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

CARACTERIZAÇÃO DA EXPRESSÃO DO ESTRO E SEU IMPACTO SOBRE A FERTILIDADE DE DISTINTAS CATEGORIAS DE FÊMEAS ZEBUÍNAS SUBMETIDAS A IATF

**ARTUR AZEVEDO MENEZES** 

Salvador – BA



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

## CARACTERIZAÇÃO DA EXPRESSÃO DO ESTRO E SEU EFEITO SOBRE A FERTILIDADE DE DIFERENTES CATEGORIAS DE FÊMEAS ZEBUÍNAS SUBMETIDAS A IATF

#### **ARTUR AZEVEDO MENEZES**

Médico Veterinário

Salvador – BA 2024

#### ARTUR AZEVEDO MENEZES

## CARACTERIZAÇÃO DA EXPRESSÃO DO ESTRO E SEU EFEITO SOBRE A FERTILIDADE DE DIFERENTES CATEGORIAS DE FÊMEAS ZEBUÍNAS SUBMETIDAS A IATF

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós – Graduação em Ciência Animal nos Trópicos, da Universidade Federal da Bahia, como requisito final para a obtenção do título de Mestre em Ciências Animal nos Trópicos.

Área de concentração: Saúde Animal

Orientador: Prof. Dr. Antonio de Lisboa Ribeiro Filho

Co-orientadora: Profa. Dra. Alexandra Soares Rodrigues

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Universitário de Bibliotecas (SIBI/UFBA), com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Azevedo Menezes, Artur
CARACTERIZAÇÃO DA EXPRESSÃO DO ESTRO E SEU EFEITO
SOBRE A FERTILIDADE DE DIFERENTES CATEGORIAS DE
FÊMEAS ZEBUÍNAS SUBMETIDAS A IATF / Artur Azevedo
Menezes. -- Salvador, 2024.
79 f.: il

Orientadora: Antonio de Lisboa Ribeiro Filho. Coorientadora: Alexandra Soares Rodrigues . Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal nos Trópicos) -- Universidade Federal da Bahia, Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2024.

1. Bos taurus indicus. 2. Gado de corte. 3. Prenhez. 4. Monta natural. 5. Estação reprodutiva. I. de Lisboa Ribeiro Filho, Antonio. II. Soares Rodrigues , Alexandra . III. Título.

# CARACTERIZAÇÃO DA EXPRESSÃO DO ESTRO E SEU EFEITO SOBRE A FERTILIDADE DE DIFERENTES CATEGORIAS DE FÊMEAS ZEBUÍNAS SUBMETIDAS A IATF

#### Artur Azevedo Menezes

Dissertação defendida e aprovada em 29/01/2024 para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal nos Trópicos.

Salvador, Bahia, 29 de janeiro de 2024.

Comissão Examinadora



Prof. Dr. Antonio de Lisboa Ribeiro Filho

Presidente – PPGCAT



Prof. Dr. Anselmo Domingos Ferreira Santos
Universidade Federal do Sergipe/ UFS



Prof. Dr. Caio Victor Damasceno Carvalho

Universidade Federal da Bahia/ UFBA

Prof. Dr. José Esler de Freitas Júnior

Universidade Federal da Bahia/ UFBA

#### DADOS CURRICULARES DO AUTOR

ARTUR AZEVEDO MENEZES- Nascido em 24 de agosto de 1998, na cidade de Itamaraju- BA. Concluiu o ensino médio no Complexo Integrado de Educação de Itamaraju em 2015. Iniciou o curso de Graduação em Medicina Veterinária na Universidade Federal do Oeste da Bahia (UFOB) em 2016 e formou em outubro de 2021. Em março de 2022 ingressou no mestrado no Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal nos Trópicos pela Universidade Federal da Bahia (UFBA) sob a orientação do Prof. Dr. Antonio de Lisboa Ribeiro Filho.

#### **AGRADECIMENTO**

Agradeço, primeiramente, a Deus, por sempre atender as minhas preces e permitir que eu concluísse essa etapa da minha vida.

À toda minha família que sempre foi a base para tudo e, principalmente, pela formação de meu caráter. Agradeço aos meus pais, Tadna e Eduardo, meu avô Artur (*in memoriam*), minha irmã Terezinha e minha madrinha Luia por todos os sorrisos e incentivos que, com certeza, são a verdadeira origem de toda a motivação para minha vida.

Aos demais familiares, tios, tias, 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 esses anos e pelas proveitosas e agradáveis conversas sobre a medicina veterinária e sobre a vida.

A minha coorientadora, a professora Alexandra Soares Rodrigues, por todos os ensinamentos e modelo de conduta e profissionalismo. Agradeço pelos exemplos de perseverança, dedicação e paixão pela profissão, além das oportunidades concedidas que foram, sem dúvida, fundamentais para meu crescimento profissional.

Aos professores Marcos Chalhoub Coelho Lima e Marcus Vinícius Galvão Loiola por todas as oportunidades, pela enorme contribuição na minha carreira profissional e por disponibilizar de seu tempo para me ouvir, aconselhar e ensinar.

Aos meus amigos, aqueles de Itamaraju e aqueles que fui conquistando durante a graduação e pós-graduação pelas conversas, orientações e, principalmente, pela verdadeira amizade.

Enfim, gostaria de agradecer a todos que de alguma forma ou outra pude conviver durante essa etapa de minha vida. Vocês foram e sempre serão importantes para mim.

#### **RESUMO**

MENEZES, A.A. Caracterização da expressão do estro e seu efeito sobre a fertilidade de diferentes categorias de fêmeas zebuínas submetidas a IATF. 2024. 79p. Defesa (Mestre em Ciência Animal nos Trópicos) — Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia — Universidade Federal da Bahia, 2024.

Objetivou-se com esse trabalho avaliar o perfil da expressão do estro, assim como o impacto do estro sobre a fertilidade de diferentes categorias de fêmeas Nelore submetidas a um protocolo de IATF. Para tanto, foram utilizadas 1053 fêmeas Nelore (658 multíparas, 138 primíparas e 257 novilhas), sincronizadas com o seguinte protocolo hormonal: no dia 0 (D0), os animais receberam um dispositivo intravaginal de liberação de progesterona de 0,5 g associado a 2 mg de benzoato de estradiol por via intramuscular (IM). No D8, retirou-se o dispositivo intravaginal de P4 e foram aplicados 300 UI de gonadotrofina coriônica equina IM, 520 µg de cloprostenol sódico IM e 1 mg de cipionato de estradiol IM. Neste momento, os animais foram marcados com bastão marcador entre a tuberosidade sacral e a inserção da cauda para determinação da expressão do estro. No D10, os animais foram caracterizados em dois grupos experimentais: Grupo sem expressão do estro (SEM ESTRO) e Grupo com expressão do estro (COM ESTRO) por meio da remoção da tinta. Imediatamente, após a caracterização da expressão do estro, foram realizadas as IATFs. No D20, as fêmeas foram expostas ao repasse com touros em uma proporção 1:30. Para a determinação da taxa de prenhez da IATF (TPIATF), a taxa de prenhez no repasse (TPRep) e taxa de prenhez da estação reprodutiva (TPFinal) foram realizados dois diagnósticos gestacionais. O diagnóstico de gestação da IATF foi realizado por exame ultrassonográfico no dia 40 (D40). O diagnóstico gestacional do repasse e o diagnóstico final da estação reprodutiva foi realizado ao término da mesma (D130). As análises estatísticas foram realizadas por meio do Software R, utilizando o pacote STATS (2023), e considerou-se nível de significância 5%. A taxa de detecção do estro (TDE) geral foi de 67,04% e não houve diferença entre as categorias reprodutivas (novilhas= 72,76%; primíparas= 61,59%; multíparas= 65,95%). A TPIATF geral foi de 62,11%, também não apresentando diferença entre as categorias (novilhas= 65,36%; primíparas= 62,31%; multíparas= 60,79%). A TPRep geral foi de 68,17%, não havendo diferença entre as categorias reprodutivas (novilhas= 66,29%; primíparas= 61,54%; multíparas= 70,15%). A TPFinal geral foi de 84,99%, não havendo diferença estatística entre as categorias reprodutivas (novilhas= 88,33%; primíparas= 84,05%; multíparas= 83,89%). Com relação à influência do estro sobre a fertilidade da categoria novilha, o estro impactou, de forma positiva, a TPIATF (COM ESTRO= 71,65% vs. sem estro= 48,57%; P<0,01). Contudo, não foi observada diferença quanto à TPRep (com estro= 64,15% vs. sem estro= 69,44%; P=0,61) e a TPFinal (com estro = 89,84% vs. sem estro =84,28% %; P=0,81). Para as primíparas, não houve diferença entre os grupos experimentais COM ESTRO e SEM ESTRO para a TPIATF (62,35% vs. 62,26%; P = 1,0), TPRep (59,37% vs. 65,00%; P = 0,79) e TPFinal (83,53% vs. 84,90%; P = 0,90). Em relação à categoria reprodutiva multípara, foi observado diferença (P<0,01) entre os grupos experimentais COM ESTRO e SEM ESTRO quanto a TPIATF (68,20% vs. 46,43%), TPRep (78,98% vs. 60,00%) e a TPFinal (88,94% vs. 74,11%). Desta forma, a detecção do estro pode ser usada como ferramenta para direcionar acasalamentos em protocolos de sincronização em novilhas e multíparas, além da possibilidade de ser usada como alternativa para predizer os resultados de uma estação reprodutiva da categoria multíparas.

Palavras- chave: Bos taurus indicus, gado de corte, prenhez, monta natural, estação reprodutiva.

#### **ABSTRACT**

MENEZES, A.A. Characterization of estrus expression and its impact on the fertility of different categories of zebu females submitted to a FTAL 2024. 79p. Defense (Master in Animal Science in the Tropics) – School of Veterinary Medicine and Animal Science – Federal University of Bahia, 2024.

The objective of this study was to evaluate the oestrus expression profile, as well as the impact of oestrus on the fertility of different categories of zebu females submitted to a FTAI protocol. For this purpose, 1053 females were used (658 multiparous, 138 primiparous and 257 heifers), synchronised with the following hormonal protocol: on day 0 (D0), the animals received a 0.5 g intravaginal progesterone releasing device combined with 2 mg of oestradiol benzoate intramuscularly (IM). On D8, the P4 intravaginal device was removed and 300 IU of equine chorionic gonadotrophin was administered IM, 520 µg of cloprostenol sodium IM and 1 mg of oestradiol cypionate IM. At this point, the animals were tagged with a marker stick between the sacral tuberosity and the insertion of the tail to determine oestrus expression. On D10, the animals were divided into two experimental groups: Group without estrus expression ("WITHOUT ESTRUS") and Group with estrus expression ("WITH ESTRUS") by removing the dye. Immediately after characterisation of estrus expression, FTAIs were carried out. On D20, the females were exposed to bulls at a 1:30 ratio. In order to determine the pregnancy rate after FTAI (PRFTAI), the pregnancy rate after bull exposure (PRbe) and the breeding season pregnancy rate (PREnd) two pregnancy diagnoses were performed. FTAI pregnancy diagnosis was carried out by ultrasonography on day 40 (D40). The gestational diagnosis after bull exposure and the final diagnosis of the breeding season were carried out at the end of the breeding season (D130). Statistical analyses were carried out using R Software, using the STATS package (2023), and a significance level of 5% was considered. The overall estrus detection rate (ODR) was 67.04% and there was no difference between the reproductive categories (heifers= 72.76%; primiparous= 61.59%; multiparous= 65.95%). The overall PRFTAI was 62.11%, also showing no difference between the categories (heifers = 65.36%; primiparous = 62.31%; multiparous = 60.79%). The overall PRbe was 68.17%, with no difference between the reproductive categories (heifers= 66.29%; primiparous= 61.54%; multiparous= 70.15%). The overall FinalPR was 84.99%, with no statistical difference between the reproductive categories (heifers= 88.33%; primiparous= 84.05%; multiparous= 83.89%). With regard to the influence of estrus on the fertility of the heifer category, estrus had a positive impact on PRFTAI (with oestrus= 71.65% vs. without oestrus= 48.57%; P<0.01). However, no statistical difference was observed with regard to PRbe (with estrus= 64.15% vs. without estrus= 69.44%; P=0.61) and the PREnd (with estrus = 89.84% vs. without oestrus =84.28%; P=0.81). For the primiparous females, there was no difference between the experimental groups WITH ESTRUS and WITHOUT ESTRUS for PRFTAI (62.35% vs. 62.26%; P=1.0), PRbe (59.37% vs. 65.00%; P=0,79) and PREnd (83.53% vs. 84.90%; P=0.90). Regarding the multiparous reproductive category, differences were observed (P<0.01) between the experimental groups WITH ESTRUS and WITHOUT ESTRUS regarding PRFTAI (68.20% vs. 46.43%), PRbe (78.98% vs. 60.00%) and the PREnd (88.94% vs. 74.11%). Therefore, estrus detection can be used as a tool to direct matings in synchronisation protocols in heifers and multiparous females, as well as the possibility of being used as an alternative to predict the results of a breeding season in the multiparous category.

Keywords: Bos taurus indicus, beef cattle, pregnancy, natural mounting, breeding season.

## LISTA DE FIGURAS

		Página
Figura 1	Localização da Agropecuária Sossego (seta) e do município de Baixa	
	Grande – BA	24
Figura 2	Índice pluviométrico médio, temperatura máxima e temperatura	
	mínima do município de Baixa Grande- BA, calculados a partir de	
	dados dos últimos 30 anos	24
Figura 3	Representação esquemática do protocolo de sincronização da ovulação	
	para IATF e desenho experimental	25

## LISTA DE TABELAS

		Página
Tabela 1	Taxa de detecção de estro (TDE), taxa de prenhez na IATF (TPIATF),	
	taxa de prenhez no repasse (TPRep) e taxa de prenhez ao final da	
	estação reprodutiva (TPFinal) das fêmeas, estratificadas em diferentes	
	categorias reprodutivas	28
Tabela 2	Taxa de prenhez na IATF (TPIATF), taxa de prenhez no repasse	
	(TPRep) e taxa de prenhez ao final da estação reprodutiva (TPFinal) da	
	categoria novilha, estratificada quanto a presença ou não do	
	estro	28
Tabela 3	Taxa de prenhez na IATF (TPIATF), taxa de prenhez no repasse	
	(TPRep) e taxa de prenhez ao final da estação reprodutiva (TPFinal) da	
	categoria primípara, estratificadas quanto à presença ou não do	
	estro	29
Tabela 4	Taxa de prenhez na IATF (TPIATF), taxa de prenhez no repasse	
	(TPRep) e taxa de prenhez na estação reprodutiva (TPFinal) da	
	categoria multípara, estratificadas quanto a presença ou não do	
	estro	29
Tabela 5	Estatística descritiva da condição de escore corporal das categorias	
	reprodutivas	58
Tabela 6	Comparação escore de condição corporal entre as categorias	
	reprodutivas	58
Tabela 7	Comparação dos dias pós parto entre as categorias	
	reprodutivas	58
Tabela 8	Comparação da taxa de detecção do estro (TDE) das fêmeas,	
	estratificadas em diferentes categorias reprodutivas	58
Tabela 9	Comparação da taxa de prenhez na IATF (TPIATF) das fêmeas,	
	estratificadas em diferentes categorias reprodutivas	59
Tabela 10	Comparação da taxa de prenhez no repasse (TPRep) das fêmeas,	
	estratificadas em diferentes categorias reprodutivas	59
Tabela 11	Comparação taxa de prenhez na estação reprodutiva (TPFinal) das	
	fêmeas, estratificadas em diferentes categorias reprodutivas	59
Tabela 12	Comparação da taxa de prenhez na IATF (TPIATF) da categoria	

	novilha, estratificada quanto a presença ou não do estro	60
Tabela 13	Comparação da taxa de prenhez no repasse (TPRep) da categoria	
	novilha, estratificada quanto a presença ou não do estro	60
Tabela 14	Comparação da taxa de prenhez na estação reprodutiva (TPFinal) da	
	categoria novilha, estratificada quanto a presença ou não do estro	60
Tabela 15	Comparação da taxa de prenhez na IATF (TPIATF) da categoria	
	primípara, estratificada quanto à presença ou não do estro	61
Tabela 16	Comparação da taxa de prenhez no repasse (TPRep) da categoria	
	primípara, estratificada quanto à presença ou não do estro	61
Tabela 17	Comparação da taxa de prenhez na estação reprodutiva (TPFinal) da	
	categoria primípara, estratificada quanto à presença ou não do estro	61
Tabela 18	Comparação da taxa de prenhez na IATF (TPIATF) da categoria	
	multípara, estratificada quanto a presença ou não do estro	62
Tabela 19	- Comparação ad taxa de prenhez no repasse (TPRep) da categoria	
	multípara, estratificada quanto a presença ou não do estro	62
Tabela 20	Comparação da taxa de prenhez na estação reprodutiva (TPFinal) da	
	categoria multípara, estratificada quanto a presença ou não do estro	62

#### LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

% Por cento

17-β E2 17-β estradiol

AGNE Ácidos graxos não esterificados

BE Benzoato de estradiol

BEN Balanço energético negativo

CBRA Colégio Brasileiro de Reprodução Animal

CE Cipionato de estradiol

CEUA Comissão de Ética no Uso de Animais

CL Corpo lúteo

cm<sup>2</sup> Centímetro quadrado

CMS Consumo de matéria seca

CONCEA: Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal

Dia 0 Dia zero
Dia 8 Dia oito

Dia 10 Dia dez

Dia 20 Dia vinte

Dia 40 Dia quarenta

Dia 130 Dia cento e trinta

DPP Dias pós-parto

E2 Estrógeno

ECC Escore de condição corporal

eCG Gonadotrofina coriônica equina

EMEVZ/UFBA Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal da

Bahia

FSH Hormônio Folículo Estimulante

GnRH Hormônio Liberador de Gonadotrofinas

IA Inseminação artificial

IATF Inseminação artificial em tempo fixo

IGF-I: Fator de crescimento semelhante à insulina tipo I

IM Intramuscular

LH Hormônio Luteinizante

mg Miligramas

Mhz Megahertz

ng/mL Nanograma por mililitro

°C Graus Celsius

P4 Progesterona

pg/mL Picograma por mililitro

PGF2α Prostaglandina F2α

PIB Produto Interno Bruto

R\$ Real

TDE Taxa de detecção de estro

TPFinal Taxa de prenhez ao final da estação reprodutiva

TPIATF: Taxa de prenhez na IATF

TPRep Taxa de prenhez no repasse

UI Unidades internacionais

USD Dólar do Estados Unidos

VE Valerato de estradiol

μg Microgramas

 $\chi^2$  Qui-quadrado

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	1
2 OBJETIVOS	3
2.1 GERAL	3
2.2 ESPECÍFICOS	3
3 HIPÓTESE	4
4 REVISÃO DE LITERATURA	5
4.1 CENÁRIO ATUAL DA BOVINOCULTURA DE CORTE NO PIB NACIONAL	5
4.2 FISIOLOGIA DO CICLO ESTRAL	5
4.3 CONTROLE FARMACOLÓGICO DO CICLO ESTRAL	8
4.3.1 Sincronização de uma nova onda de crescimento folicular	9
4.3.2 Luteólise de forma sincronizada	
4.3.3 Indução sincronizada da ovulação	13
4.4 EXPRESSÃO DO ESTRO EM FÊMEAS BOVINAS	15
4.4.1 Características do comportamento de estro	15
4.4.2 Fatores que interferem no comportamento de estro	
4.4.3 Técnicas de detecção do estro	
4.4.4 Expressão do estro em programas de IATF	
5 MATERIAIS E MÉTODOS	
5.1 LOCAL E ÉPOCA DO EXPERIMENTO	
5.2 ANIMAIS	22
5.3 PROTOCOLO DE SINCRONIZAÇÃO	23
5.4 REPASSE COM TOUROS	24
5.5 DIAGNÓSTICO DE GESTAÇÃO	25
5.6 PERDA GESTACIONAL	25
5.7 HOMOGENEIDADE DOS TRATAMENTOS	25
5.8 PROCEDIMENTO ESTATÍSTICO	25
5.8.1 Análise do escore de condição corporal (ECC)	26
5.8.2 Análises dias pós-parto (DPP) por categorias	26
5.8.3 Taxa de detecção do estro (TDE) e taxas de prenhe	
6 RESULTADOS	27
7 DISCUSSÃO	29

10 ANEXOS	57
9 REFERÊNCIAS	37
8 CONCLUSÕES	36
7.4 COMPARAÇÃO INTRACATEGORIA MULTÍPARA	
7.3 COMPARAÇÃO INTRACATEGORIA PRIMÍPARA	
7.2 COMPARAÇÃO INTRACATEGORIA NOVILHA	30
7.1 COMPARAÇÃO ENTRE AS CATEGORIAS ANIMAIS	

### 1 INTRODUÇÃO GERAL

O setor agropecuário, tem importante participação no Produto Interno Bruto (PIB) do Brasil, e a pecuária de corte, por sua vez, acrescenta bilhões de reais ao PIB, demonstrando, assim, um crescimento consolidado ano a ano, mesmo em momentos críticos, como o da pandemia por COVID-19 (CEPEA, 2022). Cabe ressaltar que esse crescimento foi acompanhado por um aumento na produtividade, ou seja, arrobas de carne produzida por hectare por ano associado a uma involução na ocupação da área de pastagem destinada à atividade (ABIEC, 2022).

Entretanto, em virtude da ciclicidade da pecuária de corte, evidenciada pela alta retenção de fêmeas em 2021 e início de 2022, vive-se em um momento de "baixa no ciclo pecuário". Nestes períodos, diante da diminuição da margem de lucro, é de grande importância rever os planejamentos e diminuir ao máximo as perdas (IBGE, 2023). Dessa forma, nos sistemas modernos de produção, a utilização de biotecnologias reprodutivas tornase primordial para maximizar a eficiência produtiva do rebanho, proporcionando, assim, o desenvolvimento de uma empresa pecuária economicamente sólida. Dentre tais técnicas de reprodução assistida, destaca-se a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) (TORRES-JÚNIOR et al., 2014).

Diante deste cenário, faz-se necessário compreender os mecanismos que podem incrementar a fertilidade dos programas de IATF (BARUSELLI et al., 2019). Inúmeras pesquisas observaram maior fertilidade nas fêmeas que demonstraram comportamento de estro entre a remoção do implante de progesterona (P4) e a IA propriamente dita, sugerindo que a avaliação da expressão do estro constitui importante fator para direcionar acasalamentos em vacas submetidas a programas de IATF (COLAZO et al., 2018; COOKE et al., 2019; MADUREIRA et al., 2019; ALVES et al., 2021; PERREIRA et al., 2023). Ferraz et al. (2017) avaliando o efeito da expressão do estro sobre a fertilidade de fêmeas Nelore, validaram o bastão marcador como uma ferramenta prática, acessível e eficaz para detecção do estro, substituindo métodos caros e de difícil utilização em bovinos de corte.

Alguns estudos indicam que fêmeas com comportamento de estro entre a remoção do dispositivo de P4 e da IATF, propriamente dita, apresentam maior diâmetro do folículo ovulatório, e elevado níveis de E2 (PERRY et al., 2007; PERRY et al., 2014; NOGUEIRA et al., 2019; PFEIFER et al., 2020). Nesse contexto, o aumento do E2 tem sido correlacionado

com um incremento na vascularização folicular, fundamental para o fornecimento de suprimento adequado de metabólitos que culminam com a maturação e ruptura folicular (PUGLIESI et al. 2017). Assim, alguns efeitos da expressão do estro são manifestados no período peri-ovulatório, enquanto outros são exibidos durante a fase luteal. A soma destas ações, possivelmente, proporciona um ambiente endócrino favorável ao estabelecimento da gestação na IATF (COOKE et al., 2019).

No entanto, a taxa de prenhez ao final da estação reprodutiva não se limita apenas à fertilidade na IATF em sistemas que associam a IATF com a monta natural. Contudo, há uma escassez de estudos que busquem entender os mecanismos que venham a influenciar, não só na prenhez da IATF, como também nos ciclos futuros das fêmeas que não ficam gestante na IA, sendo de extrema importância para a obtenção de bons resultados ao final da estação reprodutiva.

Assim, diante da possibilidade de utilização da expressão do estro como ferramenta para direcionar acasalamentos e para predizer os índices de concepção, atrelado à escassez de trabalhos que avaliem a expressão do estro, não só de forma pontual na IATF, como também, a longo prazo, ao longo da estação reprodutiva, o objetivo do presente trabalho foi caracterizar a expressão do estro, assim como o impacto do estro sobre a fertilidade ao longo da estação reprodutiva em distintas categorias de fêmeas zebuínas.

#### 2 OBJETIVOS

#### 2.1 GERAL

Caracterizar a expressão do estro, assim como o impacto do estro sobre a fertilidade ao longo da estação reprodutiva em fêmeas zebuínas de distintas categorias reprodutivas sincronizadas para IATF.

#### 2.2 ESPECÍFICOS

- Quantificar a porcentagem de expressão do estro (taxa de detecção do estro) de fêmeas zebuínas de diferentes categorias reprodutivas submetidas à IATF;
- Mensurar o impacto do estro sobre a fertilidade de fêmeas zebuínas de diferentes categorias reprodutivas submetidas à IATF;
- Dimensionar o impacto do estro em um protocolo de IATF sobre a fertilidade de fêmeas zebuínas de diferentes categorias reprodutivas submetidas ao repasse com touros subsequente a IATF;
- Estimar o impacto do estro durante um protocolo de IATF sobre a fertilidade de fêmeas zebuínas de diferentes categorias reprodutivas ao final da estação reprodutiva;

### 3 HIPÓTESE

Ao realizar esse trabalho, hipotetizou-se que a expressão do estro entre a retirada do dispositivo intravaginal de liberação de P4 e a IATF, propriamente dita, impactaria positivamente sobre a fertilidade de distintas categorias de fêmeas zebuínas ao longo da estação reprodutiva.

#### 4 REVISÃO DE LITERATURA

#### 4.1 CENÁRIO ATUAL DA BOVINOCULTURA DE CORTE NO PIB NACIONAL

O sistema agroindustrial da carne bovina movimentou, em 2022, cerca de um trilhão de reais. Dentre as divisões da cadeia de produção e comercializado de carne, a pecuária apresentou um faturamento de 241,38 bilhões de reais. Em dólares, o PIB total da carne bovina foi de USD 198,12 bilhões (ABIEC, 2022).

Nos últimos anos, o faturamento total tem seguido em constante crescimento, registrando, em 10 anos, um aumento expressivo de 187%. O PIB do sistema agroindustrial da carne bovina representou 41,6% do PIB total do agronegócio em 2022, que foi de R\$2,5 trilhões. Já considerando toda a riqueza gerada pelo Brasil, mensurada em R\$ 9,9 trilhões no ano de 2022, a representatividade do PIB da pecuária chega a expressivos 10%, sendo essa, a maior participação do setor no PIB do Brasil já observada (ABIEC, 2023).

Os números registrados no último ano são em decorrência de um trabalho de constante e eficaz melhoria na tríade nutrição de precisão, melhoramento genético e sanidade (TARAZONA et al., 2020). Nesse contexto, em 2022, apesar do crescimento do rebanho em cerca de 3,3%, houve uma redução da área de pastagens em 5,7% para aproximadamente 154 milhões de hectares, ou seja, tem se aumentado a produção com a redução das áreas de pastagem (CEPEA, 2022; IBGE, 2023).

Dessa forma, o Brasil tem um importante papel na segurança alimentar mundial, garantido carne bovina de qualidade e competitiva produzida com os mais rigorosos padrões sanitários para todo o mundo, levando em consideração o viés da sustentabilidade social, econômica e ambiental.

#### 4.2 FISIOLOGIA DO CICLO ESTRAL

A fisiologia do ciclo estral é regulada por mecanismos endócrinos e neuroendócrinos, em especial, por meio dos hormônios secretados pelo hipotálamo, hipófise, gônadas e útero (MACMILLAN e BURKE, 1996; FERREIRA, 2010).

As fêmeas bovinas são classificadas como poliéstricas anuais, dado que apresentam estro durante todo ano (HAFEZ; HAFEZ, 2004). 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 desenvolvem durante o mesmo (SIROIES e FORTUNE, 1988; ALVES et

al., 2002). Ainda nesse contexto, Ginther et al. (1989) verificaram uma correlação positiva entre o número de ondas foliculares e a extensão do ciclo estral, uma vez que as fêmeas bovinas com duas e três ondas foliculares apresentavam 20,4 e 22,8 dias de duração do ciclo, respectivamente.

O ciclo estral pode ser dividido em duas fases distintas, a fase folicular e fase luteal, de acordo com a estrutura dominante que se encontra no ovário (FORDE et al., 2011) A fase folicular ou estrogênica é caracterizada por altas concentrações de estrógeno (E2), iniciando com a lise do corpo lúteo (CL) desencadeada pela ação da prostaglandina F2α (PGF2α) e cessando no momento da ovulação, o que compreende, em média, do 17° ao 21° dia do ciclo estral. Esta fase é constituída pelos estágios de proestro e estro. O proestro é o período que se inicia após a regressão do CL e termina com o aparecimento do estro (SENGER, 2003). O estro é um complexo de sinais fisiológicos e comportamentais, caracterizado, principalmente, pela receptividade sexual (GALINA e ORIHUELA, 2007; PETER et al., 2009).

A fase luteal ou progesterônica é a etapa mais longa do ciclo, sendo marcada por alta concentração sanguínea de progesterona (P4). Esta fase inicia no momento da ovulação, até a luteólise, ocorrendo, aproximadamente, no 16º dia do ciclo estral, e é constituída pelos estágios de metaestro e diestro (SENGER, 2003). O metaestro é o período pós-ovulatório em que o CL inicia o seu desenvolvimento e apresenta duração, média, de 2 a 3 dias e, por fim, o diestro que é o período de atividade luteínica madura, com início cerca de 5 dias após a ovulação e termina com a regressão do CL (REECE, 1996).

Para manter uma constante ciclicidade, ou seja, passar por todos os eventos que compõem o ciclo estral, é necessário 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 hipotalâmico-hipofisário-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 portahipotalâmico-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).

Desta forma, a síntese e a secreção das gonadotrofinas estão sob o comando do GnRH. Além disso, podem ser moduladas pela ação direta de peptídeos e esteroides gonadais (MORAES et al., 2008). O FSH e o LH, secretados pela hipófise, atuando sobre as células da granulosa e sobre as células da teca, respectivamente, promovem o crescimento dos folículos ovarianos. Além do mais, após a mudança da dependência de gonadotrofina, o LH induz a maturação e a ovulação dos folículos, além de luteinização das células da teca e da granulosa com o desenvolvimento do CL (GRUNERT e GREGORY, 1989).

Após liberadas na circulação sanguínea, as gonadotrofinas chegam até o ovário, estimulando a gametogênese e a produção dos hormônios esteroides. O ovário, por sua vez, participa de forma ativa, ao desenvolver glândulas acessórias transitórias: o folículo, que produz o E2 e a inibina e, o CL, principal produtor de P4 nos bovinos (SENGER, 2003). Finalizando a cascata, o endométrio atua por meio da produção e liberação da PGF2α (TREVISOL et al., 2013).

Sendo assim, logo após a ovulação, há uma reorganização das células da granulosa e da teca, formando um CL capaz de produzir altas concentrações de P4 a partir do terceiro ou quarto dia (FIELDS e FILEDS, 1996). Após o início do estro, e consequente pico de LH, temse uma queda drástica de E2 e inibina. Deste modo, o FSH, que estava sendo regulado negativamente por esses hormônios, passa a ser liberado de forma significante na circulação, levando a emergência da primeira onda de desenvolvimento folicular (ADAMS et al, 1992).

Estes folículos, continuam a crescer sob estímulo do FSH até a fase de desvio, quando atingem, aproximadamente, um diâmetro de 6 a 7 mm em fêmeas zebuínas. Neste momento, os níveis de FSH começam a diminuir devido à retroalimentação negativa do E2 e da inibina, e ocorre a divergência no crescimento folicular, onde apenas alguns folículos continuam o crescimento, apesar da diminuição dos níveis de FSH (MIHM et al., 2002). Após a fase de desvio, tem-se a dominância folicular, quando, normalmente, apenas um único folículo tornase dominante, ao adquirir diâmetro aproximado de 8,5 mm em animais taurinos e 7,2 mm em animais zebuínos. 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 à queda nos níveis de FSH e, consequentemente, atresia dos folículos subordinados (IRELAND et al, 2001). Entretanto, devido à presença do CL 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 E2 e inibina pelo folículo dominante que entrou em regressão, tem-se, novamente, a liberação de FSH pela hipófise, promovendo, desta forma, a emergência de uma nova onda folicular. Esse fenômeno ocorre por volta do décimo dia do 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 PGF2α, causando a luteólise (TREVISOL et al., 2013). Neste momento, com baixa concentração circulante de P4, os pulsos de liberação do LH adotam um padrão de liberação de alta frequência e baixa amplitude, o que promove o crescimento e maturação do folículo dominante, agora denominado de pré-ovulatorio (MIHM et al., 2002). O folículo pré-ovulatório possui diâmetro de aproximadamente 11 a 14 mm, produz E2 suficiente para induzir o comportamento de estro e, posteriormente, estimular os centros controladores da onda pré-ovulatória no hipotálamo, possibilitando um pico de GnRH seguido de LH, e, assim, promover a ovulação (SARTORI et al., 2010; FORDE et al, 2011).

#### 4.3 CONTROLE FARMACOLÓGICO DO CICLO ESTRAL

A compreensão da dinâmica folicular ovariana permitiu o desenvolvimento de diversos protocolos farmacológicos capazes de induzir e sincronizar a ovulação (BARROS e ENERO, 2004). Segundo Ribeiro Filho (2001), os protocolos de sincronização da ovulação, visando a realização 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.

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

Inicialmente, os tratamentos visando o controle do ciclo estral, concentraram-se sobre a sincronização do comportamento do estro como base para inseminação. Desse modo, os primeiros fármacos utilizados com essa finalidade foram progestágenos sintéticos empregados com o objetivo de prolongar o período de diestro, de maneira que a supressão do tratamento levaria a sincronização do comportamento do estro (MACMILLAN, 2010).

Entretanto, em vista dos baixos índices reprodutivos proporcionados por esses protocolos, pesquisadores buscaram novas estratégias para os programas de sincronização existentes. Nesse sentindo, a grande evolução dos protocolos de sincronização iniciou em 1971 quando se identificou o decapeptídeo GnRH e sua ação farmacológica em induzir o pico de LH e a ovulação (MAPLETOFT et al., 2009). Na década de 90, com os avanços da ultrassonografia e a possibilidade de sua utilização na reprodução animal, houve uma expansão dos conhecimentos dos protocolos de sincronização por meio do estudo da dinâmica folicular ovariana (MACMILLAN, 2010).

Dessa forma, diversas pesquisas foram conduzidas objetivando desenvolver protocolos que empregassem GnRH e PGF2α na sincronização da emergência folicular (PURSLEY, MEE e WILTBANK, 1995; TWAGIRAMUNGU, GUILBAULT e DUFFOUR, 1995). Nesse cenário, o primeiro protocolo que realmente possibilitou o uso da IATF obtendo satisfatória taxa de prenhez e eliminou a necessidade da observação da expressão do estro, foi o Ovsynch. Esse protocolo consistia em uma aplicação de GnRH no início da sincronização, seguida da administração de PGF2α sete dias após e, em 48 horas, uma segunda aplicação de GnRH (PURSEY et al. 1995).

Pursley et al. (1995) utilizaram o protocolo Ovsynch para sincronização da emergência da onda em vacas de leite e observaram um intervalo entre a primeira aplicação do GnRH e a emergência da nova onda de, em média, 2,1±0,31 dias. Martinez et al. (1999) avaliaram a dinâmica folicular em novilhas tratadas com GnRH e observaram que a emergência somente acontecia quando ocorria a ovulação em resposta ao tratamento.

O mecanismo da emergência de uma nova onda folicular a partir da aplicação de GnRH é baseado na indução da liberação de LH, seguido da ovulação com uma consequente liberação de FSH e emergência de uma nova população folicular entre 2 e 3 dias (MARTINEZ et al., 2000). Dessa forma, o sucesso do tratamento depende da presença de folículos que apresentem receptores de LH nas células da granulosa. Esta capacidade só é adquirida em zebuínos e taurinos, respectivamente, quando os folículos apresentam um

diâmetro superior a 7,2 e 10 mm (SARTORI et al., 2001; GIMENES et al., 2008; SARTORI et al., 2010; FORDE et al, 2011; COLAZO et al., 2015).

Assim, a fase do ciclo estral, na qual o animal está, é um dos fatores cruciais para uma adequada resposta à primeira aplicação de GnRH (LUCY et al., 2004). Segundo Vasconcelos et al. (1999) e Moreira et al. (2000), o melhor momento para se induzir o recrutamento de uma nova onda por meio da aplicação do GnRH, está nos dias 5 e 12 do ciclo estral.

O tratamento de eleição na América do Sul, para induzir a emergência de uma nova onda folicular em programas de IATF consiste na associação entre P4 e o E2 (WILTBANK e PURSLEY, 2014). Estudos desenvolvidos por Madureira et al. (2020a) e Madureira et al. (2020b), compararam protocolos a base de GnRH com aqueles a base de P4 associado ao E2 em fêmeas zebuínas das categorias nulíparas e multíparas, e demostraram que ambos os protocolos obtiveram sucesso em sincronizar a emergência da onda folicular.

Vários estudos constataram que a associação de P4 e E2 induz a atresia folicular seguida da emergência de uma nova população de folículos (BÓ et al., 1994; 2002; 2003). O E2 atua inibindo a liberação de FSH levando à regressão dos folículos pequenos (BÓ et al., 1991), enquanto a P4 exógena controla o desenvolvimento dos folículos maiores, por meio da supressão ao aumento de frequência de liberação de LH, levando à atresia folicular (BÓ et al., 1994; 2002; 2003).

Nesse contexto, Bó et al. (1995) em seu estudo com novilhas taurinas nas fases de crescimento inicial folicular (Dia 3), estático (Dia 6) e terminal (Dia 9), avaliaram o efeito da P4 concomitante ao E2 em protocolos de sincronização. Estes autores verificaram que a interação P4/E2 promoveu a emergência de uma nova onda de desenvolvimento folicular, em média, três a cinco dias após o tratamento, independente do estágio do ciclo estral em que o mesmo foi iniciado (BÓ et al., 1995). Esta estratégia possui uma eficiência de induzir uma nova onda em 94% dos animais tratados (BÓ et al., 1994).

O sucesso da sincronização da emergência folicular depende do éster de E2 empregado, em decorrência à sua metabolização e dosagem (BÓ et al., 2003). Uma série de experimentos buscou avaliar o efeito de diferentes ésteres de E2 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 1 mg de cipionato de E2 (CE) associado a um dispositivo intravaginal de liberação de P4, constataram uma limitada sincronia no surgimento da nova onda folicular (3,4±2,1 dias). Corroborando com esses achados, Colazo et al. (2003) ao estudarem o efeito de 5 mg de 17β-E2 ou 1 mg de CE,

concluíram que a meia vida prolongada do CE resultava em uma menor sincronia da onda, (4,1±0,4 dias), em relação a utilização do 17β-E2 (3,3±0,1 dias).

Nesse sentido, Rhinehart et al. (2002) realizaram um experimento para comparar a eficácia do  $17\beta$ -E2, do benzoato de E2 (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 mg dos E2 (considerado D0) para classificá-los nas seguintes fases: em crescimento, estático ou em regressão. Disso, 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  $\beta$ -E2, e em 100% para aquelas tratadas com BE. O número de dias para emergência de nova onda folicular (presença de vários folículos com 5 mm) tendeu a ser antecipado nas novilhas tratadas com 17  $\beta$ -E2 (3,0±0,22 dias) e BE (3,2±0,2 dias), comparado àquelas que receberam o CE (4,0 dias).

Em complementação a estes estudos, Sá Filho et al. (2011), trabalhando com sincronização de novilhas zebuínas, provaram que animais tratados com 2 mg de valerato de E2 (VE) apresentaram um maior intervalo para emergência da onda que aqueles animais submetidos ao tratamento com 2 mg de BE concomitante à inserção do dispositivo de P4. Os autores atribuem esse achado à metabolização mais lenta por parte do VE além do fármaco ainda promover uma grande variabilidade no momento em que se tem início de uma nova onda.

Segundo Buratini et al. (2000), a emergência da onda folicular também pode ser induzida por processos mecânicos conseguidos por meio da remoção do folículo dominante. Esses autores utilizaram a aspiração folicular como método de sincronização da onda folicular, realizada cinco dias após a ovulação em novilhas Nelore e verificaram a emergência de uma nova onda 1,9 ±0,1 dias após o tratamento. No entanto, Bó, Baruselli e Martinez (2003), afirmam que, apesar da eficiência na sincronização da emergência da onda, essa técnica é de difícil aplicabilidade, além de apresentar um custo elevado em rebanhos comerciais bovinos.

Dessa forma, a associação de 2 mg de BE associado ao dispositivo intravaginal de P4 tem se mostrado o método mais eficaz para sincronização da onda folicular em fêmeas zebuínas em um momento aleatório do ciclo estral (CACCIA e BÓ, 1998; BÓ et al., 2002; VASCONCELOS et al., 2011).

#### 4.3.2 Luteólise de forma sincronizada

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 observado 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 vasoconstricção da prostaglandina que estava presente no tecido uterino, Pharriss e Wyngarden (1969) propuseram-na como um agente potencialmente envolvido na regressão do corpo lúteo.

Desta forma, a PGF2α se consolidou como o tratamento mais empregado na sincronização de estro em bovinos (ODDE, 1990). No entanto, existem algumas limitações em seu emprego. A primeira limitação é a não resposta ao tratamento hormonal do corpo lúteo em estágio inicial de desenvolvimento. Essa limitação pode ser contornada com a aplicação de duas doses de prostaglandina com um intervalo entre as aplicações de 10 a 14 dias (WILTBANK, 2000).

Outra limitação é a grande variabilidade no período de manifestação do estro em fêmeas submetidas ao tratamento com PGF2α. Baruselli et al. (2000) compararam a resposta ovulatória entre fêmeas submetidas a aplicação de PGF2α em relação àquelas submetidas ao *Ovsynch*, confirmando que somente a PGF2α não era suficiente para sincronizar a ovulação, uma vez que ocorreram de forma dispersa, variando de 42 a 102 horas após o tratamento, enquanto que com o *Ovsynch*, 80% das ovulações ocorreram em média 72 horas após o tratamento luteolítico. Ainda nesse contexto, estes autores também observaram que apenas 54% dos animais tratados com uma única dose de PGF2α ovularam, enquanto que após o protocolo Ovsynch houve uma resposta de 74,3% dos animais tratados. Estes achados podem ser justificados pela ação limitada da PGF2α em animais portadores de CL responsivo.

Existem dois análogos da PGF2α no mercado, o dinoprost trometamina e o cloprostenol sódico (WILTBANK et al., 2014). Os dois fármacos apresentam distinções na farmacocinética. Martins et al. (2011) verificaram a existência de diferenças discretas no mecanismo luteolítico promovido pelos mesmos. O cloprostenol sódico proporciona um rápido decréscimo da P4 nas primeiras 12 horas após o tratamento em relação ao dinoprost trometamina. Entretanto, apesar destas diferenças iniciais, ambas as drogas foram eficientes em proporcionar uma luteólise completa, em média, 29 horas após a administração (MARTINS et al., 2011).

Dessa forma, foi proposto por Bó et al. (2002) e Baruselli et al. (2006) a inserção da PGF2α nos protocolos de IATF baseados na associação de P4 e E2. Assim, o tratamento padrão consiste na inserção de um dispositivo impregnado de P4 associado à administração de E2 (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 estádio pré-ovulatório. Devido às limitações de alguns ésteres de E2, em promover a regressão do CL, é utilizado a prostaglandina junto com a remoção do dispositivo de P4 no dia 7, 8 ou 9, para assegurar a luteólise, caso haja um CL presente e finalizar a fase luteínica de forma sincronizada.

Ainda nesse contexto, Noronha et al. (2020), em seu estudo com fêmeas Nelore acíclicas, avaliaram o impacto da aplicação de uma dose adicional de PGF2α em um protocolo de IATF a base de P4 e E2, observando um incremento na taxa de sincronização e na taxa de prenhez (81,4% vs. 72,1%; [P= 0,01] e 55,5% vs. 45,6%; [P = 0,04], respectivamente) no grupo que recebeu a dupla dose de PGF2α. Os resultados deste estudo, sugerem que a PGF2α atua além da luteólise nos protocolos de sincronização da ovulação a base de E2/P4, confirmando a importância da utilização da mesma, independente da presença ou não do CL durante o protocolo de IATF.

#### 4.3.3 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., 2009). Desta maneira, pensando em sincronizar os eventos envolvidos com os mecanismos ovulatórios, são empregados indutores da ovulação.

O estímulo ovulatório pode ser alcançado por meio de hormônios, como o LH e a gonodotrofina coriônica humana (hCG), que atuam diretamente nos receptores de LH do folículo pré-ovulatório, ou por uma ação indireta por meio do GnRH e diferentes ésteres de E2, os quais estimulam um aumento na pulsatilidade e o pico de LH, levando ao crescimento final e a ovulação de folículos responsivos de LH (MENEGHETTI et al. 2009; BARUSELLI et al., 2012).

Assim, as propriedades farmacológicas e os mecanismos de ação dos indutores determinam o momento de aplicação dos mesmos (CAVALIERI et al., 2006; FERREIRA, 2010). Segundo Silva et al. (2023), o GnRH é um fármaco que atua diretamente na hipófise,

estimulando o pico de LH, sugerindo, que sua aplicação seja realizada mais tardiamente nos protocolos ou até mesmo no momento da IATF propriamente dita. Enquanto isso, o E2 e seus ésteres atuam por meio de uma cascata hipotalâmica-hipofisária, estimulando o aumento da pulsatilidade de GnRH e, consequentemente, o pico de LH, exigindo um maior período para realizar sua ação. Dessa forma, é necessária uma precocidade de seus tratamentos no protocolo, sendo realizado no momento do término da fase luteínica ou um dia após o mesmo.

Pursley et al. (1995) e Barros et al. (2000), em suas pesquisas com protocolos a base de GnRH em vacas taurinas e zebuínas, respectivamente, encontraram um intervalo entre a administração do GnRH e a ovulação de, em média, 24 a 32 horas após o uso do indutor. Posteriormente, seus resultados foram confirmados por Bodensteiner et al. (1996) (32,0±0,0), e Fernandes et al. (2001) (32,8±1,6 h). Baruselli et al. (2003) encontraram valores semelhantes aos autores acima (28,5±9,6 h), entretanto, o grupo que não recebeu GnRH como indutor apresentou ovulações mais dispersas (24,6±21,8h), reforçando a necessidade de agentes que sincronizem as ovulações em programas de 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. Atualmente, seu uso tem sido frequente nos programas reprodutivos. Nesse sentido, os E2 mais utilizados como indutores da ovulação são o 17β-E2, o BE, o CE e o VE (SOUZA et al., 2005).

Fernandes et al. (2001) compararam o uso do BE em substituição à segunda aplicação de GnRH em um protocolo *Ovsynch* e observaram taxa de concepção similares, permitindo o uso do mesmo como uma alternativa para minimizar os custos dos protocolos. Entretanto, o intervalo entre a aplicação do fármaco à inseminação deve ser ajustado para que a mesma seja realizada mais tardiamente em animais tratados com BE em relação ao GnRH (BARROS et al., 2000; PANCARCI et al. 2002).

Seguindo essa linha de pesquisa, Silva et al. (2023) testaram o uso do CE como indutor da ovulação em substituição ao GnRH. Estes autores verificaram taxas de ovulação semelhantes entre ambos os indutores e índices de concepção adequados quando realizaram as inseminações 48 horas após a aplicação do medicamento.

Destarte, visando reduzir o número de manejos e aumentar a eficiência dos protocolos de sincronização, estudos foram realizados por diversos grupos de pesquisa com o objetivo de

possibilitar a utilização do CE como indutor da ovulação (MARQUES et al., 2003; COLAZO, KASTELIC e MAPLETOFT, 2003; TORRES JUNIOR et al., 2014).

Sales et al. (2012) avaliaram o uso do BE em relação ao CE em um programa de IATF em vacas lactantes, constatando que o BE induz o pico de LH com uma antecedência de 30 horas em relação ao CE. Apesar das distintas características na farmacocinética entre o BE e o CE, os autores não encontraram diferenças no que se refere às características foliculares e índices de fertilidade, quando o CE foi empregado no momento da remoção dos implantes de P4 e o BE 24 horas após. Resultados equivalentes foram esboçados por Andrade et al. (2012) e França et al. (2015) que trabalharam, simultaneamente, com fêmeas lactantes zebuínas e mestiças, comparando o uso de ambos os fármacos em protocolos de IATF no estado da Bahia.

Em vista dessa sequência de estudos, tanto o GnRH como os ésteres de E2 podem ser empregados com sucesso desde que ajustado o momento para sincronizar a ovulação. Entretanto, o uso dos ésteres de E2 permite reduzir os custos e entre estes se destaca o CE por proporcionar um menor número de manejos, simplificando o programa de IATF (MENEGHETTI et al., 2009; VASCONCELOS et al., 2011; BARUSELLI et al., 2012).

Madureira et al. (2020a) avaliou o impacto da associação do CE com GnRH no momento da indução da ovulação sobre a fertilidade de fêmeas de corte *Bos taurus indicus* submetidas a um protocolo de IATF. Os autores observaram um sinergismo entre os fármacos para os animais que não apresentaram estro sugerindo um aumento na taxa de ovulação além do tratamento com GnRH poder prevenir um pico tardio de LH. Logo, a associação de diferentes indutores pode ser usada pensando em incrementar a fertilidade dos protocolos de IATF (CEDEÑO et al., 2021).

#### 4.4 EXPRESSÃO DO ESTRO EM FÊMEAS BOVINAS

#### 4.4.1 Características do comportamento de estro

O início do estro ocorre de forma simultânea a elevação na concentração de E2 (ALLRICH, 1994; LYIMO et al., 2000; AUGIER et al., 2015; MADUREIRA et al., 2015). Após o processo da luteólise, a P4 circulante alcança concentrações basais, possibilitando um aumento da pulsatilidade de LH, com consequente aumento do crescimento folicular e da produção de E2. A partir do momento em que o E2 circulante atinge determinada concentração, são desencadeadas duas vias de sinalização em áreas específicas do cérebro da

fêmea. A primeira via, o E2 estimula centros comportamentais específicos no cérebro bovino, provocando a resposta comportamental, ou seja, o estro (MOENTER; CARATY; KARSCH, 1990). Já na segunda, o E2 estimula o desencadeamento do pico pré-ovulatório de GnRH/LH. O pico de LH, ou onda pré-ovulatória, é resultado do aumento da frequência e dominuição da amplitude de liberação dessa gonadotrofina, o que é suficiente para estimular a maturação final do folículo dominante e a ovulação (FORDE et al., 2011; REAMES et al., 2011).

O estro é o período de receptividade sexual das fêmeas, em que a aceitação da monta é o sinal mais evidente (BARROS, FIGUEREDO e PINHEIRO, 1995). Além disso, a fêmea bovina apresenta algumas alterações comportamentais e fisiológicas que caracterizam o estro, como tentativa de monta em outras fêmeas, mugidos frequentes, inquietação, cheirar e lamber a vulva de outra fêmea, apresenta a vulva edemaciada, aumento na frequência de micção, descarga de muco vaginal, além da diminuição do consumo de matéria seca (CMS) e produção de leite (ORIHUELA, GALINA, DUCHATEAU, 1989; SOLANO et al. 2005; LAYEK et al. 2011).

A aceitação da monta é o principal sinal de estro e o melhor indicador que vacas e novilhas apresentam receptividade sexual (GALINA, CALDERÓN e MCCLOSKEY, 1982). Lamothe-Zavaleta et al. (1991) estudaram o comportamento reprodutivo do gado zebuíno e observaram diversos sinais de atividade sexual que caracterizaram uma fêmea no proestro ou estro. Esses autores verificaram que a fêmea ao permitir ser montada por um macho ou outra fêmea foi o sinal presente apenas quando a fêmea se encontrava em estro.

O estro é caracterizado, também, pela sua duração e pela atividade ou intensidade de monta, estando relacionado à concentração circulante de E2 e P4 (HURNIK, 1975; ALLRICH, 1994; LYIMO et al., 2000). Nesse contexto, a intensidade e a duração do comportamento de estro, durante o ciclo estral, são variáveis entre os indivíduos (ORIHUELA, 2000). Existem diferenças marcantes na duração do estro entre fêmeas *Bos taurus taurus* e *Bos taurus indicus* (GALINA, ORIHUELA e RUBIO, 1996; LANDAETA—HERNÀNDEZ et al., 2002; MIZUTA, 2003). O comportamento de estro em fêmeas *Bos taurus taurus* dura, em média, 17,6±0,8 horas variando de 8,4 a 36,3 horas (WHITE et al., 2002), enquanto que em *Bos taurus indicus* a média de duração do estro é de 10,3±4,5 horas, variando de 1 a 20,9 horas (LAMOTHE–ZAVALETA et al., 1991; BÓ; BARUSELLI; MARTINEZ, 2003).

Pinheiro et al. (1998) estudaram o comportamento do estro em fêmeas Nelore e verificaram uma média para duração do estro de 10,9±1,4 horas. Layek et al. (2011)

estudaram o comportamento de estro em vacas *Bos taurus indicus* e encontraram uma média para a duração do estro de 14,53±0,80 horas. Resultados inferiores foram encontrados por Plasse et al. (1970), trabalhando com novilhas Brahman, os quais verificaram duração do estro média de 6,73±0,78 horas, com intervalo de 2,0 a 22,0 horas. A variação nos resultados da duração do estro pode estar relacionada a fatores como ambiente, raça e comportamento das fêmeas (RAE et al., 1999).

Segundo Mizuta (2003), não há variação entre os grupamentos raciais, ou seja, *Bos taurus indicus* e *Bos taurus taurus* em relação ao intervalo início do estro-ovulação. Layek et al. (2011), em seu estudo sobre o comportamento do estro e a sua relação com a ovulação em fêmeas zebuínas, encontraram intervalo entre o início do estro e a ovulação de 31,96±1,13 horas. Intervalo inferiores foram observados por Pinheiro et al. (1998), que observaram em fêmeas Nelore um intervalo de 26,6±0,44 horas entre o início do estro a ovulação. Cavalieri et al. (1997) encontraram em vacas Brahman intervalo semelhante entre o estro e a ovulação de 26,0±0,96 horas. Diferenças no intervalo do início do estro à ovulação entre vacas e novilhas foram observadas por Saumande e Humblot (2005), trabalhando com fêmeas *Bos taurus taurus*. Esses autores observaram que a duração do intervalo entre o início do estro e o pico de LH foi mais longa em novilhas do que em vacas, e a variação do intervalo foi maior em vacas em comparação as novilhas.

#### 4.4.2 Fatores que interferem no comportamento de estro

A expressão do estro pode ser influenciada por diversos fatores relacionados à fêmea como raça, anestro pós-parto, número de lactação, produção de leite e tamanho do rebanho (VAN VLIET e VAN EERDENBURG, 1996). Além disso, fatores relacionados ao ambiente, manejo, nutrição e genética, também, desempenham um papel importante na expressão do estro (DE SILVA et al., 1981; MATTONI et al., 1988; ORIHUELA, 2000; LANDAETA-HERNÁNDEZ et al., 2002).

As fêmeas bovinas não apresentam estacionalidade reprodutiva, no entanto, existem variações sazonais na intensidade e duração do estro (LOUREIRO, 2005). White et al. (2002) observaram diferenças na expressão do estro de fêmeas de corte *Bos taurus taurus* durante o verão e o inverno. Estes autores verificaram um efeito da sazonalidade na duração do estro, sendo o estro mais longo no verão em comparação ao inverno, respectivamente 17,6±0,8 e 15,5±0,8 horas.

Loureiro (2005) descreveu que a oscilação na qualidade nutricional nas pastagens varia nas diferentes regiões do país e podem alterar o comportamento do estro. Além disso, diversos autores afirmam que eventos climáticos como chuvas e ventos fortes, além da mudança de pasto ou manutenção desses animais por longo período no curral, pode ter efeito negativo na atividade de monta e comportamento do estro.

Dobson e Smith (2000) relataram que o estresse ambiental ou provocado pelo manejo reduz a concentração de 17β-E2, e afeta a frequência e amplitude de pulsos de LH, atrasando o surgimento do pico pré-ovulatório e desencadeando uma diminuição na expressão do estro. Além disso, há um aumento nas concentrações séricas de cortisol que promovem, ainda, uma diminuição no comportamento do estro (LYIMO et al., 2000).

Além disso, estudos tem demostrado que o número de partos tem influência sobre a expressão e duração do estro em fêmeas leiteira (MADUREIRA et al., 2015; BURNETT et al., 2017 e SILPER et al., 2017). Sartori et al. (2004) compararam novilhas e multíparas da raça Holandês, relataram que os animais em lactação tiveram uma menor concentração de E2 e P4, e as novilhas tiveram menor diâmetro folicular e menor tecido luteal. Entretanto, mesmo apresentando maiores estruturas ovarianas, as concentrações de E2 (7,9 vs 11,3 pg/mL) e P4 (5,6 vs 14,9 ng/ml) foram menores em multíparas. Os autores associaram esses achados ao alto catabolismo hepático de hormônios esteroides em animais com maior CMS que é o caso de uma fêmea de alta produção de leite (SANGSRITAVONG et al., 2002; VASCONCELOS et al., 2003). Em novilhas Nelore submetidas a diferentes níveis de CMS, também houve uma grande diferença na intensidade e duração do estro, onde as novilhas com maior CMS tiveram menor duração e intensidade do estro (BATISTA et al., 2020; CATUSSI et al., 2023).

Orihuela (2000) relata que o status nutricional das fêmeas também pode influenciar na expressão do estro, onde a má nutrição ou a perda de reservas corporais (balanço energético negativo) pode afetar negativamente a expressão do estro. Um balanço energético negativo (BEN) severo leva, potencialmente, ao atraso do retorno do ciclo estral em bovinos e, por consequência, reduz o comportamento de estro, que é dependente do E2 (WATHES et al., 2007 e CHAGAS et al., 2007; CARVALHO et al., 2022). Aungier et al. (2012) relataram que um aumento de 0,25 no escore de condição corporal (ECC) em vacas de leite foi correlacionado, significativamente, com um aumento na expressão do estro antes da ovulação. Vacas, que perderam menos de 100 kg do peso vivo entre duas semanas pré-parto até cinco semanas pós-parto, tiveram maior intensidade de expressão do estro nos dois primeiros eventos de estro pós-parto (BURNETT et al., 2017).

#### 4.4.3 Técnicas de detecção do estro

Diversos métodos foram desenvolvidos com o objetivo de auxiliar na detecção do estro, podendo destacar: a observação visual, uso de rufiões como touros preparados cirurgicamente ou fêmeas androgenizadas (FOOTE, 1974; NIX et al., 1998; NOLASCO et al., 2004), pedômetro, sondas de resistência intravaginal (LEHRER et al., 1992), sistema de detecção de monta por radiotelemetria (HeatWhatch®) (STEVENSON et al., 1996; RORIE et al., 2002), detectores de monta com sensibilidade a pressão como o Kamar® (WILLIAMSON et al., 1972), à base de tinta – tailpaint (ELMORE et al., 1986), o bastão marcador (FERRAZ et al., 2017) e o adesivo marcador (Estrotect®) (RIBEIRO FILHO et al., 2012).

A detecção do estro por observação visual tem sido utilizado por muitas décadas como método na identificação de uma vaca no cio (ORIHUELA et al., 1983; FOOTE, 1994). Esse método requer a observação do rebanho, pelo menos duas vezes ao dia, para obter resultados satisfatórios (RORIE et al., 2002). No entanto, a observação visual apresenta uma taxa de eficiência que varia de 50 a 70% de detecção do estro (LEHRER et al., 1992) sendo, extremamente, dependente da experiencia do observador em reconhecer uma fêmea no estro e do tempo investido na detecção (ROELOFS et al., 2010).

O uso de rufiões auxilia na identificação de fêmeas em estro (NOLASCO et al., 2004). Além disso, pode-se utilizar, também, fêmeas androgenizadas pela aplicação de testosterona para induzir a atividade sexual semelhante ao macho e assim serem utilizadas na detecção do estro (NIX et al., 1998). Esse método apresenta uma eficiência de 84,8%, porém elevado custo devido às aplicações hormonais e estas fêmeas, após esse processo, ficam impossibilitadas de serem utilizadas na reprodução (MACHADO et al., 1998). Além disso, esses animais podem ser equipados com o bastão marcador, que é um equipamento acoplado ao pescoço do macho que irá marcar as fêmeas em estro no momento da monta (HAFEZ e HAFEZ, 2004). Vale salientar que estes métodos são auxiliares na detecção do estro sendo ainda necessário a observação visual (MIZUTA, 2003).

Os sistemas eletrônicos de detecção do estro fornecem informações quanto duração do estro, momento da expressão do estro, frequência de monta e permite, ainda, fazer associações entre estes parâmetros (RAE et al., 1999). Existem dois tipos de monitores de atividade atualmente disponíveis: os pedômetros, que são usualmente utilizados na perna do animal e os acelerômetros, que tem sido utilizado no pescoço, perna ou orelha (SAINT-DIZIER E CHASTANTMAILLARD, 2012). Pedômetros medem o número de passos dados e

acelerômetros medem um movimento tridimensional, estimando a atividade geral do animal (FRICKE et al., 2014b).

Outro método auxiliar de detecção do estro pela visualização dos animais que aceitam a monta consiste no emprego de um adesivo marcados (Estrotect®) fixado próximo a região de transição das vértebras lombos sacrais. Esse adesivo tem a coloração alterada por movimentos de fricção e atrito durante a aceitação da monta apresentando uma eficiência de 74,7% (BARUSELLI et al., 2011) e 92,5% (BONATO et al., 2012).

Os métodos à base de tinta utilizam a técnica de pintar os animais na base da cauda, como o o *tailpaint* (ELMORE et al., 1986), sendo a tinta removida quando a fêmea é montada por outras vacas, esta técnica é de fácil utilização e baixo custo, podendo ser observada uma taxa de detecção de estro entre 80 e 95% (MACMILLAN et al. 1988). No entanto, Fulkerson et al. (1983) observaram taxa de estro de 66% quando utilizaram este método em fêmeas leiteiras.

O bastão marcador (Raidex®) é um método semelhante aos métodos à base de tinta, no qual os animais são marcados com o bastão entre a tuberosidade sacral e a inserção da cauda, sendo a expressão do estro verificada pela remoção da tinta em decorrência do aceite da monta. Ferraz et al. (2017) em estudos analisando a expressão do estro em fêmeas Nelore, validaram o bastão marcador como uma ferramenta prática, acessível e eficaz para detecção de estro, substituindo métodos caros e de difícil utilização em bovinos de corte.

#### 4.4.4 Expressão do estro em programas de IATF

Inúmeras pesquisas observaram uma maior fertilidade nas fêmeas que demonstraram a expressão do estro entre a remoção do implante deP4 e a IA, propriamente dita, sugerindo que a avaliação da expressão do estro constitui um fator primordial para direcionar acasalamentos em vacas submetidas a IATF (SÁ FILHO et al. 2011; THOMAS et al., 2014; RICHARDSON et al., 2016).

Alguns estudos indicam que fêmeas que fêmeas com comportamento de estro antes da IATF apresentam maior diâmetro do folículo ovulatório e elevadas concentrações de E2 (PERRY et al., 2007; PERRY et al., 2014; NOGUEIRA et al., 2019; PFEIFER et al., 2020). Neste contexto, o aumento do E2 tem sido correlacionado com um incremento na vascularização dos folículos pré-ovulatórios, sendo fundamental para fornecer suprimento adequado de metabólitos que culminam com a maturação e ruptura folicular (PUGLIESI et al. 2017). Acosta et al. (2003), verificaram ainda que as elevadas concentrações E2 no estro

estavam relacionadas a funcionalidade folicular, sugerindo a possibilidade de existir uma associação entre a expressão do estro e as características de vascularização folicular avaliadas por ultrassonografia modo doppler.

Seguindo esta linha de pesquisa, o comportamento de estro no programa sincronização tem sido apontado como um fator que pode afetar as características morfofuncionais do corpo lúteo (PEREIRA et al., 2016). Rodrigues et al. (2018) e Nogueira et al. (2019) em experimentos trabalhando com vacas de corte em programas de IATF, demonstraram que as fêmeas que esboçaram estro entre a luteólise e a inseminação apresentaram maiores dimensões luteais e altos níveis séricos de P4. A frente disso, evidências apontaram uma forte interação entre os parâmetros vasculares do corpo lúteo (CL) e as concentrações séricas de progesterona, os quais proporcionaram manutenção e estabelecimento da gestação (HERZOG et a. 2010; HASSAN et al., 2019).

De acordo com estudos desenvolvidos por Hassan et al. (2018), vacas que apresentam uma baixa vascularização luteal durante o diestro, tendem a apresentar baixas concentrações de progesterona e reduzidas taxas de concepção, visto que são necessárias concentrações suficientes de progesterona para a manutenção de condições favoráveis ao desenvolvimento embrionário e estabelecimento da gestação. Deste modo, a mensuração da vascularização nesta estrutura ovariana, pode fornecer importantes informações sobre a função luteal e o índice de fertilidade em fêmeas bovinas (CAUNCE et al., 2019).

Desta forma, alguns efeitos da expressão do estro são manifestados no período periovulatorio, enquanto outros são exibidos durante a fase lútea, a congruência destas ações possivelmente criam um ambiente endócrino favorável a concepção. Experimentos desenvolvidos por Cooke et al. (2019) comprovaram que a junção destes efeitos promoveram condições ideais para o reconhecimento materno da gestação, segundo tais pesquisadores, fêmeas que demonstraram estro antes da IATF, apresentaram um incremento no alongamento embrionário devido a elevada expressão de genes para RNAm relacionados síntese do interferon e da prostaglandina E, os quais constituem os principais fatores responsáveis pela sinalização da gestação para os tecidos maternos, justificando os altos índices fertilidade esboçados pelos animais que expressão estro em programas de sincronização.

# 5 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 5.1 LOCAL E ÉPOCA DO EXPERIMENTO

O estudo foi realizado durante os meses de outubro de 2022 a junho de 2023 em uma fazenda comercial localizada no município de Baixa Grande, Bahia (11°57"44.19"S,'40°14"43.93"O), conforme demostrado na Figura 1. A região apresenta pluviosidade média anual de 700 mm (Figura 2) e possui clima Tropical Semiárido. A propriedade adota um sistema extensivo de criação dos animais em pastagem de *Cenchrus ciliares* (Capim Buffel), com suplementação mineral e água *ad libitum*.

#### 5.2 ANIMAIS

O experimento foi desenvolvido de acordo com os preceitos éticos recomendados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), após a aprovação na Comissão de Ética de Uso de Animais institucional (CEUA – EMEVZ/UFBA, n°24 /2022).

Foram utilizadas, inicialmente, 1.053 fêmeas Nelore (*Bos taurus indicus*) estratificadas nas seguintes categorias: 658 multíparas paridas (idade =  $8,9\pm0,18$  anos; ECC =  $2,8\pm0,01$ ; dias pós-parto = $67,2\pm1,05$ ), 138 primíparas paridas (idade =  $3,3\pm0,04$  anos; ECC = $2,7\pm0,02$ ; dias pós-parto =  $73,7\pm2,32$ ) e 257 novilhas cíclicas (idade =  $2,4\pm0,02$  anos; ECC =  $2,9\pm0,02$ ). O escore de condição corporal (ECC) foi avaliado por um mesmo técnico, previamente treinado, utilizando uma escala de 1 a 5, onde o escore 1 representa um animal extremamente magro e 5 representa um animal com excesso de gordura (AYRES et al., 2009).

Previamente, ao início do experimento, os animais foram submetidos ao exame clínico-ginecológico por meio da ultrassonografia transretal, utilizando um transdutor linear com frequência de 5,0 Mhz (Mindray, DP2200VET, São Paulo, Brasil), sendo considerados aptos a participarem do experimento os animais que, no momento da avaliação, apresentaram ausência de anormalidades do trato reprodutivo e sem histórico de aborto.

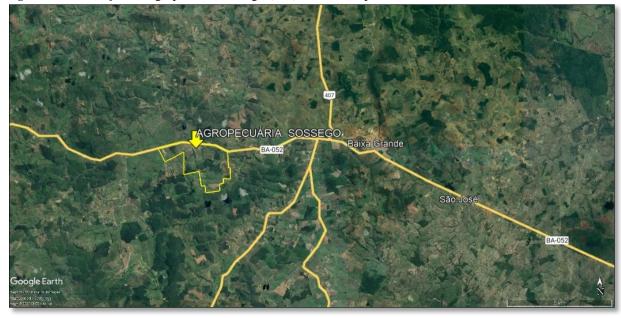
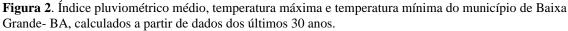
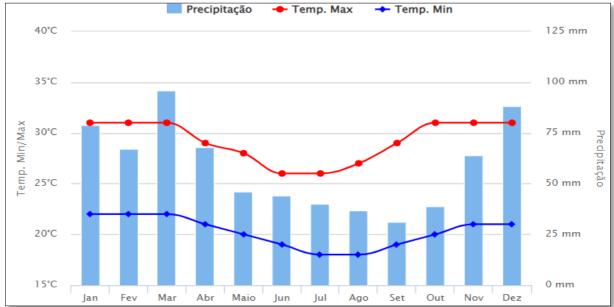


Figura 1- Localização da Agropecuária Sossego (seta) e do município de Baixa Grande – BA

Fonte: Google Earth (2023).





Fonte: Climatempo (2023)

# 5.3 PROTOCOLO DE SINCRONIZAÇÃO

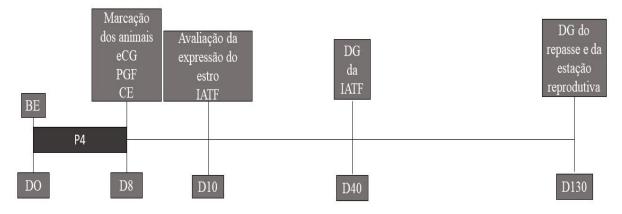
Os animais foram submetidos ao seguinte protocolo de sincronização: em um dia aleatório do ciclo estral, denominado dia 0 (D0), os animais receberam um dispositivo intravaginal de liberação de P4 de 0,5 g (PRIMER Monodose<sup>®</sup>, Agener União, São Paulo, Brasil) associado a 2 mg de BE (Estrogin<sup>®</sup>, Biofarm, São Paulo, Brasil) por via intramuscular

(IM). No dia 8 (D8), foi realizada a remoção dos dispositivos intravaginais de P4 quando aplicou-se 520 μg de cloprostenol sódico (Estron<sup>®</sup>, Agener União, São Paulo, Brasil) IM; 1 mg de CE (Cipiotec<sup>®</sup> Agener União, São Paulo, Brasil) IM e 300 UI de gonadotrofina coriônica equina (Sincro eCG<sup>®</sup> Ourofino, São Paulo, Brasil) IM. Nesse momento, os animais foram marcados com bastão marcador (RAIDEX<sup>®</sup>, GmbH, Dettingen/Erms, Alemanha) entre a tuberosidade sacral e a inserção da cauda para determinação da expressão do estro (Figura 3).

No dia 10 (D10) do protocolo de sincronização, os animais foram caracterizados em dois grupos experimentais de acordo com a expressão do estro verificada pela remoção da tinta do bastão marcador: grupo sem expressão do estro (SEM ESTRO) – permanência da cor ou perda parcial da intensidade da tinta, e grupo com expressão do estro (COM ESTRO) – remoção completa da cor e intensidade da tinta.

Imediatamente, após a caracterização das fêmeas, foram realizadas as IATFs. Para tanto, utilizou-se sêmen criopreservado comercializado de um único touro da raça Nelore que se enquadrava dentro dos padrões mínimos estabelecidos pelo Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (HENRY e NEVES, 2013). No momento da IA, o sêmen foi descongelado a 37°C por 30 segundos e as inseminações foram efetuadas pelo mesmo técnico.

Figura 3. Representação esquemática do protocolo de sincronização da ovulação para IATF e desenho experimental.



D0= dia zero do protocolo de IATF; D8= dia oito; D10= dia dez; D40= dia quarenta; BE= benzoato de estradiol; eCG= Gonadotropina Coriônica equina; PGF= Prostaglandina F2α; CE= cipionato de estradiol; DG=diagnóstico gestacional.

#### 5.4 REPASSE COM TOUROS

Dez dias após a realização do protocolo de IATF, ou seja, no D20 as vacas foram expostas a touros da raça Nelore, na proporção de 1:30, para o repasse até o final da estação

reprodutiva. Todos os touros, previamente à estação reprodutiva, foram submetidos a um exame andrológico e se enquadravam dentro dos padrões mínimos estabelecidos pelo Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (HENRY e NEVES, 2013).

### 5.5 DIAGNÓSTICO DE GESTAÇÃO

Para a determinação da taxa de prenhez da IATF (TPIATF), a taxa de prenhez do repasse (TPRep) e a taxa de prenhez ao final da estação reprodutiva (TPFinal), foram realizados dois diagnósticos gestacionais. O diagnóstico de gestação da IATF foi realizado por exame ultrassonográfico transretal utilizando um transdutor linear com frequência de 5,0 Mhz (Mindray, DP2200VET, São Paulo, Brasil) no dia 40 (D40), ou seja, 30 dias após as inseminações. Foi considerado diagnóstico de gestação positivo os animais com presença de uma vesícula embrionária visível com batimento cardíaco. O diagnóstico gestacional do repasse e o diagnóstico final da estação reprodutiva foi realizado no dia 130 (D130), conforme apresentado na Figura 3. A determinação das gestações do repasse foi realizada por meio da avaliação da idade gestacional para diferenciação das gestações oriundas da IATF ou do repasse. A taxa de prenhez foi calculada através da divisão do número de animais gestantes pelo número de animais inseminados.

#### 5.6 PERDA GESTACIONAL

Foi considerado como perda gestacional as fêmeas que foram consideradas gestantes no diagnóstico de gestação da IATF (D40), entretanto, estava vazia ao final da estação reprodutiva (D130).

#### 5.7 HOMOGENEIDADE DOS TRATAMENTOS

Visando estudar a homogeneidade entre os tratamentos, foram avaliados e comparados, entre as categorias reprodutivas, o escore de condição corporal (ECC) e o intervalo pós-parto (tempo decorrido entre o parto e a IA propriamente dita de cada animal).

#### 5.8 PROCEDIMENTO ESTATÍSTICO

As análises estatísticas foram realizadas por meio do Software R, utilizando o pacote STATS (2023).

### 5.8.1 Análise do escore de condição corporal (ECC)

A variável ECC não apresentou uma distribuição normal dos dados, assim como dos resíduos da ANOVA, verificado pelo teste de Shapiro Wilks (P<0,05). Logo, foi utilizado o teste de Kruska-Wallis para verificar se houve diferenças entre as categorias avaliadas. O nível de significância foi estabelecido para um valor de P< 0,05. Os resultados são expressos por meio da média e erro padrão.

#### 5.8.2 Análises dias pós-parto (DPP) por categorias

A variável DPP não apresentou distribuição normal dos dados, Shapiro Wilks (P<0,05). Logo, foi utilizado o teste de Mann-Whitney para verificar se houve diferenças entre as categorias avaliadas. O nível de significância foi estabelecido para um valor de P<0,05. Os resultados são expressos pela média e erro padrão.

#### 5.8.3 Taxa de detecção do estro (TDE) e taxas de prenhe

As análises das variáveis com respostas binárias (taxa de detecção do estro, taxa de prenhez na IATF, taxa de prenhez no repasse e taxa de prenhez ao final da estação reprodutiva), foram realizadas utilizando-se o teste de Qui-quadrado ( $\chi^2$ ) para comparar as proporções das respostas por grupo e categoria considerando um nível de significância de 5%.

#### 6 RESULTADOS

As novilhas (ECC =  $2.9\pm0.02$ ) apresentam um ECC, significativamente, superior às demais categorias (P  $\leq$  0,01) e as fêmeas multíparas (ECC =  $2.8\pm0.01$ ) apresentaram um ECC superior (P  $\leq$  0,01) à categoria primípara (ECC =  $2.7\pm0.02$ ). Com relação aos dias pós-parto (DPP), foi observado um período, significativamente, superior (P  $\leq$  0,01) para as fêmeas do grupo experimental primípara (DPP =  $73.7\pm2.32$ ) em relação aos animais do grupo multípara (DPP =  $67.2\pm1.05$ ).

A TDE, TPIATF, TPRep e TPFinal não diferiram (P>0.05) entre as categorias reprodutivas conforme apresentado na Tabela 1.

**Tabela 1-** Taxa de detecção de estro (TDE), taxa de prenhez na IATF (TPIATF), taxa de prenhez no repasse (TPRep) e taxa de prenhez ao final da estação reprodutiva (TPFinal) das fêmeas, estratificadas em diferentes categorias reprodutivas.

CATEGORIA	TDE	TPIATF	TPREP	TPFinal
CATEGORIA	% (N°)	% (N°)	% (N°)	% (N°)
Novilhas	72,76 (187/257)	65,36 (168/257)	66,29 (59/89)	88,33 (227/257)
Primíparas	61,59 (85/138)	62,31 (86/138)	61,54 (32/52)	84,05 (116/138)1
Multíparas	65,95 (434/658)	60,79 (400/658)	70,15 (181/258)	83,89 (552/658) <sup>2</sup>
TOTAL	67,04 (706/1053)	62,11 (654/1053)	68,17 (272/399)	84,99 (895/1053) <sup>3</sup>

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>Perda gestacional de 1,7% (2/118)

Com relação à influência do estro sobre a fertilidade da categoria novilha, ao longo da estação reprodutiva, o estro impactou, de forma positiva, na TPIATF (P<0,01). Contudo, não foi observada diferença, quanto à TPRep (P=0,61) e na TPFinal (P=0,81), entre os animais que expressaram ou não o estro (Tabela 2).

**Tabela 2-.** Taxa de prenhez na IATF (TPIATF), taxa de prenhez no repasse (TPRep) e taxa de prenhez ao final da estação reprodutiva (TPFinal) da categoria novilha, estratificada quanto a presença ou não do estro.

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup>Perda gestacional de 4,9% (29/581)

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup>Perda gestacional de 3,3% (31/926)

GRUPOS EXPERIMENAIS	TPIATF	TPRep	TPFinal
CROTOS EXILERIMENTOS	% (N°)	% (N°)	% (N°)
COM ESTRO	71,65 (134/187) <sup>a</sup>	64,15 (34/53)	89,84 (168/187)
SEM ESTRO	48,57 (34/70) <sup>b</sup>	69,44 (25/36)	84,28 (59/70)
TOTAL	65,37 (168/257)	66,29 (59/89)	88,33 (227/257)

ab Valores seguidos de letras distintas na coluna diferem entre si (P<0,05) pelo teste de  $\chi^2$ .

Quanto à influência do estro sobre a fertilidade da categoria primípara, não houve diferença entre os grupos experimentais COM ESTRO e SEM ESTRO para a TPIATF (P=1,0), TPRep (P=0,79) e na TPFinal (P=0,90), conforme esboçado na Tabela 4.

**Tabela 3-** Taxa de prenhez na IATF (TPIATF), taxa de prenhez no repasse (TPRep) e taxa de prenhez ao final da estação reprodutiva (TPFinal) da categoria primípara, estratificadas quanto à presença ou não do estro.

GRUPOS EXPERIMENAIS	TPIATF	TPRep	TPFinal
OKOI OB EMI EMMENAIB	% (N°)	% (N°)	% (N°)
COM ESTRO	62,35 (53/85)	59,37 (19/32)	83,53 (71/85)1
SEM ESTRO	62,26 (33/53)	65,00 (13/20)	84,90 (45/53) <sup>2</sup>
TOTAL	62,31 (86/138)	61,54 (32/52)	84,05 (116/138) <sup>3</sup>

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>Perda gestacional de 1,38% (1/72).

Em relação à categoria reprodutiva multípara, as fêmeas que expressaram o estro apresentaram uma maior TPIATF, TPRep e na TPFinal (P < 0,01) quando comparado as fêmeas que não vieram a expressar o estro.

**Tabela 4.** Taxa de prenhez na IATF (TPIATF), taxa de prenhez no repasse (TPRep) taxa de prenhez ao final da estação reprodutiva (TPFinal) da categoria multípara, estratificadas quanto a presença ou não do estro.

GRUPOS EXPERIMENAIS	TPIATF	TPRep	TPFinal
GRUPOS EAPERIMENAIS	% (N°)	% (N°)	% (N°)
COM ESTRO	68,20 (296/434) <sup>a</sup>	78,98 (109/138) <sup>a</sup>	88,94 (386/434) <sup>a1</sup>
SEM ESTRO	46,43 (104/224) <sup>b</sup>	60,00 (72/120) <sup>b</sup>	74,11 (166/224) <sup>b2</sup>
TOTAL	60,79 (400/658)	70,15 (181/258)	83,89 (552/658) <sup>3</sup>

 $<sup>^{</sup>a.b}$  Valores seguidos de letras distintas na coluna diferem entre si (P<0,05) pelo teste de  $\chi^2$ .

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup>Perda gestacional de 2,17% (1/46).

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup>Perda gestacional de 1,69% (2/118).

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>Perda gestacional de 4,69% (19/405).

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup>Perda gestacional de 5,58% (10/176).

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup>Perda gestacional de 4,99% (29/581).

### 7 DISCUSSÃO

# 7.1 COMPARAÇÃO ENTRE AS CATEGORIAS ANIMAIS

A preocupação com a estratégia reprodutiva, que possibilite atender às necessidades fisiológicas de cada categoria animal, é relatada desde a década de 70 (WILTBANK, 1970). Nesse contexto, estudos recentes avaliaram a relação entre a mudança do ECC no período pós-parto de fêmeas zebuínas com a fertilidade desses animais (JÚNIOR et al., 2017; REESE et al., 2020; COOKE et al., 2021). A importância do ECC no desempenho reprodutivo de bovinos de corte está bem estabelecida (KUNKLE et al., 1994; HESS et al., 2005; PESSOA et al., 2018) e associada a hormônios metabólicos que servem como mediadores da função reprodutiva, como o fator de crescimento semelhante à insulina tipo I (IGF-1), leptina, insulina e ácidos graxos não esterificados (AGNE) (WETTEMANN et al., 2003; D'OCCHIO et al., 2019).

Nesse sentido, Carvalho et al. (2022), em seu trabalho com fêmeas Nelore das categorias primíparas, secundíparas e multíparas submetidas a um programa de IATF, observaram que as primíparas apresentam um balanço energético negativo (BEN) mais severo no pós-parto quando comparado as demais categorias. Isso se dá em decorrência da maior exigência de energia para essa categoria comparado às multíparas, pois além da exigência de mantença e lactação, as mesmas também possuem exigência para crescimento (NASSEN, 2016; BR-CORTE, 2023). Dessa forma, o fato de as primíparas apresentarem um ECC menor comparado às demais categorias no presente estudo, pode ser justificado por um BEN mais severo no pós-parto (PFEIFER et al., 2021; VEDOVATTO et al., 2022).

A TDE não apresentou diferença estatística entre as categorias reprodutivas (P>0,05). De forma similar, Bottino et al. (2021), em seu trabalho com fêmeas de corte submetidas a um protocolo de IATF, observaram uma TDE geral de 62,8% (290/462), e 64,5% (107/166) e 61,8% (183/296) para as categorias primíparas e multíparas, respectivamente, não havendo diferença entre os grupos (P=0,26).

No que se refere à fertilidade na IATF apresentada pelas categorias, Marques et al. (2015) buscando avaliar o impacto de protocolos de ressincronização da ovulação sobre a fertilidade de fêmeas Nelore de diferentes categorias reprodutivas, observaram que a fertilidade entre as categorias novilhas (57%; 514/903), primíparas (51%; 173/338) e multíparas (56%; 680/1.223) na primeira IATF não divergiu.

Em contrapartida, Simões et al. (2018) observaram uma maior fertilidade para multíparas quando comparado às primíparas submetidas a programas de IATF. Os autores justificam esses achados em decorrência do BEN mais severo o qual as primíparas passam no pós-parto impactando, negativamente, na fertilidade das mesmas.

Para a fertilidade no repasse e ao final da estação reprodutiva, os resultados do presente estudo corroboram os resultados de Campos et al. (2013) no qual, em seu trabalho com fêmeas de *Bos taurus indicus* submetida a uma IATF e a ressincronização da ovulação, não observaram diferença estatística na fertilidade ao final da estação reprodutiva para as categorias primíparas e multíparas. De forma similar a esses achados, Marques et al. (2015) não observou diferença na fertilidade de fêmeas Nelores das categorias primíparas e multíparas ao final da estação reprodutiva. Entretanto, as novilhas apresentaram uma maior taxa de prenhez comparada as demais categorias.

### 7.2 COMPARAÇÃO INTRACATEGORIA NOVILHA

Ao conhecimento dos autores, esse trabalho é pioneiro em avaliar o impacto da expressão do estro não apenas no momento da IATF, como, também, nos ciclos futuros ao longo da estação reprodutiva das fêmeas que não ficam gestantes na IA.

Com relação ao impacto positivo que o estro apresentou sobre a fertilidade das novilhas na IATF, Colazo et al. (2018), avaliando o impacto do estro sobre a fertilidade de novilhas de corte submetidas a um protocolo de IATF, observaram que a taxa de prenhez das novilhas que expressaram o estro foi superior (P < 0,01) às novilhas que não expressaram o estro (60,6 vs. 32,3%), corroborando, assim, com os achados do presente estudo. De forma similar, Rich et al. (2018) em seu trabalho com novilhas de cortes submetidas a um programa de IATF observaram que as fêmeas que vieram a expressar o estro possuíam uma maior fertilidade (57% vs. 32%).

Sabe-se que elevada concentração de E2 próximo à inseminação está relacionada à maior fertilidade em fêmeas bovinas (ATKINS et al., 2010; RIBEIRO FILHO et al., 2013; EDWARDS et al., 2015; EDWARDS et al., 2016; LARIMORE et al., 2016; RICH et al., 2018; KASIMANICKAM et al., 2020; CONSENTINI et al., 2023; PEREIRA et al., 2023). Sendo assim, acredita-se que a associação positiva entre a probabilidade de concepção e a expressão do estro esteja relacionada às maiores concentrações de E2 apresentadas pelas fêmeas que expressam estro (PERRY et al., 2014).

Nesse contexto, o E2 próximo ao momento da inseminação exerce efeito sobre as células foliculares, as quais se preparam para ovulação e luteinização; é crucial para a retomada da meiose oocitária; atua no transporte espermático por meio de contrações uterinas; e, ajusta o pH uterino, aumentando a viabilidade espermática. Desta forma, consequentemente, estes fatores favorecem o sucesso na fecundação (RODRIGUEZ-MARTINEZ, 2007; PERRY et al., 2014; BINELLI et al., 2014; DANTAS et al., 2016; LI, 2017).

Apesar do estro beneficiar a fertilidade das novilhas na IATF, não foi observado um incremento na taxa de prenhez no repasse e no DG final. Nesse cenário, Perry et al. (2007), buscando avaliar o impacto da expressão do estro em um protocolo de IATF sobre parâmetros foliculares e a fertilidade em novilhas de corte, observaram que os animais que vieram a expressar o estro possuíam, também, maiores dimensões foliculares (12,2  $\pm$  0,2 mm vs. 11,1  $\pm$  0,3 mm), maior concentração sérica de E2 (9,9  $\pm$  0,6 vs. 6,6  $\pm$  0,7) e maior taxa de concepção (63 vs. 20%). Além disso, observaram que 92% dos animais já apresentavam um CL no início do experimento.

Desta forma, os achados do presente trabalho, onde o estro não influenciou a fertilidade no repasse e no diagnóstico final da estação reprodutiva das novilhas, podem ser associados ao fato das novilhas já estarem cíclicas no início do estudo, assim, após a IATF ambos os grupos experimentais permanecem cíclicos ao longo da estação reprodutiva quando expostos a monta natural.

# 7.3 COMPARAÇÃO INTRACATEGORIA PRIMÍPARA

Com relação às primíparas, não houve diferença estatística entre os grupos experimentais com estro e sem estro para a taxa de prenhez na IATF (P=1,0). Divergindo do presente estudo, Abel et al. (2017), trabalhando com primíparas de corte, buscaram avaliar o efeito de diferentes durações de períodos de exposição a P4 sobre a fertilidade na IATF, constatando que, independente do protocolo utilizado, as fêmeas que expressaram estro possuíam maior taxa de prenhez.

Um aspecto importante, que deve ser ressaltado, é que nesse estudo, todos os animais foram tratados com eCG, concomitante ao início do proestro, ou seja, no momento da remoção do dispositivo de P4 e da administração de PGF2α.

Diversos estudos descrevem a capacidade do eCG em estimular o desenvolvimento folicular, aumentar a taxa de ovulação, aumentar o tamanho e a capacidade esteroidogênica do

CL e elevar as concentrações plasmáticas de P4 durante a fase luteal subsequente. (PULLEY et al., 2013; FERRAZ et al., 2019; BRITO et al., 2020). A utilização desta estratégia, aparentemente, proporciona resultados mais expressivos em situações específicas de inadequada modulação de LH, como, por exemplo, em vacas de corte em anestro pós-parto ou com baixa condição corporal (BO, BARUSELLI e MARTINEZ, 2003; BARUSELLI et al., 2004; SÁ FILHO et al., 2010).

Sales et al. (2016) e Bottino et al. (2021) avaliaram a aplicação, ou não, da eCG no dia da remoção do dispositivo intravaginal de P4 de vacas Nelore das categorias reprodutivas multíparas e primíparas e observaram que o diâmetro do folículo dominante foi maior nas fêmeas que receberam eCG em comparação às que não receberam. Além disso, o efeito da eCG na dinâmica folicular e na fertilidade foi mais pronunciado nas primíparas em comparação às multíparas, provavelmente, por esta categoria necessitar de um maior suporte gonadotrófico durante o estágio final do crescimento do folículo dominante (PUGLIESI et al., 2016; NISHIMURA et al., 2018).

Desse modo, os resultados obtidos na categoria primípara podem ser consequência do suporte gonadotrófico para o crescimento final do folículo dominante, promovido pelo tratamento com eCG nessas fêmeas com baixo ECC, compensando, assim, a baixa pulsatilidade de LH encontrada nos animais que não expressaram estro previamente à IA propriamente dita, por conseguinte, reduzindo as diferenças na taxa de prenhez após a IATF entre os animais que expressaram ou não o estro.

No que se refere à fertilidade no repasse e à fertilidade ao final da estação reprodutiva das primíparas, não foi observado impacto do estro (P>0,05). Alves et al. (2021), em seu trabalho com fêmeas zebuínas primíparas submetidas a diferentes variações de tratamentos hormonais para IATF, observaram que apenas 23,6% (86/364) das primíparas apresentam um CL no início do protocolo de ressincronização, indicando que, mesmo após serem submetidas a um protocolo de IATF e ovularem, esses animais podem retornar à condição anovular.

Logo, o fato das primíparas não apresentarem diferença nas avaliações de fertilidade pós IATF pode ser consequência das mesmas retornarem à condição de anestro após a IATF, independente da expressão do estro. Dessa forma, protocolos de ressincronização podem se apresentar como uma importante ferramenta para o aumento da fertilidade durante um programa reprodutivo em bovinos de corte (BARUSELLI et al., 2018; PESSOA et al., 2018).

### 7.4 COMPARAÇÃO INTRACATEGORIA MULTÍPARA

Nesse experimento, o estro impactou, de forma positiva, a TPIATF das multíparas (P<0,05). Estudos indicaram que fêmeas com comportamento de estro entre a retirada do dispositivo intravaginal de P4 e a IATF, apresentaram maior diâmetro do folículo ovulatório e elevadas concentrações de E2 (PERRY et al., 2007; RIBEIRO FILHO et al., 2013; PERRY et al., 2014; COOKE et al., 2019; NOGUEIRA et al., 2019; PFEIFER et al., 2020; CEDEÑO et al., 2021; SILVA et al., 2022; PEREIRA et al., 2023). Nesse sentido, Alves et al. (2021), em seu trabalho com vacas zebuínas multíparas submetidas a um protocolo de sincronização da ovulação, observaram um maior diâmetro do folículo pré-ovulatório (12,2 ± 0,09 vs. 11,4 ± 0,17) e uma maior fertilidade (62,5% vs. 45,1%) para os animais que demostram estro quando comparado aos animais que não demonstraram estro.

Ainda nesse contexto, em estudos similares, observou-se a influência do comportamento de estro sobre as dimensões luteais e os concentrações séricas de P4 no período pósovulatório, sugerindo a existência de uma correlação entre expressão do estro e parâmetros morfofuncionais luteais (PEREIRA et al., 2016; RODRIGUES et al., 2018; NOGUEIRA et al., 2019).

Alguns efeitos da expressão do estro, desta forma, são manifestados no período periovulatório, enquanto outros são exibidos durante a fase lútea, podendo dizer que a congruência destas ações, possivelmente, cria um ambiente uterino propício ao reconhecimento materno e estabelecimento da gestação (BRIDGES et al., 2012; FORDE et al., 2014; COOKE et al., 2019; MADUREIRA et al., 2019; MADOZ et al., 2021; PEREIRA et al., 2023).

Experimentos desenvolvidos por Cooke et al. (2019) comprovaram que a junção destes efeitos promoveu condições ideais para o reconhecimento materno da gestação. Segundo tais pesquisadores, fêmeas que expressaram o estro antes da IATF apresentaram um incremento no alongamento embrionário devido à elevada expressão de RNAm para genes relacionados à síntese do interferon e da prostaglandina E, os quais constituem os principais fatores responsáveis pela sinalização da gestação para os tecidos maternos, justificando os altos índices de fertilidade esboçados pelos animais que expressam estro, em programas de sincronização.

Quanto ao aumento da fertilidade no repasse e ao final da estação reprodutiva, apresentado pelas fêmeas que demostraram estro, ao conhecimento dos autores, esse trabalho é pioneiro em apontar o impacto positivo da expressão do estro, não apenas no momento da

IATF, como também, nos ciclos futuros ao longo da estação reprodutiva das multíparas que não ficam gestantes na IATF.

Uma das vantagens da utilização de protocolos de IATF, baseados na associação de P4 e E2, é a indução da ciclicidade em vacas em anestro pós-parto (BARUSELLI et al., 2004; BARUSELLI et al., 2018; CARVALHO et al., 2023). Os tratamentos com P4 são capazes de aumentar a pulsatilidade do LH e promover a ovulação. O mecanismo de ação da P4 é mediado por um aumento nos receptores de LH nas células da granulosa e da teca do folículo pré-ovulatório com a consequente elevação intrafolicular/sérica do E2 e por uma alteração na quantidade e localização (hipotálamo mediobasal) dos receptores de E2 no hipotálamo (RHODES et al., 2002; GUMEN et al., 2002; BÓ et al., 2003).

Entretanto, Alves et al. (2021), em seu estudo com fêmeas Nelore, das categorias primípara e multípara, submetidas a distintos protocolos de IATF, observaram que 50% (266/543) das fêmeas que não ficaram gestantes após o protocolo de ovulação, retornaram ao estado de anestro. Desta forma, entender os mecanismos relacionados com a manutenção da ciclicidade após o protocolo de IATF é de extrema importância.

A fertilidade em vacas está relacionada com às concentrações de E2 durante o proestro e com às concentrações de P4 no diestro (JINKS et al., 2013; SARTORI et al., 2016; CIERNIA et al., 2021; SALES et al., 2023). Murdoch e Van Kirk et al. (1998) apontaram uma estreita relação entre altas concentrações de E2 no período peri-ovulatório e uma maior proliferação das células da granulosa, o qual, após a ovulação, se tornam as grandes células luteias, sendo estas responsáveis por 80% da produção de progesterona.

Abdelnary et al. (2018), em seu experimento com avaliação das estruturas ovarianas por meio da ultrassonografia modo Doppler, sugeriram que o comprometimento das características morfológicas e funcionais foliculares irá desencadear na formação de corpos lúteos com características semelhantes e, consequentemente, menor produção de P4.

Nesse contexto, Bridges et al. (2010), em seu trabalho com fêmeas de corte, observaram que os animais com concentração de E2 < 10 pg/mL tiveram maior (P <0,01) incidência (4/5) de ciclo curto no ciclo estral subsequente em comparação às vacas com pico de concentração pré-ovulatória de E2 ≥ 10 pg/mL (1/11). Assim, vacas com proestro reduzido podem aumentar a ocorrência de ciclos curtos devido à menor exposição ao E2 antes da ovulação (PERRY et al., 2005, 2007; BRIDGES et al., 2010; RANTALA et al., 2014).

A expressão dos receptores de E2 no endométrio é proporcional às concentrações circulantes de E2 e inversamente proporcional às concentrações circulantes de P4, estando,

portanto, mais expressos durante o proestro e estro do que durante a fase luteínica (ROBINSON et al., 2001; MARTINS et al., 2018). Além disso, elevadas concentrações de E2 durante o proestro, resultam na redução da concentração endometrial dos receptores de ocitocina e da secreção de PGF<sub>2α</sub> após desafio com ocitocina (LAMMING; MANN, 1995; MANN; LAMMING, 1995; DOMINGUES et al., 2020).

Elevadas concentrações pré-ovulatórias de E2 têm sido correlacionas ao aumento na área uterina (SOUZA et al., 2011; MOTTA et al., 2020). Além disso, novilhas de corte expostas a um maior tempo e maior concentração de E2 durante o proestro apresentam diferenças significativas no padrão de expressão de receptores e outras proteínas associadas à receptividade uterina à gestação do que novilhas expostas a um reduzido período ao E2 (BRIDGES et al., 2012).

Dessa forma, o E2 parece regular a expressão de diversos genes envolvidos com a remodelação da matrix extracelular, a secreção de glicoproteínas e a diferenciação temporal da biologia uterina (BAUERSACHS et al., 2005; SHIMIZU et al., 2010). Portanto, o ambiente endócrino pré-ovulatório pode regular a expressão gênica do endométrio, e consequentemente, a receptividade do micro-ambiente uterino ao concepto durante o período de gestação inicial, alterando a sobrevivência embrionária (DAVOODI et al., 2016).

# 8 CONCLUSÕES

Em conclusão, a expressão do estro durante o protocolo de IATF impactou de forma positiva a fertilidade das categorias reprodutivas novilhas e multíparas. Na categoria novilha, foi observado um incremento na fertilidade na IATF, enquanto na categoria multípara foi observado maior fertilidade não apenas na IATF, como também, nos ciclos futuros.

Desta forma, a detecção do estro pode ser usada como ferramenta para direcionar acasalamentos em protocolos de sincronização, promovendo identificação dos animais com maior probabilidade de concepção, além da possibilidade de ser usada como alternativa para predizer os resultados finais de uma estação reprodutiva na categoria multípara.

Contudo, para a categoria primípara, não foi observado um incremento na fertilidade em nenhum dos momentos de avaliação.

# 9 REFERÊNCIAS

- ABDELNABY, E. A.; EL-MAATY, A. M. A.; RAGAB, R. S.; SEIDA, A. A. Dynamics of uterine and ovarian arteries flow velocity waveforms and their relation to follicular and luteal growth and blood flow vascularization during the estrous cycle in Friesian cows. **Theriogenology**, v. 121, p 112-121. 2018.
- ABEL, J. M.; BISHOP, B. E.; THOMAS, J. M.; ELLERSIECK, M. R.; POOCK, S. E.; SMITH, M. F.; PATTERSON, D. J. Comparing strategies to synchronize estrus before fixed-time artificial insemination in primiparous 2-year-old beef cows. **Theriogenology**, v. 87, p. 306-315. 2017.
- ABIEC. Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de carne. **Beef report:** Perfil da pecuária no Brasil São Paulo, 2022. Disponível em: < https://www.abiec.com.br/publicacoes/beef-report-2022/> Acesso em 05 nov. 2023.
- ABIEC. Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de carne. **Beef report 2023.** São Paulo, 2023. Disponível em: < https://www.abiec.com.br/publicacoes/beef-report-2023-capitulo-01/> Acesso em 05 nov. 2023.
- ACOSTA, T. J.; HAYASHI, K. G.; OHTANI, M.; MIYAMOTO, A. Local changes in blood flow within the preovulatory follicle wall and early corpus luteum in cows. **Reproduction**, v. 125, p. 759-767, 2003.
- 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, p. 177–188, 1992.
- ALLRICH, R. D. Symposium: estrus, new devices, and monitoring. Endocrine and Neural Control of Estrus In Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 77, p. 2738- 2744, 1994.
- ALVES, N. G.; COSTA, E. P. D.; 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, p. 627–634, 2002.
- ALVES, R. L.; SILVA, M. A.; CONSENTINI, C. E.; E SILVA, L. O.; FOLCHINI, N. P.; OLIVA, A. L.; SARTORI, R. Hormonal combinations aiming to improve reproductive outcomes of Bos indicus cows submitted to estradiol/progesterone-based timed AI protocols. **Theriogenology**, v. 169, p 89-99. 2021.
- ANDRADE, B. H. A.; FERRAZ, P. A.; RODRIGUES, A. S.; LOIOLA, M. V. G.; 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 Science,** v.17, p.70 82, 2012.

- 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 of Animal Science**, v. 88, p 2300-2310. 2010.
- AUNGIER, S. P. M.; ROCHE, J. F.; DUFFY, P.; CROWE, M. A. The relationship between activity clusters detected by an automatic activity monitor and endocrine changes during the periestrus period in lactating dairy cows. **J. Dairy Sci**, v. 98, p. 1666–1684. 2015.
- AUNGIER, S. P. M.; ROCHE, J. F.; SHEEHY, M.; CROWE, M. A Effects of management and health on the use of activity monitoring for estrus detection in dairy cows. **J. Dairy Sci.** v. 95, p. 2452-2466. 2012.
- 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, p. 175-179, 2009.
- BARROS, C. M.; FIGUEIREDO, R. A.; PINHEIRO, O. L. Estro, ovulação e dinâmica folicular em zebuínos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 19, p. 9-22, 1995.
- 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, p. 1121-1134, 2000.
- 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.
- 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.; CATUSSI, B. L. C.; ABREU, L. A.; ELLIFF, F. M.; SILVA, L. G.; BATISTA, E. S.; CREPALDI G. A. Evolução e perspectivas da inseminação artificial em bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal,** v. 43, p.308-314. 2019.
- BARUSELLI, P. S.; FERREIRA, R. M.; SÁ FILHO, M. F. D.; BÓ, G. A. Using artificial insemination v. natural service in beef herds. **Animal**, v. 12, p. 45-52. 2018.
- 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.

- BARUSELLI, P. S.; MARQUES, M. O.; CARVALHO, N. A. T.; VALENTIM, R; BERBER, R. C. A.; CARVALHO FILHO, A. F.; MADUREIRA, E. H.; COSTA NETO, W. P. Dinâmica folicular em novilhas receptoras de embrião bovino submetidas à sincronização da ovulação para inovulação em tempo fixo. **Arquivo Faculdade Veterinária da UFRGS**, v. 28., p. 217, 2000.
- 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.
- 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.
- BAUERSACHS, S.; ULBRICH, S. E.; GROSS, K.; SCHMIDT, S. E. M.; MEYER, H. H. D.; EINSPANIER, R.; WENIGERKIND, H.; VERMEHREN, M.; BLUM, H.;SINOWATZ, F.; WOLF, E. Gene expression profiling of bovine endometrium during the oestrous cycle: detection of molecular pathways involved in functional changes. **Journal of Molecular Endocrinology**, v. 34, p. 889-908, 2005.
- BINELLI, M.; PUGLIESI, G.; HOECK, V. V.; SPONCHIADO M.; RAMOS, R. S.; OLIVEIRA, M. L.; FRANÇA, M.R.; D'ALEXANDRE, F. L.; MESQUITA, F. S.; MEMBRIVE, C. M.B. The role of proestrus on fertility and postovulatory uterine function in the cow. **Anim Reprod**, v. 11, p. 246–53. 2014.
- BÓ, G. A.; ADAMS, G. P.; PIERSON, R. A.; TRIBULO, H. E.; CACCIA, M.; MAPLETOFTL, R. J. Follicular wave dynamics after estradiol-17p treatment of heifers with or without a progestogen implant. **Theriogenology**, v. 41, p. 1555-1569, 1994.
- 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.
- BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S.; MORENO, D.; CUTAIA, L.; CACCIA, M.; TRÍBULO, R.; TRÍBULO, H.; MAPLETOFT, R. J. The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. **Theriogenology**, v. 57, p. 53-72, 2002.
- BÓ, G. A.; HUGUENINE, E.; DE LA MATA, J. J.; NÚÑEZ-OLIVERA, R.; BARUSELLI, P. S.; MENCHACA, A. Programs for fixed-time artificial insemination in South American beef cattle. **Animal Reproduction**, v. 15, p. 952-962, 2018.
- BÓ, 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, p. 169- 183, 1991.
- BÓ, G. A; ADAMS, G. P; CACCIA, M.; MARTINEZ, M.; PIERSON, R. A.; MAPLETOFT, R. J. Ovarian follicular wave emergence after treatment with progestogen and estradiol in cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 39, p. 193-204, 1995.
- BODENSTEINER, K. J.; KOT, K.; WILTBANK, M. C.; GINTHER, O. J. Synchronization of emergence of follicular waves in cattle. **Theriogenology**, v. 45, p. 1115-1128, 1996.

- BONATO, G. L.; CUNHA, M. O.; CARNEIRO, L. C.; SANTOS, R. M. Eficiência do Estrotect® na identificação de estros em vacas leiteiras mestiças. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, v. 49, p. 19-23, 2012.
- BOTTINO, M. P.; SIMÕES, L. M. S.; SILVA, L. A. C. L.; GIROTTO, R. W.; SCANDIUZZI JR, L. A.; MASSONETO, J. P. M.; BARUSELLI, P.S.; SOUZA, J.C. SALES, J. N. D. S. Effects of eCG and FSH in timed artificial insemination treatment regimens on estrous expression and pregnancy rates in primiparous and multiparous Bos indicus cows. **Animal Reproduction Science**, v. 228. 2021.
- BR-CORTE. **Exigências Nutricionais de Zebuínos Puros e Cruzados**. 4 ed. Viçosa, 2023. 480p.
- BRIDGES, G. A.; MUSSARD, M. L.; BURKE, C. R.; DAY, M. L. Influence of the length of proestrus on fertility and endocrine function in female cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 117, p. 208-215. 2010.
- BRIDGES, G. A.; MUSSARD, M. L.; PATE, J. L.; OTT, T. L.; HANSEN, T. R.; DAY, M. L. Impact of preovulatory estradiol concentrations on conceptus development and uterine gene expression. **Animal Reproduction Science**, v. 133, p. 16-26. 2012.
- BRITO, L. S.; JUNIOR, L. D. P. M.; FERRAZ, P. A.; VASCONCELOS, I. C.. DA SILVA CARVALHO, J. V. G.; LOIOLA, M. V. G.; BITTENCOURT R. F.; MADRIGAL-VALVERDE, M.; CAVALCANTE, A. K. S.; BARBOSA, L. P.; OLIVEIRA, L. P.; BASTOS, M. C. B. B.; BRITO, O. S; RIBEIRO FILHO, A. L. Effects of equine chorionic gonadotropin administered via the Baihui acupoint on follicular ovarian dynamics and the luteal function of cattle during an ovulation synchronization treatment regimen for fixed-time artificial insemination. **Animal Reproduction Science**, v. 223. 2020.
- BURATINI, J. JR.; PRICE, C. A.; VISINTIN, J. A.; BO, G. A. Effects of dominant follicle aspiration and treatment with recombinant bovine somatotropin (BST) on ovarian follicular development in Nelore (Bos indicus) heifers. **Theriogenology**, v. 54, p. 421-431, 2000.
- BURNETT, T. A.; MADUREIRA, A. M. L.; SILPER, B. F.; FERNANDES, A. C. C.; CERRI, R. L. A. Effects of integrating an automated activity monitor into a first postpartum artificial insemination program and health related risk-factors on reproductive performance in lactating dairy cows. **J. Dairy Sci.** v. 100, p. 5005–5018. 2017.
- CACCIA, M.; BÓ, G. A. Follicle wave emergence following treatment of CIDR-B implanted beef cows with estradiol benzoate and progesterone. **Theriogenology**, v. 49, p. 341, 1998.
- CAMPOS, J. T.; MARINHO, L. S. R.; LUNARDELLI, P. A.; MOROTTI, F.; SENEDA, M. M. Resynchronization of estrous cycle with eCG and temporary calf removal in lactating *Bos indicus* cows. **Theriogenology**, v. 80, p. 619-623. 2013.
- CARVALHO, L. R.; SIMÕES, L. M. S.; LEMOS, L. A.; VICENTE, M. P.; SOUZA, S. V.; JUNIOR, W. A. G.; GUERREIRO, B. M.; FREITAS, B. G.; SOUZA, J. C.; SALES, J. N. S. Use of injectable progesterone to replace the intravaginal progesterone device on the ovulation synchronization protocol reduces the pregnancy rate in Bos indicus cows. **Theriogenology**, v. 195, p. 55-61. 2023.

- CARVALHO, R. S., COOKE, R. F., CAPPELLOZZA, B. I., PERES, R. F. G., POHLER, K. G., VASCONCELOS, J. L. M. Influence of body condition score and its change after parturition on pregnancy rates to fixed-timed artificial insemination in Bos indicus beef cows. Animal Reproduction Science, v. 243, p. 107028, 2022.
- CATUSSI, B. L. C.; DE MELO, C.; DA SILVA, L. G.; DE ABREU, L. Â.; KOURY FILHO, W.; LÔBO, R. B.; D'OCCHIO, M. J.; BARUSELLI, P. S. Influence of nutrition and genetic selection for puberty on the reproductive response of Nelore heifers submitted to fixed-time AI and oocyte recovery with in vitro fertilization. **Livestock Science**, v. 274, p. 105263. 2023.
- CAUNCE, S. L.; DADARWAL, D.; ADAMS, G. P.; BRAR, P.; SINGH, J. An objective volumetric method for assessment of ovarian follicular and luteal vascular flow using colour Doppler ultrasonography. **Theriogenology**, v. 138, p. 66-76. 2019.
- CAVALIERI, J.; HEPWORTH, G.; FITZPATRICK, L. A.; SHEPHARD, R. W.; MACMILLAN, K. L. Manipulation and control of the estrous cycle in pasture-based dairy cows. **Theriogenology**, v. 65, p. 45-64, 2006.
- CAVALIERI, J.; RUBIO, J.; KINDER, J. E.; ENTWISTLE, K. W.; FITZPATRICK, L. A. Synchronization of estrus and ovulation and associated endocrine changes in Bos indicus cows. **Theriogenology**, v. 47, p. 801-814, 1997.
- CEDEÑO, A. V.; CUERVO, R.; TRÍBULO, A.; TRÍBULO, R.; ANDRADA, S.; MAPLETOFT, R.; MENCHACA, A.; BÓ, G. A. Effect of expression of estrus and treatment with GnRH on pregnancies per AI in beef cattle synchronized with an estradiol/progesterone-based protocol. **Theriogenology**, v. 161, p. 294-300. 2021.
- CEPEA. Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada. **PIB Agro CEPEA-USP**, **jan/dez 2022**. Disponível em: http://www.cepea.esalq.usp.br/pib/. Acesso em 03 abr. 2023.
- CHAGAS, L. M.; BASS, J. J.; BLACHE, D.; BURKE, C. R.; KAY, J. K.; LINDSAY, D. R.; LUCY, M. C.; MARTIN, G. B.; MEIER, S.; RHODES, F. M.; ROCHE, J. R.; THATCHER, W. W.; WEBB, R. Invited Review: New Perspectives on the roles of nutrition and metabolic priorities in the subfertility of high-producing dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 4022-4032, 2007.
- CIERNIA, L. A.; PERRY, G. A.; SMITH, M. F.; RICH, J. J.; NORTHROP, E. J.; PERKINS, S. D.; GREEN, A.L. GEARY, T. W. Effect of estradiol preceding and progesterone subsequent to ovulation on proportion of postpartum beef cows pregnant. **Animal Reproduction Science**, v. 227. 2021.
- CIPRIANO, R. S.; CARVALHO, B. A.; MARANGONI, N. R.; NOGUEIRA, G. P. LH and FSH concentration and follicular development in Nellore heifers submitted to fixed-time artificial insemination protocols with different progesterone concentrations. **Animal Reproduction Science,** v. 127, p. 16-22, 2011.
- Climatempo. **Baixa Grande- BA.** Disponível em: <a href="https://www.climatempo.com.br/climatologia/3429/baixagrande-ba">https://www.climatempo.com.br/climatologia/3429/baixagrande-ba</a>. Acesso em 29 dez de 2023.

- COLAZO, M. G.; BEHROUZI, A.; AMBROSE, D. J.; MAPLETOFT, R. J. Diameter of the ovulatory follicle at timed artificial insemination as a predictor of pregnancy status in lactating dairy cows subjected to GnRH-based protocols. **Theriogenology**, v. 84, p. 377-383, 2015.
- COLAZO, M. G.; GORDON, M. B.; RAJAMAHENDRAN, R.; MAPLETOFT, R. J.; AMBROSE, D. J. Pregnancy rates to timed artificial insemination in dairy cows treated with gonadotropin-releasing hormone or porcine luteinizing hormone. **Theriogenology**, v. 72, p. 262-270, 2009.
- 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, p. 855-865, 2003.
- COLAZO, M. G.; WHITTAKER, P.; MACMILLAN, K.; BIGNELL, D.; BOENDER, G.; DE CARVALHO GUIMARAES, R.; MAPLETOFT, R. J. Evaluation of a modified GnRH-based timed-AI protocol associated with estrus detection in beef heifers inseminated with sex-selected or conventional semen. **Theriogenology**, v. 118, p. 90-95. 2018.
- **Colégio Brasileiro de Reprodução Animal.** Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. 3.ed. Belo Horizonte: CBRA. 104p. 2013.
- CONSENTINI, C. E.; ALVES, R. L.; SILVA, M. A.; GALINDEZ, J. P.; MADUREIRA, G.; LIMA, L. G.; GONÇALVES, J. R. S.; WILTBANK, M. C.; SARTORI, R. What are the factors associated with pregnancy loss after timed-artificial insemination in Bos indicus cattle? **Theriogenology**, v. 196, p. 264-269. 2023.
- COOKE, R. F.; LAMB, G. C.; VASCONCELOS, J. L. M.; POHLER, K. G. Effects of body condition score at initiation of the breeding season on reproductive performance and overall productivity of Bos taurus and B. indicus beef cows. **Anim. Reprod. Sci.** 232:106820. doi: 10.1016/j.anireprosci.2021.1068201. 2021.
- COOKE, R. F.; POHLER, K. G.; VASCONCELOS, J. L. M.; CERRI, R. L. A. Estrous expression during a fixed-time artificial insemination protocol enhances development and interferon-tau messenger RNA expression in conceptuses from Bos indicus beef cows. **Animal**, v.13, p.2569-2575, 2019.
- 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. Mestrado-Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, São Paulo.
- DANTAS, F. G.; ZECHIEL, K. E.; REESE, S. T.; ARAÚJO, G.; RHINEHART, J. D.; POHLER, K. G. Keys to maximizing reproductive efficiency in a beef herd, 2016. Disponível em: https://www.conapecjr.com.br/. Acesso 20 Abr. 2020.
- DE SILVA, A. W. M. V.; ANDERSON, G. W.; GWAZDAUSKAS, F. C.; M. L.; GILLIARD, M. C.; LINEWEAVER, J. A. Interrelationships with Estrous Behavior and Conception in Dairy Cattle. **Journal of Dairy Science**, v.64, p. 2409-2418, 1981.

- DOMINGUES, R. R.; GINTHER, O. J.; GOMEZ-LEÓN, V. E.; WILTBANK, M. C. Upregulation of endometrial oxytocin receptor is associated with the timing of luteolysis in heifers with two and three follicular waves. **Biology of reproduction.**102:316-26.2020.
- EDWARDS, S. A. A.; BO, G. A.; CHANDRA, K. A.; ATKINSON, P. C.; MCGOWAN, M. R. Comparison of the pregnancy rates and costs per calf born after fixed-time artificial insemination or artificial insemination after estrus detection in *Bos indicus* heifers. **Theriogenology**.83(1): 114-120. 2015.
- ELMORE, R. G.; ADERIBIGBE, A. A.; GARVERICK, H. A. The use of heat detection aids in estrus synchronization programs. **Theriogenology**, v. 26, p. 239-244, 1986.
- 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, p. 1521-1532, 2001.
- FERRAZ, P. A.; SILVA, M. A.; CARÔSO, B. S.; ARAUJO, E. A.; BITTENCOURT, T. C.; CHALHOUB, M.; BITTENCOURT, R. F.; RIBEIRO FILHO, A. L. Effect of eCG on the follicular dynamics and vascularization of crossbred cows with different circulating progesterone concentrations during synchronization of ovulation in an FTAI protocol. **Pesquisa Veterinaria Brasileira**, v. 39, p. 324-331. 2019.
- FERRAZ, P.A.; LOIOLA, M.V.G.; RODRIGUES, A.S.; LIMA, M.C.C.; BITTENCOURT, T.C.B.S.C.; RIBEIRO FILHO, A.L. The effect of the intensity of estrus expression on the follicular diameter and fertility of nellore cows managed under a ftai program. **Ciência Animal Brasileira**, v.18, p.1–9, 2017.
- FERREIRA, A.D.M. Reprodução da Fêmea Bovina: Fisiologia aplicada e Problemas mais comuns (causas e tratamentos). 1.ed. Juiz de Fora: Editar, 2010. 422p. ISBN 8591067401.
- FIELDS, M. J.; FIELDS, P. A. Morphological characteristics of the bovine corpus luteum during estrous cycle and pregnancy. **Theriogenology**, v. 96, p. 1295-1325, 1996.
- FOOTE, R. H. Estrus Detection and Estrus Detection Aids. **Journal of Dairy Science**, n. 2, v. 58, p. 248-256, 1974.
- 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, p. 163–169, 2011.
- FORDE, N.; MCGETTIGAN, P. A.; MEHTA, J. P.; O'HARA, L.; MAMO, S.; BAZER, F. W.; LONERGAN, P. Proteomic analysis of uterine fluid during the pre-implantation period of pregnancy in cattle. **Reproduction**, v. 147, p. 575-587. 2014.
- FRANÇA, L. M.; RODRIGUES, A. S.; BRANDÃO, L. G. N.; LOIOLA, M. V. G.; CHALHOUB, M.; FERRAZ, P. A.; BITTENCOURT, R. F.; JESUS, E. O., RIBEIRO FILHO, A. L. Comparação de dois ésteres de estradiol como indutores da ovulação sobre o diâmetro folicular e a taxa de gestação de bovinos leiteiros submetidos a programa de

- Inseminação Artificial em Tempo Fixo. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal.** v.16, p.958 965, 2015.
- FRICKE, P. M., P. D. CARVALHO, J. O. GIORDANO, A. VALENZA, G. J. LOPES, M. C. AMUNDSON. Expression and detection of estrus in dairy cows: the role of new technologies. Animal, **8(Supplements1)**, p. 134-143, 2014.
- GALINA, C. S.; CALDERÓN, A.; MCCLOSKEY, M. Detection of signs of estrus in the Charolais cow and its Brahman cross under continuous observation. **Theriogenology**, v. 17, n. 5, p. 485-498, 1982.
- GALINA, C. S.; ORIHUELA, A. The detection of estrus in cattle raised under tropical conditions: What we know and what we need to know? **Hormones and Behavior**, v. 52 p. 32–38, 2007.
- 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.; 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, p. 223–230, 1989.
- 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, p. 68–74, 1996.
- GONZÁLEZ, F. H. D. **Introdução à endocrinologia reprodutiva veterinária**. 1.ed., Porto Alegre: UFRGS, 2002. p. 1-53.
- Google Earth. **Cidade de Baixa Grande**. Disponínel em :http://earth.google.com/, 2009. Acesso em: 29 dez de 2023.
- GRUNERT, E.; GREGORY, R. M. **Diagnóstico e terapêutica da infertilidade na vaca**. 2.ed., Porto Alegre: Sulina, 1989. p. 17-32.
- GÜMEN, A.; WILTBANK, M. C. An alteration in the hypothalamic action of estradiol due to lack of progesterone exposure can cause follicular cysts in cattle. **Biology of reproduction**, v. 66, p. 1689-1695. 2002.
- HAFEZ, E.S.E., HAFEZ. B. **Reprodução Animal.** 7. ed. Rio de Janeiro: Manole, 2004. 513 p.
- HASSAN, M.; ARSHAD, U.; BILAL, M.; SATTAR, A.; AVAIS BOLLWEIN, H. AHMAD, N. Luteal blood flew measured by Doppler ultrasonography during the fist three weeks after artificial insemination in pregnant and non-pregnant *Bos indicus* dairy cows. **Journal of reproduction and Development**, v. 65, p. 29-36, 2019.
- HERZOG, K.; BROCKHAN-LÜDEMANN, M.; KASKE, M.; BEINDORFF, N.; PAUL, V.; NIEMANN, H.; BOLLWEIN, H. Luteal blood flow is a more appropriate indicator for luteal

- function during the bovine estrous cycle than luteal size. **Theriogenology**, v. 73, p. 691-697, 2010.
- HURNIK, J. F.; KING, G. J.; ROBERTSON, H. A. Estrous and related behaviour in postpartum holstein cows. **Applied Animal Ethology**, v. 2, p. 55-68, 1975.
- IBGE **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística,** 2023. Disponível em: < https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/br> Acesso em 05 nov. 2023.
- 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, p. 1648–1658, 2001.
- JINKS, E. M.; SMITH, M. F.; ATKINS, J. A.; POHLER, K. G.; PERRY, G. A.; MACNEIL, M. D.; ROBERTS, A. J.; WATERMAN, R. C.; ALEXANDER, L. J.; GEARY, T. W. Preovulatory estradiol and the establishment and maintenance of pregnancy in suckled beef cows1. **J. Anim. Sci**, v. 91, p. 1176–1185. 2013.
- KASIMANICKAM, R.K.; KASIMANICKAM, V. R.; OLDHA, J.; WHITMORE, M. Cyclicity, estrus expression and pregnancy rates in beef heifers with different reproductive tract scores following progesterone supplementation. **Theriogenology**. v. 145, p. 39-47. 2020.
- LAMMING, G. E.; MANN, G. E. Control of endometrial oxytocin receptors and prostaglandin F2 $\alpha$  production in cows by progesterone and oestradiol. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 103, p. 69-73, 1995.
- LAMOTHE-ZAVALETA, C.; FREDRIKSSON, G.; KINDAHL, H. Reproductive performance of zebu catte in mexico 1. sexual behavior and seasonal influence on estrous cyclicity. **Theriogenology**, v. 36, p. 887-896, 1991.
- LANDAETA-HERNÁNDEZ, A. J.; YELICH, J. V.; WILLARD LEMASTER, J.; FIELDS, M. J.; TRAN, T.; CHASE JR., C. C.; RAE, D. O.; CHENOWETH, P. J. Environmental, genetic and social factors affecting the expression of estrus in beef cows. **Theriogenology**, v. 57, p. 1357-1370, 2002.
- LARIMORE, E. L.; AMUNDSON, O. L.; BRIDGES, G. A.; MCNEEL, A. K.; CUSHMAN, R. A.; PERRY, G. A. Changes in ovarian function associated with circulating concentrations of estradiol before a GnRH-induced ovulation in beef cows. **Domestic Animal Endocrinolog,** v. 57, p. 71-79. 2016.
- LAYEK, S. S.; MOHANTY, T. K.; KUMARESAN, A.; BEHERA, K.; CHAND, S. Behavioural signs of estrus and their relationship to time of ovulation in Zebu (Sahiwal) cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 129, p. 140–145, 2011.
- LAYEK, S. S.; MOHANTY, T. K.; KUMARESAN, A.; BEHERA, K.; CHAND, S. Behavioural signs of estrus and their relationship to time of ovulation in Zebu (Sahiwal) cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 129, p. 140–145, 2011.

- LEHRER, A. R.; LEWISB, G. S.; AIZIUBUD, E. Symposium 9. Cattle fertility problems. Chairperson; A. de Kruif (Belgium). Oestrus detection in cattle: recente develop. **Animal Reproduction Science**, v. 28, p. 355-361, 1992.
- LEHRER, A. R.; LEWISB, G. S.; AIZIUBUD, E. Symposium 9. Cattle fertility problems. Chairperson; A. de Kruif (Belgium). Oestrus detection in cattle: recente develop. **Animal Reproduction Science**, v. 28, p. 355-361, 1992.
- LI, S.; WINUTHAYANON, W. Oviduct: Roles in fertilization and early embryo development. **J Endocrinol.** 232:R1–26. 2017. <a href="https://doi.org/10.1530/JOE-16-0302">https://doi.org/10.1530/JOE-16-0302</a>.
- LOUREIRO, P. E. F. Efeito do fotoperíodo na detecção do estro em fêmeas bovinas Nelore (*Bos taurus indicus*) e cruzadas Red Angus x Nelore e Limousin x Nelore (*Bos taurus taurus x Bos taurus indicus*) manejadas em diferentes regiões do Brasil. 2005. 64 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) Universidade de São Paulo, São Paulo.
- LUCY, M. C.; MCDOUGALL, S.; NATION, D. P. The use of hormonal treatments to improve the reproductive performance of lactating dairy cows in feedlot or pasture-based management systems. **Animal Reproduction Science**, v. 82-83, p. 495-512, 2004.
- LYIMO, Z. C.; NIELEN, M.; OUWELTJES, W.; KRUIP, T. A. M.; VAN EERDENBURGLB, F. J. C. M. Relationship among estradiol, cortisol and intensity of estrous behavior in dairy cattle. **Theriogenology**, v. 53, p. 1783-1795, 2000.
- MACHADO, G. V.; TORRES, C. A. A.; RUAS, J. R. M.; SANTOS, M. D.; Detecção do estro com auxílio de fêmeas androgenizadas. **Arquivo de Ciência Veterinária e Zootecnia**, v. 1, p. 23-28, 1998.
- MACMILLAN, K. L. Recent advances in the synchronization of estrus and ovulation in dairy cows. **The Journal of Reproduction and Development,** v. 56, p. 42-47, 2010.
- MACMILLAN, K. L.; BURKE, C. R. Effects of oestrous cycle control on reproductive efficiency. **Animal Reproduction Science**, v. 42, p. 307-320, 1996.
- MACMILLAN, K. L.; TAUFA, V. K; BARNES, D. R.; DAY, A. M.; HENRY, R. Detecting estrus in synchronized heifers using *tailpaint* and an aerosol raddle. **Theriogenology**, v. 30, n. 6, p. 1099-1114, 1988.
- MADOZ, L. V.; RABAGLINO, M. B.; MIGLIORISI, A. L.; JAUREGUIBERRY, M.; WALLACE, S. P.; LORENTI, N.; DE LA SOTA, R. L. Association between progesterone concentration and endometrial gene expression in dairy cows. **Domestic Animal Endocrinology,** v. 74, p. 106481, 2021.
- MADUREIRA, A. M. L.; POLSKY, L. B.; BURNETT, T. A.; SILPER, B. F.; SORIANO, S.; SICA A. F.; CERRI, R. L. A. Intensity of estrus following an estradiol-progesterone-based ovulation synchronization protocol influences fertility outcomes. **Journal of Dairy Science**, v. 102, p. 3598-3608. 2019.
- MADUREIRA, A. M. L.; SILPER, B. F.; BURNETT, T. A.; POLSKY, L.; CRUPPE, L. H.; VEIRA, D. M.; VASCONCELOS, J. L. M.; CERRI, R. L. A. Factors affecting expression of

- estrus measured by activity monitors and conception risk of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 98, p. 7003-7014. 2015.
- MADUREIRA, G.; CONSENTINI, C. E.; MOTTA, J. C.; DRUM, J. N.; PRATA, A. B.; MONTEIRO JR. P. L. J.; MELO L. F. GONÇALVES, J.R.S; WILTBANK, M. C.; SARTORI, R. Progesterone-based timed AI protocols for Bos indicus cattle II: reproductive outcomes of either EB or GnRH-type protocol, using or not GnRH at AI. **Theriogenology**, v. 145, p. 86-93. 2020a.
- MADUREIRA, G.; MOTTA, J. C.; DRUM, J. N.; CONSENTINI, C. E.; PRATA, A. B.; MONTEIRO JR, P. L.; MELO, L. F.; ALVARENGA, A. B.; WILTBANK, M. C.; SARTORI, R. Progesterone-based timed AI protocols for Bos indicus cattle I: evaluation of ovarian function. **Theriogenology**, v. 145, p. 126-137. 2020b.
- MANN, G. E.; LAMMING, G. E. Effect of the level of oestradiol on oxytocin-induced prostaglandin F2α release in the cow. **Journal of Endocrinology**, v. 145, p. 175- 180, 1995.
- MAPLETOFT, R. J.; BÓ, G. A.; BARUSELLI, P.S. Control of ovarian function for assisted reproductive technologies in cattle. **Animal Reproduction**, v. 6, p. 114-124, 2009.
- 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, M. O; MOROTTI, F.; DA SILVA, C. B.; JÚNIOR, M. R.; DA 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 of Veterinary Science**, v. 16, p. 367-371. 2015.
- 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, p. 23-33, 1999.
- MARTINEZ, M. F.; ADAMS, G. P.; KASTELIC, J. P.; BERGFELT, D. R.; MAPLETOFI, R. J. Induction of follicular wave emergence for estrus synchronization and artificial insemination in heifers. **Theriogenology**, v, 54, p. 757-769, 2000.
- MARTINS, J. P. N.; POLICELLI, R. K.; NEUDER, L. M.; RAPHAEL, W.; PURSLEY, J. R. Effects of cloprostenol sodium at final prostaglandin F2α of Ovsynch on complete luteolysis and pregnancy per artificial insemination in lactating dairy cows. **Journal of dairy science**, v.94, p. 2815-2824, 2011.
- MARTINS, J. P. N.; WANG, D.; MU, N.; ROSSI, G. F.; MARTINI, A. P.; MARTINS, V. R.; PURSLEY, J. R. Level of circulating concentrations of progesterone during ovulatory follicle development affects timing of pregnancy loss in lactating dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 101,p. 10505-10525. 2018.

- MATTONI, M.; MUKASA-HUGERWA, E.; CECCHINI, G.; SOVANI, S. The reproductive performance of east african (*Bos indicus*) zebu cattle in Ethiopia. 1. Estrous cycle length, duration, behavior and ovulation time. **Theriogenology**, v. 30, n. 5, 1988.
- 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, p. 191–200, 2002.
- MIZUTA, K. Estudo comparativo dos aspectos comportamentais do estro e dos teores plasmáticos de LH, FSH, progesterona e estradiol que precedem a ovulação em fêmeas bovinas Nelore (*Bos taurus indicus*), Angus (*Bos taurus taurus*) e Nelore x Angus (*Bos taurus x Bos taurus taurus*). 2003. 98 f. Tese (doutorado) Universidade de São Paulo, São Paulo.
- MIZUTA, K. Estudo comparativo dos aspectos comportamentais do estro e dos teores plasmáticos de LH, FSH, progesterona e estradiol que precedem a ovulação em fêmeas bovinas Nelore (*Bos taurus indicus*), Angus (*Bos taurus taurus*) e Nelore x Angus (*Bos taurus x Bos taurus taurus*). 2003. 98 f. Tese (doutorado) Universidade de São Paulo, São Paulo.
- MOENTER, S. M.; CARATY, A.; KARSCH, F. J. The estradiol-induced surge of gonadotropin-releasing hormone in the ewe. **Endocrinology**, v. 127, p. 1375-1384, 1990.
- MORAES, J. C. F.; SOUZA, C. J. H.; GONÇALVES, D.; FREITAS, V. J.; JUNIOR, E. S. L. Controle do estro e da ovulação em ruminantes. In: GONSALVES, P. B. D.; FIGUEREDO J. R.; FREITAS V. J. F. **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal.** 2. ed. São Paulo: Roca. p. 33–55. 2008.
- MOREIRA, F.; DE LA SOTA, R. L.; DIAZ, T.; THATCHER, W. W. Effect of day of the estrous cycle at the initiation of a timed artificial insemination protocol on reproductive responses in dairy heifers. **Journal of animal science**, v. 78, p. 1568-1576, 2000.
- MOTTA, J. C.; MADUREIRA, G.; SILVA, L. O.; ALVES, R. L.; SILVESTRI, M.; DRUM, J. N.; CONSENTINI, C. E. C.; PRATA, A. B.; POHLER, K. G.; WILTBANK, M. C.; SARTORI, R. Interactions of circulating estradiol and progesterone on changes in endometrial area and pituitary responsiveness to GnRH. **Biology of Reproduction**, v. 103, p. 643-653. 2020.
- MURAMATSU, M.; INOUE, S. Estrogen receptors: How do they control reproductive and nonreproductive functions? **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 270, n. 1, p. 1-10, 2000.
- MURDOCH, W. J.; VAN KIRK, E. A. Luteal dysfunction in ewes induced to ovulate early in the follicular phase. **Endocrinology**, v.139, p. 3480-3484. 1998.

- National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine (NASEM). **Nutrient Requirements of Beef Cattle**. 8 ed. Washington, DC, USA. Animal Nutrition Series. National Academy Press, 2016. 494p.
- NISHIMURA, T. K.; MARTINS, T.; DA SILVA, M. I.; LAFUENTE, B. S.; DE GARLA MAIO, J. R.; BINELLI, M.; PUGLIESI, G.; SARAN, A N. Importance of body condition score and ovarian activity on determining the fertility in beef cows supplemented with long-acting progesterone after timed-AI. **Anim Reprod Sci.** v. 198, p. 27-36. 2018.
- NIX, J. P.; SPITZER, J. C.; CHENOWETH, P. L. Serum testosterone concentration, efficiency of estrus detection and libido expression in androgenized beef cows. **Theriogenology**, v. 49, p. 1195-1207, 1998.
- NOGUEIRA, E.; SILVA, M. R.; SILVA, J. C. B.; ABREU, U. P. G.; ANACHE, N.A.; SILVA, K. C.; CARDOSO, C. J.T.; SUTOVSKY, P.; RODRIGUES W. B. Timed artificial insemination plus heat I: effect of estrus expression scores on pregnancy of cows subjected to progesterone-estradiol-based protocols. **Animal**, v. 13, p. 2305-2312. 2019.
- NOGUEIRA, E.; SILVA, M. R.; SILVA, J. C. B.; ABREU, U. P. G.; ANACHE, N. A.; SILVA, K. C.; CARDOSO, C. J. T.; SUTOVSKY, P.; RODRIGUES, W.B. Timed artificial insemination plus heat I: effect of estrus expression scores on pregnancy of cows subjected to progesterone-estradiol-based protocols. **Animal.** v. 13, p.2305-2312, 2019.
- NOLASCO, R. M.; EURIDES, D.; BARBOSA, C. P.; DA SIL V A, L. A. F.; FIORAVANTI, M. C. S. Preparo de rufião bovino por desvio lateral do prepúcio em 90° com a linha mediana ventral do abdome. **Ciência Animal Brasileira**, v. 5, p. 93-97, 2004.
- NORONHA, I. M.; COOKE, R. F.; MARTINS, C. F.; OLIVEIRA FILHO, R. V.; POHLER, K. G.; VASCONCELOS, J. L. Administering an additional prostaglandin  $F2\alpha$  injection to Bos indicus beef cows during a treatment regimen for fixed-time artificial insemination. **Animal Reproduction Science**, v. 219. 2020
- ODDE, K. G. A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. **Journal of Animal Science,** v. 68, p. 817-830, 1990.
- ORIHUELA, A. Some factors affecting the behavioural manifestation of oestrus in cattle: a review. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 70, p. 1-16, 2000.
- ORIHUELA, A.; GALINA, C. S.; DUCHATEAU, A. The efficacy of estrus detection and fertility following synchronization with PGF2\_ or Synchro-mate-B in zebu cattle. **Theriogenology**, v. 32, p. 745-753, 1989.
- ORIHUELA, A.; GALINA, C.; ESCOBAR, J.; RIQUELME, E. Estrous behavior following prostaglandin F2\_ injection in zebu cattle under continuous observation. **Theriogenology**, v.19, p. 795-809, 1983.
- PANCARCI, S. M.; JORDAN, E. R.; RISCO, C. A.; SCHOUTEN, M. J.; LOPES, F. L.; MOREIRA, F.; THATCHER, W. W. Use of Estradiol Cypionate in a Presynchronized Timed Artificial Insemination Program for Lactating Dairy Cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 122-131, 2002.

- PEREIRA, M. H. C.; CAPPELLOZZA, B. I.; KLOSTER, A. K. M.; MAMEDES, M.; VASCONCELOS, J. L. M. Evaluation of pregnancy per artificial insemination of dairy animals detected in estrus during the synchronization protocol and assigned to conventional or sexed semen. **Animal Reproduction Science**, p. 257, v. 107324. 2023.
- PEREIRA, M. H. C.; WILTBANK, M. C.; VASCONCELOS, J. L. M. Expression of estrus improves fertility and decreases pregnancy losses in lactating dairy cows that receive artificial insemination or embryo transfer. **Journal Dairy Science**, v.99, p.2237-2247, 2016.
- PERRY, G. A.; SMITH, M. F.; LUCY, M. C.; GREEN, J. A.; PARKS, T. E.; MACNEIL, M. D.; ROBERTS, A.J.; GEARY, T. W. Relationship between follicle size at insemination and pregnancy success. **Proc. Natl. Acad. Sci.** v. 102, p. 5268–5273. 2005.
- 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 heifeirs. **Journal Animal Science**, v. 85, p. 684-689, 2007.
- PERRY, G. A.; SWANSON, O. L.; LARIMORE, E. L.; PERRY, B. L.; DJIRA, G. D.; CUSHMAN, R. A. Relationship of follicle size and concentrations of estradiol among cows exhibiting or not exhibiting estrus during a fixed-time AI protocol. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 48, p. 15-20, 2014.
- PESSOA, G. A.; MARTINI, A. P.; SÁ FILHO, M. F.; RUBIN, M. I. B. Resynchronization improves reproductive efficiency of suckled Bos taurus beef cows subjected to spring-summer or autumn-winter breeding season in South Brazil. **Theriogenology**, v. 122, p. 14-22. 2018.
- 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, p. 1343–1357, 2009.
- PFEIFER, L. F. M.; MOREIRA, E. M.; SILVA, G. M.; SOUZA, V. L.; NUNES, V. R. R.; ANDRADE, J. S.; NEVES, P. M. A.; FERREIRA R. Effect of estradiol cypionate on estrus expression and pregnancy in timed artificially inseminated beef cows. **Livestock Science**, v. 231, p. 1-5. 2020.
- PFEIFER, L. F. M.; MOREIRAA, E. M.; SILVAA, G. M.; SOUZA, V. L.; NUNES, V. R. R.; ANDRADE, J. S.; NEVES, P. M. A.; FERREIRA, R. Effect of estradiol cypionate on estrus expression and pregnancy in timed artificially inseminated beef cows. **Livestock Science**, v. 231, p.1-5, 2020.
- PFEIFER, L. F. M.; RODRIGUES, W. B.; & NOGUEIRA, E. Relationship between body condition score index and fertility in beef cows subjected to timed artificial insemination. **Livestock Science**, v. 248, 2021.
- PHARRISS, B. B.; WYNGARDEN, L. J. The Effect of Prostaglandin F2α on the Progestogen Content of Ovaries from Pseudopregnant Rats. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine.** v. 130, 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\_ or Norgestomet and estradiol valerate. **Theriogenology**, v. 49, p. 667-681, 1998.
- PLASSE, D.; WARNICK, A. C.; KOGER, M. Reproductive behavior of *Bos indicus* females in a subtropical environment. IV. Length of estrous cycle, duration of estrus, time of ovulation, fertilization and embryo survival in grade Brahman heifers. **Journal of Animal Science**, v.30, p. 63-72, 1970.
- PUGLIESI, G.; REZENDE, R.G.; SILVA, J.C.B.; LOPES, E.; NISHIMURA, T.K.; BARUSELLI, P.S.; MADUREIRA, E.H.; BINELLI, M. Uso da ultrassonografia Doppler em programas de IATF e TETF em bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal,** v.41, p.140–150, 2017.
- PUGLIESI, G.; SANTOS, F. B.; LOPES, E.; NOGUEIRA, É.; MAIO, J. R. G.; BINELLI, M. Improved fertility in suckled beef cows ovulating large follicles or supplemented with longacting progesterone after timed-AI. **Theriogenology**, v. 85, p.1239-48. 2016;
- PULLEY S. L.; WALLACE, L. D.; MELLIEON JR. H. I.; STEVENSON J. S. Ovarian characteristics, serum concentrations of progesterone and estradiol, and fertility in lactating dairy cows in response to equine chorionic gonadotropin. **Theriogenology**, v. 79, p. 127-134, 2013.
- PURSLEY, J. R.; MEE, M. O.; WILTBANK, M. C. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2α and GnRH. **Theriogenology**, v. 44, p. 915-923, 1995.
- RAE, D. O.; CHENOWETH, P. J.; GIANGRECO, M. A.; DIXON, P. W.; BENNETT, F. L. Assessment of estrus detection by visual observation and electronic detection methods and characterization of factors associated with estrus and pregnancy in beef heifers. **Theriogenology**, v. 51, p. 1121-1132, 1999.
- RAE, D. O.; CHENOWETH, P. J.; GIANGRECO, M. A.; DIXON, P. W.; BENNETT, F. L. Assessment of estrus detection by visual observation and electronic detection methods and characterization of factors associated with estrus and pregnancy in beef heifers. **Theriogenology**, v. 51, p. 1121-1132, 1999.
- RANTALA, M. H.; MUTIKAINEN, M.; SCHULER, G.; KATILA, T.; TAPONEN, J. Endometrial expression of progesterone, estrogen, and oxytocin receptors and of  $20\alpha$ -hydroxysteroid dehydrogenase and cyclooxygenase II 2 and 5 days after ovulation in induced short and normal estrous cycles in dairy cows. **Theriogenology**, v. 81, p. 1181-1188. 2014.
- 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, p. 277–320, 2001.
- REAMES, P. S.; HATLER, T. B.; HAYES, S. H.; RAY, D. L.; SILVIA, W. J. Differential regulation of estrous behavior and luteinizing hormone secretion by estradiol-17  $\beta$  in ovariectomized dairy cows. **Theriogenology**, v. 75, p. 233–240. 2011.
- REECE, W. O. Fisiologia de Animais Domésticos. 1.ed., São Paulo: Roca, 1996. p. 281-311.

- REESE, S. T.; FRANCO, G. A.; POOLE, R. K.; HOOD, R.; MONTERO, L. F.; OLIVEIRA FILHO, R. V.; COOKE, R. F.; POHLER, K. G. Pregnancy loss in beef cattle: A meta-analysis. **Animal Reproduction Science**, v. 212, p. 106251, 2020.
- RHINEHART, J. D.; ARNETT, A. M.; HIGHTSHOE, R. B.; ANDERSON, L. H. Comparison of the efficiency of estradiol 17 ß, estradiol benzoate, and estradiol cypionate in stimulating atresia of dominant follicles in beef heifers. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 135, 2002.
- RHODES, F. M.; BURKE, C. R.; CLARK, B. A.; DAY, M. L.; MACMILLAN, K. L. Effect of treatment with progesterone and oestradiol benzoate on ovarian follicular turnover in postpartum anoestrous cows and cows which have resumed oestrous cycles. **Animal Reproduction Science**, v. 69, p. 139-150. 2002.
- RIBEIRO FILHO, A. D. L.; FERRAZ, P.A.; RODRIGUES, A. S.; BITTENCOURT, T. C. B. D. 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, p. 501-507. 2013.
- RIBEIRO FILHO, A. L. Indução, sincronização e resincronização do estro e da ovulação em vacas zebuínas. 2001. 133p. Doutorado Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- 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, p. 501-507, 2013.
- RICH, J. J.; NORTHROP, E. J.; LARIMORE, E. L.; PERRY, G. A. Influence of GnRH supplementation at CIDR removal on estrus expression and interval to estrus in beef cattl **Theriogenology**, v. 119, p. 76-79. 2018.
- RICHARDSON, B. N.; HILL, S.L.; STEVENSON, J. S.; DJIRA, G. D.; PERRY, G. A. Expression of estrus before fixed-time AI affects conception rates and factors that impact expression of estrus and the repeatability of expression of estrus in sequential breeding seasons. **Animal Reproduction Science**. v. 166, p. 133-140. 2016.
- ROBINSON, R.; MANN, G.; LAMMING, G.; WATHES, D. Expression of oxytocin, oestrogen and progesterone receptors in uterine biopsy samples throughout the oestrous cycle and early pregnancy in cows. **Reproduction**, v. 122, p. 965-979, 2001.
- RODRIGUES, A. D.; COOKE, R. F.; CIPRIANO, R. S.; SILVA, L. G. T.; CERRI, R. L. A.; CRUPPE, L. H.; MENEGHETTI, M.; POHLER, K. G.; VASCONCELOS, J. L. M. Impacts of estrus expression and intensity during a timed-AI protocol on variables associated with fertility and pregnancy success in *Bos indicus*-influenced beef cows. **Journal Animal Science**. v. 96, p. 236-249. 2018.
- RODRIGUES, A. D.; COOKE, R. F.; CIPRIANO, R. S.; SILVA, L. G. T.; CERRI, R. L. A.; CRUPPE, L. H.; MENEGHETTI, M.; POHLER, K. G.; VASCONCELOS, J. L. M. Impacts of estrus expression and intensity during a timed-AI protocol on variables associated with

- fertility and pregnancy success in Bos indicus-influenced beef cows. **Journal Animal Science**, v.96, p.236-249, 2018.
- RODRIGUEZ-MARTINEZ, H. Role of the oviduct in sperm capacitation. **Theriogenology**. 68 400 (Suppl.):138. 2007.
- ROELOFS, J.; LÓPEZ-GATIUS, F.; HUNTER, R. H. F.; VAN EERDENBURG, F. J. C. M; HANZEN, C. H. When is a cow in estrus? Clinical and practical aspects. **Theriogenology**, v. 74, p. 327–344, 2010.
- ROELOFS, J.; LÓPEZ-GATIUS, F.; HUNTER, R. H. F.; VAN EERDENBURG, F. J. C. M; HANZEN, C. H. 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, p. 2173-2181, 2006.
- RORIE, R. W.; BILBY, T. R.; LESTER, T. D. Application of electronic estrus detection technologies to reproductive management of cattle. **Theriogenology**, v. 57, p. 137-148, 2002.
- RORIE, R. W.; BILBY, T. R.; LESTER, T. D. Application of electronic estrus detection technologies to reproductive management of cattle. **Theriogenology**, v. 57, p. 137-148, 2002.
- 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, p. 81-86, 1959.
- SÁ FILHO, M. F. S.; BALDRIGHI, J. M.; SALES, J. N. S.; CREPALDI, G. A.; CARVALHO, J. B. P.; BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S. Induction of ovarian follicular wave emergence and ovulation in progestin-based timed artificial insemination protocols for Bos indicus cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 129, p. 132-139, 2011.
- SÁ FILHO, M. F.; SANTOS, J. E. P.; FERREIRA, R. M.; SALES, J. N. S.; BARUSELLI, P. S. Importance of estrus on pregnancy submitted to estradiol/progesterone- based timed insemination protocols. **Theriogenology.** v.76, p.455–463, 2011.
- SA FILHO, M. F.; TORRES-JUNIOR, 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.
- SAHU, S. K.; COCKREM, J. F.; PARKINSON, T. J.; LAVEN, R. A. Effects of progesterone inclusion in a gonadotropin–prostaglandin–gonadotropin programme on follicular dynamics and ovulation synchronisation of pasture-based dairy cows with anoestrous. **Research in Veterinary Science,** v. 102, p. 200-205, 2015.
- SAINT-DIZIER, M.; CHASTANT-MAILLARD, S. Towards an automated detection of oestrus in dairy cattle. **Reproduction of Domestic Animals**, v. 47, p.1056-1061, 2012.

- SALES, A.; CAPPELLOZZA, B. I.; VILELA, E.; JÚNIOR, I. C.; SÁ FILHO, O. G.,; VASCONCELOS, J. L. M. Effects of estradiol cypionate dosage and body condition on reproductive performance of Nellore cattle synchronized for timed-artificial insemination. **Theriogenology**, v. 210, p. 207-213. 2023.
- SALES, J. N. S.; BOTTINO, M. P.; SILVA, L. A. C. L.; GIROTTO, R. W.; MASSONETO, J. P. M.; SOUZA, J. C.; BARUSELLI, P. S. Effects of eCG are more pronounced in primiparous than multiparous Bos indicus cows submitted to a timed artificial insemination protocol. **Theriogenology**, v. 86, p. 2290-2295, 2016.
- SALES, J. N. S.; CARVALHO, J. B. P.; CREPALDI, G. A.; CIPRIANO, R. S.; JACOMINI, 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 ovulations in Bos indicus cows submitted to a timed artificial insemination protocol. **Theriogenology**, v. 78, p. 510-516, 2012.
- SANGSRITAVONG, S.; COMBS, D.K.; SARTORI, R.; WILTBANK, M.C. High feed intake increases blood flow and metabolism of progesterone and estradiol-17ß in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 2831-2842, 2002.
- 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.; HAUGHIAN, J. M.; SHAVER, R. D.; ROSA, G. J. M.; WILTBANK, M. C. Comparison of ovarian function and circulating steroids in estrous cycles of Holstein heifers and lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 905-920, 2004.
- SARTORI, R.; MONTEIRO JR, P. L. J.; WILTBANK, M. C. Endocrine and metabolic differences between Bos taurus and Bos indicus cows and implications for reproductive management. **Animal Reproduction** (AR), v. 13, p. 168-181. 2016.
- SAUMANDE, J.; HUMBLOT, P. The variability in the interval between estrus and ovulation in cattle and its determinants. **Animal Reproduction Science**, v. 85, p. 171–182, 2005.
- SENGER, P. **Pathways to pregnancy and parturition.** 2.ed. Washington: Current Conceptions, 2003. 368 p. 3v. ISBN 0965764834.
- SHIMIZU, T.; KREBS, S.; BAUERSACHS, S.; BLUM, H.; WOLF, E.; MIYAMOTO, A. Actions and interactions of progesterone and estrogen on transcriptome profiles of the bovine endometrium. **Physiological Genomics**, v. 42A, p. 290-300, 2010.
- SILPER, B. F.; MADUREIRA, A. M. L.; POLSKY, L. B.; SORIANO, S.; SICA, A. F.; VASCONCELOS, J. L. M.; CERRI, R. L. A. Daily lying behavior of lactating Holstein cows during an estrus synchronization protocol and its associations with fertility. J. Dairy Sci. v. 100, p. 8484–8495. 2017.
- SILVA, A. G.; PINTO, L. M. F.; SILVA, N. D. A.; MATTOS, A. C. D.; AMBRÓSIO, P. H.; DUARTE, K. M. R.; ALVAREZ, R. H.; PUGLIESI, G. Comparison of three doses of estradiol benzoate for synchronization of follicular wave emergence in suckled Bos indicus beef cows. **Animal Reproduction**, v.18. 2021.

- SIMÕES, L. M. S.; ORLANDI, R. E.; MASSONETO, J. P. M.; SCANDIUZZI JR, L. A.; FREITAS, B. G.; BASTOS, M. R.; SOUZA, J.C.; SALES, J. N. S. Exposure to progesterone previous to the protocol of ovulation synchronization increases the follicular diameter and the fertility of suckled Bos indicus cows. **Theriogenology**, v. 116, p. 28-33. 2018.
- SIROIS, J.; FORTUNE, 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.
- SOLANO, J.; ORIHUELA, A.; GALINA, C. S.; MONTIEL, F.; GALINDO, F. Relationships between social behaviour and mounting activity of Zebu cattle (Bos indicus). **Applied Animal Behaviour Science**, v. 94, p.197–203, 2005.
- SOUZA, A. H.; CUNHA, A. P.; CARAVIELLO, D. Z.; WILTBANK, M. C. Profiles of circulating estradiol-17β after different estrogen treatments in lactating dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v. 2, p. 224-232, 2005.
- SOUZA, A. H; SILVA, E. P. B.; CUNHA, A. P.; GUMEN, A.; AYRES, H.; BRUSVEEN, D. J.; GUENTHER, J. N.; WILTBANK M. C. Ultrasonographic evaluation of endometrial thickness near timed AI as a predictor of fertility in high-producing dairy cows. **Theriogenology**, v. 75, p. 722–733. 2011.
- STEVENSON, J. S.; SMITH, M. W.; JAEGER, J. R.; CORAH, L. R.; LEFEVER, D. G. Detection of estrus by visual observation and radiotelemetry in peripubertal estrussynchronized beef heifers. **Journal Animal Science**, v. 74, p. 729-735, 1996.
- TAPONEN, J.; HJERPPE, P.; KOPRA, E.; RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ, H.; KATILA, T.; KINDAHL, H. Premature prostaglandin F2α secretion causes luteal regression in GnRH-induced short estrous cycles in cyclic dairy heifers. **Theriogenology**, v. 60, p. 379-393. 2003.
- TARAZONA, A. M.; CEBALLOS, M. C.; BROOM, D. M. Human Relationships with Domestic and Other Animals: One Health, One Welfare, One Biology. **Animals**, v. 10, p. 43-64, 2020.
- THOMAS, J. M.; POOCK, S. E.; ELLERSIECK, M. R.; SMITH, M. F.; PATTERSON, D. J. Delayed insemination of non-estrous heifers and cows when using conventional semen in timed artificial insemination. **Journal Animal Science**, v.92, p. 4189-97, 2014.
- TORRES-JÚNIOR, J. R. S.; PENTEADO, L.; SALES, J. N. S.; SÁ FILHO, M. F.; AYRES, H.; BARUSELLI P. S. A comparison of two different esters of estradiol for the induction of ovulation in an estradiol plus progestin-based timed artificial insemination protocol for suckled Bos indicus beef cows. **Anim Reprod Sci**, v.151, p. 9-14, 2014.
- TREVISOL, E.; ACKERMANN, C.L.; DESTRO, F.C.; AMARAL, J.B. Luteólise em bovinos: revisão. **Revista Brasileira Reprodução Animal,** v. 37, p. 29-36, 2013.
- 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, p. 3141-3151, 1995.

- VACA, L. A.; GALINA, C. S.; FERNANDEZ-BACA, S.; ESCOBAR, F. J.; RAMIREZ, B.; Oestrous cycles, oestrous and ovulation of the zebu in the Mexican tropics. **Veterinary Record**, v. 117, p. 434-437, 1995.
- VAN VLIET, J. H.; VAN EERDENBURG, F. J. C. M.; Sexual activities of oestrous detection in lactating Holstein cows. **Applied Animal Behavior Science**, v. 50, p. 57-69, 1996.
- VASCONCELOS, J. L. M.; JARDINA, D. T. G.; FILHO, O. G. S.; ARAGON, F. L.; VERAS, M. B. Comparison of progesterone-based protocols with gonadotropin-releasing hormone or estradiol benzoate for timed artificial insemination or embryo transfer in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v. 75, p. 1153-1160, 2011.
- VASCONCELOS, J. L. M.; SILCOX, R. W.; ROSA, G. J. M.; PURSLEY, J. R.; WILTBANK, M. C. Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v.52, p. 1067-1078, 1999.
- VASCONCELOS, J.L.M.; SANGSRITAVONG, S.; TSAI, S.J.; WILTBANK, M.C. Acute reduction in serum progesterone concentrations after feed intake in dairy cows. **Theriogenology**, v. 60, p. 795-807, 2003.
- VEDOVATTO, M.; LECCIOLLI, R. B.; LIMA, E. A.; ROCHA, R. F. A. T.; COELHO, R. N.; MORIEL, P.; SILVA, LG.; FERREIRA, L. C. L.; SILVA A. F.; REIS W. V. A.; OLIVEIRA D. M.; FRANCO, G. L. Impacts of body condition score at beginning of fixed-timed AI protocol and subsequent energy balance on ovarian structures, estrus expression, pregnancy rate and embryo size of *Bos indicus* beef cows. **Livest Sci**, v. 256. 2021.
- WATHES, D.C.; FENWICK, M.; CHENG, Z.; BOURNE, N.; LLEWELLYN, S.; MORRIS, D.G.; KENNY, D.; MURPHY, J.; FITZPATRICK, R. Influence of negative energy balance on cyclicity and fertility in the high producing dairy cow. **Theriogenology**, v. 68, p. S232-S241, 2007.
- WHITE, F. J.; WETTEMANN, R. P; LOOPER, M. L.; PRADO, T. M.; MORGAN, G. L. Seasonal effects on estrous behavior and time of ovulation in nonlactating beef cows. **Journal of Animal Science**, v. 80, p. 3053-3059, 2002.
- WILTBANK, J. N. Research needs in beef cattle reproduction. **Journal of Animal Science**, v. 31, p. 755-762, 1970.
- WILTBANK, M. C.; BAEZ, G. M.; VASCONCELOS, J. L. M.; PEREIRA, M.; SOUZA, A. H.; SARTORI, R.; PURSLEY, J. R. The physiology and impact on fertility of the period of proestrus in lactating dairy cows. **Animal Reproduction**, v. 11, p. 225-236, 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.

#### 10 ANEXOS



#### Universidade Federal da Bahia Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia Comitê de Ética no Uso de Animais

Av. Milton Santos, 500 - Ondina-40170-110 Salvador-BA Fone: (071) 3283-6701/6702/6718 E-mail: <u>ceua.emevz@ufba.br</u>



#### CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada ""Influência do GnRH, administrado no momento da inseminação, sobre a fertilidade de vacas Nelore com distinta intensidade de expressão do estro submetidas a IATF", registrada com o nº 24/2022, sob a responsabilidade do(a) Pesquisador(a)/Professor(a) Dr. Antônio de Lisboa Ribeiro Filho, e que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino), encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal da Bahia, em reunião de 14/07/2023.

Finalidade	( )Ensino (X) Pesquisa ( )Extensão
Vigência da autorização	01/09/2022 a 01/09/2024
Espécie/linhagem/raça	Bos taurus indicus (bovino)
Nº de animais	150
Peso/Idade	450kg / 3-5 anos
Sexo	Fêmeas
Origem	Os animais que serão utilizados pertencem a propriedades privadas parceiras do Setor de Reprodução Animal e Obstetrícia Veterinária (RAOV) do Hospital de Medicina Veterinária e Zootecnia da UFBA. O sêmen que será utilizado será cedido pela central ABS Pecplan por meio de uma parceiria com o RAOV.

**Tabela 5-** Estatística descritiva da condição de escore corporal das categorias reprodutivas.

Categoria	N	Média	Erro padrão
Multípara	417	2.82	0.01
Novilha	215	2.89	0.02
Primípara	138	2.72	0.02

**Tabela 6-** Comparação escore de condição corporal entre as categorias reprodutivas.

Cat. 1	Cat. 2	N1	N2	Statistic	р	p.adj
Multípara	Novilha	417	215	3.11	1.88e- 3	5.63e- 3
Multípara	Primípara	417	138	-4.48	7.46e- 6	6 2.24e- 5
Novilha	Primípara	138	142	-6.44	1.20e-10	3.60e-10

Resultados do teste de Dunn (pós-Kruska-Wallis), com a correção de Bonferroni.

**Tabela 7**– Comparação dos dias pós parto entre as categorias reprodutivas.

Categoria	N	Média	Erro padrão	p-valor
Multípara	540	67.2	67.2±1.05	
Primípara	138	73.7	73.7±2.32±	4.197e-05

P-valor é referente ao teste de Mann-Whitney.

**Tabela 8** Comparação da taxa de detecção do estro (TDE) das fêmeas, estratificadas em diferentes categorias reprodutivas.

Tuestermenter	Sem Estro	Com Estro	Total
Tratamentos -	$N^o$	N°	Total
Novilha	70	187	257
Primípara	53	85	138
Multípara	224	434	658
Total	347	706	1.053

Valor	Graus de liberdade	P
3.4082	2	0.1819

**Tabela 9-** Comparação da taxa de prenhez na IATF (TPIATF) das fêmeas, estratificadas em diferentes categorias reprodutivas.

Tratamentos	Prenhe	Vazia	- Total
	N°	N°	- Iotai
Novilha	168	89	257
Primípara	86	52	138
Multípara	400	258	658
Total	654	399	1.053

Valor	Graus de liberdade	P
5.8267	2	0.05429

**Tabela 10-** Comparação da taxa de prenhez no repasse (TPRep) das fêmeas, estratificadas em diferentes categorias reprodutivas.

Tratamentos	Prenhe	Vazia	- Total
	N°	N°	Total
Novilha	59	30	89
Primípara	32	20	52
Multípara	181	77	285
Total	272	127	426

Teste de  $\chi^2$ .

Valor	Graus de liberdade	P
2.6881	2	0.2608

**Tabela 11-** Comparação taxa de prenhez na estação reprodutiva (TPFinal) das fêmeas, estratificadas em diferentes categorias reprodutivas.

Tratamentos	Prenhe	Vazia	- Total
	N°	N°	Total
Novilha	227	50	282
Primípara	116	22	138
Multípara	895	106	658
Total	900	180	1.080

Valor	Graus de liberdade	P
0.21764	2	0.8969

**Tabela 12-** Comparação da taxa de prenhez na IATF (TPIATF) da categoria novilha, estratificada quanto a presença ou não do estro.

Tratamentos	Prenhe	Vazia	Total
Tratamentos _	N°	N°	- Total
Com estro	134	53	187
Sem estro	34	36	70
Total	168	89	257

Valor	Graus de liberdade	P
10.994	1	0.0009143

**Tabela 13-** Comparação da taxa de prenhez no repasse (TPRep) da categoria novilha, estratificada quanto a presença ou não do estro.

Tratamentos _	Prenhe	Vazia	. Total
Tratamentos _	N°	N°	Total
Com estro	34	15	49
Sem estro	25	15	40
Total	59	30	89

Teste de  $\chi^2$ .

Valor	Graus de liberdade	P
1.0649	1	0.3021

**Tabela 14-** Comparação da taxa de prenhez na estação reprodutiva (TPFinal) da categoria novilha, estratificada quanto a presença ou não do estro.

Tratamentos	Prenhe	Vazia	. Total
Tratamentos _	N°	N°	. Iotai
Com estro	169	18	187
Sem estro	59	7	70
Total	227	25	257

Valor	Graus de liberdade	P
0.054575	1	0.8153

**Tabela 15-** Comparação da taxa de prenhez na IATF (TPIATF) da categoria primípara, estratificada quanto à presença ou não do estro.

Tratamentos _	Prenhe	Vazia	. Total
Tratamentos _	N°	N°	Total
Com estro	53	32	85
Sem estro	33	20	53
Total	86	52	138

Valor	Graus de liberdade	P
0	1	1

**Tabela 16-** Comparação da taxa de prenhez no repasse (TPRep) da categoria primípara, estratificada quanto à presença ou não do estro.

Tratamentos	Prenhe	Vazia	. Total
	N°	N°	- 10tai
Com estro	19	13	32
Sem estro	13	7	20
Total	32	20	52

Teste de  $\chi^2$ .

Valor	Graus de liberdade	P
0.012695	1	0.9103

**Tabela 17-** Comparação da taxa de prenhez na estação reprodutiva (TPFinal) da categoria primípara, estratificada quanto à presença ou não do estro.

Tratamentos	Prenhe	Vazia	- Total
	Nº	N°	- Iotai
Com estro	71	14	85
Sem estro	45	8	53
Total	116	22	138

Valor	Graus de liberdade	P
4.5997e-31	1	1

**Tabela 18-** Comparação da taxa de prenhez na IATF (TPIATF) da categoria multípara, estratificada quanto a presença ou não do estro

Trotomontos	Prenhe	Vazia	Total
Tratamentos	N°	N°	Total
Com estro	296	138	434
Sem estro	104	120	224
Total	400	258	658
Teste de $\chi^2$ .			
Valor	Graus de	liberdade	P
28.481		1	9.46e-08

**Tabela 19-** Comparação ad taxa de prenhez no repasse (TPRep) da categoria multípara, estratificada quanto a presença ou não do estro.

Tratamentos	Prenhe	Vazia	Total
	N°	N°	. I Otal
Com estro	109	29	138
Sem estro	72	48	120
Total	181	77	258

Valor	Graus de liberdade	P
7.5689	1	0.005938

**Tabela 20**— Comparação da taxa de prenhez na estação reprodutiva (TPFinal) da categoria multípara, estratificada quanto a presença ou não do estro.

Tratamentos	Prenhe	Vazia	Total
	Nº	N° (%)	
Com estro	386	48	434
Sem estro	166	58	224
Total	552	106	658

Valor	Graus de liberdade	P
21.602	1	3.355e-06