WALTER ANTONIO GONÇALES JUNIOR

**Estudos para avaliar a eficiência do protocolo de ressincronização
super precoce**

São Paulo

2019

WALTER ANTONIO GONÇALES JUNIOR

**Estudos para avaliar a eficiência do protocolo de ressincronização
super precoce**

Dissertação/Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Departamento:

Reprodução Animal

Área de concentração:

Reprodução Animal

Orientador:

Prof. Dr. Pietro Sampaio Baruselli

De acordo: _____

Orientador

São Paulo
2019

Obs: A versão original encontra-se disponível na Biblioteca da FMVZ/USP

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T. 3830
FMVZ

Gonçalves Junior, Walter Antonio
Estudos para avaliar a eficiência do protocolo de ressincronização super precoce /
Walter Antonio Gonçalves Junior. – 2019.
78 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia. Departamento de Reprodução Animal, São Paulo, 2019.

Programa de Pós-Graduação: Reprodução Animal.

Área de concentração: Reprodução Animal.

Orientador: Prof. Dr. Pietro Sampaio Baruselli.

1. Ultrassonografia color doppler. 2. Diagnóstico de gestação. 3. Ressincronização. 4.
IATF. 5. Eficiência reprodutiva. I. Título.

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Estudos para avaliar a eficiência do protocolo de ressincronização super precoce", protocolada sob o CEUA nº 8454080319 (ID 006448), sob a responsabilidade de **Pietro Sampaio Baruselli e equipe; Walter Antonio Gonçalves Junior** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) na reunião de 17/04/2019.

We certify that the proposal "Studies to evaluate the efficiency of the super early resynchronization protocol", utilizing 3500 Bovines (3500 females), protocol number CEUA 8454080319 (ID 006448), under the responsibility of **Pietro Sampaio Baruselli and team; Walter Antonio Gonçalves Junior** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo) (CEUA/FMVZ) in the meeting of 04/17/2019.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de **03/2019** a **08/2019**

Área: **Reprodução Animal**

Origem: **Animais de proprietários**

Espécie: **Bovinos**

sexo: **Fêmeas**

idade: **14 a 50 meses**

N: **3500**

Linhagem: **Belore e SRD**

Peso: **280 a 450 kg**

Local do experimento: Aquidauana MS, Bonito MS, Porto Murtinho MS e Alto Paraíso PR

São Paulo, 24 de junho de 2019

Profa. Dra. Anneliese de Souza Traldi

Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

Roseli da Costa Gomes

Secretária

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: GONÇALES JUNIOR, Walter Antonio

Título: **Estudos para avaliar a eficiência do protocolo de ressincronização super precoce**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Para Walter Antonio Gonçalves e Claudia Maria Souto Gonçalves meus heróis que sempre me apoiaram e torceram por mim em todos os sentidos.

Por todas as ensinamentos de honestidade, respeito e perseverança dos quais nunca esquecerei e sempre estarei aberto aos novos conselhos que em todas as vezes me fizeram progredir.

A vocês eu dedico!!!

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Pietro Sampaio Baruselli por ter me aceitado como orientado. Muito obrigado por todos os ensinamentos. Tanto na carreira científica quanto na vida será sempre um exemplo para mim.

À toda a família Gonçalves e Souto, que estiveram me acompanhando de perto nesse processo, meu muito obrigado.

À Família Agroçales, que foi e sempre será parte da minha história, como exemplo que o trabalho duro sempre será recompensado.

Em especial aos meus irmãos Aline Souto Gonçalves e Pedro Souto Gonçalves que apesar da distância, nunca mediram esforços para me ajudar em todos os momentos.

Aos primos Gustavo H. Balbino Gonçalves e Matheus E. Gonçalves (Macio) que incondicionalmente dedicaram sempre que possível seu tempo ao meu favor.

Aos amigos Renato Giroto, Arthur Guerra e Neto das RG Genética pelos ensinamentos e conselhos profissionais e pessoais.

Aos amigos professores da graduação na Universidade Estadual de Maringá – UEM (Antonio Campanha Martinez, Welber Zanetti, Adriana A. Pinto, Marilda Tafarel) que sempre acreditaram em mim e incentivaram a seguir firme na vida profissional.

A todos os amigos da UEM, Maycon Araújo Ruivo (Gambá), Augusto Fontana (Arba), Gabriel Guse (Bomba), Matheus B Amim (Quatá), Matheus Nakatani (Buda), Marcos H. A. Colli (Martchorla), Mateus Silva (Ruts), Gabriel Menegon (Purunga), Dannyel Camilo (Danyboy), Bruno B. Marangoni (Careca) Gabriel Fabris (Fabris), Gustavo Bueno, Gabriel Barbeiro (Barbeiro), Rafael Carvalho (Mineiro), Joaquim Moleirinho (Kinkão), Renato Paiola (Toru), Dicezar Pereira (Lião), João Marcelo (Batukada) e tantos outros que preencheriam várias páginas, sempre cumprindo o papel de amigos em todos os momentos da graduação.

Aos piétrinhos Marcos H. A. Colli (Marcão), Romulo Germano (Doidão), Rodolfo Mingotti (Badá), Flávia Elliff (Fraba), Laísa Garcia (Doidinha) Guilherme Zanatta (Gaúcho), Bernardo Marcozzi (Bê), Laís Angelo, Bruna Catussi, e todos os demais que sempre demonstraram enorme companheirismo e pensamento de trabalho em grupo, auxiliando de todas as formas nesse período de mestrado, serei eternamente grato a vocês e estarei pronto para quando precisarem de minha ajuda.

À minha namorada Nágila Vilela, pelo companheirismo e auxílio nessa jornada, meu muito obrigado.

Aos primos de São Paulo Maurício de Paula e Daniela Trivelato que sempre me apoiaram de todas as maneiras possíveis durante este período.

Aos amigos Dado, Giriboia, Gui, Digão, João Carioca, Fabrício pela amizade e conselhos durante o mestrado.

À Harumi que sempre me auxiliou nos compromissos da pós-graduação, fazendo muito além de sua obrigação para me ajudar.

Às empresas Nova Aliança, CriaFertil, Ourofino, Ceva, Agener União, Biogênese e todas as outras que de alguma forma auxiliaram neste estudo.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pela bolsa cedida.

“O importante não é o final, e sim a jornada”. David Samuel

“Concentre-se naquilo que você é bom, delegue todo o resto”. Steve Jobs

RESUMO

GONÇALES JUNIOR, W. A. **Estudos para avaliar a eficiência do protocolo de ressincronização super precoce**. 2019. 78 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

O objetivo do presente estudo foi avaliar os fatores que afetam a eficiência do protocolo de ressincronização super precoce em que o diagnóstico da gestação é realizado com ultrassonografia *color doppler*. No experimento 1, objetivou-se avaliar a eficiência do uso da P4 injetável (Afisterone ou Sincrogest) em novilhas (50mg IM) e vacas (100mg IM) no início do protocolo de ressincronização associado a um dispositivo intravaginal de P4 no dia 14 após a IATF. Não houve efeito de tratamento na taxa de prenhez à ressincronização de novilhas Nelore [Controle 34,7% (61/176); Afisterone 38,0% (70/184) e Sincrogest 38,4% (63/164); $P = 0,53$], em novilhas cruzadas Nelore x Angus [Controle 44,9% (35/78); Afisterone 48,4% (44/91) e Sincrogest 43,2% (35/81); $P = 0,53$] e em vacas [Controle 34,8% (116/333), Afisterone 31,2% (99/317) e Sincrogest 35,5% (118/332); $P = 0,19$]. Ainda, verificou-se maior taxa de prenhez das novilhas com maior escore de trato reprodutivo (ETR; escala de 1 a 5), indicando que novilhas com maior desenvolvimento uterino e ovariano apresentam maior taxa de prenhez [ETR 3 = 49,1% (54/110) vs ETR 4 = 57,3% (229/400) vs ETR 5 = 65,2% (137/210); $P = 0,01$]. Houve efeito da manifestação de estro na taxa de prenhez entre a retirada do dispositivo de P4 e a IATF na ressincronização em novilhas [presença de estro = 52,2% (96/184) vs. ausência de estro 27,3% (18/166); $P = 0,0003$] e em vacas [presença de estro = 43,3% (116/268) vs. ausência de estro 19,1% (39/204); $P = 0,0001$]. No experimento 2, objetivou-se comparar a eficiência do modelo de ressincronização super precoce (com início da ressincronização 14 dias após a IATF) em relação ao modelo precoce (com início da ressincronização 22 dias após a IATF) em novilhas Nelore e em relação ao modelo tradicional (com início da ressincronização 30 dias após a IATF) em novilhas cruzadas Nelore x Angus. Não houve efeito de modelo de ressincronização precoce na taxa de prenhez da primeira IATF [super precoce = 52,9% (176/333) vs precoce = 51,7% (182/352); $P = 0,78$], da segunda IATF [super precoce = 46% (52/113) e precoce = 42,4% (72/170); $P = 0,54$] e na taxa de prenhez acumulada [super precoce = 68,5% (228/333) e precoce = 72,2% (254/352); $P = 0,29$]. Houve efeito na taxa de prenhez a primeira

IATF entre os modelos super precoce e tradicional [super precoce = 57,9% (103/178) e tradicional = 41,2% (68/165); $P= 0,0016$]. Entretanto, não houve efeito do modelo de ressincronização na taxa de prenhez da segunda IATF [(super precoce = 39,1% (25/64) e tradicional = 32% (31/97); $P= 0,17$]. Ao final, houve efeito do modelo de ressincronização na prenhez acumulada [(super precoce = 71,9% (128/178) e tradicional = 60% (99/165); $P= 0,02$]. Conclui-se que o tratamento com P4 injetável no início do protocolo de ressincronização super precoce não aumentou a taxa de prenhez a IATF de novilhas Nelore, de novilhas cruzadas (Nelore x Angus) e de vacas Nelore. Ainda, o modelo de ressincronização super precoce apresenta eficiência semelhante aos modelos precoce e tradicional.

Palavras-chave: Ultrassonografia *color doppler*, diagnóstico de gestação, ressincronização, IATF, eficiência reprodutiva.

ABSTRACT

GONÇALES JUNIOR, W. A. **Studies to evaluate the efficiency of the super precocious resynchronization protocol.** 2019. 78 p. Dissertation (Master of Science) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

The objective of the present study was to evaluate the factors that affect the efficiency of the super precocious resynchronization protocol, in which pregnancy diagnosis is performed using Color Doppler ultrasound. On experiment 1, the objective was to evaluate the efficiency of the use of injectable P4 (Afisterone or Sincrogest) in heifers (50mg I.M.) and cows (100mg I.M.) at the onset of the resynchronization protocol associated with an intravaginal P4 device on day 14 post-TAI. No treatment effect was observed for pregnancy rate at resynchronization of Nellore heifers [Control 34.7% (61/176); Afisterone 38.0% (70/184) and Sincrogest 38.4% (63/164); $P = 0.53$], in crossbred Nellore x Angus heifers [Control 44.9% (35/78); Afisterone 48.4% (44/91) and Sincrogest 43.2% (35/81); $P = 0.53$] and cows [Control 34.8% (116/333), Afisterone 31.2% (99/317) and Sincrogest 35.5% (118/332); $P = 0.19$]. In addition, a higher pregnancy rate was observed for heifers with a higher reproductive tract scoring (RTS, scale of 1 to 5), indicating that heifers with greater uterine and ovarian development have higher pregnancy rate preñez [RTC 3 = 49.1% (54/110) vs RTS 4 = 57.3% (229/400) vs RTS 5 = 65.2% (137/210); $P = 0.01$]. There was an effect of estrus on pregnancy rate manifestation between P4 device removal and resynchronization TAI for heifers [presence of estrus = 52.2% (96/184) vs. absence of estrus 27.3% (18/166); $P = 0.0003$] and cows [presence of estrus = 43.3% (116/268) vs. absence of estrus 19.1% (39/204); $P = 0.0001$]. On experiment 2, the objective was to evaluate the efficiency of the super precocious resynchronization model (beginning resynchronization 14 days post-TAI) in relation to the precocious model (beginning resynchronization 22 days post-TAI) in Nellore heifers and in relation to the traditional model (beginning resynchronization 30 days post-TAI) in crossbred Nellore x Angus heifers. No effect of model of precocious resynchronization was observed on pregnancy rate of the first TAI [super precocious = 52.9% (176/333) vs precocious = 51.7% (182/352); $P = 0.78$], of the second TAI [super precocious = 46% (52/113) and precocious = 42.4 (72/10); $P = 0.54$] and accumulated pregnancy rate [super precocious = 68.5% (228/333) and precocious = 72.2% (254/352); $P = 0.29$]. There was

an effect on pregnancy rate of the first TAI between the super precocious and traditional models [super precocious = 57.9% (103/178) and traditional = 41.2% (68/165); $P= 0.0016$]. However, no effect of the model of resynchronization was observed on the pregnancy rate of the second TAI [(super precocious = 39.1% (25/64) and traditional = 32% (31/97); $P= 0.17$]. Finally, there was an effect of the model of resynchronization on accumulated pregnancy rate [(super precocious = 71.9% (128/178) and traditional = 60% (99/165); $P= 0.02$]. It is concluded that treatment with injectable P4 at onset of the super precocious resynchronization protocol did not improve pregnancy rate of TAI in Nellore heifers, Crossbred (Nellore x Angus) heifers and Nellore cows. Additionally, the super precocious resynchronization model presents similar efficiency to the precocious and traditional models.

Keywords: Color Doppler ultrasound, pregnancy diagnosis, resynchronization, TAI, reproductive efficiency.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema demonstrando o padrão de crescimento de ondas foliculares e um longo período para a ovulação devido à baixa frequência de pulsos de LH. Demonstra ainda o padrão de crescimento folicular de um animal submetido ao tratamento com progesterona exógena no pós-parto, aumentando a frequência de pulsos de LH retornando a fêmea à ciclicidade..... 26

Figura 2 - Esquema demonstrando as fases da pré-puberdade, peripuberdade e puberdade em novilhas. Na pré-puberdade a novilha sofre um *feedback* negativo do E2 e baixa pulsatilidade de GnRH e LH, não suficiente para formar um folículo dominante e induzir a ovulação. Na peripuberdade a metabolização do estradiol é aumentada, assim diminuindo o bloqueio pelo estradiol, mas ainda não há GnRH e LH suficiente para a ovulação. Na fase da puberdade, o *feedback* do E2 é superado, assim o LH em maior pulsatilidade consegue formar um folículo dominante capaz de induzir o feedback positivo pelo mesmo estradiol ao hipotálamo, promovendo um pico de GnRH e LH, culminando na ovulação..... 27

Figura 3 - Esquema demonstrando os três modelos de ressincronização: tradicional com 40 dias de intervalo entre inseminações; precoce com 32 dias de intervalo entre inseminações; e o super precoce com 24 dias de intervalo entre inseminações..... 33

Figura 4 - Modelo hipotético demonstrando como a administração de P4 injetável no início do protocolo de ressincronização super precoce pode ajudar na sincronização de uma nova onda de crescimento folicular..... 36

Figura 5 - Delineamento do Experimento 1A, demonstrando os três grupos de tratamentos com diferentes fontes de P4 injetável, uma de longa ação (Sincrogest [n=164]) e uma de curta ação (Afisterone [n=184]), além do grupo controle (Somente disp [n=176])..... 38

Figura 6 - Classificação do fluxo sanguíneo presente no CL na ultrassonografia. Os animais são considerados gestantes com escore 2 no fluxo periférico e 1 no fluxo central..... 39

Figura 7 - Delineamento do Experimento 1B, demonstrando os três grupos de tratamentos com diferentes fontes de P4 injetável, uma de longa ação (Sincrogest [n=81]) e uma de curta ação (Afisterone [n=92]), além do grupo controle (Somente disp [n=80])..... 41

Figura 8 - Delineamento do Experimento 1C, demonstrando os três grupos de tratamentos com diferentes fontes de P4 injetável, uma de longa ação (Sincrogest [n=332]) e uma de curta ação (Afisterone [n=317]), além do grupo controle (Somente disp [n=333]) 42

Figura 9 – Delineamento do Experimento 2A, demonstrando um mesmo lote dividido em dois diferentes protocolos de ressincronização: Ressinc 14 (n= 333) e Ressinc 22 (n= 352) para verificar a eficiência em taxa de concepção da segunda IATF de cada modelo..... 62

Figura 10 – Delineamento do Experimento 2B, demonstrando um mesmo lote dividido em dois diferentes protocolos de ressincronização: Ressinc 14 (n= 178) e Ressinc 30 (n= 165) para verificar a eficiência da taxa de concepção na segunda IATF de cada modelo..... 63

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Gráfico demonstrando concentração plasmática de LH em novilhas na peripuberdade no quadrante superior e, no inferior, concentração plasmática de animais na mesma fase, porém sob tratamento com o progestágeno norgestomet, via implante auricular. O implante com norgestomet aumentou a pulsatilidade do LH em sua permanência e ainda mais quando foi removido ao final do oitavo dia, trazendo condições ovulatórias aos animais tratados..... 28

Gráfico 2 - Diâmetro do maior folículo no D14 de acordo com a presença de CL no início do protocolo. Houve tendência ($P= 0,09$) dos animais sem a presença de CL apresentarem maior diâmetro do maior folículo no D14..... 45

Gráfico 3 - Taxa de expressão de estro (D24) e taxa de prenhez à ressincronização de animais classificados com ou sem CL no D14. Houve efeito da presença de CL no D14 na expressão de estro, sendo os animais sem CL com maior taxa de estro, porém não houve efeito da presença de CL na taxa de prenhez à ressincronização..... 46

Gráfico 4 – Taxa de prenhez à ressincronização de novilhas Nelore submetidas à três tratamentos no início do protocolo de ressincronização super precoce. Não houve efeito de tratamento na taxa de prenhez..... 47

Gráfico 5 – Taxa de prenhez à ressincronização de novilhas Nelore de acordo com o tamanho maior folículo presente nos ovários no D14. Houve efeito ($P= 0,03$), demonstrando maior taxa de prenhez nos animais com $MF \geq 8,5\text{mm}$ 48

Gráfico 6 – Taxa de prenhez à ressincronização de novilhas Nelore submetidas a três tratamentos no início do protocolo de ressincronização super precoce. Houve interação entre os tratamentos na taxa de prenhez à ressincronização de acordo com o diâmetro do MF no D14..... 49

Gráfico 7 – Taxa de prenhez aos 22 dias (DGD22) via diagnóstico Doppler de novilhas cruzadas submetidas a três tratamentos no início do protocolo de ressincronização super precoce. Houve efeito de ETR na taxa de prenhez aos 22 dias (DGD22), determinando maiores taxas aos animais com melhores ETR's..... 50

Gráfico 8 – Taxa de prenhez aos 30 dias (DG30) via diagnóstico modo B, de novilhas cruzadas submetidas a três tratamentos no início do protocolo de ressincronização super precoce. Houve efeito de ETR na taxa de prenhez aos 30 dias (DG30), determinado maiores taxas aos animais com maiores ETR's..... 51

Gráfico 9 – Taxa de falso positivo entre os diagnósticos de gestação aos 22 e 30 dias, de novilhas cruzadas submetidas a três tratamentos no início do protocolo de ressincronização super precoce. Houve efeito tercil de fluxo (TF), demonstrando que quanto maior o fluxo sanguíneo presente no CL no D22, menor é a taxa de falso positivo..... 52

Gráfico 10 – Diâmetro do MF do FDD22 de acordo com o ETR de novilhas cruzadas submetidas a três tratamentos no início do protocolo de ressincronização super precoce. Houve efeito ETR demonstrando maiores diâmetros do MF no D22 em animais com maiores ETR's.....	53
Gráfico 11 – Taxa de prenhez à ressincronização de novilhas cruzadas submetidas a três tratamentos no início do protocolo de ressincronização super precoce. Não houve efeito de tratamento na taxa de prenhez à ressincronização.....	54
Gráfico 12 – Taxa de prenhez à ressincronização de acordo com a expressão de estro no dia 24 de novilhas cruzadas submetidas a três tratamentos no início do protocolo de ressincronização super precoce. Houve efeito de expressão de estro, demonstrando taxas de prenhez superiores em animais com estro.....	55
Gráfico 13 – Taxa de prenhez no DG doppler, DG30, ressincronização e acumulada de novilhas cruzadas submetidas a três tratamentos no início do protocolo de ressincronização super precoce. Não houve efeito de prenhez em nenhuma das avaliações.....	56
Gráfico 14 – Taxa de expressão de estro de vacas pluríparas e primíparas Nelore. Houve efeito de categoria, demonstrando maior expressão de estro nas pluríparas	57
Gráfico 15 – Taxa de prenhez à ressincronização de vacas pluríparas e primíparas Nelore. Não houve efeito de taxa de prenhez à ressincronização de acordo com tratamento no D14.....	58
Gráfico 16 – Taxa de prenhez à ressincronização de vacas pluríparas e primíparas Nelore de acordo com a demonstração ou não de estro entre os dias 22 e 24. Houve efeito de taxa de prenhez à ressincronização de acordo com a expressão de estro	59
Gráfico 17 – Taxa de animais submetidos à ressincronização por diferentes modelos de ressincronização. Houve efeito de taxa de animais ressincronizados, sendo o grupo Ressinc 22 superior ao grupo Ressinc 14.....	65
Gráfico 18 – Taxa de prenhez e falso positivo de novilhas Nelore submetidas a dois modelos de ressincronização. Não houve efeito na taxa de prenhez na 1ª e 2ª IATF e prenhez acumulada dentre os modelos de ressincronização utilizados.....	66
Gráfico 19 – Taxa de animais submetidos à ressincronização por diferentes modelos de ressincronização. Houve efeito de taxa de animais ressincronizados, sendo o grupo Ressinc 30 superior ao grupo Ressinc 14.....	67
Gráfico 20 – Taxa de prenhez e falso positivo de novilhas cruzadas submetidas a dois modelos de ressincronização. Houve efeito na taxa de prenhez na 1ª IATF e prenhez acumulada dentre os modelos de ressincronização utilizados. Porém não houve efeito na taxa de prenhez da 2ª IATF	68

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ABIEC – Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne
BE – Benzoato de Estradiol
CE – Cipionato de Estradiol
DG – Diagnóstico de Gestação
ECC – Escore de Condição Corporal
ETR– Escore de Trato Reprodutivo
E2 – Estrógeno
eCG – Gonadotrofina Coriônica Equina
EM – Estação de Monta
FP– Falso Positivo
FSH – Hormônio Folículo Estimulante
GnRH – Hormônio Liberador de Gonadotrofinas IA – Inseminação Artificial
IATF – Inseminação Artificial em Tempo Fixo
IEP – Intervalo Entre Partos
IM – Intramuscular
IBGE – Instituto Brasileira de Geografia e Estatística
LH – Hormônio Luteinizante
MF– Maior Folículo
P4 – Progesterona
PGF2 α – Prostaglandina
UI – Unidade Internacional

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	20
2 REVISÃO DE LITERATURA	24
2.1 ANESTRO PÓS-PARTO.....	24
2.2 PRÉ-PUBERDADE	26
2.3 ESTAÇÃO DE MONTA	29
2.4 INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO	30
2.5 RESSINCRONIZAÇÃO	32
3 EXPERIMENTO 1 – EFICIÊNCIA DE DIFERENTES TRATAMENTOS COM PROGESTERONA INJETÁVEL NO INÍCIO DO PROTOCOLO DE RESSINCRONIZAÇÃO SUPER PRECOCE EM VACAS E NOVILHAS	35
3.1 OBJETIVOS	35
3.2 HIPÓTESES.....	35
3.3 MATERIAL E MÉTODOS.....	36
3.3.1 Manejo dos Animais	36
3.3.2 Delineamento Experimental	37
3.3.2.1 Experimento 1A.....	37
3.3.2.2 Experimento 1B.....	40
3.3.2.3 Experimento 1C.....	41
3.3.3 Análise Estatística	43
3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
3.4.1 Experimento 1A.....	44
3.4.2 Experimento 1B.....	50
3.4.3 Experimento 1C.....	56
4 EXPERIMENTO 2 – TAXA DE PREENHEZ À IATF DE NOVILHAS RESSINCRONIZADAS COM DIFERENTES PROTOCOLOS (RESSINCRONIZAÇÃO AOS 14, 22 E 30 DIAS APÓS IATF).....	60
4.1 OBJETIVOS	60
4.2 HIPÓTESE	60
4.3 MATERIAL E MÉTODOS.....	60
4.3.1 Manejo dos animais	60
4.3.2 Delineamento Experimental	61
4.3.2.1 Experimento 2A.....	61

4.3.2.2 Experimento 2B	62
4.3.3 Análise estatística	63
4.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	64
4.4.1 Experimento 2A	64
4.4.2 Experimento 2B	66
6 CONCLUSÃO	69
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	70
REFERÊNCIAS.....	71

1 INTRODUÇÃO

O agronegócio brasileiro é de grande importância para a economia nacional. Segundo a Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne (ABIEC, 2018) o agronegócio é responsável por 22% do produto interno bruto (PIB) brasileiro, sendo que a pecuária representa 31% desse percentual. Em 2017, o agronegócio brasileiro foi responsável por 46% das exportações e a carne bovina representou 3% do total das exportações do nosso país (ABIEC, 2018).

Destaca-se, ainda, que o Brasil possui o maior rebanho bovino comercial do mundo, com 221,8 milhões de animais (IBGE, 2018), sendo responsável por 14,4% da produção global de carne bovina (ABIEC, 2018). Apesar do número expressivo, o Brasil é superado em produção de carne pelos Estados Unidos, que possui menos da metade do rebanho brasileiro, com cerca de 94,4 milhões de bovinos, e produz 17,9% da carne bovina mundial (FORMIGONI, 2017). A agricultura tem ocupado terras antes utilizadas pela pecuária, devido a maior lucratividade por área quando comparada a pecuária extensiva. Essa realidade, segundo Torres Junior (2016), ocorre em razão da baixa aplicação de tecnologias na pecuária brasileira que torna a atividade menos lucrativa quando comparada com a agricultura moderna.

Essa reduzida produtividade da pecuária tem grande relação com a baixa eficiência na produção de pastagens, que é o principal alimento utilizado nos sistemas de criação brasileiros. Além disso, verifica-se que essa reduzida eficiência está também relacionada à baixa aplicação de programas de melhoramento genético para seleção de indivíduos com potencial para produção de carne (TORRES JUNIOR, 2013). Apesar dessas constatações, existem outras informações que também evidenciaram elevado impacto da eficiência reprodutiva na produtividade das fazendas. A idade ao primeiro parto do rebanho brasileiro se apresenta em torno de ~40 meses (MACHADO *et al.*, 2013), bem acima dos 24 meses evidenciados em estudos realizados no Estados Unidos (TRAN *et al.*, 1988; NOGUEIRA, 2004). Outro fator limitante é a baixa taxa de produção de bezerros por matriz em idade reprodutiva, que no Brasil gira em torno de 68% (BARUSELLI *et al.*, 2017). A baixa produção de bezerros é atribuída principalmente à reduzida taxa de prenhez e ao elevado intervalo entre partos (IEP) dos rebanhos de cria (MENEGETTI *et al.*, 2009).

Um dos fatores que contribuem para um elevado IEP do rebanho brasileiro é o anestro pós-parto das matrizes, sendo altamente negativo para sistemas de

monta natural, pois a fêmea permanece sem apresentar sintomatologia de estro e aceitação da monta por longos períodos (MADUREIRA *et al.*, 2006). A puberdade tardia das novilhas também impacta negativamente a eficiência reprodutiva. Nesta fase as fêmeas possuem desenvolvimento folicular nos ovários, porém apresentam bloqueio na pulsatilidade de LH (NOGUEIRA, 2004), atrasando a manifestação do primeiro estro e a idade à primeira concepção. Ainda, existem estudos que evidenciaram que animais *Bos indicus* atingem puberdade mais tardiamente quando comparadas a animais *Bos taurus* (ABEYGUNAWARDENA; DEMATAWEWA, 2004; NOGUEIRA, 2004).

O anestro em rebanhos expostos à monta natural reduz a quantidade de fêmeas que concebem no início da estação de monta (EM), quando comparados a sistemas em que utilizam a inseminação artificial em tempo fixo (IATF; SÁ FILHO *et al.*, 2013). Os protocolos de sincronização para IATF mais utilizados no Brasil são à base de progesterona (P4) e estrógeno (E2). Estes protocolos, além de aumentarem os índices de prenhez no início da EM, induzem o retorno à ciclicidade de vacas e novilhas que apresentam anestro (BARUSELLI *et al.*, 2012; NOGUEIRA, 2004). A possibilidade de os animais conceberem no início da EM é relevante para produção de bezerros, pois o nascimento na estação seguinte ocorre em um ambiente seco (antes da estação das chuvas), resultando em maior desempenho produtivo (SOUZA *et al.*, 2000).

Atualmente no Brasil, somente 13,1% das fêmeas em idade reprodutiva são submetidas à inseminação artificial (BARUSELLI, 2019), o que demonstra o potencial de crescimento da utilização da técnica. As vantagens da IATF podem ainda ser maiores quando se introduz nos rebanhos a ressincronização nos animais que não conceberam ao primeiro serviço (CREPALDI *et al.*, 2014; MARQUES *et al.*, 2015; SÁ FILHO *et al.*, 2014). Segundo Crepaldi *et al.*, (2014) é possível utilizar com a técnica de ressincronização três inseminações em uma EM sem a necessidade de touros para o repasse em rebanhos de corte.

Tendo em vista o cenário da pecuária de cria nacional, a IATF se destaca como uma importante ferramenta para o aumento da produtividade, gerando em 2018 cerca de 3,1 bilhões de reais de ganho para a atividade pecuária (BARUSELLI, 2019).

As vantagens da inseminação artificial aumentam com a intensificação do seu uso, como é o caso da ressincronização (BARUSELLI *et al.*, 2017). A ressincronização diminui o IEP das fêmeas e aumenta o número de bezerros

advindos de reprodutores de alto potencial genético (CREPALDI *et al.*, 2014). Ainda, a técnica de ressincronização pode aumentar seu impacto quando realizada com menor intervalo entre inseminações, promovendo uma EM mais curta e, conseqüentemente, reduzindo o IEP (SÁ FILHO *et al.*, 2014).

Dois modelos de ressincronização são utilizados com frequência nas propriedades que utilizam a IATF: a ressincronização tradicional e a ressincronização precoce. Na ressincronização tradicional, os animais são diagnosticados 30 dias após primeira inseminação artificial (IA) e as fêmeas não gestantes recebem um novo protocolo para IATF, gerando um intervalo entre inseminações de 40 dias (MARQUES *et al.*, 2015). No protocolo de ressincronização precoce, os animais são submetidos a um novo protocolo para IATF, sem prévio diagnóstico de gestação (DG). Após 22 dias da primeira IA, os animais recebem o tratamento de sincronização e retornam oito dias após para o diagnóstico de gestação. Os animais não gestantes continuam o protocolo para receberem outra IATF com intervalo entre inseminações de 32 dias (SÁ FILHO *et al.*, 2014).

Recentemente, outro modelo foi descrito, diminuindo ainda mais o intervalo entre inseminações, a ressincronização super precoce. A ressincronização super precoce tem início 14 dias após a IATF, sendo todas as vacas submetidas a um novo protocolo sem prévio diagnóstico de gestação (PUGLIESI *et al.*, 2017). O diagnóstico é realizado 22 dias após a primeira inseminação com o auxílio da ultrassonografia *color doppler*. O diagnóstico de gestação é realizado através da avaliação do fluxo sanguíneo do corpo lúteo (PUGLIESI *et al.*, 2017). Animais diagnosticados não gestantes recebem outra IATF com intervalo entre inseminações de 24 dias.

No início do protocolo de ressincronização tradicional e precoce os animais são submetidos ao tratamento com benzoato de estradiol para a sincronização de uma nova onda de crescimento folicular (SÁ FILHO *et al.*, 2011). Entretanto, estudo realizado com a administração de benzoato de estradiol 13 dias após primeira IATF resultou em luteólise funcional do corpo lúteo (CL) em 80% dos animais (VIEIRA *et al.*, 2014). Rezende *et al.* (2016) propõem a utilização de progesterona injetável na tentativa de sincronizar a onda de crescimento folicular no início do protocolo de ressincronização super precoce, sem prejudicar o CL da primeira IATF. Entretanto, o dispositivo de progesterona utilizado 14 dias após a IATF poderia por si só elevar

a concentração circulante de progesterona (PIMENTEL, 2006) e sincronizar a onda de crescimento folicular, sem a necessidade do tratamento adicional com progesterona injetável.

Com base no acima descrito, o objetivo geral dessa pesquisa é **avaliar os fatores que afetam a eficiência do protocolo de ressincronização super precoce em que o diagnóstico da gestação é realizado com ultrassonografia *color doppler***. A fim de atingir tal objetivo, foram realizados três experimentos para avaliar a necessidade da utilização da P4 injetável no início do protocolo de ressincronização super precoce, comparando sua eficiência com os protocolos tradicional e precoce.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Neste capítulo serão abordados temas inerentes a eficiência reprodutiva do rebanho nacional e as ferramentas que podem ser utilizadas para aumentar sua produtividade.

2.1 ANESTRO PÓS-PARTO

O anestro pós-parto é um evento fisiológico que ocorre após o parto das fêmeas bovinas (YAVAS; WALTON, 2000). Durante a gestação, a vaca permanece com concentrações plasmáticas elevadas de progesterona, produzidas principalmente pelo CL no início, com um considerável aumento no terço final da gestação devido à produção placentária (DONALDSON *et al.*, 1970). O E2 também aumenta suas concentrações ao fim da gestação, produzido pela placenta (SHORT *et al.*, 1990). Com essas concentrações de E2 e P4 elevadas durante a gestação há uma depleção dos estoques de LH e hormônio folículo estimulante (FSH) na hipófise, assim a fêmea bovina mantém um padrão de ondas foliculares nos ovários, porém não há ovulação e sim atresia dos folículos (YAVAS; WALTON, 2000; ROSSA *et al.*, 2009).

Nos primeiros dias do pós-parto o animal continua com um padrão anovulatório devido à ausência das gonadotrofinas (NETT *et al.*, 1987). Após 15 a 20 dias do parto, os estoques de FSH são reestabelecidos, o que não ocorre com o LH, causado principalmente pelo *feedback* negativo do E2 (ROSSA *et al.*, 2009). A falta de pulsatilidade de LH é uma consequência do bloqueio na secreção de hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), devido ao *feedback* negativo causado pelo E2 produzido pelos próprios folículos ovarianos e exacerbado pelo efeito do bezerro (VASCONCELOS *et al.*, 2009).

O efeito negativo causado pelo bezerro é chamado “efeito mamada”, que tem esse nome pois durante a amamentação, peptídeos opioides endógenos são secretados pelo hipotálamo (VASCONCELOS *et al.*, 2009). Esses opioides causam uma maior sensibilidade do centro gerador de pulsos de GnRH ao estradiol folicular, o que suprime a secreção posterior de LH pela hipófise (STEVENSON *et al.*, 1994). Com secreção de FSH em padrões normais, a fêmea possui um recrutamento inicial dos folículos, mas não consegue atingir a dominância folicular (ROCHE *et al.*, 1992).

Esse aumento no tamanho do folículo dominante é essencial para o pico de produção do estrógeno folicular, o que desencadeia o *feedback* positivo sobre o hipotálamo, culminando em uma grande liberação de GnRH e consequentemente LH para a ovulação (ROCHE *et al.*, 1992). Essa falha na liberação do LH conduz a vaca em um longo período anovulatório, principalmente em condições de nutrição deficiente, pois a metabolização dos esteroides é mais atrasada e o animal acaba permanecendo em anestro por longos períodos (MADUREIRA *et al.*, 2006).

O intervalo entre o parto e a primeira ovulação pode durar de 27 a 37 dias em vacas de corte com boas condições corporais e de 60 a 120 dias em vacas com condições corporais ruins (STAGG *et al.*, 1998). Após a primeira ovulação as vacas podem ainda apresentar um CL com uma curta vida útil, devido à sensibilidade uterina ao estradiol, que pode causar a luteólise antecipada, provocando o ciclo curto (MIHM, 1999).

Garcia-Winder *et al.*, (1987) descreveram um efeito positivo do tratamento com Norgestomet (progestágeno) no aumento da frequência de pulsos de LH e aumento das concentrações plasmáticas de E2. Os mesmos autores observaram que com o tratamento as vacas ovularam e não demonstraram presença de ciclos curtos, provavelmente pelo efeito de dessensibilização dos receptores uterinos ao E2 pelo progestágeno, conforme apresentado na Figura 1.

Figura 1 - Esquema demonstrando o padrão de crescimento de ondas foliculares e um longo período para a ovulação devido à baixa frequência de pulsos de LH. Demonstra ainda o padrão de crescimento folicular de um animal submetido ao tratamento com progesterona exógena no pós-parto, aumentando a frequência de pulsos de LH retornando a fêmea à ciclicidade

Fonte: o autor (2019).

2.2 PRÉ-PUBERDADE

As novilhas passam por uma fase parecida ao anestro pós-parto das vacas, que é uma transição da fêmea jovem para a puberdade, a qual é atingida quando a primeira ovulação ocorre, seguida de um ciclo normal (NOGUEIRA, 2004). Segundo Day e Nogueira (2013) as fases da fêmea bovina são divididas em pré-puberdade, peripuberdade e puberdade. Essas fases são apresentadas na Figura 2.

Figura 2 - Esquema demonstrando as fases da pré-puberdade, peripuberdade e puberdade em novilhas. Na pré-puberdade a novilha sofre um *feedback* negativo do E2 e baixa pulsatilidade de GnRH e LH, não suficiente para formar um folículo dominante e induzir a ovulação. Na peripuberdade a metabolização do estradiol é aumentada, assim diminuindo o bloqueio pelo estradiol, mas ainda não há GnRH e LH suficiente para a ovulação. Na fase da puberdade, o *feedback* do E2 é superado, assim o LH em maior pulsatilidade consegue formar um folículo dominante capaz de induzir o feedback positivo pelo mesmo estradiol ao hipotálamo, promovendo um pico de GnRH e LH, culminando na ovulação.

Fonte: Adaptado de Day e Nogueira (2013).

A pré-puberdade é marcada por um *feedback* negativo causado pelo E2 folicular ao hipotálamo, bloqueando a liberação maior de GnRH que geraria a pulsatilidade de LH para a dominância folicular e ovulação (DAY; NOGUEIRA, 2013). Na peripuberdade esse bloqueio é reduzido devido à maior metabolização do estradiol, porém a secreção de GnRH ainda não é suficiente para que o LH estimule o crescimento do folículo dominante ao ponto de produzir E2 suficiente para o *feedback* positivo no hipotálamo (DAY; ANDERSON, 1998). A puberdade finalmente ocorre quando o *feedback* negativo do estradiol é reduzido ainda mais e o GNRH é suficiente para determinar a liberação do LH para que haja crescimento do folículo dominante, produzindo assim maiores concentrações de E2, realizando o *feedback* positivo do mesmo E2 ao hipotálamo, culminado em maiores secreções de GnRH, pico de LH e ovulação (DAY; ANDERSON, 1998).

Assim como no anestro pós-parto, a fase da pré-puberdade pode ser adiantada com manipulação farmacológica (DAY; NOGUEIRA, 2013). Segundo Rodrigues *et al.*, (2013) o tratamento com dispositivo intravaginal impregnado com P4 por 12 dias em novilhas pré-púberes determinou maiores taxas de comportamento de estro, de ovulação e concepção por IA. Esses resultados foram descritos anteriormente por Day *et al.*, (1986), que utilizou um implante auricular de norgestomet (progestágeno), demonstrando aumento da pulsatilidade do LH durante o tratamento (8,5 dias) e pulsatilidade ainda maior quando foi removido, conforme Gráfico 1.

Gráfico 1 - Gráfico demonstrando concentração plasmática de LH em novilhas na peripuberdade no quadrante superior e, no inferior, concentração plasmática de animais na mesma fase, porém sob tratamento com o progestágeno norgestomet, via implante auricular. O implante com norgestomet aumentou a pulsatilidade do LH em sua permanência e ainda mais quando foi removido ao final do oitavo dia, trazendo condições ovulatórias aos animais tratados.

Fonte: Day (1986, p.237).

O anestro pós-parto e a pré-puberdade são eventos fisiológicos que implicam em dificuldades na implantação de uma EM eficiente. As vantagens da implantação de uma estação de monta estão explicadas no tópico 2.3.

2.3 ESTAÇÃO DE MONTA

A estação de monta (EM) em rebanhos de corte é um período em que as matrizes serão submetidas a se tornarem gestantes, seja pelo método natural, com a utilização de reprodutores, ou artificial, com o uso da inseminação artificial (IA). O objetivo da EM é fazer com que o rebanho conceba em uma época específica proporcionando parições em estações mais favoráveis para o bezerro recém-nascido (BARUSELLI *et al.*, 2002).

Souza *et al.*, (2000) em estudo com 105.465 pesos ao desmame (205 dias) de bezerros Nelore, demonstraram que animais que nasceram no final da estação de seca, variando de acordo com a região, obtiveram maiores pesos comparados com os animais que nasceram na estação chuvosa. Os mesmos autores indicaram que essa diferença tem relação com o ambiente seco (sem desafios imunológicos) e com a sua nutrição, que nos primeiros dias depende somente do leite materno, mas quando inicia sua vida ruminante, o início das chuvas traz capim de melhor qualidade para os animais jovens. Similarmente, Teixeira e Albuquerque (2003) encontraram ganhos médios diários (em peso vivo) de 100 gramas maiores para bezerros que nasceram em épocas de menor precipitação pluviométrica.

Sendo assim, além de buscar melhores épocas para o nascimento de bezerros, ter um período determinado para que as matrizes se tornem gestantes é também uma forma de seleção para fertilidade do rebanho. As matrizes que não se tornam gestantes na estação, podem ser descartadas e substituídas por animais mais jovens, assim permanecendo na propriedade somente as fêmeas que possuem fertilidade. A EM também tem como vantagem o monitoramento do IEP das matrizes, que busca a produção de um bezerro por vaca/ano (BARUSELLI *et al.*, 2004).

O período de gestação de uma vaca Nelore é em torno de 290 dias (ROCHA *et al.*, 2005). Para a ocorrência de um parto por ano, restam 75 dias para que a fêmea se torne gestante. A produção de um bezerro por vaca/ano se torna difícil quando a EM é conduzida somente via utilização de touros à campo, que possuem menor eficiência em taxa de prenhez e concentração da mesma no início da EM (SÁ FILHO *et al.*, 2013). Essa menor eficiência tem impacto do anestro pós-parto das vacas e da pré-puberdade das novilhas, que causam baixos índices de expressão de estro no início da EM.

Tendo em vista o acima exposto, a EM traz vantagens produtivas para a pecuária de cria. Porém, para aumentar tais benefícios, tecnologias que encurtem o tempo da EM e aumentem sua eficiência, tal como a IATF, podem auxiliar na eficiência reprodutiva das fêmeas.

2.4 INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO

O primeiro protocolo de inseminação artificial em tempo fixo foi descrito por Pursley *et al.* (1995), denominado Ovsynch. O protocolo Ovsynch utiliza o GnRH no primeiro dia com intuito de promover a ovulação dos maiores folículos e com isso promover a emergência de uma nova onda de crescimento folicular (PURSLEY *et al.*, 1995). No sétimo dia do protocolo é aplicada uma dose de PGF2 α para a luteólise de um possível CL formado pela administração do GnRH ou já presente nos ovários (PURSLEY *et al.*, 1995). Após 48 horas da PGF2 α , outra dose de GnRH é aplicada e a IA ocorre 15 horas depois (PURSLEY *et al.*, 1995).

O protocolo Ovsynch demonstrou ser eficiente em animais com ciclicidade presente, no entanto, o mesmo não aconteceu em animais em anestro (FERNANDES *et al.*, 2001) devido à baixa taxa de sincronização da emergência de uma nova onda de crescimento folicular pelo primeiro GnRH em animais acíclicos (BÓ *et al.*, 2002). Com o intuito de melhorar os índices desse protocolo, Thompson *et al.*, (1999) associaram um implante auricular com o progestágeno norgestomet, o que resultou em maiores taxas de ovulação ao primeiro GnRH, maiores concentrações séricas de LH e 17 β estradiol durante o protocolo e maiores taxas de concepção à IATF em animais acíclicos. Esse resultado também foi encontrado por Lamb *et al.*, (2001) ao utilizar o protocolo Cosynch (GnRH + PGF2 α + GnRH) comparado ao mesmo protocolo, porém com a adição de um dispositivo intravaginal impregnado com progesterona (CIDR®). Nesse mesmo estudo, a taxa de concepção foi semelhante em animais com ciclicidade e altos níveis de P4 circulante no início do protocolo (D0), mas foi superior para o grupo Cosynch + CIDR em vacas acíclicas e cíclicas com baixa concentração de P4 no D0.

O primeiro GnRH aplicado nos protocolos acima descritos tem como função iniciar uma nova onda de crescimento folicular para que haja um folículo dominante no dia do segundo GnRH, promovendo a ovulação eficiente (PURSLEY *et al.*, 1995). Porém, a sincronização da emergência de uma nova onda folicular pela primeira

aplicação de GnRH somente ocorre se houver ovulação ou luteinização de um folículo presente. Em um estudo realizado por Martinez *et al.*, (1999), foi demonstrado que o GnRH não promoveu ovulação em 44% dos animais, não desencadeando a emergência da onda folicular. Moreno *et al.*, (2001), por sua vez, demonstrou que o benzoato de estradiol (BE) associado à P4 no início do protocolo é eficiente na indução de uma nova onda de crescimento folicular em animais em várias fases do ciclo. O E2 causa uma supressão no FSH, assim, quando o mesmo é metabolizado, o FSH retorna ao seu padrão de liberação promovendo a emergência de uma nova onda de crescimento folicular (BÓ *et al.*, 1994). Segundo Sá Filho *et al.* (2011) a utilização do BE foi eficiente em sincronizar a emergência da onda folicular e antecipou a mesma em comparação com outro éster de estradiol, o valerato de estradiol.

Crepaldi (2009) e Sales *et al.*, (2012) compararam o benzoato e o cipionato de estradiol como indutores de ovulação na retirada do dispositivo de progesterona, evidenciando uma eficiência em taxas de ovulação e prenhez ao protocolo semelhantes, porém intervalos entre a aplicação e ovulação menores para o BE. Esses estudos demonstraram a possibilidade da administração do cipionato de estradiol (CE) no mesmo momento da retirada do dispositivo e aplicação de PGF2 α seguida por inseminação em tempo fixo 48 horas após a retirada, promovendo eficientes taxas de concepção com um protocolo de três manejos.

No dia da remoção do dispositivo, o efeito positivo da gonadotrofina coriônica equina (eCG) foi comprovado em vários estudos, promovendo maior crescimento folicular e maiores taxas de concepção da IATF (BARUSELLI *et al.*, 2008). De acordo com Baruselli *et al.*, (2017), o tempo de permanência do dispositivo de progesterona também foi testado por diversos autores, demonstrando semelhantes taxas de concepção da IATF. Contudo, na atualidade, o protocolo mais utilizado na IATF brasileira é iniciado com o dispositivo intravaginal com P4 associado à uma injeção intramuscular (IM) de benzoato de estradiol, remoção do mesmo dispositivo associado à PGF2 α , cipionato de estradiol e eCG no oitavo ou nono dia e inseminação 48 horas após a remoção (BARUSELLI *et al.*, 2017).

Por fim, destaca-se que os animais que não concebem no primeiro protocolo de IATF podem ser submetidos a mais sincronizações da ovulação, a chamada ressincronização – assunto a ser tratado no tópico que segue.

2.5 RESSINCRONIZAÇÃO

Os protocolos de ressinchronização têm sido utilizados com o objetivo de aumentar a quantidade de bezerros provenientes de IA e diminuir o IEP do rebanho (BARUSELLI *et al.*, 2017). Basicamente, o início do protocolo de ressinchronização depende do diagnóstico da primeira IATF, e em seguida é programada a próxima sincronização. Atualmente, os protocolos de ressinchronização mais utilizados seguem os seguintes modelos:

- Ressinchronização tradicional: 30 dias após a IA do primeiro protocolo, os animais são diagnosticados via ultrassonografia transretal (modo B) e no mesmo manejo se inicia outro protocolo de IATF igual ao primeiro, gerando um intervalo entre inseminações de 40 dias (MARQUES *et al.*, 2015);
- Ressinchronização precoce: 22 dias após primeira IATF, todos os animais são submetidos a um novo protocolo de IATF antes do diagnóstico de gestação (DG), sendo que o mesmo é realizado via ultrassonografia transretal (modo B) simultaneamente à retirada do dispositivo oito dias após seu início. Desse modo o intervalo entre inseminações é de 32 dias (CREPALDI *et al.*, 2014; SÁ FILHO *et al.*, 2014).

Com a redução do intervalo entre inseminações é possível encurtar o período da EM e assim concentrar nascimentos em uma época mais favorável para os bezerros, adiantar a concepção de vacas que pariram ao fim da EM e consequentemente diminuir o IEP.

Com o uso da ultrassonografia *color doppler* para o DG, é possível reduzir ainda mais o intervalo entre inseminações. Essa ferramenta é capaz de traduzir em imagem bidimensional a perfusão sanguínea do órgão avaliado (PUGLIESI *et al.*, 2017). O DG precoce é baseado na visualização do fluxo sanguíneo presente no CL, pois um dos primeiros efeitos da luteólise no CL é a diminuição do fluxo sanguíneo (TREVISOL *et al.*, 2013). A presença de um embrião no útero irá definir a manutenção do CL via reconhecimento materno fetal da gestação, que em vacas de corte ocorre por volta do 17º dia (ANTONIAZZI *et al.*, 2011). É possível realizar o diagnóstico gestacional por meio da avaliação do fluxo sanguíneo presente no CL no 22º dia após a inseminação, sendo considerados gestantes animais com vascularização igual ou superior a 25% da área do CL (PUGLIESI *et al.*, 2017). Dessa forma é possível iniciar o protocolo de ressinchronização em todos os animais 14 dias após

a IATF, realizar o DG da primeira inseminação aos 22 dias e re-inseminar as fêmeas não gestantes com 24 dias de intervalo entre inseminações, sendo denominado ressincronização super precoce (PUGLIESI *et al.*, 2017; VIEIRA *et al.*, 2014). A ressincronização super precoce bem como a tradicional e a precoce são demonstradas na Figura 3.

Figura 3 - Esquema demonstrando os três modelos de ressincronização: tradicional com 40 dias de intervalo entre inseminações; precoce com 32 dias de intervalo entre inseminações; e o super precoce com 24 dias de intervalo entre inseminações

Fonte: Baruselli *et al.* (2016, p. 8).

O BE é utilizado no início dos protocolos de ressincronização tradicional e precoce (SÁ FILHO *et al.*, 2014; CREPALDI *et al.*, 2014; MARQUES *et al.*, 2015). O E2 participa do processo luteolítico em bovinos (TREVISOL *et al.*, 2013). Vários autores (WILTBANK *et al.*, 1961; THATCHER *et al.*, 1986; ARAÚJO *et al.*, 2009; PUGLIESI *et al.*, 2011) reportaram a luteólise funcional do CL após administração de E2 antes do reconhecimento materno fetal e perdas gestacionais significativas da primeira inseminação (VIEIRA *et al.*, 2014).

Adams *et al.*, (1992) reportaram que o uso a progesterona injetável pode suprimir a pulsatilidade do LH e causar atresia dos folículos dominantes LH dependentes.

Buscando uma alternativa ao BE, Rezende *et al.*, (2016) utilizaram P4 injetável no 14º dia após a IATF em uma dinâmica folicular, como tentativa de iniciar uma nova onda via regressão do possível folículo dominante LH dependente. Para isso foram utilizadas vacas Nelore no 14º dia após a primeira sincronização para IATF, sendo distribuídas em quatro grupos: (1) Controle: sem tratamento hormonal; (2) DP4: somente dispositivo de 1g de progesterona (Cronipress Monodose®, Biogenesis Bagó - Brasil); (3) P4-200: dispositivo de progesterona associado a 200 mg de progesterona injetável (Progestar®, Syntex - Argentina); e (4) P4-100: Dispositivo de progesterona associado a 100 mg de progesterona injetável (Afisterone®, Hertape, Brasil). Os animais passaram por avaliações ultrassonográficas diárias para avaliar a emergência da nova onda. Não houve diferença significativa na taxa de emergência de onda e dia de emergência, porém o grupo P4-100 apresentou menor dispersão numérica de emergência de onda folicular.

A P4 injetável foi utilizada por Penteado *et al.*, (2016) no início do protocolo de ressincronização super precoce em comparação com ressincronização precoce (aos 22 dias após a primeira IATF). A taxa de concepção da segunda IATF foi semelhante em ambos os protocolos de ressincronização. Apesar desses achados, com a P4 injetável, os dispositivos de P4 novos possuem um pico de liberação quando são introduzidos (PIMENTEL, 2006), trazendo a possibilidade de não utilizar uma segunda fonte de P4.

Finalizada a apresentação da revisão de literatura, os próximos capítulos contêm a descrição dos três experimentos realizados a fim de responder o objetivo geral dessa pesquisa, que é avaliar os fatores que afetam a eficiência do protocolo de ressincronização super precoce.

3 EXPERIMENTO 1 – EFICIÊNCIA DE DIFERENTES TRATAMENTOS COM PROGESTERONA INJETÁVEL NO INÍCIO DO PROTOCOLO DE RESSINCRONIZAÇÃO SUPER PRECOCE EM VACAS E NOVILHAS

3.1 OBJETIVOS

- Avaliar em vacas Nelore e novilhas Nelore e Cruzadas (Angus x Nelore) a eficiência do uso da P4 injetável no início do protocolo de ressincronização super precoce.
- Comparar duas fontes de progesterona injetável, uma de curta ação: Afisterone® (Ceva saúde animal Ltda, Paulínia, SP, Brasil) e outra de longa ação: Sincrogest injetável® (Ourofino saúde animal, Cravinhos, SP, Brasil).
- Avaliar interações que interferem positiva ou negativamente nos resultados de concepção do protocolo de ressincronização super precoce.

3.2 HIPÓTESES

Os tratamentos com P4 injetável no D14 promove:

- Atresia folicular no início do protocolo e emergência de uma nova onda de crescimento folicular em comparação ao Grupo Controle;
- Maior taxa de prenhez à ressincronização em comparação ao Grupo Controle.

Figura 4 - Modelo hipotético demonstrando como a administração de P4 injetável no início do protocolo de res sincronização super precoce pode melhorar a sincronização de uma nova onda de crescimento folicular

Fonte: o autor (2019).

Ambas progesteronas injetáveis administradas em doses semelhantes promoverão emergência de uma nova onda de crescimento folicular com mais eficiência que somente o uso do dispositivo.

3.3 MATERIAL E MÉTODOS

3.3.1 Manejo dos Animais

O presente estudo foi dividido em três experimentos: 1A (n= 524), 1B (n= 253) e 1C (n= 893). Os estudos foram conduzidos em quatro fazendas, todas localizadas no centro-oeste brasileiro, no estado do Mato Grosso do Sul (MS): 1A (Fazenda Areias, Porto Murtinho, MS), 1B (Fazenda São Bento, Bonito, MS) e 1C (Fazenda Engano, Camapuã, MS e Fazenda Santa Cristina, Aquidauana, MS). Os experimentos iniciaram durante a EM, sendo aplicadas a res sincronização no modelo super precoce. Todos os animais foram mantidos em pastejo (*Brachiaria brizantha*), suplementados com sal mineral e livre acesso à água.

3.3.2 Delineamento Experimental

3.3.2.1 Experimento 1A

O estudo teve início 14 dias (D14) após a primeira IATF (D0) ter sido realizada nos quatro lotes de fêmeas, sendo um número total de 1000 animais (quatro lotes de 250 animais). Porém somente os animais diagnosticados como não gestantes no DG Doppler, 22 dias após a primeira IATF fizeram parte do experimento, pois a resposta buscada foi a concepção e eficiência ao segundo protocolo. Sendo assim, no experimento 1A foram utilizadas 524 novilhas Nelore (20 a 26 meses de idade).

Os animais foram conduzidos ao curral de manejo 14 dias após a IATF, sendo distribuídos em três grupos, levando em consideração touro e partida do sêmen utilizado na primeira IATF, inseminador e escore de condição corporal (ECC). Os animais de cada grupo receberam os seguintes tratamentos: G1 Sincrogest (n=164) 0,33 ml (50 mg) IM de Sincrogest injetável associado a um dispositivo intravaginal de P4 previamente utilizado por oito dias (CIDR® 1,9 g, Zoetis,, São Paulo, SP, Brasil); G2 Afisterone (n=184) 5 ml (50 mg) IM de Afisterone também associado ao mesmo dispositivo; e G3 Somente dispositivo (n=176) somente dispositivo de P4 (Figura 5). Ainda no D14 metade dos animais foram submetidos à ultrassonografia (DP 2200®, Mindray, China) transretal para mensuração do maior folículo presente nos ovários e avaliar presença de CL.

Figura 5 - Delineamento do Experimento 1A, demonstrando os três grupos de tratamentos com diferentes fontes de P4 injetável, uma de longa ação (Sincrogest; n=164) e uma de curta ação (Afisterone; n=184), além do grupo controle (Somente disp; n=176)

Fonte: o autor (2019).

Oito dias após a distribuição dos grupos, no D22, os animais retornaram ao curral de manejo para a retirada do dispositivo intravaginal e o DG por ultrassonografia Color Doppler (S8®, Sonoscape, China). As fêmeas gestantes (acima de duas partes de fluxo sanguíneo periférico e uma de fluxo sanguíneo central – Figura 6) foram separadas do lote e não receberam tratamento adicional.

Figura 6 - Classificação do fluxo sanguíneo presente no CL na ultrassonografia *color doppler*. Os animais são considerados gestantes com escore 2 no fluxo periférico e 1 no fluxo central

Fonte: Adaptação de Pugliesi *et al.*, (2017).

Os animais não gestantes (N= 524) foram submetidos a continuação do protocolo de ressincronização para IATF com aplicação de 1 ml IM de 200 UI de eCG (Novormon®, Zoetis, SP, Brasil); 0,48 mg de cloprostenol sódico (Estron®, Agener União, São Paulo, SP, Brasil); e 0,6 mg de CE (ECP®, Zoetis, SP, Brasil). Todos os animais não gestantes foram marcados na base da cauda com bastão de cera para identificação de estro entre o D22 e o D24. Em dois lotes foram realizadas a mensuração do maior folículo presente nos ovários com o mesmo aparelho utilizado para o DG Doppler. Dois dias depois (48 horas após a retirada – D24) a 2ª IATF, que foi realizada por um único inseminador experiente e com sêmen de um único touro.

Para análise do efeito dos tratamentos com P4 injetável, a taxa de concepção analisada foi a da segunda IATF, com um diagnóstico via ultrassonografia Doppler (S8® Sonoscape, China) 22 dias após a segunda IATF e a confirmação da prenhez realizada por ultrassonografia transretal modo B (DP 2200®, Mindray, China) 70 dias após a inseminação da primeira ressincronização.

3.3.2.2 Experimento 1B

O Experimento 1B seguiu o mesmo modelo de distribuição do experimento 1A, porém foram utilizadas 253 novilhas meio-sangue (F1, Angus X Nelore) com média de 14 meses de idade (12 a 16 meses). Todas as fêmeas foram pesadas, para determinação do peso vivo e, avaliadas via ultrassonografia modo B (DP 2200®, Mindray, China) para determinar Escore de trato Reprodutivo (ETR). Para a avaliação do ETR foi utilizada a metodologia descrita por Andersen *et al.*, (1991) citada por Freitas (2015), onde: Escore 1 - útero $\leq$ 15mm e ovários $\geq$ 8 mm sem folículo; Escore 2 – útero $\leq$ 15mm e ovários $\geq$ 8 mm com folículo; Escore 3 – útero $\geq$ 15 mm e ovários $\geq$ 8 mm sem folículo; Escore 4 – útero $\geq$ 15 mm e ovários $\geq$ 8mm com folículos; Escore 5 – Presença de corpo lúteo. A distribuição dos grupos ocorreu no 14º dia (D14) após a primeira IATF e as fêmeas foram divididas em três grupos: G1 Sincrogest (n=81): tratamento com 0,33mL (50 mg) IM de Sincrogest injetável associado a um dispositivo intravaginal de com 0,750mg P4 (Prociclar®, Ceva saúde animal Ltda, Paulínia, SP, Brasil); G2 Afisterone (n=92): tratamento com 5 mL (50 mg) IM de Afisterone também associado ao mesmo dispositivo; e G3 Somente dispositivo (n=80) somente dispositivo de P4 (Figura 7).

Figura 7 - Delineamento do Experimento 1B, demonstrando os três grupos de tratamentos com diferentes fontes de P4 injetável, uma de longa ação (Sincrogest; n=81) e uma de curta ação (Afisterone; n=92), além do grupo controle (Somente disp; n=80)

Fonte: o autor (2019).

Os animais retornaram ao curral de manejo para a retirada do dispositivo no D22, quando foram submetidos pelo DG Doppler (S8®, Sonoscape, China) seguindo o mesmo padrão de avaliação. Os animais com DG Doppler negativo, foram submetidos à mensuração do maior folículo presente nos ovários e à continuação do protocolo de IATF: 300 UIIM de eCG (Novormon®, Zoetis, SP, Brasil); 0,482 mg de cloprostenol sódico (Estron®, Agener União, São Paulo, SP, Brasil); e 0,6 mg de CE (ECP®, Zoetis, SP, Brasil). No D24, 48 horas após a retirada do dispositivo, a 2ª IATF. O DG da segunda IATF foi realizado após 30 dias (D54) após por ultrassonografia modo B (DP 2200®, Mindray, China). Oito dias após o DG Doppler, no D30, as fêmeas foram avaliadas por ultrassonografia modo B, para avaliar a ocorrência de FP.

3.3.2.3 Experimento 1C

O experimento 1C também teve início após a primeira IATF já ter sido realizada. Nesse estudo foram utilizadas vacas Nelore pluríparas (n=418) e primíparas (n=564), seguindo o mesmo modelo de divisão de grupos no D14: G1 Sincrogest (n=332) 0,66

ml (100 mg) por aplicação IM de Sincrogest injetável associado a um dispositivo intravaginal impregnado com P4 (Cronipres monodose® 1g, Biogénesis Bagó Saúde animal, Curitiba, PR, Brasil); G2 Afisterone (n=317) 5 ml (100 mg) IM de Afisterone também associado ao mesmo dispositivo; e G3 Somente disp (n=333) somente dispositivo de P4 (Figura 8).

Figura 8 - Delineamento do Experimento 1C, demonstrando os três grupos de tratamentos com diferentes fontes de P4 injetável, uma de longa ação (Sincrogest [n=332]) e uma de curta ação (Afisterone [n=317]), além do grupo controle (Somente disp [n=333])

Fonte: o autor (2019).

Seguindo o mesmo modelo dos experimentos anteriores, os animais retornaram ao curral de manejo para retirada do dispositivo de P4 e para passar pelo DG via ultrassonografia Doppler (S8®, Sonoscape, China). Todos os animais com DG Doppler negativo foram submetidos à mensuração do maior folículo presente nos ovários e também à continuação do protocolo de IATF: 300 UI de eCG (Ecegon®, Biogénesis Bagó, PR, Brasil), 2 ml (0,15 mg) de D-cloprostenol (Croniben®, Biogénesis Bagó, PR, Brasil), 2 ml (1 mg) de cipionato de estradiol (Cronicip®, Biogénesis Bagó, PR, Brasil). Todos os animais não gestantes ao primeiro protocolo

retornaram ao curral no D24 (48 horas após remoção do dispositivo) para a inseminação. O diagnóstico da ressincronização foi realizado 30 dias após a inseminação via ultrassonografia modo B (DP 2200®, Mindray, China), no D54.

3.3.3 Análise Estatística

A análise estatística foi realizada com auxílio do software Statistical Analysis System for Windows SAS® (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA versão 9.3). As variáveis contínuas (ECC, ETR, peso e diâmetro do FD no D22) foram avaliadas quanto à normalidade dos resíduos pelo PROC UNIVARIATE os dados que não atenderam às premissas da análise de variância foram transformados e *outliers* foram removidos, se necessário. As variáveis dependentes de distribuição normal (paramétricas) foram expressas em média e erro padrão da média (EPM; média $\pm$ EPM) e analisadas utilizando o procedimento GLIMMIX do SAS. Para dados binomiais foi utilizado o PROC GLIMMIX. As interações de acordo com classe de peso, classe de ECC, classe de ETR, classe de diâmetro do MF, classe de fluxo sanguíneo foram testadas e, se necessário, removidas sequencialmente do modelo estatístico de acordo com o critério de *Wald* se $P > 0,20$. O modelo final foi escolhido o de menor valor de acordo com o critério de AICC (*Akaike information criterion – corrected version*). O nível de significância utilizado para rejeitar H_0 (hipótese de nulidade) é de 5% ($P < 0,05$).

3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.4.1 Experimento 1A

No início do tratamento de ressincronização, aos 14 dias após a primeira IATF, foi observada a presença de CL em 82,3% das novilhas. Não houve diferença estatística para a taxa de CL no dia 14 entre os grupos (Controle = 78,0%; Afisterone = 84,9% e Sincrogest = 84,5%; $P = 0,40$). Essas taxas de ciclicidade após o primeiro protocolo de IATF corroboram com os resultados obtidos por Martins *et al.* (2013), que verificaram 86,2% de presença de CL 7 dias após o protocolo de sincronização para IATF. O diâmetro do maior folículo (MF) no D14 não diferiu entre os tratamentos (Controle = $8,5 \pm 0,3$ mm; Afisterone = $8,8 \pm 0,3$ mm e Sincrogest = $8,2 \pm 0,3$ mm; $P = 0,71$). De acordo com Gimenes *et al.* (2008), o diâmetro em que o folículo atinge a dominância folicular em zebuínos é de $6,2 \pm 0,2$ mm. No presente estudo, 84% dos animais avaliados possuíam folículos maiores que o descrito por Gimenes *et al.* (2008) no D14, indicativo de dominância folicular ao início do protocolo de ressincronização super precoce. As novilhas sem CL no D14 apresentaram tendência ($P = 0,09$) de maior diâmetro do MF no D14 do que as novilhas com CL (com CL = $8,2 \pm 0,1$ vs. Sem CL = $9,9 \pm 0,5$; Gráfico 2). Esses achados podem ser relacionados à presença de maiores concentrações circulantes de P4 nos animais com a presença de CL, conforme descrito por Adams *et al.* (1992) e Rodrigues *et al.* (2013).

Gráfico 2 – Diâmetro do maior folículo no D14 de acordo com a presença de CL no início do protocolo. Houve tendência ($P = 0,09$) dos animais sem a presença de CL apresentarem maior diâmetro do maior folículo no D14

Não houve interação ($P = 0,16$) entre grupo de tratamento com a presença de CL para o diâmetro do maior folículo no D14. Isso significa que os grupos de tratamento obtiveram percentual de presença de CL no D14 semelhantes e que animais com CL obtiveram menores diâmetros do MF no D14 comparado aos animais sem CL em todos os grupos. O diâmetro (mm) do MF no D14 foi de $8,5 \pm 0,2$. As novilhas foram classificadas de acordo com o tamanho do MF $<8,5$ e $\geq 8,5$ mm. A média do diâmetro do MF de novilhas classificadas com maior folículo no D14 foi de $10,2^a \pm 0,2$ vs $6,8^b \pm 0,1$ para novilhas classificadas com menor folículo ($P < 0,0001$).

No momento do diagnóstico gestacional por meio de ultrassonografia color doppler (D22), as novilhas consideradas como não gestantes não apresentaram diferença no tamanho do maior folículo (mm) conforme o tratamento no D14 (Controle = $10,0 \pm 0,2$ mm; Afisterone = $10,0 \pm 0,2$ mm e Sincrogest = $9,8 \pm 0,2$ mm; $P = 0,24$). Ainda, não houve efeito ($P = 0,46$) da presença de CL no D14 com o diâmetro do maior folículo no D22, demonstrando que animais com ou sem CL no D14 não apresentaram diferenças no diâmetro do MF no D22. Também não houve interação ($P = 0,35$) entre tratamento e presença de CL no D14 com o diâmetro do maior folículo no D22, demonstrando que em todos os tratamentos se comportaram da mesma maneira no diâmetro do MF D22 de acordo com presença ou não de CL no D14. O

diâmetro do MF no D22 foi de $9,9 \pm 0,1$ mm. As novilhas foram classificadas de acordo com o tamanho do MF no D22 em $<9,9$ e $\geq 9,9$ mm. O diâmetro do MF das novilhas classificadas com maior folículo no D22 foi de $11,8^a \pm 0,1$ mm vs. $8,0^b \pm 0,1$ mm para novilhas classificadas com menor folículo ($P < 0,0001$).

A média de expressão de estro entre o D22 e o D24 foi de 66,4%. Não houve diferença ($P = 0,75$) na expressão de estro entre os grupos [Controle = 69,1% (121/175); Afisterone 67,6% (123/182) e Sincrogest = 62,2% (102/164)]. Houve efeito ($P = 0,001$) da presença de CL no D14 na expressão de estro entre o D22 e D24 [Sem CL = 92,5% (37/40) vs. Com CL = 58,6% (109/186) Gráfico 3]. Esse resultado pode ter acontecido devido à maior concentração plasmática de P4 nos animais com CL, determinando um menor efeito do E2 no hipotálamo, assim uma menor expressão de estro (ROELOFS *et al.*, 2010).

Gráfico 3 – Taxa de expressão de estro (D24) e taxa de prenhez à ressincronização de animais classificados com ou sem CL no D14. Houve efeito da presença de CL no D14 na expressão de estro, sendo os animais sem CL com maior taxa de estro, porém não houve efeito da presença de CL na taxa de prenhez à ressincronização

Entretanto não foi observada interação ($P = 0,61$) tratamento*presença de CL no D14 para expressão de estro, demonstrando que as taxas de expressão de estro

se comportaram da mesma maneira nos animais com e sem CL no D14 (maior nos animais sem CL) em todos os tratamentos.

A taxa de prenhez à ressincronização foi de 37,0% (194/524). Não houve efeito ($P = 0,53$) de tratamento para taxa de prenhez à ressincronização [Controle 34,7% (61/176); Afisterone 38,0% (70/184) e Sincrogest 38,4% (63/164; Gráfico 4)]. Cavalieri (2018) demonstrou que o tratamento com dois implantes com 3,12 g progesterona por três dias, pode promover a emergência de uma nova onda de crescimento folicular, via não somente supressão de LH mas também do FSH. Os animais do presente estudo podem não ter demonstrado diferenças devido ao tratamento ter sido utilizado em menor dose. Segundo Ginther *et al.* (1989), folículos em crescimento e início da fase de platô são FSH dependentes. No presente estudo animais com folículos FSH dependentes podem não ter sofrido nenhum efeito da adição da P4 injetável e em animais com folículos dependes do LH, somente a P4 do dispositivo já foi suficiente para bloquear o LH, causar a atresia e iniciar uma nova onda de crescimento.

Gráfico 4 – Taxa de prenhez à ressincronização de novilhas Nelore submetidas à três tratamentos no início do protocolo de ressincronização super precoce. Não houve efeito de tratamento na taxa de prenhez

Não foram observadas interações para taxa de prenhez à ressincronização com relação à: tratamento e presença de CL no D14 ($P = 0,63$) e tratamento e expressão

de estro ($P = 0,31$). Da mesma forma não foram observados efeitos sobre a taxa de prenhez à ressincronização com relação à presença de CL no D14 ($P = 0,37$) e expressão de estro ($P = 0,35$). Entretanto, as novilhas com MF no D14 $<8,5$ apresentaram menor taxa de prenhez [30,9%^b (34/110)] quando comparadas às novilhas com MF $\geq 8,5$ mm [46,4%^a (51/110); Gráfico 5]. Ginther *et al.* (1989) descreveram o crescimento folicular em fases de crescimento, platô e atresia. Ainda, esses autores estabeleceram que a fase de crescimento folicular apresenta dependência de FSH na fase anterior à dominância e de LH na fase posterior à dominância. Supõe-se que, no presente estudo, os folículos $\geq 8,5$ mm presentes no início do protocolo de sincronização são LH dependentes e apresentaram maior probabilidade de atresia após o tratamento com progesterona, que reduz a pulsatilidade de LH (ADAMS *et al.*, 1992).

Gráfico 5 – Taxa de prenhez à ressincronização de novilhas Nelore de acordo com o tamanho maior folículo presente nos ovários no D14. Houve efeito ($P = 0,03$), demonstrando maior taxa de prenhez nos animais com MF $\geq 8,5$ mm

Da mesma forma, foi observada interação ($P = 0,004$) entre classe de MF no D14 e tratamento [MF $<8,5$ mm: Controle = 31,8%^{ab} (14/44); MF $\geq 8,5$ mm, Controle

35,1%^{ab} (13/37); MF <8,5mm, Afisterone = 13,8%^b (4/29); MF ≥8,5mm, Afisterone 63,4%^a (26/41); MF <8,5, Sincrogest = 43,2%^{ab} (16/37); MF ≥8,5mm, Sincrogest 37,5%^{ab} (12/32)] demonstrado no Gráfico 6.

Gráfico 6 – Taxa de prenhez à ressincronização de novilhas Nelore submetidas a três tratamentos no início do protocolo de ressincronização super precoce. Houve interação entre os tratamentos na taxa de prenhez à ressincronização de acordo com o diâmetro do MF no D14

Essa interação ocorreu devido ao comportamento diferente do tratamento Afisterone, em comparação aos outros, onde os animais com menor diâmetro do MF no D14 (<8,5mm), obtiveram taxa de prenhez inferior aos animais com maior diâmetro do MF no D14 (≥8,5mm). Essa interação pode ter ocorrido devido ao baixo número de animais por grupo na divisão de classe de FDD14.

3.4.2 Experimento 1B

A taxa de prenhez no dia 22 por meio de ultrassonografia *color doppler* (DGD22) foi de 65,3% (470/720). Não foram observadas diferenças entre os grupos de tratamento (Controle = 67,6%; 163/241; Afisterone = 62,2%; 150/241; Sincrogest = 66%; 157/238; $P = 0,36$). Para avaliar o efeito de peso, os animais foram classificados em duas classes (< 288 e ≥ 288 Kg). Não houve interação tratamento*classepeso*ETR ($P = 0,89$), classepeso*ETR ($P = 0,27$), tratamento*classepeso ($P = 0,13$) e tratamento*ETR ($P = 0,19$). Também não houve efeito de classepeso ($P = 0,67$) no DGD22. Entretanto, houve efeito de ETR ($P = 0,0009$) para o DGD22. Verificou-se que os animais com maior ETR apresentaram maiores taxas de prenhez (Gráfico 7).

Gráfico 7 – Taxa de prenhez aos 22 dias (DGD22) por diagnóstico Doppler de novilhas cruzadas submetidas a três tratamentos no início do protocolo de ressincronização super precoce. Houve efeito de ETR na taxa de prenhez aos 22 dias (DGD22), determinando maiores taxas nos animais com maiores ETR's.

Esses resultados corroboram com os encontrados por Sá filho *et al.* (2010a) onde animais com ETR (1, 2, 3 ou 4) obtiveram menores taxas de prenhez à IATF quando comparadas ao ETR 5.

Aos 30 dias da primeira IATF a taxa de prenhez no diagnóstico por meio de ultrassonografia modo-B (DG30) foi de 58,3% (420/720). Não foram observadas diferenças entre os tratamentos ($P = 0,11$). Não houve interação tratamento*classepeso*ETR ($P = 0,89$), classepeso*ETR ($P = 0,26$), grupo*classepeso ($P = 0,21$) e grupo*ETR ($P = 0,12$) para DG30. Também não houve efeito de classepeso ($P = 0,50$) no DG30. Entretanto, foi observado efeito ($P = 0,01$) de ETR, demonstrando que novilhas com maior desenvolvimento uterino apresentam maior taxa de prenhez no DG30 (Gráfico 8). Holm *et al.* (2009) também demonstraram efeito de escore de trato reprodutivo na taxa de concepção de novilhas, obtendo maiores taxas de concepção na IA em animais com maiores escores de trato reprodutivo.

Gráfico 8 – Taxa de prenhez aos 30 dias (DG30) via diagnóstico modo B, de novilhas cruzadas submetidas a três tratamentos no início do protocolo de ressincronização super precoce. Houve efeito de ETR na taxa de prenhez aos 30 dias (DG30), determinando maiores taxas nos animais com maiores ETR's.

A diferença entre a taxa de prenhez do DGD22 e DGD30 (falsos positivos; FP) foi de 10,6% (50/470). Não houve efeito de tratamento na incidência de FP ($P = 0,85$),

ETR ($P = 0,15$), classepeso ($P = 0,13$). Para avaliar o efeito do escore de fluxo sanguíneo do CL no percentual de FP, foi realizada uma divisão em tercil. Não houve interação tratamento*classepeso*ETR*tercilfluxo ($P = 0,99$), grupo*classepeso*ETR ($P = 0,95$), grupo*tercilfluxo ($P = 0,37$), grupo*classepeso ($P = 0,94$), classepeso*ETR ($P = 0,99$) e grupo*ETR ($P = 0,60$) para FP. Entretanto, houve efeito de tercilfluxo ($P = 0,0007$), que é indicativo de que quanto maior o percentual de fluxo, menor é a taxa de falso positivo (Gráfico 9).

Gráfico 9 – Taxa de falso positivo entre os diagnósticos de gestação realizados aos 22 e 30 dias, de novilhas cruzadas submetidas a três tratamentos no início do protocolo de ressincronização super precoce. Houve efeito tercil de fluxo (TF), demonstrando que quanto maior o fluxo sanguíneo presente no CL no D22, menor é a taxa de falso positivo

Ginther *et al.* (2007) demonstraram a relação da perda de funcionalidade luteínica com a diminuição do fluxo de sangue no CL. Os autores verificaram que de acordo com a progressão da luteólise ocorre diminuição do percentual de fluxo do CL. Esses achados podem ser comparados aos obtidos no presente estudo, que apontam que os animais com menor fluxo sanguíneo no D22 podem estar em processo de início de luteólise, culminando em maiores taxas de FP no DG30.

O diâmetro do MF FDD22 foi de $10,5 \pm 0,1$ mm, sendo dividido em classes: Fpeq $<10,5$ mm e Fgde $\geq 10,5$ mm. Não houve diferença entre os tratamentos (Controle $10,8$ mm $\pm 2,2$; Afisterone $10,4$ mm $\pm 1,6$ e Sincrogest $10,3$ mm $\pm 1,9$; $P = 0,96$). Não houve interação tratamento*classefdd22*classepeso*ETR ($P = 0,51$),

grupo*classefdd22*classepeso ($P = 0,23$), tratamento*classefdd22*ETR ($P=0,47$), tratamento*ETR ($P = 0,79$) e classefdd22*ETR ($P = 0,79$) para tamanho do MF no D22. Da mesma forma, não houve efeito de classepeso ($P = 0,27$) e peso ($P = 0,67$) no diâmetro do MF no D22.

Houve efeito ($P = 0,03$) de ETR para diâmetro do MF no FDD22, demonstrando maior diâmetro do MF no D22 para animais com maiores ETR's (Gráfico 10). Andersen *et al.* (1991) demonstrou que avaliar o escore de trato reprodutivo pode ser uma ferramenta para determinar fertilidade em novilhas, em que animais com maiores ETR's possuem maior fertilidade. Freitas (2015) não encontrou efeito de maiores ETR's no diâmetro do maior folículo presente nos ovários.

Gráfico 10 – Diâmetro do MF do FDD22 de acordo com o ETR de novilhas cruzadas submetidas a três tratamentos no início do protocolo de ressincronização super precoce. Houve efeito ETR demonstrando maiores diâmetros do MF no D22 para os animais com maiores ETR's

Não foi observado efeito de tratamento na taxa de prenhez à ressincronização ($P = 0,87$) (Gráfico 11).

Em estudo, Pugliesi *et al.* (2019) não observaram diferenças na taxa de prenhez à ressincronização quando compararam a utilização de somente um

dispositivo impregnado com P4 (0,96 g) no dia 12 após primeira inseminação, comparado ao mesmo dispositivo associado a 75 mg de progesterona injetável (Sincrogest). Não houve interação tratamento*tercilECC*ETR ($P = 0,99$), tratamento*tercilECC ($P = 0,44$), tratamento*ETR ($P = 0,88$) e efeito de classe FDD22 ($P = 0,88$) e ETR ($P = 0,23$) nas taxas de prenhez à ressincronização.

Gráfico 11 – Taxa de prenhez à ressincronização de novilhas cruzadas (Nelore x Angus) submetidas a três tratamentos no início do protocolo de ressincronização super precoce. Não houve efeito de tratamento na taxa de prenhez à ressincronização

A taxa de expressão de estro foi de 73,6% (184/250). Não houve diferença na taxa de expressão de estro de acordo com o tratamento (Controle 70,5%; Afisterone 76,9% e Sincrogest 72,8%; $P = 0,84$).

Não foi observada interação entre tratamento*tercilECC ($P = 0,87$), tratamento*classeFDD22 ($P = 0,25$), tratamento*estro ($P = 0,61$), tratamento*classepeso ($P = 0,65$), tratamento*ETR ($P = 0,82$); e efeito de classepeso ($P = 0,75$), classe FDD22 ($P = 0,79$), tercilECC ($P = 0,13$) e ETR ($P = 0,68$) na taxa de prenhez. Entretanto, houve efeito ($P = 0,0003$) de expressão de estro sobre a taxa de prenhez à ressincronização. Verificou-se que os animais que manifestaram estro apresentaram maior taxa de prenhez a ressincronização (Gráfico 12). Inúmeros trabalhos também evidenciaram que a presença de estro ao final do protocolo de

sincronização está relacionada ao aumento da taxa de prenhez (SÁ FILHO *et al.*, 2011; SÁ FILHO *et al.*, 2010b; MENEGHETI *et al.*, 2009; PERES *et al.*, 2009) Dessa forma, o estro é um indicador de fertilidade também para o protocolo de sincronização super precoce.

Gráfico 12 – Taxa de prenhez à ressincronização de acordo com a expressão de estro no dia 24 de novilhas cruzadas submetidas a três tratamentos no início do protocolo de ressincronização super precoce. Houve efeito de expressão de estro, demonstrando taxas de prenhez superiores em animais com presença de estro

A taxa de prenhez acumulada (1ª e 2ª IATF) foi de 74,3% (535/720). Não houve diferença entre os tratamentos ($P = 0,77$), conforme demonstrado no Gráfico 13.

Gráfico 13 – Taxa de prenhez no DG doppler, DG30, ressinchronização e acumulada em novilhas cruzadas submetidas a três tratamentos no início do protocolo de ressinchronização super precoce. Não houve efeito de prenhez em nenhuma das avaliações

Não houve interação entre tratamento*classepeso*tercilECC*ETR (P = 0,99), tratamento*classepeso*tercilECC (P = 0,86), tratamento*classepeso*ETR (P = 0,99), grupo*classepeso (P = 0,33), tratamento*ETR (P = 0,80), tratamento*tercilECC (P = 0,79); e efeito de classepeso (P = 0,80), tercilECC (P = 0,41) e ETR (P = 0,44) para taxa de prenhez acumulada.

3.4.3 Experimento 1C

A média do diâmetro do MF no D22 foi de $9,7 \pm 0,1$ em vacas pluríparas e primíparas da raça Nelore. Não houve interação para tratamento*fazenda*categoria*tercilMFD22 (P = 0,88), tratamento*fazenda*categoria (P = 0,82), tratamento*fazenda (P = 0,74), tratamento*categoria (P = 0,80) e fazenda*categoria (P = 0,86). Da mesma forma, não houve efeito de categoria (P = 0,79), fazenda (P = 0,64) e tratamento (P = 0,62) para o diâmetro do MF no D22.

A taxa média de expressão de estro foi de 56,8% (268/472). Não houve efeito de tratamento para a manifestação de estro entre a retirada do dispositivo de P4 (D22)

e a IATF (D24) [Controle = 56,4% (93/165); Afisterone = 55,8% (87/156) e Sincrogest = 58,3% (88/151); $P = 0,90$]. Não houve interação entre tratamento*categoria*tercilMFD22 ($P = 0,98$), tratamento*tercilMFD22 ($P = 0,92$), categoria*tercilMFD22 ($P = 0,25$), tratamento*categoria ($P = 0,25$) e efeito de tercilMFD22 ($P = 0,71$). Esses resultados demonstram que a expressão de estro se comportou de forma semelhante nas categorias, tratamentos, fazendas, e diâmetros do MF no D22 classificados em tercís. Entretanto, houve efeito de categoria para expressão de estro [Multípara = 63,7%^a (135/212) vs. Primípara = 51,2%^b (133/260); $P = 0,007$], como demonstrado no Gráfico 14.

Gráfico 14 – Taxa de expressão de estro de vacas pluríparas e primíparas Nelore. Houve efeito de categoria, demonstrando maior expressão de estro nas pluríparas.

Grillo *et al.* (2015) encontraram menores taxas de ciclicidade antes do protocolo de IATF e menor taxa de prenhez no fim da estação de monta de vacas primíparas comparadas a vacas pluríparas, demonstrando uma menor eficiência reprodutiva dessa categoria. O efeito de categoria na eficiência dos programas reprodutivos que utilizam a IATF foi demonstrado anteriormente por outros pesquisadores. Sá Filho *et al.* (2011) verificaram que as primíparas manifestaram menos estro que pluríparas e

que a manifestação de estro é um indicador de fertilidade na IATF. Ainda, Sá Filho *et al.* (2011) evidenciaram que primíparas apresentaram menor eficiência reprodutiva durante a estação de monta quando comparadas com pluríparas. Os dados do presente estudo corroboram que o estro é um indicador de fertilidade à IATF também no protocolo de ressincronização super precoce.

A taxa média de prenhez à ressincronização foi de 33,9% (333/982). Não houve efeito de tratamento [Controle = 34,8% (116/333) vs Afisterone = 31,2% (99/317) vs Sincrogest = 35,5% (118/332); $P = 0,19$]. Os dados estão apresentados no Gráfico 15. Esses resultados corroboram com os descritos por Pugliesi *et al.* (2019), que verificaram semelhante taxa de prenhez no protocolo de ressincronização super precoce nos animais tratados ou não com P4 injetável (75 mg) no início do protocolo.

Gráfico 15 – Taxa de prenhez à ressincronização de vacas pluríparas e primíparas Nelore. Não houve efeito de taxa de prenhez à ressincronização de acordo com tratamento no D14

Da mesma forma não foram observadas interações tratamento*tercilMFD22*categoria*fazenda ($P = 0,41$), tratamento*tercilMFD22*categoria ($P = 0,46$), tratamento*categoria ($P = 0,94$), tratamento*cio ($P = 0,69$), tratamento*fazenda ($P = 0,28$), efeito de fazenda ($P = 0,28$), efeito de tercilMFD22 ($P = 0,15$) para taxa de prenhez à ressincronização. Entretanto, houve efeito da expressão de estro na taxa de prenhez [Presença de Estro = 43,3%

(116/268) vs. Ausência de Estro = 19,1% (39/204); $p = 0,0001$], como demonstrado no Gráfico 16.

Gráfico 16 – Taxa de prenhez à ressincronização de vacas pluríparas e primíparas Nelore de acordo com a demonstração ou não de estro entre os dias 22 e 24. Houve efeito de taxa de prenhez à ressincronização de acordo com a expressão de estro

O aumento da taxa de prenhez à ressincronização de acordo com presença de estro também verificado nas vacas do presente estudo, corrobora com os resultados descritos por Sá filho *et al.* (2011), demonstrando que animais com presença de estro entre o dia da retirada do dispositivo e a IATF apresentam maiores taxas de prenhez 30 dias após a IATF.

4 EXPERIMENTO 2 – TAXA DE PRENHEZ À IATF DE NOVILHAS RESSINCRONIZADAS COM DIFERENTES PROTOCOLOS (RESSINCRONIZAÇÃO AOS 14, 22 E 30 DIAS APÓS IATF)

4.1 OBJETIVOS

- Avaliar a taxa de prenhez à primeira e à segunda IATF e a taxa de prenhez acumulada nos modelos de ressinchronização super precoce, precoce e tradicional.

4.2 HIPÓTESE

Não há diferença na taxa de prenhez entre os modelos de ressinchronização, possibilitando reduzir o intervalo entre inseminações e melhorar a eficiência reprodutiva durante a EM.

4.3 MATERIAL E MÉTODOS

4.3.1 Manejo dos animais

O experimento foi realizado em duas fazendas comerciais, uma localizada no norte brasileiro, na cidade de Colinas do Tocantins, Tocantins (2A) e outra no centro oeste brasileiro na cidade de Bonito, Mato Grosso do Sul (2B). O estudo 2A utilizou 288 novilhas Nelore (15 a 22 meses de idade) e o estudo 2B, 172 novilhas cruzadas (Angus x Nelore, 13 à 16 meses de idade). Todos os animais foram mantidos em pastejo (*Brachiaria brizantha*), com suplementação mineral e livre acesso à água.

4.3.2 Delineamento Experimental

4.3.2.1 Experimento 2A

O experimento 2A teve início 14 dias após a primeira IATF (D14), onde cada lote (quatro lotes ao todo) foram distribuídos homogeneamente em dois tratamentos: Ressinc 14 (n=333), e Ressinc 22 (n=352),. Para essa distribuição foram utilizados como critérios o ECC, touro e inseminador da primeira IA. Todos os lotes foram submetidos aos dois tratamentos, tornando as condições de ambiência iguais para ambos os grupos tratados.

No D14, o grupo ressinc 14 recebeu um dispositivo impregnado com P4 (Prociclar® 0,750 mg, Ceva saúde animal Ltda, Paulínia, SP, Brasil) associado à aplicação IM de 0,33 ml (50 mg) de P4 injetável (Sincrogest injetável®, Ourofino saúde animal, Cravinhos, SP, Brasil). No D14 o grupo Ressinc 22 não recebeu nenhum tratamento. Após 22 dias da primeira IA (D22), todos os animais voltaram para o curral de manejo, sendo o grupo Ressinc 14 submetido à retirada do dispositivo intravaginal e diagnosticado via ultrassonografia Color Doppler (S8®, Sonoscape, China) utilizando os mesmos critérios descritos no experimento 1.

As fêmeas não gestantes foram submetidas à continuação do protocolo de IATF: aplicação IM de 1 ml (200 UI) da eCG (Novormon®, Zoetis, SP, Brasil); 0,3 ml (0,6 mg) de CE (ECP®, Zoetis, SP, Brasil); e 2,5 ml (12,5 mg) de dinoprost trometamina (Lutalyse®, Zoetis, SP, Brasil).

Todos os animais retornaram ao curral de manejo no D24 e os animais do grupo Ressinc 14 foram inseminados. No mesmo D22, o grupo Ressinc 22 foi submetido ao início da ressincronização, utilizando o mesmo dispositivo intravaginal do grupo Ressinc 14 associado à 1 ml IM (1 mg) de BE (Gonadiol®, Zoetis, SP, Brasil). Após oito dias no D30, os animais do grupo Ressinc 22 voltaram ao curral para remoção do dispositivo de P4, DG via ultrassonografia transretal modo B (DP-2200®, Mindray, China) e continuação do protocolo para IATF nos animais não gestantes, semelhante ao grupo Ressinc 14. Os animais do grupo Ressinc 22 retornaram ao curral de manejo no D32 para a IA. Todos os animais foram diagnosticados via ultrassonografia modo B (DP-2200®, Mindray, China) 30 dias após a segunda IATF (Figura 9).

Figura 9 – Delineamento do Experimento 2A, demonstrando um mesmo lote dividido em dois diferentes protocolos de ressincronização: Ressinc 14 (n= 333) e Ressinc 22 (n= 352) para verificar a eficiência em taxa de concepção da segunda IATF de cada modelo

Fonte: o autor (2019).

Para avaliar o efeito do falso positivo no grupo Ressinc 14 na eficiência reprodutiva entre as duas abordagens de ressincronização, foi calculado o percentual de animais que foram ressincronizados nos dois grupos para comparação entre os grupos.

4.3.2.2 Experimento 2B

O experimento 2B foi semelhante ao Experimento 2A, porém utilizou novilhas cruzadas (Angus x Nelore, n= 343, de 13 a 16 meses de idade) e comparou o modelo de ressincronização super precoce com o tradicional, o ressinc 30. O experimento também teve início no 14º dia após a primeira IATF com a divisão dos grupos, sendo neste momento também separadas em dois lotes. Para proporcionar ambiência semelhante para os dois grupos, os animais foram alternados em áreas de pastagem, sendo cada grupo passando por semelhantes qualidades e quantidades de alimentação. O primeiro grupo, ressinc 14 (n= 178), seguiu o mesmo cronograma, manejos, avaliações e fármacos do mesmo grupo do experimento 2ª. No segundo grupo, Ressinc 30 (n= 165), todos os animais foram diagnosticados via ultrassonografia transretal modo B (DP-2200® Mindray, China) 30 dias após primeira IATF e ressincronizados com o mesmo protocolo. As doses de BE foram alteradas de 1 para 2 ml (2mg) somente no grupo ressinc 30. As doses de eCG e CE foram

alteradas em ambos os grupos, de 1 para 1,5 ml (300 UI) e de 0,3 para 0,5 ml (1 mg), respectivamente. Todos os animais foram diagnosticados 30 dias após a segunda IATF (DP-2200® Mindray, China) para obter a taxa de concepção da ressinchronização, conforme Figura 10.

Figura 10 – Delineamento do Experimento 2B, demonstrando um mesmo lote dividido em dois diferentes protocolos de ressinchronização: Ressinc 14 (n= 178) e Ressinc 30 (n= 165) para verificar a eficiência da taxa de concepção na segunda IATF de cada modelo

Fonte: o autor (2019).

Para avaliar o efeito do falso positivo no grupo Ressinc 14, foi calculado o percentual de animais que foram ressinchronizados nos dois grupos para comparação entre os grupos.

4.3.3 Análise estatística

A análise estatística foi realizada com auxílio do software Statistical Analysis System for Windows SAS® (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA versão 9.3). Utilizando o PROC GLIMMIX. As foram removidas sequencialmente do modelo estatístico de acordo com o critério de *Wald* se $P > 0,20$. O modelo final foi escolhido o de menor valor de acordo com o critério de AICC (*Akaike information criterion – corrected version*). A diferença estatística foi considerada se $P < 0,05$.

4.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.4.1 Experimento 2A

Os animais sincronizados com o modelo super precoce (Ressinc 14) obtiveram taxa de 65,8% de prenhez no DGD22 (DG Doppler), e 52,9% no DG30 (Modo B), resultando em 19,6% de falso positivo entre o D22 e o D30 (Gráfico 18). Não houve efeito de modelo de ressincronização na taxa de prenhez à primeira IATF [Ressinc 14 = 52,9% (176/333) vs Ressinc 22 = 51,7% (182/352); $P = 0,78$]. Os dados estão apresentados no Gráfico 18.

Houve efeito do percentual de animais ressincronizados conforme o modelo de ressincronização [Ressinc 14 = 34,2% (114/333) vs Ressinc 22 = 48,3% (170/352); $P = 0,0002$]. Verificou-se que o modelo de ressincronização precoce (Ressinc 22) apresentou maior percentual de animais submetidos à ressincronização quando comparado ao modelo super precoce (Ressinc 14), como demonstrado no Gráfico 17. Esse resultado ocorreu devido aos animais que foram considerados gestantes no DG doppler e não gestante no DG 30 não continuarem o protocolo de IATF, diminuindo a taxa de serviço e o número de animais que recebem a ressincronização. Wiltbank *et al.* (2016) demonstraram que a taxa de perda gestacional pode variar de 25 a 41% nos primeiros 27 dias de gestação. O diagnóstico de falso positivo do protocolo de ressincronização super precoce pode ser justificado, em partes, pelas perdas gestacionais precoces. Nesse modelo, devido ao adiantamento do diagnóstico de gestação, a avaliação é realizada 22 dias após IA, com 8 dias de antecipação quando comparada ao diagnóstico efetuado 30 dias após a IA (modelo de ressincronização precoce).

Gráfico 17 – Taxa de animais submetidos à ressyncronização nos diferentes modelos (super precoce e precoce). Houve efeito de taxa de animais ressyncronizados (o grupo Ressinc 22 foi superior ao grupo Ressinc 14)

Não houve efeito da taxa de prenhez à ressyncronização (2ª IATF) de acordo com modelo de ressyncronização [Ressinc 14 = 46% (52/113) vs Ressinc 22 = 42,4 (72/170); P= 0,54]. Pessoa *et al.* (2018) demonstraram taxas de prenhez semelhantes entre os modelos tradicionais e precoces de ressyncronização. Comparando a ressyncronização super precoce com a precoce, Penteado *et al.* (2016) encontraram semelhantes taxas de prenhez de vacas pluríparas na ressyncronização entre o protocolo de ressyncronização precoce (56%; n=37/66) e super precoce (50%; n=27/54), corroborando com os dados do presente estudo.

Também não foi verificado efeito na taxa de prenhez acumulada entre os modelos de ressyncronização [Ressinc 14 = 68,5% (228/333) vs Ressinc 22 = 72,2% (254/352); P= 0,29]. Os dados estão apresentados no Gráfico 18.

Gráfico 18 – Taxa de prenhez e de falso positivo em novilhas Nelore submetidas a dois modelos de ressincronização (precoce e super precoce). Não houve efeito na taxa de prenhez à 1ª e 2ª IATF e na taxa de prenhez acumulada entre os modelos de ressincronização

4.4.2 Experimento 2B

A taxa de prenhez 22 dias após a primeira IATF no DG Doppler foi de 64% (114/178). A confirmação da taxa de prenhez 30 dias após a IATF foi de 57,9% (103/178), resultando em uma taxa de FP de 6,2% (11/178). Houve efeito na taxa de prenhez no DG 30 entre os tratamentos [Ressinc 14 = 57,9% (103/178) vs Ressinc 30 = 41,2% (68/165); $P= 0,0016$] demonstrados no Gráfico 20. Este resultado não esperado pode ter causas multifatoriais, como o efeito da exposição à progesterona de 14 a 22 dias após a primeira IATF. Alguns estudos demonstraram aumento na taxa de prenhez de animais tratados com progesterona após a IATF (BINELLI *et al.*, 2017). Ainda, outros fatores relacionados à alimentação e à ambiência podem ter interferido na taxa de prenhez à primeira IATF, uma vez que os animais foram separados em pastos diferentes 14 dias após a IATF. Apesar da rotação de pastos realizada nos lotes experimentais na tentativa de evitar variações, podem ter ocorrido mudanças de manejo que prejudicaram o lote submetido à ressincronização tradicional. Nesse sentido, outros estudos devem ser realizados para elucidar esse resultado.

Houve efeito do percentual de animais diagnosticados como não gestantes e submetidos à ressinchronização [Ressinc 14= 36% (64/178) vs Ressinc 30= 58,8% (97/165); $P= 0,0001$], como demonstrado no Gráfico 19. Esse resultado também foi verificado no experimento 2A do presente estudo que comparou a ressinchronização super precoce com a precoce. Entretanto, neste estudo, além do percentual de FP de 6,2%, essa diferença pode ter ocorrido devido à maior taxa de prenhez verificada na primeira IATF do modelo super precoce.

Gráfico 19 – Taxa de animais submetidos à ressinchronização por diferentes modelos de ressinchronização. Houve efeito de taxa de animais ressinchronizados, sendo o grupo Ressinc 30 superior ao grupo Ressinc 14

Não houve efeito de modelo de ressinchronização na taxa de prenhez da segunda IATF [Ressinc 14 = 39,1% (25/64) vs Ressinc 30 = 32% (31/97); $P= 0,17$]. Entretanto, houve efeito do modelo de ressinchronização na taxa de prenhez acumulada [Ressinc 14 = 71,9% (128/178) vs Ressinc 30 = 60% (99/165); $P= 0,02$] como demonstrado no Gráfico 20.

Gráfico 20 – Taxa de prenhez e falso positivo de novilhas cruzadas submetidas a dois modelos de ressincronização. Houve efeito na taxa de prenhez na 1ª IATF e prenhez acumulada dentre os modelos de ressincronização utilizados. Porém não houve efeito na taxa de prenhez da 2ª IATF

Os experimentos 2A e 2B evidenciaram que o modelo de ressincronização super precoce pode ser uma alternativa para diminuir o intervalo entre inseminações e aumentar a eficiência reprodutiva de fêmeas bovinas inseminadas em tempo fixo, e corroboram com os estudos previamente apresentados (BARUSELLI *et al.*, 2017; PUGLIESI *et al.*, 2017).

6 CONCLUSÃO

Após a análise dos resultados do presente estudo foi possível concluir que:

Experimento 1:

- Vacas Nelore e novilhas Nelore e Cruzadas (F1; Angus x Nelore) apresentaram semelhantes taxas de prenhez à IATF e não confirmaram a hipótese de que o tratamento com P4 injetável no início do protocolo de ressincronização super precoce melhora a eficiência reprodutiva.
- Não houve diferença na taxa de prenhez entre as duas fontes de progesterona injetável (Afisterone® vs Sincrogest injetável®).

Experimento 2:

- O modelo de ressincronização super precoce apresentou semelhante taxa de prenhez à primeira e à segunda IATF, bem como similar taxa de prenhez acumulada quando comparado com o modelo precoce.
- O modelo de ressincronização super precoce apresentou maior taxa de prenhez à primeira IATF, semelhante taxa de prenhez à segunda IATF e maior taxa de prenhez acumulada quando comparado com o modelo tradicional. Esses resultados confirmam parcialmente a hipótese levantada.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo foi desenvolvido com o intuito de avaliar os fatores que podem afetar a eficiência do modelo de ressincronização super precoce, determinando a necessidade de utilização da progesterona injetável no início do protocolo. Ainda, o estudo procurou comparar a eficiência do modelo de ressincronização super precoce com os modelos de ressincronização precoce e tradicional. O uso da progesterona injetável no início do protocolo de ressincronização precoce não resultou em aumentos nas taxas de prenhez de novilhas Nelore (Gráfico 4), novilhas cruzadas Nelore x Angus (Gráfico 11) e em vacas Nelore (Gráfico 15), demonstrando não ser necessário o tratamento adicional de uma segunda fonte de progesterona nas categorias avaliadas. Também foi observado que a taxa de prenhez foi maior para novilhas cruzadas (Nelore x Angus; Gráfico 12) e vacas Nelore (Gráfico 16) que demonstraram estro, confirmando estudos anteriores que apontam essa característica como indicadora de fertilidade nos protocolos de IATF. O ETR também influenciou a taxa de prenhez de novilhas cruzadas (Nelore x Angus; Gráfico 8), demonstrando que o desenvolvimento uterino e ovariano são fatores importantes na eficiência reprodutiva dos protocolos de ressincronização. As taxas de prenhez à ressincronização foram semelhantes entre os modelos super precoce e precoce (Gráfico 18) e entre o super precoce e tradicional (Gráfico 20), demonstrando semelhante eficiência dos modelos de ressincronização das categorias estudadas. Um ponto que merece atenção é a presença dos falsos positivos no modelo de ressincronização super precoce, que determina menor taxa de serviço nos animais aptos a serem inseminados novamente. Essa característica deve ser melhor estudada para aumentar a eficiência do protocolo super precoce de ressincronização. Os dados do presente estudo apontam o modelo de ressincronização super precoce como uma ferramenta eficiente para diminuir o intervalo entre inseminações, reduzindo o período da estação de monta, e melhorando a eficiência reprodutiva dos rebanhos de corte.

REFERÊNCIAS

- ABEYGUNAWARDENA, H.; DEMATAWEWA, C. M. B. Pre-pubertal and postpartum anestrus in tropical Zebu cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 83, p. 373-387, 2004.
- ADAMS, G. P.; MATTERI, R. L.; GINTHER, O. J. Effect of progesterone on ovarian follicles, emergence of follicular waves and circulating follicle-stimulating hormone in heifers. **Reproduction**, v. 96, n. 2, p. 627-640, 1992.
- ANDERSEN, K.; LEFEVER, D. G.; BRINKS, J. S.; ODDE, K. G. The use of reproductive tract scoring in beef heifers. **Agri-Practice**, v. 12, p. 19-26, 1991.
- ANTONIAZZI, A. Q.; HENKES, L. E.; OLIVEIRA J. F. C.; ROSS, T. H. Função do interferon-tau durante o reconhecimento materno da gestação em ruminantes. **Revista Ciência Rural**, v. 41, n. 1, p. 176-185, 2011.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNES (ABIEC). **Exportações Brasileiras de Carne Bovina - Sumário 2018**. Disponível em: < <http://abiec.com.br/ExportacoesPorAno.aspx> >. Acesso em: 10 jun. 2019.
- ANTONIAZZI, A. Q.; HENKES, L. E.; OLIVEIRA J. F. C.; ROSS, T. H. Função do interferon-tau durante o reconhecimento materno da gestação em ruminantes. **Revista Ciência Rural**, v. 41, n. 1, 2011.
- ARAUJO, R. R.; GINTHER, O. J.; FERREIRA, J. C.; PALHÃO, M. M.; BEG, M.A.; WILTBANK, M.C. Role of follicular estradiol-17beta in timing of luteolysis in heifers. **Biol Reprod**, v. 81, n. 2, p. 426-437, 2009.
- BARUSELLI, P. S.; FERREIRA, R. M.; COLLI, M. H. A.; ELLIFF, F.M.; SÁ FILHO, M.F.; VIEIRA, L.; FREITAS, B. G. Timed artificial insemination: current challenges and recent advances in reproductive efficiency in beef and dairy herds in Brazil. **Anim. Reprod. SBTE**, v. 14, n. 3, p. 558-571, 2017.
- BARUSELLI, P. S.; JACOMINI, J. O.; SALES, J. N. S.; CREPALDI, G. A. Importância do emprego da eCG em protocolos de sincronização para IA, TE e SOV em tempo fixo. **Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada**, v. 3, p. 146-167, 2008.
- BARUSELLI, P. S.; MOTTA, J. C. L.; COLLI, M. H. A.; FERREIRA, R. M. S. Lucro no tempo certo. **Revista AG**. Disponível em: <<https://edcentaurus.com.br/ag/edicao/200/materia/7922>>. Acesso em: 08 jul. 2019.
- BARUSELLI, P. S.; REIS, E. L.; MARQUES, M. O. Inseminação artificial em tempo fixo em bovinos de corte. In: **Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada**, 1., 2004, Londrina. **Anais...** Londrina, 2004. p. 155-165.
- BARUSELLI, P. S. IATF gera ganhos que superam R\$ 3,5 bilhões nas cadeias de produção de carne e de leite. **Boletim Eletrônico do Departamento de**

Reprodução Animal/FMVZ/USP, 2. ed., 2019. Disponível em:

<<http://vra.fmvz.usp.br/boletim-eletronico-vra/>>. Acesso em: 28 jun. 2019.

BINELLI, M.; PUGLIESI, G.; BATISTA, E. D. O. S.; MARTINS, T.; LOPES, E.; SPONCHIADO, M.; MELLO, B. P. Programação da receptividade uterina e fertilidade em vacas de corte. **Rev Bras Reprod Anim**, v. 41, p.121-129, 2017.

BÓ, G. A.; ADAMS, G. P.; PIERSON, R. A.; TRIBULO, H. E.; CACCIA, M.; MAPLETOFT, R. J. Follicular wave dynamics after estradiol-17 β treatment of heifers with or without a progestogen implant. **Theriogenology**, v. 41, n. 8, p. 1555-1569, 1994.

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

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

CARTER, M. L.; DIERSCHKE, D. J.; RUTLEDGE, J. J.; HAUSER, E. R. Effect of gonadotropin-releasing hormone and calf removal on pituitary-ovarian function and reproductive performance in postpartum beef cows. **J Anim Sci**, v. 51, p. 903-910, 1980.

CAVALIERI, J. Effect of treatment of *Bos indicus* heifers with progesterone 0, 3 and 6 days after follicular aspiration on follicular dynamics and the timing of oestrus and ovulation. **Animal reproduction science**, v. 193, p. 9-18, 2018.

CREPALDI, G. A.; FREITAS, B. G.; MINGOTI, R. D.; COLLI, M. H. A.; GONÇALES JUNIOR, W. A.; FERREIRA, R. M.; BARUSELLI, P. S. 2017. Reproductive efficiency of Nelore cows submitted to three different reproductive strategies in a 64 days breeding season (abstract). In: Proceedings of the 31st Annual Meeting of the Brazilian Embryo Technology Society (SBTE), 2017, Cabo de Santo Agostinho (PE). **Anais...** v. 14, n. 3, p. 698, 2017.

CREPALDI, G. A.; FREITAS, B. G.; VIEIRA, L. M.; SÁ FILHO, M. F.; GUERREIRO, B. M.; BARUSELLI, P. S. Reproductive efficiency of Nelore females submitted to three consecutive FTAI programs with 32 days of interval between inseminations (abstract). In: Proceedings of the 28th Annual Meeting of Brazilian Embryo Technology Society (SBTE), 2014, Natal (RN). **Anais...** v. 11, n. 3, p. 355, 2014.

DAY, M. L.; ANDERSON, L. H. Current concepts on the control of puberty in cattle. **J. Anim. Sci.**, v. 76, n. 3, p. 1-15., 1998.

DAY, M. L.; IMAKAWA, K.; GARCIA-WINDER, M.; KITTOCK, R. J.; SCHANBACHER, B. D.; KINDER, J. E. Influence of prepubertal ovariectomy and estradiol replacement therapy on secretion of luteinizing hormone before and after pubertal age in heifers. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 3, n. 1, p. 17-25, 1986.

DAY, M. L.; NOGUEIRA, G. P. Management of age at puberty in beef heifers to optimize efficiency of beef production. **Animal Frontiers**, v. 3, n. 4, p. 6-11, 2013.

DONALDSON, L. E.; BASSETT, J. M.; THORBURN, G. D. Peripheral plasma progesterone concentration of cows during puberty, oestrous cycles, pregnancy and lactation, and the effects of under-nutrition or exogenous oxytocin on progesterone concentration. **Journal of Endocrinology**, v. 48, n. 4, p. 599-614, 1970.

FERNANDES, P.; TEIXERIA, A. B.; CROCCI, A. J. Timed artificial insemination in beef cattle using GnRH agonist. PGF2alpha and estradiol benzoate. **Theriogenology**, v. 55, p. 1521-1532, 2001.

FORMIGONI, I. **Compare a produção de carne bovina dos EUA e Brasil**. FARMNEWS, 2017. Disponível em: <<http://www.farmnews.com.br/gestao-pecuaria/producao-de-carne-bovina/>>. Acesso em: 28 jun. 2019.

FREITAS, B. G. **Influência do desenvolvimento corporal na resposta aos programas de sincronização para inseminação artificial em tempo fixo em novilhas nelore de 14 meses de idade**. 2015. São Paulo, 98p. Tese, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

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

GINTHER, O. J.; SILVA, L. A.; ARAUJO, R. R.; BEG, M. A. Temporal Associations among pulses of 13,14-Dihydro-15-ketoPGF2alpha, Luteal Blood Flow, and Luteolysis in Cattle. **Biol Reprod**, v. 76, p. 506-513, 2007.

GRILLO, G. F.; GUIMARÃES, A. L. L.; COUTO, S. R. B.; ABIDU-FIGUEIREDO, M.; PALHANO, H. B. Comparison of pregnancy rate between heifers, primiparous and multiparous Nelore submitted to artificial insemination fixed time. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**. v. 37, n. 3, p. 193-197, 2015.

HOLM, D. E.; THOMPSON, P. N.; IRONS, P. C. The value of reproductive tract scoring as a predictor of fertility and production outcomes in beef heifers. **Journal of animal science**, v. 87, n. 6, p. 1934-1940, 2009.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Sistema de Recuperação Automática (SIDRA). **Pesquisa da Pecuária Municipal**, 2018. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/ppm/quadros/brasil/2017>>. Acesso em: 10 jun. 2019.

LAMB, G. C.; STEVENSON, J. S.; KESLER, D. J.; GARVERICK, H. A.; BROWN, D. R.; SALFEN, B. E. Inclusion of an intravaginal progesterone insert plus GnRH and prostaglandin F2α for ovulation control in postpartum suckled beef cows. **Journal of Animal Science**, v. 79, n. 9, 2253-2259, 2001.

GIMENES, L. U.; SÁ FILHO, M. F.; CARVALHO, N. D.; TORRES-JÚNIOR, J. R. S.; SOUZA, A. D.; MADUREIRA, E. H.; MAPLETOFT, R. J. Follicle deviation and ovulatory capacity in *Bos indicus* heifers. **Theriogenology**, v. 69, n. 7, p. 852-858, 2008.

MACHADO, C. H. M.; MALHADO, A. C. M.; MARTINS FILHO, R.; CARNEIRO, P. L. S.; PALA, A.; ADRIÁN CARRILLO, J. Age at first calving of Nellore cattle in the semi-arid region of northeastern Brazil using linear, threshold, censored and penalty models. **Livestock Science**, v. 154, n. 1-3, p. 28-33, 2013.

MADUREIRA, E. H.; FERNANDES, R. H. R.; FERREIRA, L. A.; BRAGA, F. A.; PARDO, F. J. Anestro pós-parto em bovinos: A suplementação com óleos vegetais pode ser útil para encurtá-lo? In: Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, 2006, Londrina. **Anais...** 2006, p. 63-70.

MADUREIRA, E. H.; PIMENTEL, J. R. V.; ALMEIDA, A. B.; ROSSA, L. A. F. Sincronização com progestágenos. In: Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, 1., 2004, Londrina. **Anais...** Londrina, 2004. p. 117-128.

MARQUES, M. O.; MOROTTI, F.; BIZARRO, C.; RIBEIRO-JÚNIOR, M.; 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, n. 3, p. 1-5, 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, n. 1-2, p. 23-33, 1999.

MARTINS, T.; PERES, R. F. G.; RODRIGUES, A. D. P.; POHLER, K. G.; PEREIRA, M. H. C.; DAY, M. L.; VASCONCELOS, J. L. M. Effect of progesterone concentrations, follicle diameter, timing of artificial insemination, and ovulatory stimulus on pregnancy rate to synchronized artificial insemination in postpubertal Nellore heifers. **Theriogenology**, v. 81, n. 3, p. 446-453, 2014.

MENEGHETTI M.; VASCONCELOS J. L. M. Mês de parição, condição corporal e resposta ao protocolo de inseminação artificial em tempo fixo em vacas de corte primíparas. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**, v. 60, p.786-793, 2008.

MENEGHETTI, M.; SÁ FILHO, O. G.; PERES, R. F. G.; LAMB, G. C.; VASCONCELOS, J. L. M. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows I: Basis for development of protocols. **Theriogenology**, v. 72, n. 2, p. 179-189, 2009

MIHM, M. Delayed resumption of cyclicity in postpartum dairy and beef cattle. **Reproduction Domestic Animal**, v. 34, p. 277-284, 1999

MORENO, D.; CUTAIA, L.; VILLATA, M. L.; ORTISI, F.; BÓ, G. A. Follicle wave emergence in beef cows treated with progesterone releasing devices, estradiol benzoate and progesterone. **Theriogenology**, v. 55, n. 1, p. 1-36, 2001.

NETT, T. M.; CERMAK, D.; BRADEN, T.; MANNS, J.; NISWE. Function of the hypothalamic-hypophyseal axis during the post-partum period in ewes and cows. **J Reprod Fertil**, v. 34, p. 201-213, 1987.

NOGUEIRA, G. P. Puberty in South American *Bos indicus* (Zebu) cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 82-83, p. 361-372, 2004.

PERES, R. F.; CLARO, I. J. R.; SÁ FILHO, O. G.; NOGUEIRA, G. P.; VASCONCELOS, J. L. Strategies to improve fertility in *Bos indicus* postpubertal heifers and nonlactating cows submitted to fixed-timed artificial insemination. **Theriogenology**, v. 9, n. 72, p. 681-689, 2009

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.

PENTEADO, L.; REZENDE, R. G.; MINGOTI, R. D.; COLLI, M. H. A.; SÁ FILHO, M. F.; SANTOS, F. B.; MOTTA, J. C. L.; BAYEUX, B. M.; VIEIRA, L. M.; BARUSELLI, P. S. Taxa de prenhez de vacas nelore submetidas à ressincronização com início 14 ou 22 dias após prévia IATF (resumo). **Anim Reprod**, v. 13, p. 235, 2016.

PIMENTEL, J. R. V. **Emprego de matriz polimérica biodegradável em dispositivos vaginais para liberação sustentada de progesterona em fêmeas bovinas: testes in vitro e in vivo**. 97 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Programa de Pós-Graduação em Reprodução Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, 2006.

PUGLIESI, G.; BEG, M. A.; CARVALHO, G. R.; GINTHER, O. J. Effect of dose of estradiol-17 β on prominence of an induced 13, 14-dihydro-15-keto-PGF2 α (PGFM) pulse and relationship of prominence to progesterone, LH, and luteal blood flow in heifers. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 41, n. 2, p. 98-109, 2011.

PUGLIESI, G.; BEG, M. A.; CARVALHO, G. R.; GINTHER, O. J. Induction of PGFM pulses and luteolysis by sequential estradiol-17 β treatments in heifers. **Theriogenology**, v. 77, n. 3, p. 492-506, 2012.

PUGLIESI, G.; REZENDE, R. G.; BARBOZA, J. C. S.; 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, n. 1, p. 140-150, 2017.

PUGLIESI, G.; BISINOTTO, D. Z.; MELLO, B. P.; LAHR, F. C.; FERREIRA, C. A.; MELO, G.; MADUREIRA, E. H. A novel strategy for resynchronization of ovulation in Nelore cows using injectable progesterone (P4) and P4 releasing devices to perform two timed inseminations within 22 days. **Reproduction in Domestic Animals**. 2019.

- PURSLEY, J. R.; MEE, M. O.; WILTBANK, M. C. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2 α and GnRH. **Theriogenology**, v. 44, n. 7, p. 915-923, 1995.
- REZENDE, R. G.; FREITAS, B. G.; MINGOTI, R. D.; COLLI, M. H. A.; CARVALHO, J. B. P.; SÁ FILHO, M. F.; MOTTA, J. C. L.; MACEDO, G. G.; BARUSELLI, P. S. Follicular dynamics of Nelore cows submitted to resynchronization 14 days after TAI using injectable P4 for synchronization of follicular wave (abstract). **Anim Reprod**, v. 13, p. 233, 2016.
- ROCHA, J. C. M. C.; TONHATI, H.; ALENCAR, M. M.; LÔBO, R. B. Componentes de variância para o período de gestação em bovinos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, p. 784-791, 2005.
- ROCHE, J. F.; CROWE, M. A.; BOLAND, M. P. Postpartum anoestrus in dairy and beef cows. **Animal Reproduction Science**, v. 38, p. 371-378, 1992.
- RODRIGUES, A. D. P.; PERES, R. F. G.; LEMES, A. P.; MARTINS, T.; PEREIRA, M. H. C.; DAY, M. L.; VASCONCELOS, J. L. M. Progesterone-based strategies to induce ovulation in prepubertal Nelore heifers. **Theriogenology**, v. 79, n. 1, p. 135-141, 2013.
- ROELOFS, J.; LÓPEZ-GATIUS, F.; HUNTER, R.H. F.; VAN EERDENBURG, F. J. C. M.; HANZEN, C. When is a cow in estrus? Clinical and practical aspects. **Theriogenology**, v. 74, n. 3, p. 327-344, 2010.
- ROSSA, L. A. F.; BERTAN, C. M.; ALMEIDA, A. B.; GASPAR, P. S.; MAZZA, P. H.; BINELLI, M.; BARUSELLI, P. S.; MADUREIRA, E. H. Efeito do eCG ou benzoato de estradiol associado ao norgestomet na taxa de concepção de vacas de corte submetidas à IATF no pós-parto. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 46, p. 199-206, 2009.
- SÁ FILHO, M. F.; 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, n. 3-4, p. 132-139, 2011.
- SÁ FILHO, M. F.; TORRES-JÚNIOR, J. R. S.; PENTEADO, L.; GIMENES, L. U.; FERREIRA, R. M.; AYRES, H.; CASTRO E PAULA, L. A.; SALES, J. N. S.; BARUSELLI, P. S. Equine chorionic gonadotropin improves the efficacy of a progestin-based fixed-time artificial insemination protocol in Nelore (*Bos indicus*) heifers. **Animal reproduction science**, v. 118, n. 2-4, p. 182-7, abr. 2010a.
- SÁ FILHO, M. F.; MARQUES, M. O.; GIROTTO, R.; SANTOS, F. A.; SALA, R. V.; BARBUIO, J. P.; BARUSELLI, P. S. Resynchronization with unknown pregnancy status using progestin-based timed artificial insemination protocol in beef cattle. **Theriogenology**, v. 81, n. 2, p. 284-90, 2014.

SÁ FILHO, M. F.; PENTEADO, L.; REIS, E. L.; REIS, T. A.; GALVÃO, K. N.; BARUSELLI, P. S. Timed artificial insemination early in the breeding season improves the reproductive performance of suckled beef cows. **Theriogenology**, v. 79, p. 625-632, 2013.

SÁ FILHO, M. F.; CRESPILO, A. M.; SANTOS, J. E. P.; PERRY, G. A.; BARUSELLI, P. S. Ovarian follicle diameter at timed insemination and estrous response influence likelihood of ovulation and pregnancy after estrous synchronization with progesterone or progestin-based protocols in suckled Bos indicus cows. **Animal Reproduction Science**, v.120, n.1-4, p. 23-30, 2010b.

SÁ FILHO, M. F.; SANTOS, J. E. P.; FERREIRA, R. M.; SALES, J. N. S.; BARUSELLI, P. S. Importance of estrus on pregnancy per insemination in suckled Bos indicus cows submitted to estradiol/progesterone-based timed insemination protocols. **Theriogenology**, v. 76, n. 3, p. 455-463, 2011.

SALES, J. N. S.; CARVALHO, J. B. P.; CREPALDI, G. A.; CIPRIANO, R. S.; JACOMINI, J. O.; MAIO, J. R. G.; 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, n. 3, 510-516, 2012.

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. 9, p. 2290-2295, 2016.

SHORT, R. E.; BELLOW, R. A.; STAIGMILLER, R. B.; BERARDINELLI, J. G.; CUSTER, E. E. Physiological mechanisms controlling anestrus and infertility in postpartum beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 68, p. 799-816, 1990.

SOUZA, J. C. D.; RAMOS, A. D. A.; SILVA, L. O. C. D.; EUCLIDES FILHO, K.; ALENCAR, M. M. D.; WECHSLER, F. S.; FERRAZ FILHO, P. B. Fatores do ambiente sobre o peso ao desmame de bezerros da raça nelore em regiões tropicais brasileiras. **Ciência Rural**, v. 30, n. 5, p. 881-885, 2000.

STAGG, K.; DISKIN, M. G.; SREENAN, J. M. Cattle treated with Norgestomet-estradiol-eCG regimen. **Theriogenology**, v. 50, n. 8, p. 1191-1199, 1998.

STEVENSON, J. S., KNOPPEL, E. L., MINTON, J. E. Estrus, ovulation, luteinizing hormone, and suckling-induced hormones in mastectomized cows with and without unrestricted presence of the calf. **J. Anim. Sci.**, v. 72, p. 690-699, 1994.

TRAN, T. Q.; WARNICK, A. C.; HAMMOND, M. E.; KOGER, M. Reproduction in Brahman cows calving for the first time at two or three years of age. **Theriogenology**, v. 29, p. 751-756, 1988.

TEIXEIRA, R. A.; ALBUQUERQUE, L. G. Efeitos ambientais que afetam o ganho de peso pré-desmama em animais Angus, Hereford, Nelore e mestiços Angus-Nelore e Hereford-Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, p. 887-890, 2003.

THATCHER, W. W.; TERQUI, M.; THIMONIER, J.; MAULEON, P. Effect of estradiol-17 β on peripheral plasma concentration of 15-keto, 14-dihydro PGF2 α and luteolysis in cyclic cattle. **Prostaglandins**, v. 31, n. 4, p. 745-756, 1986.

THOMPSON, K. E.; STEVENSON, J. S.; LAMB, G. C.; GRIEGER, D. M.; LÖEST, C. A. Follicular, hormonal, and pregnancy responses of early postpartum suckled beef cows to GnRH, norgestomet, and prostaglandin F2 α . **Journal of Animal Science**, v. 77, n. 7, p. 1823-1832, 1999.

TORRES JUNIOR, A. M.; AGUIAR, G. A. M. Pecuária de corte no Brasil – potencial e resultados econômicos. In: Encontro De Adubação De Pastagens Da Scot Consultoria - Tec - Fértil, 1., 2013, Ribeirão Preto. **Anais...** Bebedouro: Scot Consultoria, 2013. p. 9-14.

TORRES JUNIOR, A. M. A pecuária, seus contrastes tecnológicos, seu resultado e sua competitividade. In: Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, 2016, Londrina. **Anais...** Londrina, 2016.

TREVISOL, E.; FERREIRA, J. C. P.; ACKERMANN, C. L.; DESTRO, F. C.; AMARAL, J. B. D. Luteólise em bovinos: revisão. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, p. 29-36, 2013.

VASCONCELOS, J. L. M.; VILELA, E. R.; SÁ FILHO, O. G. Remoção temporária de bezerros em dois momentos do protocolo de sincronização da ovulação GnRH-PGF2 α -BE em vacas Nelore pós-parto. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 61, n. 1, p. 95-103, 2009.

WILTBANK, J. N.; ROWDEN, W. W.; INGALLS, J. E. Effects of various forms and levels of estrogens alone or in combinations with gonadotrophins on estrous cycle of beef heifers. **Journal of Animal Science**, v. 20, n. 2, p.480-500, 1961.

WILTBANK, M. C.; BAEZ, G. M.; GARCIA-GUERRA, A.; TOLEDO, M. Z.; MONTEIRO, P. L.; MELO, L. F.; SARTORI, R. Pivotal periods for pregnancy loss during the first trimester of gestation in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v. 86, n. 1, p. 239-253, 2016.

YAVAS, Y.; WALTON, J. S. Induction of ovulation in postpartum suckled beef cows: a review. **Theriogenology**, v. 54, p. 1-23, 2000.