dairy cattle. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 62, n. 4, p. 314, 1998.
- TORRES, H. A. L.; TINEO, J. S. A.; RAIDAN, F. S. S. Influência do escore de condição corporal na probabilidade de prenhez em bovinos de corte. **Arquivo de Zootecnia**, v. 64, p. 255-260, 2015.
- TREVISOL, E.; FERREIRA, J. C. P; ACKERMANN, C. L.; DESTRO, F. C.; AMARAL, J. B. Luteólise em bovinos : revisão. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v. 37, n. 1, p. 29–36, 2013.

- TWAGIRAMUNGU, H.; GUILBAULT, L.; PROULX, J.; DUFOUR, J. Synchronization of estrus and fertility in beef cattle with two injections of buserelin and prostaglandin. **Theriogenology**, v. 38, n. 6, p. 1131-1144, 1992.
- TWAGIRAMUNGU, H.; GUILBAULT, L.A.; DUFOUR, J.J. Synchronization of ovarian follicular waves with a gonadotropin-releasing hormone agonist to increase the precision of estrus in cattle: a review. **Journal of Animal Science**, v. 73, n. 10, p. 3141-3151, 1995.
- VANROOSE, G.; DE KRUIF, A.; VAN SOOM, A. Embryonic mortality and embryo-pathogen interactions. **Animal Reproduction Science**, v. 60 p. 131-143, 2000.
- VASCONCELOS, J. L. M.; SARTORI, R.; OLIVEIRA, H. N.; GUNTHER, J. G.; WILTBANK, M. C. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. **Theriogenology**, v. 56, p. 307-314, 2001.
- WHEATON, J. E.; LAMB, G.C. Induction of cyclicity in postpartum anestrous beef cows using progesterone, GnRH and estradiol cypionate (ECP). **Animal Reproduction Science**, v. 102, p. 208-216, 2007.
- WIEBOLD, J. L. Embryonic mortality and the uterine environment in 1st-service lactating dairy-cows. **Journal of Reproduction and Fertility**, v, 84, p. 393-399, 1988.
- WILTBANK, J. N.; CASIDA, L. E. Alteration of ovarian activity by hysterectomy. **Journal Animal Science**, v. 15 p. 134-140, 1956.
- WILTBANK, J. N.; ZIMMERMAN, D. R.; INGALLS, J. E.; ROWDEN, W. W. Use of progestational compounds alone or in combination with estrogen for synchronization of estrus. **Journal of Animal Science**, v. 24, n. 4, p. 990-994, 1965.
- WILTBANK, M. C.; GUMEN, A.; SARTORI, R. Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. **Theriogenology**, v. 57, n. 1, p. 21-52. 2002
- WILTBANK, M. C.; BAEZ, G. M.; GARCIA-GUERRA, A.; TOLEDO, M. Z.; MONTEIRO, P. L.; MELO, L. F.; OCHOA, J. C.; SANTOS, J. E.; SARTORI, R.

Pivotal periods for pregnancy loss during the first trimester of gestation in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v. 86, p. 239-253, 2016.

WILTBANK, M. C.; SOUZA, A. H.; CARVALHO, P. D.; BENDER, R. W.; NASCIMENTO, A. B. Improving fertility to timed artificial insemination by manipulation of circulating progesterone concentrations in lactating dairy cattle. **Reproduction Fertility Development**, v. 24, p.238–243, 2011.

WILTBANK, M. C.; SOUZA, A. H.; CARVALHO, P. D.; CUNHA, A. P.; GIORDANO, J. O.; FRICKE, P. M. Physiological and practical effects of progesterone on reproduction in dairy cattle. **Animal**, v. 8, Suppl 1,p. 70–81, 2014.

WILTBANK, M. Uso eficaz de hormônios de reprodução: II. Programas de reprodução. In: NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS, IV., 2000, Passos. **Anais...** Passos: CONAPEC Jr. & CBRA, 2000, p. 71-85.

YAVAS, Y.; WALTON, J. S. Postpartum acyclicity in suckled beef cows: A review. **Theriogenology**, v. 54, n. 1, p. 25-55, 2000.

ZARCO, L.; STABENFELDT, G. H.; BASU, S.; BRADFORD, G. E.; KINDAHL, H. Modification of prostaglandin F-2 alpha synthesis and release in the ewe during the initial establishment of pregnancy. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 83, n. 2, p. 527-536, 1988.

ZHAO, S.; LIU, Z. X.; GAO, H.; WU, Y.; FANG, Y.; WU, S. S.; LI, M. J.; BAI, J. H.; LIU, Y.; EVANS, A.; ZENG, S. M. A threedimensional culture system using alginate hydrogel prolongs hatched cattle embryo development in vitro. **Theriogenology**, v. 84, p. 184-92, 2015.

ZIMBELMAN, R. G.; SMITH, W. Maintenance of pregnancy in ovariectomized heifers with Melengestrol Acetate. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 22, p 868, 1966.