**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Taxa de prenhez em vacas Nelore pós-parto, submetidas ou não a aplicação de
eCG 2 dias antes e/ou 14 dias após a IATF**

Amanda Prudêncio Lemes

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestra em Ciências. Área de concentração: Ciência
Animal e Pastagens

**Piracicaba
2012**

Amanda Prudêncio Lemes
Médica Veterinária

**Taxa de prenhez em vacas Nelore pós-parto, submetidas ou não a aplicação de
eCG 2 dias antes e/ou 14 dias após a IATF**
versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:
Prof. Dr. **ROBERTO SARTORI FILHO**

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestra em Ciências. Área de concentração: Ciência
Animal e Pastagens

**Piracicaba
2012**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - ESALQ/USP

Lemes, Amanda Prudêncio

Taxa de prenhez em vacas Nelore pós-parto, submetidas ou não a aplicação de eCG 2 dias antes e/ou 14 dias após a IATF / Amanda Prudêncio Lemes.- - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2012.
75 p: il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2012.

1. Gado Nelore 2. Inseminação artificial 3. Prenhez - Taxas 4. Progesterona
5. Vacas I. Título

CDD 636.291
L552t

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

Aos meus maiores professores, Maria Rita Prudêncio e Aderaldo Lemes da Silva, pela fé que em mim depositam.

À minha irmãzinha Carolina Prudêncio Lemes.

Aos amigos pelo carinho e paciência em todos os momentos.

Ao meu Pequeno grande amor, Adnan Darin Pereira Rodrigues pelo companheirismo, afeto, paciência em todos os momentos.

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” e ao Departamento de Zootecnia pela oportunidade de realização do curso de Mestrado.

Ao meu orientador Prof. Dr. Roberto Sartori Filho pela confiança e todas as oportunidades durante essa importante fase da minha formação e à sua esposa Aurea Canavessi por também ter contribuído para meu aprendizado. Enfim à família toda, por ter proporcionado além de tudo, momentos de descontração e alegria.

Aos funcionários do Departamento de Zootecnia da ESALQ, começando pela D. Hilda que faz nossas tardes mais “limpinhas”, Jussa, Emerson, Sr. Marcos, Zica, Sr. Dito, Dê, meninas da Secretaria, Daiane e todos os outros que me “aturaram” durante esse período, meu sincero e eterno Muito Obrigada!

Ao CPZ (Clube de Práticas Zootécnicas) por ter permitido um excelente período de treinamento em especial aos meninos: Pedro (Di-Prata), Leonardo (Borrado) e o grande Murillo (Titaniq). Ao Sr. Laureano pelos grandiosos ensinamentos e por ser além de tudo um grande amigo, fazendo da sua a nossa casa e nos tratando como filhos!

Aos companheiros do grupo de trabalho: Fernanda Zinsly de Mattos (Ferdinanda), Michele Ricieri Bastos (Checheli), Monique Guardieiro (Moniquete), José Carvalho Neto (Zézo), Ricardo da Silva Surjus (Xará), Alexandre Barbieri Prata (Xandão), Maria Clara Mattos (Clarinha), Murillo Meschiatti (Tita), Igor (Strogo), Fernanda Moura (Fezinha), Pedro Leopoldo Jerônimo Monteiro Jr (Pedrinho), Aníbal Ballarotti, Louise (Lolo) e Guilherme pelos ensinamentos infundáveis, pelo ombro amigo nos momentos de saudade, pela compreensão nas horas difíceis. Vocês foram insuperáveis no quesito AMIZADE!

Aos ilustres professores do Departamento de Zootecnia por contribuírem direta ou indiretamente para minha formação. Um agradecimento especial aos ensinamentos do Prof. Dr. Milo Wiltbank que incansavelmente nos traduz os fundamentos de Fisiologia da Reprodução.

A todos os estagiários que passaram pelo Laboratório em especial aos que ajudaram na condução deste experimento: Ranyella, Marcela, Adriana e as que compartilharam os melhores momentos na ESALQ: Martinha e Mariana. Aprendi demais com vocês! Muito Obrigada!

Aos amigos da pós-graduação, confidentes, parceiros dos quais eu me orgulho sempre! Parabas, Rodrigo, Vini, Daia, Cris, Marcelão, e a todos os outros que eu me esquecer de citar aqui... Obrigada por dividir essa fase da vida comigo. Estaremos juntos daqui pra frente!

Ao Grupo Agropecuária Fazenda Brasil (AFB) que abriu as portas para a execução deste estudo e disponibilizou toda infra-estrutura e mão de obra, não medindo esforços para a execução ímpar do projeto de pesquisa proposto.

Aos funcionários da Fazenda Rancho 60, que acabaram se tornando uma “família provisória” pra mim. Meu Obrigado ao grande Eduardo Correia, Cidinho, Zézão, Franciel, Luisinho, Cris, Tati (pelo bolo inesperado de aniversário) e pelas crianças que fizeram os meus finais de tarde mais felizes! Aos veterinários que também se tornaram grandes amigos: Hugão e Betão, pelo grande apoio, auxílio e amizade!

Ao Rogério Fonseca Guimarães Peres, primeiramente por interceder junto à AFB para que se fizesse possível a realização deste estudo e acima de tudo por me permitir a oportunidade de aprendizado ímpar que tive durante o experimento. Claro, não poderia nunca deixar de mencionar meus agradecimentos por todos os conselhos, dicas, contribuições científicas, conversas descontraídas, churrascos etc. Rogério, obrigada de coração!

Aos meus professores de graduação, Fernando, Alda, Gustavo, Charles, Wagner, Marne, Andréia, Dina, Fabiano, Fabiana, Fabrício, Patrícia, Marina, Mel, Enio, Osvaldo, Fernando Miranda, Júlio Setti e todos os outros que passaram pela minha formação e aos quais serei eternamente grata por terem contribuído fundamentalmente para minha aprendizagem.

Às companheiras de república, Mariana (Maricota), Michele (Checheli) e Marília (Maróli) pelas horas infindáveis de conversa, violão, churrascos, festas à fantasia (rsrsrs), por dividir comigo as dificuldades, os desafios, entenderem os desesperos, comemorarem as vitórias, enfim por termos vibrado juntas as conquistas uma das outras, reforçando o sentido da palavra amizade. Obrigada, superpoderosas!

Ao Leandro Cruppe e Fernanda Abreu por me acolherem nos Estados Unidos durante o período de estágio, aos também alunos de pós graduação da Ohio State University, Bo Harstine e Matt Utt pelos ensinamentos e ainda ao Prof. Dr. Michael Day pela oportunidade ímpar a mim concedida.

Aos amigos por toda a vibração e torcida durante a minha caminhada. Larissa Zoccal essa também é para você!

À minha mãe (Maria Rita) que embora pelo sentido da palavra já seja tão grandiosa, é merecido dizer que é a maior merecedora de todo meu esforço. Pra maior guerreira que eu já conheci na minha vida, e que Deus me deu a satisfação de poder tê-la como minha mãe, meu eterno Muito Obrigada! Mãe, amo você!

Ao meu pai (Aderaldo) que mesmo distante deixou o “seu melhor” pra mim! Obrigada pelos ensinamentos brilhantes! Amo você também paizão!

À minha irmã (Carol), não pela paciência (muito pouca por sinal), mas por ser esse ser tão singular que mesmo quando não muito feliz comigo, consegue me fazer sorrir! Te amo!

À pessoa que apesar de ainda não ter passado ao meu lado a maioria dos meus anos de vida, sabe muito sobre mim. Pra você Adnan Darin e à toda a sua família, fica minha gratidão e respeito. Obrigada pela compreensão, paciência, pelas palavras de sabedoria, além da relevante contribuição científica para o meu trabalho. SAUDADE é detalhe pra quem entende o que é amor!

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoa de Nível Superior (CAPES) e Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq) pela concessão das bolsas de estudo.

Finalmente, meu íntimo agradecimento a Deus, por me permitir corpo e alma saudáveis para o cumprimento de mais essa etapa.

Muito obrigada!

“Revolucionar o mundo pode não ser tão importante quando não se pôde revolucionar a si mesmo!”

Amanda Lemes

SUMÁRIO

RESUMO.....	13
ABSTRACT	15
LISTA DE TABELAS	17
LISTA DE ABREVIATURAS.....	21
1 CONSIDERAÇÕES GERAIS	23
1.1 Introdução	23
1.2 Revisão Bibliográfica	25
1.2.1 Inseminação artificial em tempo fixo (IATF)	25
1.2.2 Fatores que influenciam as taxas de prenhez à IATF	27
1.2.2.1 Anestro Pós-parto	27
1.2.2.2 Concentrações Hormonais	28
1.2.2.3 Mortalidade Embrionária Precoce	29
1.2.3 Uso de eCG como estratégia para aumentar as taxas de prenhez à IATF	31
1.2.3.1 Gonadotrofina Coriônica Equina	31
1.2.3.2 Uso de eCG em Protocolos de IATF	33
1.2.3.3 Uso de eCG após a IATF	34
2 EXPERIMENTO: TAXA DE PRENHEZ E CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE PROGESTERONA EM VACAS NELORE TRATADAS COM eCG ANTES E/OU APÓS INSEMINAÇÃO EM TEMPO FIXO	37
Resumo	37
Abstract	37
2.1 Introdução	38
2.2 Objetivo	39
2.3 Hipóteses	39
2.4 Material e Métodos	40
2.4.1 Vacas e tratamentos.....	40
2.4.2 Colheitas de sangue e dosagem hormonal	41
2.5 Análise estatística	41
2.6 Resultados	43
2.6.1 Taxas de ovulação, prenhez (30 e 60 dias) e perdas gestacionais	43
2.6.2 Concentrações séricas de P4 após IA	48
2.7 Discussão.....	50
2.8 Conclusões.....	52
3 ANÁLISE COMPLEMENTAR: FERTILIDADE EM VACAS NELORE AMAMENTANDO BEZERROS NELORE OU ANGUS X NELORE E SUBMETIDAS A UM PROTOCOLO DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO	55
Resumo	55
Abstract	55
3.1 Introdução	56
3.2 Objetivo	57
3.3 Hipótese	58
3.4 Material e Métodos	58
3.5 Análise estatística	58
3.6 Resultados	59
3.7 Discussão.....	61
3.8 Conclusão	62
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS E IMPLICAÇÕES.....	63
REFERÊNCIAS.....	65

RESUMO

Taxa de prenhez em vacas Nelore pós-parto, submetidas ou não a aplicação de eCG 2 dias antes e/ou 14 dias após a IATF

O presente trabalho foi delineado com o intuito de identificar os efeitos da inclusão da Gonadotrofina Coriônica Equina (eCG) antes e após a IA em vacas de corte submetidas a protocolos de IATF e conduzido na Fazenda Rancho 60, pertencente ao Grupo Agropecuária Fazenda Brasil (Barra do Garças, MT, Brasil). Para tanto, 901 vacas Nelores múltiparas com média de 44 dias pós-parto foram sincronizadas, inseminadas em tempo fixo utilizando-se três touros (Aberdeen Angus) e nove inseminadores. Além disso, as vacas foram monitoradas por exames ultrassonográficos e/ou colheitas de sangue até os 30 dias após a IA. Taxas de sincronização, prenhez aos 30 e 60 dias foram mensuradas e as amostras de sangue foram avaliadas quanto à concentração de progesterona sérica. Foram avaliados os efeitos da inclusão de 300 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG) 2 dias antes e/ou 14 dias depois da IA e posteriormente avaliou-se também a influência do grupo genético e sexo dos bezerros no desempenho reprodutivo. Em suma, o tratamento com eCG após a IA não melhorou a fertilidade em vacas Nelore pós-parto, entretanto pode-se observar um incremento nas taxas de ovulação, prenhez aos 60 dias e aumento nas concentrações séricas de P4 nos animais que receberam eCG no D8. Quanto à influência da progênie na fertilidade das mães conclui-se que pode haver uma relação entre o sexo e raça dos bezerros na concentração circulante de P4 das progenitoras, entretanto estas variáveis não influenciaram na fertilidade da vaca submetida à IATF no período pós-parto.

Palavras Chave: Inseminação artificial em tempo fixo; Progesterona; Vacas pós-parto; bezerros.

ABSTRACT

Pregnancy rate in portpartum Nelore cows treated or not with eCG 2 days before and/or 14 days after TAI

The present work was designed to identify the effects of a treatment with equine chorionic gonadotropin (eCG) before and post-AI in beef cows submitted to TAI protocols. The experiment was conducted at Rancho 60 Farm, belonging to Grupo Agropecuaria Fazenda Brasil (Barra do Garças, MT, Brazil). For this, 901 multiparous Nelore cows with 44 days post-partum were synchronized, inseminated at fixed time using semen of three bulls (Angus). In addition, cows were monitored by ovarian ultrasonography and/or blood sampling until 30 days post AI. Ovulation rate, and pregnancy rates at 30 and 60 days were evaluated and blood samples were analyzed for serum progesterone concentration. The effects of treatment with 300 IU of eCG 2 days before and/or 14 days after AI were evaluated, as well as the influence of the breed and gender of their calves in the reproductive performance. In general, treatment with eCG after AI did not improve fertility in post-partum Nelore cows, however, it was detected an improvement in ovulation rate and pregnancy rate at 60 days and an increase in serum progesterone concentrations in cows that received eCG at Day 8. There was no effect of gender and breed of calves on fertility of the dams; however these variables influenced circulating progesterone post AI.

Keywords: Timed artificial insemination, Progesterone, Suckled cows, calf.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Distribuição dos animais de acordo com ECC e DPP no início do período experimental.....	43
Tabela 2 - Média dos quadrados mínimos $\pm$ erro padrão das taxas de ovulação, prenhez/IA e prenhez/ovulação aos 30 dias de acordo com os tratamentos.	44
Tabela 3 - Média dos quadrados mínimos $\pm$ erro padrão dos índices de perdas gestacionais e taxas de prenhez/IA e prenhez/ovulação aos 60 dias de acordo com os tratamentos.	45
Tabela 4 – Análise descritiva (média aritmética $\pm$ desvio padrão) das taxas de ovulação, prenhez aos 30 e 60 dias de acordo com o uso do DIB® paralelo aos lotes experimentais.	46
Tabela 5 - Média dos quadrados mínimos $\pm$ EP das taxas de ovulação, prenhez/IA e prenhez/ovulação aos 30 de acordo com a influência do bezerro.....	59
Tabela 6 - Média dos quadrados mínimos $\pm$ EP das taxas de prenhez/IA e prenhez/ovulação aos 60 dias de acordo com a influência do bezerro	61

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Protocolo de Sincronização da Ovulação - (*) Somente dos animais prenhes.	41
Figura 2 – Efeito do ECC ($P = 0,0001$) no início do protocolo de IATF sob a probabilidade de ovulação de acordo com os tratamentos: vacas que receberam 0 UI e 300 UI de eCG no D-2 ($P < 0,0001$).	47
Figura 3 – Efeito do ECC sob a probabilidade de prenhez/IA aos 30 dias (a; $P = 0,0009$) e probabilidade de prenhez aos 60 dias (b; $P = 0,0009$) em vacas que receberam 0 UI ou 300 UI de eCG no D-2 aos 30 ($P = 0,2085$) e aos 60 dias ($P = 0,0936$).	47
Figura 4 – Efeito do ECC e probabilidade de prenhez/ovulação aos 30 (a; $P=0,0126$) e probabilidade de prenhez/ovulação aso 60 dias (b; $P=0111$) dentro de cada tratamento.	48
Figura 5 - Concentração sérica de progesterona 7 (D7; $n = 113$; $P<0,0001$), 14 (D14; $n = 113$; $P = 0,0006$) e 30 (D30; $n = 218$; $P = 0,035$) dias após a IA em vacas tratadas ou não com 300 UI de eCG no D-2. * $P < 0,05$	48
Figura 6 - Efeito da concentração sérica de P4 7 dias após a IA (D7) e probabilidade de prenhez/ovulação aos 30 dias pós IA em vacas Nelore pós parto ($P = 0,066$; $n = 94$).	49
Figura 7 - Efeito da concentração sérica de P4 7 dias após a IA (D7) e probabilidade de prenhez/ovulação aos 60 dias pós IA em vacas Nelore pós parto ($P = 0,066$; $n = 94$).	50

LISTA DE ABREVIATURAS

Anualpec	- Anuário da Pecuária Brasileira
ASBIA	- Associação Brasileira de Inseminação Artificial
BE	- Benzoato de estradiol
CIDR®	- Dispositivo intravaginal de progesterona (Pfizer, Saúde Animal)
CL	- Corpo lúteo
D	- Dia
DIB®	- Dispositivo intravaginal de progesterona (Syntex S.A)
E ₂	- Estradiol
ECC	- Escore de condição corporal
eCG	- Gonadotrofina coriônica equina
ECP	- Cipionato de estradiol
FAO	- Food and Agriculture Organization
FD	- Folículo dominante
FSH	- Hormônio folículo estimulante
G	- Grama
GnRH	- Hormônio liberador de gonadotrofinas
IA	- Inseminação artificial
IATF	- Inseminação artificial em tempo fixo
IBGE	- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IFN- τ	- Interferon-tau
Kg	- Quilograma
LH	- Hormônio luteinizante
LHr	- Receptores de LH
mL	- mililitros
Ng	- nanograma
P ₄	- Progesterona
PGF _{2α}	- Prostaglandina F2alfa
STAR	- Proteína de regulação aguda da esteroidogênese

1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

1.1 Introdução

A pecuária brasileira conta com o maior rebanho comercial do mundo, cerca de 212,8 milhões de cabeça, tendo sido publicado neste um aumento relativo a 1,6% ocorrido entre os anos de 2010 e 2011 (IBGE, 2012). Destes animais, 80% são de raça zebuína (*Bos indicus*) com maior prevalência da raça Nelore devido às características de rusticidade como resistência a ectoparasitas e às altas temperaturas (Anualpec, 2011).

Além disso, o Brasil possui o segundo maior rebanho de bovinos do mundo estando atrás apenas da Índia e quanto à produção de carne ocupa a segunda posição no ranking atrás dos Estados Unidos (FAO, 2011), sendo então o segundo maior exportador mundial do produto (USDA, 2012).

Embora a exportação de carne bovina pelo Brasil tenha apresentado queda desde 2008 (Anualpec, 2011), tem se discutido o aumento do consumo interno de alimentos no país nos últimos 20 anos, o que reflete conseqüentemente em maior consumo de produtos cárneos. Desta forma dá-se a necessidade de agregar novas estratégias aos sistemas de produção a fim de garantir uma produção eficiente.

O termo “produtividade” no mercado da carne tem íntima relação com a eficiência reprodutiva, todavia algumas dificuldades ainda são encontradas na busca pela sistematização das atividades de cria em pecuária de corte, dentre elas a mão de obra resultando na tomada de medidas cada vez mais eficientes para o manejo dos rebanhos. Dentre estas medidas pode-se citar a utilização da inseminação artificial em tempo fixo (IATF), que permite um controle mais acurado da taxa de serviço das propriedades além do aumento do mérito genético do rebanho.

Além de questões estruturais no manejo de uma propriedade com ênfase em produção de carne existem as dificuldades relacionadas à qualidade da matéria prima, ou seja, da vaca que conforme postulado por alguns autores deve produzir um bezerro de qualidade por ano enfrentando o cenário mencionado anteriormente (altas temperaturas, ecto e endoparasitas, baixa oferta de alimento).

Sendo assim, deve-se entender que quando o objetivo é obter bons índices reprodutivos lançam-se alguns desafios ao produtor que só podem ser alcançados com a utilização de estratégias sanitárias, nutricionais e/ou hormonais visando

antecipar ao máximo o retorno à ciclicidade após o parto aliado à manutenção de bom escore de condição corporal (ECC) e prevenção de enfermidades nos sistemas de cria.

Tendo em vista que o anestro pós-parto, o status nutricional, a sanidade e a presença do bezerro (amamentação) são fatores que influenciam para o atraso no retorno a ciclicidade e podem também determinar falhas no desenvolvimento da gestação, agrega-se ao sistema de produção a utilização de biotecnologias reprodutivas e estratégias hormonais com o objetivo de favorecer a oferta.

Neste contexto é necessária a busca de um amplo conhecimento a cerca dos modelos de produção modernos e particularmente dos mecanismos fisiológicos envolvidos na eficiência reprodutiva de vacas de cria para que se possa melhor adequar as tecnologias aos sistemas.

1.2 Revisão Bibliográfica

1.2.1 Inseminação artificial em tempo fixo (IATF)

A IA é a biotecnologia mais acessível aos pecuaristas, permitindo-lhes introduzir melhoramento genético em suas propriedades em um curto período (ASBIA, 2011), entretanto nos primórdios da sua utilização, um dos fatores limitantes da IA foi a necessidade de observação de cio, que se devia a diversos outros fatores entre eles a falta de mão de obra especializada e a dificuldade de identificação dos animais em estro (ASBIA, 2011).

Embora alguns trabalhos tenham mostrado que a distribuição (Pinheiro, Barros *et al.*, 1998) e duração (Mizuta, 2003) do estro em vacas Nelore seja um fator limitante para a detecção destes animais em cio, um estudo conduzido em nosso laboratório mostrou que a distribuição e duração do estro não diferem entre animais *Bos taurus* e *Bos indicus* (Bastos, Meschiatti *et al.*, 2011).

Entretanto, as técnicas para a sincronização do estro e ovulação não deixam de ser importantes, tendo em vista que possibilitam aumentar a taxa de serviço uma vez que permitem que a IA seja realizada em mais animais no início da estação de monta (Pursley, Mee *et al.*, 1995; Baruselli, Marques *et al.*, 2001).

Existe atualmente uma série de hormônios no mercado que permitem o controle do ciclo estral possibilitando a utilização da IATF (Bó, Baruselli *et al.*, 2003; Baruselli, Reis *et al.*, 2004) de forma bastante difundida, uma vez que os custos ficam praticamente diluídos com a venda do produto final, o bezerro.

Para iniciar um protocolo de sincronização do estro e ovulação é necessário que se utilize uma estratégia para que todos os animais iniciem uma nova onda folicular em um primeiro momento (Burke, Mussard *et al.*, 2003; Bastos, Surjus *et al.*, 2011), posteriormente é preciso sincronizar o crescimento folicular garantindo taxa de crescimento adequada e qualidade ovocitária e finalmente, o objetivo é induzir a ovulação (Mapletoft, Martinez *et al.*, 2003; Martínez, Kastelic *et al.*, 2007; Colazo, Kastelic *et al.*, 2008) deste folículo dominante (FD) em um número maior de animais, garantindo o máximo número de vacas aptas a receber a inseminação e tornarem-se prenhes.

É possível sincronizar a emergência de uma nova onda folicular de três formas comprovadamente eficientes: 1) utilizando benzoato de estradiol (BE) em associação com implante de progesterona (P4), promovendo assim a atresia do FD

presente no ovário e um consequente *turnover* de folículos (Burke, Mussard *et al.*, 2003; Martínez, Kastelic *et al.*, 2007; Bastos, Surjus *et al.*, 2011); 2) utilização de hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), promovendo a ovulação do FD e consequente recrutamento de um novo pool de folículos (Dejarnette, Day *et al.*, 2001); 3) ablação folicular que consiste na remoção mecânica do folículo dominante (revisado por Adams *et al.*, 1994).

Em nosso laboratório recentemente observou-se que a utilização de BE em associação com dispositivo intravaginal de liberação de P4 é eficiente em promover a atresia do FD com consequente emergência de nova onda folicular em vacas *Bos taurus* (Holandês) e *Bos indicus* (Nelore) de forma dose-dependente (1 mg: $3,0 \pm 0,3$; 2 mg: $3,3 \pm 0,1$ e 4 mg: $3,8 \pm 0,2$ dias; $P = 0,03$; Bastos, Surjus *et al.*, 2011) corroborando outros resultados em que se avaliou a eficiência do BE em promover o recrutamento folicular sem a influência do FD que foi removido antes do tratamento por meio de ablação (Burke, Mussard *et al.*, 2003).

O uso de dispositivos de P4 em protocolos tem se mostrado eficiente tendo em vista que, em concentrações suficientes é capaz de inibir a ovulação. Além disso, há um efeito específico da progesterona exógena no crescimento e regressão folicular (Adams, Matteri *et al.*, 1992).

Com o objetivo de melhorar as taxas de prenhez nas vacas em anestro pós-parto foi sugerida a realização do desmame temporário em vacas de corte, que consiste em separar o bezerro da vaca por 48 horas a contar da retirada do dispositivo de P4 e aplicação da segunda dose de Prostaglandina F2 α (PGF2 α) (Quintans, Vázquez *et al.*, 2009). Contudo, é necessário que se disponha de uma área adequada para alocar os bezerros sem predispor-los a acidentes de manejo e doenças.

Desta forma, estudos subsequentes relataram que a utilização de eCG no momento da retirada do dispositivo de P4 e aplicação de PGF2 α apresentava efeitos similares aos do desmame temporário, sem apresentar limitações em função do manejo (Yavas e Walton, 2000a; Peres, Claro *et al.*, 2009).

Embora haja uma melhora nas taxas de prenhez no início da estação de monta quando se utilizam as técnicas de sincronização de estro e ovulação e subsequente IATF (Meneghetti, Sá Filho *et al.*, 2009), têm sido delineados experimentos visando estudar as perdas gestacionais em vacas pós-parto (Binelli, Thatcher *et al.*, 2001; Diskin e Morris, 2008; Aono *et al.*, 2012, no prelo), oriundas de

causas infecciosas ou não infecciosas, que também constituem fatores limitantes à utilização da técnica.

1.2.2 Fatores que influenciam as taxas de prenhez à IATF

1.2.2.1 Anestro Pós-parto

A condição anovulatória em vacas de corte é abordada de diferentes formas podendo ser considerada patológica ou fisiológica de acordo com o período em que é observada (Wiltbank, Gümen *et al.*, 2002). Durante os primeiros dias pós-parto o estabelecimento das condições uterinas e da atividade do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal são fatores que determinam o anestro fisiológico pós-parto que se caracteriza por ter duração de 35 a 60 dias em vacas de corte (Yavas e Walton, 2000b), tendo desta forma uma média de 80 a 85 dias para o estabelecimento de uma prenhez pós-parto (Yavas e Walton, 2000b).

Considerando que a duração da gestação compreende um período de 280 dias (Browning, Leite-Browning *et al.*, 1995), respeitando esse intervalo de dias em aberto, as vacas estarão aptas em produzir, como de fato espera-se, um bezerro por ano. Entretanto, existem alguns fatores que determinam um aumento da duração deste período anovulatório pós-parto, dentre eles pode-se citar: nutrição, genética, amamentação, doenças reprodutivas (Randel, 1990; Short, Bellows *et al.*, 1990; Browning, Leite-Browning *et al.*, 1995).

O anestro prolongado após o parto tem relação com a oferta de alimentos durante o fim da gestação (Randel, 1990), tendo em vista que o ECC conseqüente da qualidade e quantidade de alimentos disponível influencia a condição cíclica no pós-parto destes animais (Meneghetti e Vasconcelos, 2008; Butler, Atkinson *et al.*, 2011) por determinar além da perda de peso, diminuição do acúmulo de reservas energéticas, deficiências vitamínicas, protéicas e minerais (Randel, 1990; Short, Bellows *et al.*, 1990).

Embora seja feito um planejamento nutricional para o período pré e pós-parto de vacas de corte em criação extensiva, parte do período anovulatório pós-parto, como citado anteriormente, é também conseqüência do tempo que o sistema hipotalâmico-hipofisário necessita para recuperar os estoques hormonais a fim de re-estabelecer a funcionalidade e permitir o crescimento folicular e conseqüente

ovulação, para o que parecem ser necessários 15 a 30 dias (Yavas e Walton, 2000b).

Outro fator determinante da duração da fase de anestro no pós-parto é a presença do bezerro em função da amamentação (Stevenson, Knoppel *et al.*, 1994) que é comprovadamente identificada como potencializador do estímulo inibitório que a secreção do E2 exerce no hipotálamo sobre a liberação do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) (Williams e Griffith, 1995).

Respeitando o período mínimo para o re-estabelecimento dos estoques hormonais que determinam a funcionalidade do sistema hipotalâmico-hipofisário é possível induzir uma condição cíclica aos animais utilizando-se dos protocolos de sincronização do estro e ovulação (Yavas e Walton, 2000a; Perry, Kojima *et al.*, 2002; Meneghetti, Sá Filho *et al.*, 2009) e IATF sendo importante considerar que a ovulação proveniente da sincronização não garante que este animal se mantenha cíclico em caso de não ter ocorrido fecundação.

Contudo, a IATF representa ferramenta eficiente em permitir aumentar a taxa de serviço ao início da estação de monta o que garante um maior percentual de animais prenhes neste período.

1.2.2.2 Concentrações Hormonais

As concentrações hormonais durante o protocolo de sincronização representam fator impactante na fertilidade e na manutenção da prenhez (Henricks, Lamond *et al.*, 1971; Nogueira, Melo *et al.*, 2004; Peres, Claro *et al.*, 2009), tendo em vista que, durante o crescimento folicular, altas concentrações de P4 podem exercer efeito inibitório à liberação de gonadotrofinas (Adams *et al.*, 1992; Bó, Baruselli *et al.*, 2003; Colazo, Kastelic *et al.*, 2008) e isso parece determinar uma diminuição na taxa de crescimento folicular. Por outro lado, concentrações muito baixas de P4 também neste período parecem não ser suficientes para inibir a frequência de pulsatilidade de LH a partir do desvio o que determina comprometimentos à qualidade ovocitária (Colazo, Kastelic *et al.*, 2004).

Além disso, há relatos de que as concentrações pré-ovulatórias de E2 podem influenciar a duração do CL após a ovulação determinando quando em baixas concentrações a ocorrência de ciclo estral curto (Sheffel, Pratt *et al.*, 1982; Mann, Green *et al.*, 2003).

Adicionalmente, concentrações séricas de P4 após a IATF também representam fator determinante na manutenção da prenhez (Binelli, Thatcher *et al.*, 2001; Funston, Lipsey *et al.*, 2005; Stevenson, Portaluppi *et al.*, 2007; Carter, Forde *et al.*, 2008; Clemente, De La Fuente *et al.*, 2009; Lonergan, 2011), tendo em vista a função de promover ambiente favorável à capacidade do embrião em alongar-se e secretar interferon-tau (IFN- τ ; Clemente, De La Fuente *et al.*, 2009). Algumas estratégias têm sido indicadas para proporcionar um aumento nas concentrações de P4 após a IA, seja por suplementação exógena (CIDR®; López-Gatius, Santolaria *et al.*, 2004), ou estímulos para potencializar a produção endógena (hCG, GnRH; Funston, Lipsey *et al.*, 2005) e apontam resultados positivos quanto ao desenvolvimento embrionário e a manutenção da prenhez.

Desta forma sabe-se que é necessário propiciar um ambiente favorável no que diz respeito às concentrações de E2 e P4 durante o desenvolvimento folicular e após a IATF visando beneficiar o embrião e determinar menores perdas gestacionais.

1.2.2.3 Mortalidade Embrionária Precoce

A diminuição nas taxas de prenhez em animais submetidos à IA está relacionada à ocorrência de perdas embrionárias e fetais (Diskin e Morris, 2008) que têm sido relatadas por diversos estudos em rebanhos de corte (Aono, Cooke *et al.*, 2012 *no prelo*) e leite (Santos, Thatcher *et al.*, 2004) como responsáveis por grandes perdas econômicas, tendo em vista que a maior parte da renda do setor de bovinocultura de corte é proveniente do número de bezerros nascidos e desmamados.

Segundo o Committee on Reproductive Nomenclature (1972), o período de desenvolvimento embrionário compreende a fase de concepção até a diferenciação e se estabelece em 42 dias, de forma que o desenvolvimento fetal se estenderá deste momento até o nascimento do bezerro.

Define-se mortalidade embrionária precoce como perdas ocorridas durante o período da gestação no qual espera-se que ocorra o reconhecimento materno da gestação (14-15 dias). Segundo Kastelic *et al.* (1991), a morte embrionária precoce atrasa em 3 dias a regressão do CL e o retorno ao estro permitindo considerá-las até

os 24 dias de prenhez. Assim, perdas gestacionais tardias ocorrem entre os 24 e 42 dias, quando se inicia o período de desenvolvimento fetal (Humblot, 2001).

A ocorrência de perdas gestacionais é uma das causas para a diminuição da eficiência reprodutiva de vacas leiteiras secas ou em lactação e vacas de corte lactantes (Santos, Thatcher *et al.*, 2004) o que pode ser relacionado em rebanhos leiteiros com a alta demanda energética e baixa disponibilidade de nutrientes ao qual estão expostas, e que se relaciona com a queda da energia disponível para as necessidades reprodutivas priorizando a produção leiteira (Short e Adams, 1988).

Para que ocorra o reconhecimento materno da gestação é necessário que o embrião se desenvolva suficientemente e produza IFN- τ inibindo a cascata luteolítica; e a P4 é o hormônio chave para o desenvolvimento embrionário, uma vez que estimula a secreção endometrial de substâncias essenciais para o embrião (Mann, Lamming *et al.*, 1999).

A suplementação com P4 após a IATF tem sido descrita em diversos trabalhos como uma alternativa de assegurar maiores concentrações de P4 pós-fecundação no útero garantindo dessa forma melhor aporte para o embrião.

Os resultados reportados por estudos utilizando a suplementação com P4 após a fecundação são variados. Mann, Lamming *et al.* (1999) relataram que a suplementação com P4 no intervalo entre 4 e 5 dias após a ovulação resultou em um aumento na taxa de prenhez, no entanto, quando essa suplementação é iniciada posteriormente a esse período não foram relatadas melhorias. Em seguida, os mesmos autores encontraram uma relação entre o padrão específico de secreção de P4 e o desenvolvimento do embrião, demonstrando que a baixa qualidade embrionária está associada tanto com um atraso no aumento da P4 pós-ovulatória quanto com a baixa concentração de P4 subsequente (Mann e Lamming, 2001).

A importância das concentrações de P4 durante o início do desenvolvimento embrionário também foi demonstrada por Carter, Forde *et al.* (2008) ao utilizar suplementação com dispositivo intravaginal de P4 em novilhas inseminadas observando um aumento na taxa de crescimento dos embriões colhidos no 13º dia de desenvolvimento ($2,24 \pm 0,51$ mm vs $1,15 \pm 0,16$ mm) e no 16º dia ($14,06 \pm 1,18$ cm vs $5,97 \pm 1,18$ cm), nos grupos suplementados e não suplementados respectivamente.

Tendo em vista a influência das concentrações circulantes de P4 no desenvolvimento embrionário, pode-se traçar uma relação entre os índices de mortalidade embrionária no início da gestação e as baixas concentrações de P4 neste período. Assim sendo, ferramentas que contribuem para potencializar a produção e secreção de P4 pelo CL após a ovulação podem resultar em menores índices de perdas gestacionais.

1.2.3 Uso de eCG como estratégia para aumentar as taxas de prenhez à IATF

1.2.3.1 Gonadotrofina Coriônica Equina

Estudos conduzidos na década de 30 identificaram a presença de uma substância gonadotrófica no soro de éguas e outros equídeos prenhes (Cole e Hart, 1930). Esta substância ficou conhecida como gonadotrofina sérica de éguas prenhes (PMSG), uma glicoproteína com peso molecular elevado. Em outro estudo, observou-se que esta gonadotrofina é produzida pelas células trofoblásticas dos cálices endometriais da égua (Allen e Moor, 1972) durante o primeiro trimestre da gestação (Matteri, Papkoff *et al.*, 1986) e por isso foi denominada Gonadotrofina Coriônica Equina (eCG).

A eCG possui duas subunidades: Subunidade α , composta por 96 aminoácidos e subunidade β , composta por 149 aminoácidos (Allen e Moor, 1972). É caracterizada por apresentar meia vida longa, ao redor de 40 horas, podendo ser encontrada no animal 10 dias após a aplicação (Papkoff, 1981).

A característica mais importante da molécula de eCG é a existência de grande quantidade de carboidratos (aproximadamente 45% de sua massa) principalmente a N-acetil neuramina (ácido siálico), que está presente na subunidade β da molécula, e que confere a esta uma meia vida longa (Murphy e Martinuk, 1991).

Para identificar a relação entre o ácido siálico presente na molécula e a sua meia vida, Martinuk, Manning *et al.* (1991), utilizaram uma enzima denominada neuraminidase para retirar diferentes porcentagens de ácido siálico da molécula de eCG e constataram que quando cerca de 80% do ácido siálico foi retirado da molécula, as concentrações circulantes de eCG já eram basais a partir de 1 hora após sua administração. Entretanto, no grupo controle, no qual não foi adicionada a enzima neuraminidase, altas concentrações circulantes de eCG estavam presentes

mesmo 120 horas após o tratamento com eCG exógeno. Desta forma, os autores puderam concluir que o ácido siálico tem papel determinante na degradação lenta da molécula de eCG, o que pode ser potencializado pelo fato de a eCG ser carregada negativamente, o que dificulta a sua filtração glomerular e aumenta ainda mais sua meia-vida (Legardinier, Cahoreau *et al.*, 2005).

Além disso, é sabido que a eCG possui ação similar a de LH e FSH, tendo sido demonstrado em várias espécies (Papkoff, 1981; Bravo, Tsutsui *et al.*, 2006) e embora a afinidade da molécula pelos receptores de LH seja de 2% a 3%, a eCG pode causar a ovulação ou luteinização dos folículos quando em concentrações superiores às de LH, e desta forma há um conseqüente aumento das concentrações plasmáticas de P4 em equinos conforme descrito por alguns autores (Boeta e Zarco, 2005).

Em função desta característica, a eCG foi incluída, conforme descrito por Mapletoft, Steward *et al.* (2002), em protocolos de superestimulação ovariana em bovinos como substituinte ao FSH, por permitir a praticidade de se efetuar uma aplicação única. Entretanto, foram descritos alguns efeitos negativos relacionados à sua meia vida prolongada, que podem determinar falhas na ovulação e resposta superovulatória excessiva (Elsden, Nelson *et al.*, 1978; Mapletoft, Steward *et al.*, 2002), além da produção de embriões de baixa qualidade (Boland, Croddy *et al.*, 1978; Critser, Rowe *et al.*, 1978).

Contudo, alguns trabalhos tem evidenciado o uso de eCG em protocolos de IATF com bons resultados (Dias, Wechsler *et al.*, 2009; Peres, Claro *et al.*, 2009; Sá Filho, Dias *et al.*, 2010) e o uso de eCG em protocolos de IATF tem basicamente o propósito de favorecer maiores taxas de concepção, por aparentemente desempenhar um efeito positivo na qualidade do CL, principalmente para vacas em anestro pós-parto com bezerro ao pé e baixo ECC (Sá Filho, Ayres *et al.*, 2010).

Recentemente, tem sido descrito o uso desta gonadotrofina como tratamento para diminuir as perdas gestacionais, uma vez que é efetiva no aumento do diâmetro do folículo pré-ovulatório e conseqüentemente do CL resultante, proporcionando maiores concentrações plasmáticas de P4 e melhorando desta forma o desenvolvimento embrionário e a manutenção da prenhez (Baruselli, Madureira *et al.*, 2004).

1.2.3.2 Uso de eCG em Protocolos de IATF

Alguns estudos relatam que a eCG é capaz de aumentar a concentração de mRNA para a proteína STAR nos folículos (Pescador, Soumano *et al.*, 1996; Soumano e Price, 1997) o que os torna mais esteroidogênicos (Soumano, Lussier *et al.*, 1998).

Além disso, têm sido descritas em estudos recentes as funções positivas do uso de eCG como ferramenta para aumentar a taxa de crescimento folicular (Sá Filho, Meneghetti *et al.*, 2009), melhorar a secreção de P4 pelo CL 12 dias após a IA em vacas pós-parto (Marques, Reis *et al.*, 2003) e novilhas utilizando implante auricular (Sá Filho, Ayres *et al.*, 2010) ou dispositivo intravaginal liberador de P4 (Peres, Claro *et al.*, 2009). Em contrapartida, segundo Kastelic, Olson *et al.* (1999) e Pegorer, Ereno *et al.* (2011), a utilização de eCG não apresenta vantagens quando utilizada em vacas com bom ECC. Sendo assim, Dias *et al.* (2009) testaram o efeito das altas concentrações de P4 na taxa de concepção de novilhas Nelore. Para tanto utilizaram CIDR® de primeiro, segundo e terceiro uso e forneceram a 50% delas 300 UI de eCG, tendo como efeito adicional do experimento a aplicação de PGF2 α no dia 7 ou 9. Dentre os dados observados, notou-se um aumento na taxa de concepção em animais que receberam eCG e PGF2 α no dia 9 em relação ao grupo não tratado (50% [23/46] vs 26,4% [14/53]) e, além disso, nos animais que receberam CIDR® de primeiro uso foi relatado um efeito positivo da aplicação de eCG nas taxas de concepção, tendo o grupo tratado 50% (18/36) em relação aos animais não tratados 21,9% (7/32). Foi sugerido, portanto, que embora o crescimento folicular tenha sido prejudicado pelas altas concentrações de P4, a eCG foi eficiente em aumentar o diâmetro folicular e do CL, melhorando as taxas de concepção.

Em outro trabalho realizado por Sá Filho, Torres Jr *et al.* (2010), no qual também foram utilizadas novilhas Nelores, sincronizadas com implante auricular de liberação de Norgestomet e BE, recebendo 400 UI ou 0 UI de eCG, relatou-se um aumento no diâmetro do maior folículo no momento da IATF ($10,6 \pm 0,2$ mm vs. $9,5 \pm 0,2$ mm), na taxa de crescimento final do maior folículo ($1,14 \pm 0,1$ mm vs. $0,64 \pm 0,1$ mm/dia) e maiores taxas de ovulação para os animais que receberam 400 UI de eCG (94,4% [85/90]) em relação aos que não receberam (73,6% [64/87]). Além disso, houve um efeito positivo da eCG no diâmetro do CL no dia 15 ($15,5 \pm 0,3$ mm

vs $13,8 \pm 0,3$ mm) e na concentração sérica de P4 5 dias depois da IATF ($6,6 \pm 1,0$ ng/mL vs. $3,6 \pm 0,7$ ng/mL). Embora tenha sido observado que a ausência do CL no dia do início do tratamento seja um fator limitante para o sucesso da IATF, o uso de eCG aumentou a taxa de prenhez por IA (50% [45/90] vs. 36,8% [32/87]).

Estes efeitos da utilização de eCG em protocolos de IATF foram reforçados por Sá Filho, Torres-Júnior *et al.* (2010) em um estudo que teve como objetivo verificar a eficiência do tratamento com CIDR® durante 6 dias associado à $\text{PGF2}\alpha$ + 48 h de desmame associado ou não a aplicação de eCG para sincronizar o estro em vacas Nelore primíparas lactantes com ECC entre 2,75 e 3,75. Foi observado que o percentual de vacas inseminadas e prenhes foi maior após 4 dias de serviço no grupo tratado (47,0%; 27,5%) do que no grupo controle (4,5%; 3,0%) e nas vacas com adição de eCG (50,9%; 29,4%) do que em vacas somente submetidas à remoção temporária de bezerros (39,4%; 23,7%). O autor não observou diferença significativa entre as doses de eCG utilizadas (200 e 400 UI) e o percentual de vacas inseminadas e prenhes no final dos 30 dias de serviço foi maior para o grupo tratado (53,3%; 37,2%) do que no grupo controle (35,3%; 21,4%).

De acordo com os dados observados, a eCG tem apresentado efeito positivo em vacas em anestro e ainda segundo uma compilação de dados, em animais com condição corporal comprometida ($\leq 2,5$ na escala de 1 a 5) (Baruselli, Madureira *et al.*, 2004). A eCG também aumenta taxa de ovulação e prenhez em animais que apresentam menor taxa de crescimento do FD devido à altas concentrações de P4 ao final do tratamento de sincronização da ovulação (Baruselli, Reis *et al.*, 2004; Marques, Sá Filho *et al.*, 2005).

Além disso, sabendo que altas concentrações de P4 circulantes estão por sua vez associadas ao desenvolvimento embrionário e à capacidade do conceito em secretar $\text{IFN-}\tau$ e aumentar as chances de reconhecimento materno da gestação (Mann, Lamming *et al.*, 1999; Baruselli, Marques *et al.*, 2001), e tendo observado o aumento relatado das concentrações de P4 em animais tratados com eCG em dias específicos do protocolo de sincronização, pode-se sugerir que a eCG seja uma ferramenta essencial para o aumento nas taxas de concepção.

1.2.3.3 Uso de eCG após a IATF

Sabe-se que o período mais crítico da gestação corresponde à fase inicial, na qual a sobrevivência do embrião depende da P4 secretada pelo CL recentemente formado (Binelli, Thatcher *et al.*, 2001). Desta forma um mecanismo potencializador da função luteal neste período contribuiria para a diminuição das perdas gestacionais, visto que a secreção de IFN- τ pelo embrião ocasionalmente pode ser insuficiente para estimular o reconhecimento materno da gestação (Mann, Lamming *et al.*, 1999).

Devido à sua capacidade luteotrófica (Papkoff, 1981), a eCG pode desempenhar neste período, a função de aumentar a capacidade deste CL através do estímulo às suas células luteínicas aumentando a produção de P4, o que está estreitamente relacionado com o aumento nas taxas de prenhez (Marques, Reis *et al.*, 2003).

Estudos publicados recentemente demonstraram um efeito positivo do uso de eCG após a IATF sobre a taxa de concepção em vacas leiteiras. Diaz *et al.* (2009) aplicaram 400 UI de eCG 22 dias após a IATF em vacas holandesas e observaram taxa de concepção de 49,3% para os animais tratados (34/69) e de 19,3% para o grupo controle (22/114).

Similarmente, Bartolomé (2009) relatou um aumento na taxa de concepção nos animais que receberam 400 UI de eCG 22 dias após a IA em relação ao grupo controle (50,0% vs 33,3%, respectivamente) e uma redução nas perdas de prenhez entre os dias 29 e 45 no grupo tratado (7,5%) em relação ao grupo não tratado (21,4%). Concordando com estes resultados Cutaia *et al.* (2010) utilizando vacas mestiças (*Bos taurus* x *Bos indicus*), observaram um incremento na taxa de concepção nos animais que receberam 400 UI de eCG 14 dias após a IATF (47,2%[60/127]) em relação aos que não foram tratados (30,8% [41/133]).

Em um outro estudo conduzido em nosso laboratório, utilizou-se 400 UI de eCG 7 dias após a TE em vacas Nelore não lactantes (n = 114), lactantes (n = 70; 40 dias pós-parto) e novilhas cruzadas (n = 113) e não foi observado efeito positivo na taxa de concepção aos 30 ($35,9 \pm 5,5$ vs. $33,5 \pm 4,4$; $P > 0,10$) e 60 dias ($27,6 \pm 4,9$ vs. $26,7 \pm 3,9$; $P > 0,10$) nos animais que receberam (n = 127) em comparação aos que não receberam (n = 170) esse tratamento, respectivamente.

Não há na literatura relatos do efeito da adição de eCG após a IATF em animais *Bos indicus* e tendo em vista a importância em se determinar alternativas para a diminuição destas perdas delineou-se o presente estudo para avaliar os

efeitos do uso de eCG 2 dias antes e 14 dias após a IA em vacas Nelores pós-parto sincronizadas com dispositivo intravaginal de P4 (DIB®, Syntex S.A, Argentina), com diferentes condições corporais, número de dias pós-parto, número de partos e ciclicidade.

2 EXPERIMENTO: TAXA DE PRENHEZ E CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE PROGESTERONA EM VACAS NELORE TRATADAS COM eCG ANTES E/OU APÓS INSEMINAÇÃO EM TEMPO FIXO

Resumo

O objetivo deste estudo foi de avaliar a taxa de prenhez ao protocolo de IATF com adição de gonadotrofina coriônica equina (eCG) 2 dias antes e/ou 14 dias depois da IA. Para tanto, 901 vacas Nelore receberam o seguinte protocolo de sincronização: no Dia -10 (D-10): dispositivo intravaginal contendo 1 g de P4 (DIB®, Syntex S.A, Argentina), 2 mg de benzoato de estradiol (Gonadiol®, Syntex S.A, Argentina) e 12,5 mg de dinoprost trometamina (PGF2 α , Lutalyse®, Pfizer Saúde Animal); no Dia -2 (D-2): o dispositivo intravaginal foi removido, e foi feita uma segunda aplicação de 12,5 mg de PGF2 α e 0,8 mg de cipionato de estradiol (ECP®, Pfizer Saúde Animal); no Dia 0 a IA foi realizada. No dia 14, as vacas foram aleatoriamente distribuídas para receber 0 ou 300 UI de eCG, em um esquema fatorial 2 x 2. Os dados foram analisados por meio do PROC GLIMMIX do SAS®. O tratamento com eCG no Dia -2 resultou em maior taxa de ovulação (90,7 % vs 79,9%; $P < 0,0001$) e maior taxa de prenhez por inseminação aos 60 dias (39,6% vs 34,1%; $P = 0,09$), porém não influenciou a taxa de prenhez por inseminação aos 30 dias (41,3% vs 37,1%; $P = 0,21$) em comparação com o grupo Controle. Concentrações séricas de P4 nos Dias 7, 14 e 30 do experimento foram maiores em vacas tratadas com 300 UI de eCG no D-2. Não houve efeito do tratamento com eCG 14 dias após a IA na taxa de concepção, apesar de ter promovido um aumento nas concentrações de P4 nas vacas prenhes no D30. Em conclusão, o tratamento com eCG após a IA não melhorou a fertilidade em vacas Nelore pós-parto, entretanto pode-se observar um incremento nas taxas de ovulação, prenhez aos 60 dias e aumento nas concentrações séricas de P4 nos animais que receberam eCG no D-2.

Palavras Chave: Inseminação artificial em tempo fixo; Progesterona; Vacas pós-parto.

Abstract

The aim of this study was to evaluate the pregnancy rate (PR) in a timed artificial insemination (TAI) program with the addition of equine chorionic gonadotropin (eCG) 2 days before and/or 14 days after AI. For this purpose, 901 Nelore cows received the following synchronization protocol: Day -10: intravaginal progesterone (P4) device (DIB®), 2 mg of estradiol benzoate and 12.5 mg of dinoprost tromethamine; Day -2: 12.5 mg of dinoprost, 0.8 mg of estradiol cypionate, DIB® withdrawal, and were randomly assigned to either receive 0 or 300 IU of eCG; Day 0: TAI. On Day 14, cows were randomly assigned to either receive 0 or 300 IU of eCG, in a two by two factorial design. Data were analyzed using PROC GLIMMIX of SAS®. The eCG treatment on Day -2, resulted in higher ovulation rate (90.7% vs. 79.9%; $P < 0.001$) and pregnancy by AI on Day 60 (39.6% vs. 34.1%; $P < 0.09$), but similar pregnancies by AI at Day 30 (41.3% vs. 37.1%; $P = 0.21$) in comparison to the

control group. Serum P4 concentrations on Days 7, 14 and 30 of experiment were higher in cows treated with 300 IU of eCG on D-2. There was no effect of eCG 14 days after AI on conception, despite the fact that treatment with 300 IU of eCG on Day 14 increased P4 concentrations in pregnant cows on Day 30. In conclusion, eCG treatment post AI did not improve fertility in early postpartum Nellore cows. However, there was an improvement in ovulation rates, pregnancy rates on Day 60 and increased circulating P4 concentrations in cows that received eCG on Day -2 of the protocol.

Keywords: Timed artificial insemination, Progesterone, Suckled cows.

2.1 Introdução

Diversos estudos reportaram melhor fertilidade em animais recebendo gonadotrofina coriônica equina (eCG) em programas de IATF (Yavas e Walton, 2000a; Peres, Claro *et al.*, 2009) e TETF (Baruselli, Ferreira *et al.*, 2010; Mattos, Bastos *et al.*, 2011). Alguns dados na literatura mencionam que maiores concentrações séricas de P4 depois da IA determinam uma maior capacidade de expansão e alongamento do embrião (Mann, Fray *et al.*, 2006; Lonergan, 2011). Em um outro estudo foi observado que as taxas de prenhez em vacas *Bos indicus* foram afetadas pelo tratamento com 400 UI de eCG (54,3% vs. 41,6%; Sá Filho, Meneghetti *et al.*, 2009). Posteriormente, demonstrou-se que as taxas de ovulação (72,4% vs. 90,0%) e prenhez (37,5% vs. 50,8%) bem como as concentrações séricas de P4 ($3,24\% \pm 0,14$ ng/mL vs. $4,55 \pm 0,14$ ng/mL) foram afetadas positivamente pelo uso de 300 UI de eCG (Peres, Claro *et al.*, 2009).

Sá filho, Ayres *et al.* (2010) mostraram que em vacas de corte em lactação ($134,5 \pm 2,3$ dias pós-parto) o uso de 400 UI de eCG no momento da remoção do dispositivo em um protocolo baseado na utilização de E2 e P4 aumentou o diâmetro do FD ($11,4 \pm 0,6$ vs. $9,3 \pm 0,7$ mm; $P = 0,03$) bem como a taxa de ovulação (80,8% vs. 50%; $P=0,02$) e taxa de prenhez (51,7% vs. 33,8%; $P = 0,002$). Da mesma forma, em um outro estudo utilizando novilhas Nelores o uso de 300 UI de eCG no momento da retirada do DIB® aumentou as taxas de ovulação (70,7% vs. 67,0%) e prenhez (41,5% vs. 39,0%; Pegorer, Ereno *et al.*, 2011). Entretanto, em vacas Nelores pós-parto, a taxa de prenhez não foi afetada pelo uso de eCG quando associada a um bom ECC ($\geq 3,0$; 54,3% vs. 50,0%; Pinheiro, Souza *et al.*, 2009) o que corroborou resultados recentes (Butler, Atkinson *et al.*, 2011).

Estes relatos são baseados em achados científicos provenientes de estudos que mostram que 2400 UI eCG fornecido no Dia 9 do ciclo estral é capaz de aumentar as concentrações de estradiol e progesterona 4 horas após o fornecimento (Soumano, Silversides *et al.*, 1996), provavelmente devido à atividade de LH (Humphrey, Murphy *et al.*, 1979), que determina um folículo com maior diâmetro e desta forma um CL com maior volume (Sartori, Rosa *et al.*, 2002), o que explica maiores concentrações de P4 (Peres, Claro *et al.*, 2009).

Posteriormente, alguns experimentos alertaram ao fato de que quando a eCG é utilizada 14 dias depois da IA, no período caracterizado como crítico para o desenvolvimento embrionário (Binelli, Thatcher *et al.*, 2001), pode-se observar um aumento na taxa de prenhez (Cutaia, Ramos *et al.*, 2010).

Paralelamente, foi demonstrada a existência de receptores de LH (LHr) no CL de bovinos (células luteais pequenas; Mamluk, Chen *et al.*, 1998), o que poderia ser um indício da passividade do CL à superestimulação exógena. Contudo, também tem sido discutida a ausência da ação direta da eCG (LH/FSH) em células luteais (grandes e pequenas) (Soumano, Lussier *et al.*, 1998). Sendo assim, o potencial da eCG em aumentar a capacidade esteroidogênica do CL não está totalmente elucidado.

2.2 Objetivo

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da aplicação de 300 UI de eCG 2 dias antes e 14 dias após a IA, nas taxas de ovulação, prenhez/IA, prenhez por ovulação (prenhez/ovulação), índice de perda gestacional e concentrações plasmáticas de P4 após IA em vacas Nelores pós-parto.

2.3 Hipóteses

- A aplicação de eCG 2 dias antes da IA (D8) aumenta a taxa de ovulação em vacas com baixo ECC;
- A aplicação de eCG 2 dias antes da IA (D8) aumenta a taxa de prenhez/IA e prenhez/ovulação aos 30 e 60 dias;

- A aplicação de eCG 2 dias antes da IA (D8) aumenta as concentrações de P4 sérica 7 e 14 dias após a IA;
- A aplicação de eCG 14 dias após a IA (D24) aumenta as taxas de prenhez/ovulação aos 30 e 60 dias em vacas com baixo ECC e acíclicas;
- A aplicação de eCG 14 dias após a IA (D24) aumenta as concentrações séricas de P4, 30 dias após a IA.

2.4 Material e Métodos

2.4.1 Vacas e tratamentos

Foram utilizadas vacas Nelores multíparas ($n = 901$) com ECC de $3,03 \pm 0,05$ (escala de 1 a 5; Houghton, Lemenager *et al.*, 1990) e $44,6 \pm 2,06$ dias pós-parto. As vacas pertencem a uma fazenda comercial no estado do Mato Grosso, Brasil e foram mantidas a pasto (*Brachiaria brizantha*) com acesso *ad libitum* à água e suplemento mineral.

No Dia -10 (D-10) as vacas receberam um dispositivo de liberação de P4 (DIB®, Syntex S.A, Argentina), 2 mg de BE (Gonadiol®, i.m, Syntex S.A) e 12,5 mg de dinoprost trometamina (Lutalyse®, i.m, Pfizer Saúde Animal, Brasil); no Dia -2 (D-2) o dispositivo foi removido e foram administrados 12,5 mg de dinoprost trometamina e 0,8 mg de cipionato de estradiol (E.C.P®, i.m, Pfizer Saúde Animal, Brasil). No Dia 0 (D0) a IA foi realizada utilizando-se sêmen congelado proveniente de três touros Angus e quatro técnicos distribuídos aleatoriamente aos tratamentos (Figura 1). Foram utilizados DIBs novos e previamente utilizados por 8 e 16 dias.

As vacas foram aleatoriamente distribuídas para receber 0 ou 300 UI de eCG (0 mL; 1,5 mL de Novormon®, Syntex S.A, Argentina) no D-2, e para receber 0 ou 300 UI de eCG 14 dias após a IA (D14) em um esquema fatorial 2 x 2. Assim os grupos experimentais foram: 0 UI de eCG nos D-2 e D14 (Controle; $n = 223$), 300 UI de eCG no D-2 (eCG -2; $n = 227$), 300 UI de eCG no D14 (eCG 14; $n = 228$), e 300 UI de eCG nos D-2 e D14 (eCG -2 e 14; $n = 223$).

Durante o período experimental, os ovários das vacas foram avaliados por ultrassonografia, com transdutor multifrequencial (Mindray – 2200VET DP; Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co, China) nos Dias -10 e 7, para avaliar a presença

de CL. O diagnóstico de prenhez foi realizado também por ultrassonografia transretal nos dias 30 e 60 após a IA (Figura 1).

Figura 1 - Protocolo de Sincronização da Ovulação - (*) Somente dos animais prenhes.

2.4.2 Colheitas de sangue e dosagem hormonal

Colheitas de sangue foram realizadas nos Dias 7 e 14 em todos os animais e no D30 somente nas vacas diagnosticadas como prenhes (Figura 1) por punção de vaso coccígeo em tubos vacutainer (Becton Dickinson Co., Franklin Lakes, NJ, USA). Imediatamente após as colheitas, os tubos foram armazenados em recipiente com gelo, mantidos a 4°C por 12 horas e centrifugados a 1500 x g por 15 minutos em temperatura ambiente.

Posteriormente, a porção sérica das amostras foi removida e armazenada a -20°C e as concentrações de P4 foram determinadas por radioimunoensaio com leitura em fase sólida de acordo com o protocolo Coat-A-Count Progesterona (Siemens, Los Angeles CA, USA). O coeficiente de variação intra-ensaio foi de 1,52% e a sensibilidade para o ensaio foi de 0,01 ng/mL.

2.5 Análise estatística

Para este estudo, o delineamento experimental foi do tipo inteiramente ao acaso com arranjo fatorial (2x2) e os dados foram analisados utilizando o Programa SAS® (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Uma análise inicial foi feita, utilizando-se do procedimento ANOVA, para assegurar a ausência de diferença na distribuição dos animais entre os tratamentos para DPP e ECC (Tabela 1). Foram considerados somente os dados que satisfizeram o critério de convergência.

Variáveis binomiais e contínuas foram analisadas pelo procedimento GLIMMIX. Os efeitos de tratamento, número de usos do dispositivo de P4 (DIB®), lote, técnico de inseminação e touro (sêmen), bem como o ECC e DPP (co-variáveis) e interações apropriadas foram consideradas nos modelos preliminares.

Para analisar a variável taxa de ovulação (vacas que apresentaram CL 7 dias depois da IA) foram incluídos no modelo final os efeitos de tratamento (ex. eCG no D-2) e ECC (co-variável). Posteriormente foi calculada a taxa de prenhez por animais inseminados (Prenhez/IA) e taxa de prenhez por animais que ovularam ao protocolo (Prenhez/ovulação).

Além das co-variáveis mencionadas, para a análise das variáveis taxa de sincronização, taxas de prenhez por vacas inseminadas e por vacas que ovularam ao protocolo (30 e 60 dias) bem como das concentrações de P4 após a IA foi incluído no modelo o efeito do número de usos do DIB® (dispositivo intravaginal liberador de P4; novo e previamente utilizado por 8 ou 16 dias).

A probabilidade de ovulação foi avaliada também de acordo com o ECC por tratamento. Adicionalmente a probabilidade de prenhez e concepção por não terem sido influenciadas pelo tratamento também foram avaliadas de acordo com o ECC e concentração de P4 nos dias 7 e 14 depois da IA. Os valores de *slope* e *intercept* de acordo com a probabilidade máxima de concepção foram gerados e os gráficos foram construídos de acordo com a equação de probabilidade:
$$= \frac{e^{\text{logistic equation}}}{1 + e^{\text{logistic equation}}}$$
.

2.6 Resultados

2.6.1 Taxas de ovulação, prenhez (30 e 60 dias) e perdas gestacionais

A distribuição dos animais entre os tratamentos foi assegurada pela aleatorização dos tratamentos no início do período experimental quanto a ECC e DPP (Tabela 1).

Tabela 1 - Distribuição dos animais de acordo com ECC e DPP no início do período experimental.

<i>Efeitos Principais</i>	ECC	EP	DPP	EP
0 UI eCG -2	3,03	± 0,05	44,54	± 2,06
300 UI eCG -2	3,02		44,14	
0 UI eCG 14	3,01	± 0,05	44,41	± 2,06
300 UI eCG 14	3,04		44,26	
<i>Tratamentos</i>				
eCG -2 0 UI / eCG 14 0 UI	3,03	± 0,05	44,65	± 2,06
eCG -2 0 UI / eCG 14 300 UI	3,06		44,42	
eCG -2 300 UI / eCG 14 0 UI	3,03		44,18	
eCG -2 300 UI / eCG 14 300 UI	3,02		44,09	

Houve um efeito positivo do tratamento com eCG no D-2 na taxa de ovulação ($P = 0,0001$). Vacas que receberam 300 UI de eCG no D-2 tiveram maior taxa de ovulação em comparação àquelas que não receberam (Tabela 2).

O tratamento com eCG no D-2 não teve efeito sob as taxas de prenhez/IA e prenhez por ovulação aos 30 dias (Tabela 2). Entretanto, vacas tratadas com 300 UI de eCG no D-2 tiveram maior taxa de prenhez por inseminação aos 60 dias, muito embora tenham apresentado perda de prenhez igual à de vacas não tratadas (Tabela 3). Apesar disso, não houve diferença entre os grupos experimentais na taxa de prenhez/ovulação, quando se comparou a prenhez das vacas que apresentaram CL 7 dias após a IA.

Tabela 2 - Média dos quadrados mínimos $\pm$ erro padrão das taxas de ovulação, prenhez/IA e prenhez/ovulação aos 30 dias de acordo com os tratamentos.

	Ovulação, % $\pm$ EP (n/n) ¹	Prenhez/IA aos 30 dias, % $\pm$ EP (n/n) ²	Prenhez/ovulação aos 30 dias, % $\pm$ EP (n/ovuladas) ³
<i>Efeitos Principais</i>			
0 UI eCG no D-2	79,0 $\pm$ 2,04 ^a (353/446)	37,1 $\pm$ 6,51 (176/451)	47,8 $\pm$ 2,51 (176/353)
300 UI eCG no D-2	90,0 $\pm$ 2,04 ^b (397/441)	41,3 $\pm$ 6,73 (192/450)	49,6 $\pm$ 2,66 (192/397)
0 UI eCG no D14	-	39,0 $\pm$ 6,63 (185/450)	49,0 $\pm$ 4,64 (185/353)
300 UI eCG D14	-	38,5 $\pm$ 6,63 (183/451)	44,7 $\pm$ 4,67 (183/397)
<i>Tratamentos</i>			
0 UI eCG -2/0 UI eCG 14	-	37,5 $\pm$ 6,95 (86/223)	49,6 $\pm$ 5,49 (86/170)
300 UI eCG -2/0 UI eCG 14	-	42,4 $\pm$ 7,10 (99/227)	48,5 $\pm$ 5,25 (99/198)
0 UI eCG -2/300 UI eCG 14	-	36,8 $\pm$ 6,87 (90/228)	45,7 $\pm$ 5,42 (89/183)
300 UI eCG -2/300 UI eCG14	-	40,3 $\pm$ 7,17 (93/223)	43,6 $\pm$ 5,28 (91/199)

^{a,b}P < 0,10.

¹Dos animais sincronizados, alguns não foram avaliados 7 dias após a IA quanto à presença de CL.

²Percentual de vacas prenhes das que foram inseminadas;

³Percentual de vacas prenhes das que ovularam.

Tabela 3 - Média dos quadrados mínimos $\pm$ erro padrão dos índices de perdas gestacionais e taxas de prenhez/IA e prenhez/ovulação aos 60 dias de acordo com os tratamentos.

	Perdas Gestacionais entre 30 e 60 dias % $\pm$ EP	Prenhez/IA aos 60 dias % $\pm$ EP (n/n)¹	Prenhez/ovulação aos 60 dias, % $\pm$ EP (n/ovuladas)²
<i>Efeitos Principais</i>			
0 UI eCG no D-2	7,1 $\pm$ 2,96 (13/176)	34,1 $\pm$ 6,16 ^a (163/451)	43,4 $\pm$ 4,45 (163/353)
300 UI eCG no D-2	3,7 $\pm$ 1,92 (7/192)	39,6 $\pm$ 6,51 ^b (185/450)	43,9 $\pm$ 4,37 (185/397)
0 UI eCG no D14	5,9 $\pm$ 2,68 (12/185)	37,0 $\pm$ 6,33 (173/450)	45,1 $\pm$ 4,40 (173/368)
300 UI eCG D14	4,5 $\pm$ 2,17 (8/183)	36,6 $\pm$ 6,37 (175/451)	42,2 $\pm$ 4,42 (175/382)
<i>Tratamentos</i>			
0 UI eCG -2/0 UI eCG 14	-	33,3 $\pm$ 6,51 (77/223)	43,7 $\pm$ 5,24 (77/170)
300 UI eCG -2/0 UI eCG 14	-	40,8 $\pm$ 6,91 (96/227)	46,6 $\pm$ 5,06 (96/183)
0 UI eCG -2/300 UI eCG 14	-	34,9 $\pm$ 6,61 (86/228)	43,2 $\pm$ 5,19 (86/198)
300 UI eCG -2/300 UI eCG14	-	38,3 $\pm$ 6,95 (89/223)	41,3 $\pm$ 5,05 (89/199)

^{a,b}P < 0,10.

¹Percentual de vacas prenhes das que foram inseminadas;

²Percentual de vacas prenhes das que ovularam.

Tabela 4 – Análise descritiva (média aritmética $\pm$ desvio padrão) das taxas de ovulação, prenhez aos 30 e 60 dias de acordo com o uso do DIB® paralelo aos lotes experimentais.

	Perda do Implante, %$\pm$DP (n/n)¹	Ovulação, %$\pm$DP (n/n)¹	Prenhez/IA aos 30 dias, %$\pm$DP (n/n)²	Prenhez/IA aos 60 dias %$\pm$DP (n/n)³
DIB® 1º uso (Lotes 1, 2 e 3)	1,81 $\pm$ 1,34 (6/331)	86,1 $\pm$ 3,46 (280/325)	42, 1 $\pm$ 4,94 (139/331)	40,5 $\pm$ 4,92 (134/331)
DIB® 2º uso (Lotes 4, 5, 6 e 9)	2,13 $\pm$ 1,45 (6/282)	84,6 $\pm$ 3,62 (236/279)	45,7 $\pm$ 4,99 (129/282)	43,6 $\pm$ 4,97 (123/282)
DIB® 3º uso (Lotes 6, 7, 8 e 9)	4,17 $\pm$ 2,0 (12/288)	82,7 $\pm$ 3,80 (234/283)	34,7 $\pm$ 4,77 (100/288)	31,6 $\pm$ 4,66 (91/288)

^{a,b}P < 0,05.

¹Dos animais sincronizados, alguns não foram avaliados 7 dias após a IA quanto à presença de CL.

² Percentual de vacas prenhes das que foram inseminadas;

³ Percentual de vacas prenhes das que ovularam.

Para os 901 animais utilizados neste experimento o ECC médio foi de 3,03 $\pm$ 0,05 e apenas 9,66% (n = 87) tiveram ECC menor que 2,75, entretanto houve um efeito do ECC na probabilidade de ovulação, onde vacas com maior ECC no início do protocolo apresentaram maior ovulação (P = 0,0001; Figura 2) e tiveram maior taxa de prenhez/IA aos 30 (P = 0,0009; Figura 3a) e 60 (P = 0,0009; Figura 3b) dias, bem como prenhez/ovulação aos 30 (P=0,0126;

Figura 4a) e 60 ($P=0,0111$;

Figura 4b) dias, independente do tratamento com eCG, em relação às vacas com menor ECC.

Figura 2 – Efeito do ECC ($P = 0,0001$) no início do protocolo de IATF sob a probabilidade de ovulação em vacas que receberam 0 UI e 300 UI de eCG no D-2 ($79,0 \pm 2,04\%$ vs $90,0 \pm 2,04\%$ respectivamente; $P < 0,0001$).

Figura 3 – Efeito do ECC sob a probabilidade de prenhez/IA aos 30 dias (a; $P = 0,0009$) e probabilidade de prenhez aos 60 dias (b; $P = 0,0009$) em vacas que receberam 0 UI ou 300 UI de eCG no D-2 aos 30 ($P = 0,2085$) e aos 60 dias ($P = 0,0936$).

Figura 4 – Efeito do ECC e probabilidade de prenhez/ovulação aos 30 (a; $P=0,0126$) e probabilidade de prenhez/ovulação aso 60 dias (b; $P=0,111$) dentro de cada tratamento.

2.6.2 Concentrações séricas de P4 após IA

O tratamento com eCG no D-2 resultou em maiores concentrações séricas de P4 nos Dias 7 (0 UI: $3,8 \pm 0,75$ ng/mL; 300 UI: $5,4 \pm 0,76$ ng/mL; $P < 0,0001$), 14 (0 UI: $5,6 \pm 1,24$ ng/mL; 300 UI: $8,2 \pm 1,27$ ng/mL; $P = 0,0006$) e 30 (0 UI: $11,0 \pm 1,05$ ng/mL; 300 UI: $12,0 \pm 1,03$ ng/mL; $P = 0,035$) depois da IA (Figura 5).

Figura 5 - Concentração sérica de progesterona 7 (D7; $n = 113$; $P < 0,0001$), 14 (D14; $n = 113$; $P = 0,0006$) e 30 (D30; $n = 218$; $P = 0,035$) dias após a IA em vacas tratadas ou não com 300 UI de eCG no D-2. * $P < 0,05$.

Embora não tenha sido observado efeito da aplicação de eCG após a IA na taxa de prenhez/IA, as concentrações séricas de P4 nas vacas prenhes foram maiores nos animais tratados com eCG ($n = 57$) 14 dias depois da IA do que naquelas que não receberam eCG ($n = 56$) naquele momento (0 UI: $11,0 \pm 1,04$ ng/mL; 300 UI: $12,0 \pm 1,03$ ng/mL, respectivamente; $P = 0,035$).

Além disso, houve um efeito linear das concentrações de P4 no D7 ($P = 0,193$; Figura 6) e 14 ($P = 0,03$; **Erro! Fonte de referência não encontrada.**) sobre as taxas de prenhez/ovulação aos 30 dias, em que vacas que ovularam ao final do protocolo e apresentaram maiores concentrações de P4 tiveram maior probabilidade de se tornarem prenhes.

Figura 6 - Efeito da concentração sérica de P4 7 dias após a IA (D7) e probabilidade de prenhez/ovulação aos 30 dias pós IA em vacas Nelore pós parto ($P = 0,066$; $n = 94$).

Figura 7 - Efeito da concentração sérica de P4 7 dias após a IA (D7) e probabilidade de prenhez/ovulação aos 60 dias pós IA em vacas Nelore pós parto ($P = 0,066$; $n = 94$).

2.7 Discussão

Vacas que receberam eCG no momento da remoção do DIB®, tiveram maior taxa de ovulação (Tabela 2), corroborando dados de outros estudos em novilhas (Peres, Claro *et al.*, 2009; Sá Filho, Torres-Júnior *et al.*, 2010) e vacas (Sá Filho, Ayres *et al.*, 2010) que relacionaram positivamente o diâmetro folicular com a probabilidade de ovulação. Estudos prévios sugerem que a eCG estimula o desenvolvimento folicular por ter afinidade pelos receptores de LH (Humphrey, Murphy *et al.*, 1979), o que pode determinar maior diâmetro folicular quando se utilizou este tratamento (Sá Filho, Torres-Júnior *et al.*, 2010).

Em contrapartida, vacas que receberam eCG no D-2 do protocolo de sincronização apresentaram taxas de prenhez/IA e prenhez/ovulação aos 30 dias iguais àsquelas que não receberam, o que leva a entender que o benefício do uso da eCG foi em função do aumento do número de animais que ovularam ao protocolo. Isto pode ser reforçado pelo fato de que também não foi observado efeito desse tratamento na taxa de prenhez/ovulação aos 60 dias, mesmo que a taxa de prenhez/IA neste momento tenha sido maior para as vacas tratadas.

Desta forma, os efeitos da utilização da eCG nas taxas de prenhez/ovulação em vacas Nelore têm sido bastante controversos, tendo em vista que a eficácia deste tratamento tem se limitado a vacas com baixo ECC (Baruselli, Reis *et al.*, 2004), não cíclicas (Baruselli, Marques *et al.*, 2001) e vacas primíparas (Small, Colazo *et al.*, 2009). Foi observada uma relação entre o ECC e as taxas de ovulação e prenhez/IA, porém este efeito se deu de forma independente do tratamento com eCG, confirmando a relação entre a condição nutricional e a eficiência reprodutiva (Diskin, Mackey *et al.*, 2003; Funston, Summers *et al.*, 2011). A ausência de interação entre as variáveis ECC e tratamento com eCG contraria alguns estudos que relataram efeito do tratamento com eCG na indução da ovulação em *Bos indicus* com baixo ECC ($\leq 2,5$), resultando em maior taxa de prenhez (55,4% vs. 40,7%) (Baruselli, Madureira *et al.*, 2004) o que também ocorreu em *Bos taurus* (Souza, Viechnieski *et al.*, 2009).

Contudo, vacas que receberam 300 UI de eCG no D-2 do protocolo, apresentaram maiores concentrações séricas de P4 no D7 e D14, evidenciando a relação entre diâmetro do folículo ovulatório, volume do CL e consequente produção de P4 (Vasconcelos, Sartori *et al.*, 2001; Sartori, Rosa *et al.*, 2002; Peres, Claro *et al.*, 2009). O provável mecanismo pelo qual folículos maiores resultam em maior concentração de P4 é devido ao maior número de células da granulosa em função do estímulo gonadotrófico (Kuran, Hutchinson *et al.*, 1996) que resultam em maior número de células luteais grandes responsáveis pela maior parte da síntese de P4 no diestro subsequente (Baruselli, Reis *et al.*, 2004).

Neste contexto, tem sido observado um efeito positivo da P4 no início do desenvolvimento embrionário (López-Gatius, Santolaria *et al.*, 2004, Mann, Fray *et al.*, 2006; Clemente, De La Fuente *et al.*, 2009) que reflete em aumento na taxa de prenhez aos 30 e 60 dias em consequência de menor perda gestacional. Vacas recebendo eCG no D-2 apresentaram taxa de perda gestacional igual à de vacas que não receberam esse tratamento, entretanto, as concentrações de P4 foram positivamente relacionadas com a taxa de prenhez/ovulação aos 30 e 60 dias.

Estudos recentes têm demonstrado que o tratamento com eCG próximo do momento do reconhecimento materno da prenhez (aproximadamente 14 ou 15 dias após a IA) resultou em maior taxa de prenhez aos 30 dias em vacas cruzadas (Cutaia, Ramos *et al.*, 2010). Em um estudo similar (Nuñez, Castro *et al.*, 2011) o uso da eCG 2 dias antes e 14 dias após a IA resultou em maior taxa de prenhez em

vacas múltíparas (0 UI: 43,1% [31/72]^a; 400 UI 2 dias antes da IA: 62,5% [45/72]^b; 400 UI 14 dias depois da IA: 55,8% [43/77]^{ab}; 400 UI 2 dias antes da IA e 14 dias após a IA: 82,9% [63/76]^c) e novilhas pré-púberes (0 UI: 36,9% [66/179]^a; 400 UI 2 dias antes da IA: 46,9% [83/177]^b; 400 UI 14 dias após a IA: 39,0% [64/164]^{ab}; 400 UI 2 dias antes e 14 dias após a IA: 46,8% [79/169]^b) submetidas à IATF.

Nas vacas utilizadas neste experimento não foi encontrado efeito do tratamento com eCG após a IA para as taxas de prenhez aos 30 e 60 dias e perdas gestacionais, corroborando dados do nosso laboratório em que o uso de eCG 7 dias após a TETF não aumentou a taxa de prenhez em novilhas e vacas secas (Mattos, Bastos *et al.*, 2011).

Talvez, os resultados deste estudo, no que diz respeito à utilização da eCG 14 dias após a IA, tenham sido contraditórios aos outros estudos por terem sido utilizadas vacas zebuínas, que mesmo apresentando menor CL em relação às vacas taurinas, apresentam maiores concentrações circulantes de P4 (Sartori, Bastos *et al.*, 2010). Provavelmente para *Bos indicus*, a concentração de P4 após a IA não represente um fator tão limitante para o sucesso da prenhez como o que tem sido relatado em vacas leiteiras (*Bos taurus*) (Wiltbank, Sartori *et al.*, 2011).

Finalmente, a maior concentração periférica de E2 em função do maior diâmetro do folículo pré-ovulatório (Baruselli, Reis *et al.*, 2004; Sá Filho, Meneghetti *et al.*, 2009), está associada a um melhor ambiente uterino (Mann e Lamming, 2000) e taxas de prenhez/ovulação em programas de IATF (Lopes, Butler *et al.*, 2007; Bridges, Mussard *et al.*, 2010; Day, Mussard *et al.*, 2010). Sendo assim, acredita-se que o E2 peri-ovulatório possa exercer função importante em determinar maior fertilidade e que as concentrações de P4, embora relacionadas com as taxas de prenhez/ovulação, não representam um fator isolado para a garantia do desenvolvimento embrionário inicial.

2.8 Conclusões

- É possível aumentar a taxa de ovulação em vacas Nelores pós-parto utilizando eCG no momento da retirada do dispositivo de P4.

- O efeito positivo da eCG ao final do protocolo de IATF na fertilidade das vacas foi exclusivamente por aumentar o número de vacas que ovularam ao protocolo, e não por aumentar a concepção (prenhez/ovuladas).
- Não foi possível observar efeito da utilização de eCG 14 dias após a IATF nas taxas de concepção aos 30 e 60 dias e nas perdas gestacionais, mesmo que este período seja conhecido como um período crítico para o estabelecimento e manutenção da gestação e a eCG tenha tido efeito sobre as concentrações de P4 após a IATF;
- Concentrações de P4 7 e 14 dias após a IATF foram superiores nos animais que receberam eCG no momento da indução da ovulação, mesmo não tendo sido observado efeito deste tratamento na taxa de concepção aos 30 dias pós-IA.

3 ANÁLISE COMPLEMENTAR: FERTILIDADE EM VACAS NELORE AMAMENTANDO BEZERROS NELORE OU ANGUS X NELORE E SUBMETIDAS A UM PROTOCOLO DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar a influência da raça e sexo de bezerros de vacas submetidas a protocolo de IATF. Para isso, vacas Nelores (*Bos indicus*) (n = 885; $44,3 \pm 2,1$ dias pós-parto [DPP]) foram submetidas ao seguinte protocolo: D-10: dispositivo intravaginal de progesterona (P4; DIB®, Syntex S.A., Argentina), 2 mg de benzoato de estradiol (Gonadiol, i.m., Syntex S.A.) e 12,5 mg de dinoprost trometamina (Lutalyse, i.m., Pfizer Saúde Animal); D-2: 12,5 mg de dinoprost, 0,8 mg de cipionato de estradiol (ECP, i.m., Pfizer Saúde Animal), remoção do DIB®, e 300 UI de eCG (Novormon, 5000, i.m., Syntex S.A.) ou salina; D0: IATF utilizando sêmen de três touros igualmente distribuídos entre as vacas. Os ovários foram avaliados por ultrassonografia (Mindray 2200 VET DP) 7 e 30 dias após a IA para identificar a presença ou ausência do CL e diagnosticar a prenhez. Os dados foram analisados utilizando-se do PROC GLIMMIX do SAS e foram incluídos no modelo: o uso do eCG no D-2, ECC, DPP, sexo (F: Fêmea; M: Macho), e raça (C: Cruzado Angus x Nelore; N: Nelore) dos bezerros. Os resultados foram apresentados na forma de média dos quadrados mínimos $\pm$ EP. Vacas amamentando bezerros F ou M e C ou N tiveram taxas de ovulação similares (F: $86,2 \pm 2,1\%$ vs. M: $86,8 \pm 2,1\%$ [P = 0,79]; C: $86,1 \pm 2,1\%$ vs. N: $87,0 \pm 2,1$ [P = 0,74]). Da mesma forma, vacas que ovularam não tiveram efeito do sexo e raça dos bezerros nas taxas de concepção (F: $46,8 \pm 5,4\%$ vs. M: $46,3 \pm 5,3\%$ [P = 0,90]; C: $48,9 \pm 5,5\%$ vs. N: $44,2 \pm 5,4\%$ [P = 0,33]). Vacas com melhor ECC tiveram maiores taxas de ovulação e prenhez (P < 0,0001). Conclui-se que estas variáveis não influenciaram na fertilidade da vaca submetida à IATF aos 44 dias pós-parto.

Palavras Chave: Bezerro; Reprodução; Inseminação artificial.

Abstract

Studies have shown that weight, gender and breed of calves influence the productive status of cows. The aim of study was to evaluate the influence of gender and breed of calves on the response of cows to a timed-AI (TAI) protocol. Multiparous Nelore (*Bos indicus*) cows (n = 865; 44.3 ± 2.1 d post-partum [DPP]) were submitted to the following protocol: D-10: intravaginal progesterone (P4) device (DIB®, Syntex S.A., Argentina), 2 mg estradiol benzoate (Gonadiol, i.m., Syntex S.A.) and 12.5 mg dinoprost tromethamine (Lutalyse, i.m., Pfizer Animal Health); D-2: 12.5 mg dinoprost, 0.8 mg estradiol cypionate (ECP, i.m., Pfizer Animal Health), withdrawal of DIB®, and 300 IU eCG (Novormon 5000, i.m., Syntex S.A.) or saline; D0: TAI using semen from three bulls equally distributed among cows. Ovaries were evaluated by ultrasound (Mindray 2200 VET DP) 7 and 30 d after AI for presence or absence of CL and pregnancy diagnosis. Data were analyzed using PROC GLIMMIX of SAS and the use of eCG on D-2, body condition score (BCS), DPP, gender (F:

Female; M: Male), and breed (C: Crossbred Nelore X Angus; N: Nelore) of calves were included in the model. Results are presented as least squares means $\pm$ SE. Cows being suckled by F or M and C or N calves had similar synchronization rates (F: $86.2 \pm 2.1\%$ vs. M: $86.8 \pm 2.1\%$; $P = 0.79$; C: $86.1 \pm 2.3\%$ vs N: $87.0 \pm 2.1\%$, $P = 0.74$). Likewise, synchronized cows had no effect of calf gender or breed on conception rate (F: $46.8 \pm 5.4\%$ vs. M: $46.3 \pm 5.3\%$; $P = 0.90$; C: $48.9 \pm 5.5\%$ vs. N: $44.2 \pm 5.4\%$; $P = 0.33$). Cows with a better BCS had higher synchronization and pregnancy rates ($P < 0.001$). In conclusion these variables did not influence the reproductive efficiency of the cow bred by TAI early in postpartum (44 days).

Keywords: Calf; Reproduction; Artificial insemination.

3.1 Introdução

A introdução genética de variáveis desejáveis em rebanhos zebuínos quanto à qualidade de carne (Calegare, Alencar *et al.*, 2009) gera alguns questionamentos no que diz respeito a eficiência alimentar do par vaca-bezerro (Calegare, Alencar, Packer, Ferrell *et al.*, 2009), bem como eficiência reprodutiva, custo final de produção e rentabilidade.

Alguns estudos na literatura têm demonstrado resultados interessantes a cerca deste assunto. O sexo do bezerro está diretamente associado ao consumo alimentar do par (vaca-bezerro) bem como a produção de leite da vaca ao longo do período de aleitamento (Bar-Peled, Maltz *et al.*, 1995; Albertini, 2010), tendo em vista que o sexo é também relacionado proporcionalmente ao peso (Reynolds, Derouen *et al.*, 1978), sendo que fêmeas são geralmente mais leves ao nascimento e à desmama do que machos.

Albertini *et al.* (2010) mostraram que bezerros mais pesados proporcionaram, por serem mais exigentes, maior proliferação do tecido glandular mamário resultando em maior produção de leite com maior concentração de alguns compostos (proteína, gordura).

Por outro lado, apesar de terem sido constatadas diferenças entre a produção de leite e eficiência alimentar de vacas com bezerros machos ou fêmeas bem como puros ou cruzados, em nenhum destes estudos mencionados foi observado efeito destas variáveis no ECC no início do pós-parto, exceto Stevenson, Lamb *et al.*, (1997) que demonstraram que o ECC é afetado pela produção de leite ($r = -0,25$) entretanto não observaram correlação entre produção de leite e anestro pós-parto.

Além disso, foi relatado que bezerros cruzados possuem maior atividade de mamada que bezerros puros (Reynolds, Derouen *et al.*, 1978) e ainda, em vacas Brahman houve um decréscimo no desempenho reprodutivo quando existiu uma maior demanda de leite pelo bezerro (Browning, Leite-Browning *et al.*, 1995).

Entretanto, não se sabe se a progênie pode influenciar a taxa de prenhez em protocolos de IATF. No Brasil, poucos trabalhos foram realizados para avaliar desempenho reprodutivo de matrizes sob influência do sexo e raça de seus bezerros, porém apenas avaliaram o retorno à ciclicidade pós-parto e o desempenho dos bezerros (Martins & Salomoni, 1990; Vargas Jr, Wechsler *et al.*, 2003).

Martins & Salomoni (1990) observaram que vacas Hereford amamentando fêmeas ficaram prenhes mais cedo do que as que estavam amamentando machos, e foi sugerida uma relação entre o peso do bezerro e momento da prenhez pós-parto, provavelmente pelo fato de que sendo os machos mais pesados que as fêmeas, estes exigiram uma maior produção de leite pelas mães que pode ter atrasado o retorno à ciclicidade.

Por outro lado, Vargas Jr (2003) não encontrou efeito do sexo e/ou raça do bezerro no peso corporal da vaca após o parto. Entretanto, observou que vacas Nelores amamentando bezerros Nelores permaneceram em anestro 4,6 semanas a mais que mães de bezerros Simental x Nelore o que foi justificado pelo fato dos bezerros Nelores, terem mamado mais vezes por dia (Vargas Jr, Wechsler *et al.*, 2003b).

Desta forma o objetivo do presente estudo foi de avaliar a influência do sexo e raça do bezerro nas taxas de ovulação, prenhez aos 30 e 60 dias pós a IA em vacas submetidas à IATF.

3.2 Objetivo

Avaliar a influência do sexo e raça do bezerro nas taxas de ovulação e prenhez aos 30 e 60 dias de vacas submetidas à IATF.

3.3 Hipótese

- Vacas da raça Nelore amamentando fêmeas ou crias da raça Nelore têm maiores taxas de ovulação e prenhez à IATF, quando comparadas a vacas amamentando machos ou cruzados (Angus x Nelore), respectivamente.

3.4 Material e Métodos

Das 901 vacas Neloeres múltiparas utilizadas no experimento descrito no Capítulo 2 que possuíam ECC de $3,03 \pm 0,05$ (escala de 1 a 5; Houghton, Lemenager *et al.*, 1990) e $44,6 \pm 2,06$ dias pós-parto, 885 foram avaliadas quanto à taxa de ovulação e prenhez sob influência de progênie macho ou fêmea e Nelore ou $\frac{1}{2}$ Angus.

Conforme mencionado anteriormente, todas as vacas receberam no Dia -10 (D-10) um dispositivo de liberação de P4 (DIB®, Syntex S.A, Argentina), 2 mg de BE (Gonadiol®, i.m, Syntex S.A) e 12,5 mg de dinoprost trometamina (Lutalyse®, i.m, Pfizer Saúde Animal, Brasil); no Dia -2 (D-2) o dispositivo foi removido e foram administrados 12,5 mg de dinoprost trometamina e 0,8 mg de cipionato de estradiol (E.C.P®, i.m, Pfizer Saúde Animal, Brasil). No Dia 0 (D0) a IA foi realizada utilizando-se sêmen congelado proveniente de três touros Angus e quatro técnicos distribuídos aleatoriamente aos tratamentos (Figura 1). Foram utilizados DIBs novos e previamente utilizados por 8 e 16 dias.

Durante o período experimental, os ovários das vacas foram avaliados por ultrassonografia, com transdutor multifrequencial (Mindray – 2200VET DP; Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics co, China) nos Dias -10 e 7, para avaliar a presença de CL. O diagnóstico de prenhez foi realizado também por ultrassonografia transretal nos dias 30 e 60 após a IA (Figura 1).

3.5 Análise estatística

Para esta análise foram inclusos ao modelo as co-variáveis: raça dos touros utilizados na estação de monta anterior, o sexo dos bezerros, ECC, DPP, técnico de IA e touro utilizado na estação corrente, de forma que se pudesse verificar o efeito destes fatores bem como devidas interações.

Foram retirados da análise animais que possuíam paternidade desconhecida ou que em algum momento durante o protocolo de ovulação, perderam a progênie. Utilizou-se para análise o PROC GLIMMIX do pacote SAS®. Os resultados foram apresentados como média dos quadrados mínimos $\pm$ erro padrão.

3.6 Resultados

O ECC não foi diferente para as vacas com bezerros fêmea ou macho ao pé e as taxas de ovulação ao protocolo também não foram afetadas pelo sexo ($P = 0,79$) e raça ($P = 0,74$) dos bezerros, bem como as de prenhez aos 30 dias (Sexo: $P = 0,96$; Raça: $P = 0,46$;

Tabela 5).

Tabela 5 - Média dos quadrados mínimos $\pm$ EP das taxas de ovulação, prenhez/IA e prenhez/ovulação aos 30 de acordo com a influência do bezerro.

Sexo / Raça dos bezerros	Ovulação, % (n/n)	Prenhez/IA aos 30 d, % (n/n)	Prenhez/ovulação aos 30 d, % (n/ovulados)
Macho	86,8 $\pm$ 2,1 (345/398)	41,5 $\pm$ 5,8 (157/398)	48,6 $\pm$ 6,1 (157/345)
Fêmea	86,2 $\pm$ 2,1 (314/376)	41,4 $\pm$ 5,7 (154/376)	48,8 $\pm$ 6,1 (154/314)
Angus X Nelore	86,1 $\pm$ 2,3 (347/418)	43,7 $\pm$ 5,7 (188/418)	51,3 $\pm$ 6,0 (188/347)
Nelore	87,0 $\pm$ 2,1 (312/356)	39,2 $\pm$ 5,7 (133/356)	46,1 $\pm$ 6,1 (133/312)

$P > 0,10$.

Não foi observado efeito da raça e/ou sexo do bezerro nas taxas de ovulação, prenhez/inseminação e prenhez/ovulação aos 30 (Tabela 5) e 60 dias (Tabela 6).

Tabela 6 - Média dos quadrados mínimos $\pm$ EP das taxas de prenhez/IA e prenhez/ovulação aos 60 dias de acordo com a influência do bezerro

Sexo / Raça dos bezerros	Prenhez/IA aos 60 d, % (n/n)	Prenhez/ovulação aos 60 d, % (n/ovulados)
Macho	37,3 $\pm$ 5,52 (157/398)	43,4 $\pm$ 6,00 (157/345)
Fêmea	40,1 $\pm$ 5,61 (154/376)	47,2 $\pm$ 6,00 (154/314)
Angus X Nelore	40,6 $\pm$ 5,57 (188/418)	47,5 $\pm$ 5,93 (188/347)
Nelore	36,8 $\pm$ 5,55 (133/356)	43,1 $\pm$ 6,00 (133/312)

P > 0,10.

3.7 Discussão

Muitos estudos mostraram diferenças na eficiência de produção entre pares vaca-bezerro: Angus x Nelore; Nelore x Nelore; Angus x Angus; Nelore x Angus (Browning, Leite-Browning *et al.*, 1995; Calegare, Alencar, Packer, Ferrell *et al.*, 2009; Albertini, 2010). Entretanto, durante o período de avaliação proposto nesta análise (até 45 dias após o parto), não houve efeito do sexo (P = 0,79) e raça (P = 0,74) dos bezerros no ECC das vacas, o que talvez esteja relacionado ao pequeno período que estes animais passaram com os bezerros, concordando com outros estudos na literatura (Vargas Jr, 2003; Albertini, 2010) e também não foi observado efeito do sexo e raça dos bezerros nas taxas de ovulação e prenhez (

Tabela 5).

Browning, Leite-Browning *et al.* (1995) observaram que vacas amamentando bezerros *Bos taurus* x *Bos indicus* apresentaram um maior intervalo parto primeira ovulação comparadas às vacas amamentando bezerros *Bos indicus* (95,4 dias vs. 82,5 dias), entretanto no presente estudo, utilizou-se protocolo de IATF, e de acordo com Meneghetti, Sá Filho *et al.* (2009) o protocolo de IATF tem a capacidade de

induzir ciclicidade. Especula-se portanto, que a ausência de efeito do sexo e/ou raça do bezerro no desempenho reprodutivo pode ser devido ao fato de a IATF estar induzindo ciclicidade nas vacas.

3.8 Conclusão

- O sexo e a raça do bezerro durante os primeiros 45 dias pós parto não interferiram na taxa de prenhez ao protocolo de IATF.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS E IMPLICAÇÕES

Os resultados até aqui apresentados reforçam a hipótese de que o ECC influencia no desempenho reprodutivo de vacas Nelore pós-parto e que a utilização da eCG melhora as taxas de ovulação a protocolos de IATF.

Diversos trabalhos na literatura confirmam a relação entre o ECC e a utilização da eCG bem como o benefício de utilizá-lo em animais penalizados por balanço energético negativo acentuado no pós-parto. De fato, a eCG promove uma maior resposta à indução da ovulação, talvez em função do maior diâmetro folicular proporcionado pela ação da eCG e consequente maior CL e maiores concentrações séricas de P4 após a IA.

Em suma:

- A eCG pode ser utilizada juntamente com o indutor de ovulação para que se obtenha uma melhor resposta aos protocolos de IATF em rebanhos zebuínos;
- A eCG utilizada 14 dias após a IA não foi efetiva em elevar a concepção em vacas zebuínas;
- O sexo e raça dos bezerros não influenciam no desempenho reprodutivo de vacas submetidas a protocolos de IATF aos 45 dias pós-parto.

REFERÊNCIAS

ADAMS, G. P.; MATTERI, R.L.; GINTHER, O.J. Effect of progesterone on growth of ovarian follicles, emergence of follicular waves and circulating FSH in heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, GB, v. 95, p. 627-640, 1992.

ADAMS, G. P. Control of ovarian follicular wave dynamics in cattle: implications for synchronization & superstimulation. **Theriogenology**, Philadelphia, PA, v. 41, p. 19-24, 1994.

ALBERTINI, T. Z. **Efeito do peso adulto e produção de leite de vacas de corte sobre eficiência energética-ambiental-econômica do sistema de cria**. 2010. p. 96 PhD na área de Zootecnia - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

ALLEN, W. R.; MOOR, R. M. The origin of the equine endometrial cups. I. Production of PMSG by fetal trophoblast cells. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, GB, v. 29, n. 2, p. 313-6, 1972. ISSN 0022-4251.

ANUALPEC 2011. **Anuário da Pecuária Brasileira**, 2011, Instituto FNP, São Paulo.

AONO, F.H.; COOKE, R.F.; ALFIERI, A. A.; VASCONCELOS, J. L. M. Effects of vaccination against reproductive diseases on reproductive performance of beef cows submitted to fixed-timed AI in Brazilian cow-calf operations. **Theriogenology**, Philadelphia, PA, *inpress*, 2012.

ASBIA. **Relatório estatístico de importação, exportação e comercialização de sêmen**, p. 189, 2011.

BAR-PELED, U.; MALTZ, E.; BRUCKENTAL, I.; FOLMAN, Y.; KALI, Y.; GACITUA, H.; LEHRER, A. R.; KNIGHT, C. H.; ROBINZON, B.; VOET, H. Relationship between frequent milking or suckling in early lactation and milk production of high producing dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, IL, v. 78, n. 12, p. 2726-36, 1995.

BARTOLOMÉ, J. A. **Mortalidad embrioinaria y fetal temprana de origen no infeccioso en vacas lecheras**. In: VIII Simposio Internacional de Reproduccion Animal. Córdoba, Argentina p. 214, 2009..

BARUSELLI, P.; MADUREIRA, E.; MARQUES, M.; RODRIGUES, C.; NASSER, L.; SILVA, R. Effect of eCG treatment on the conception rate after FTAI in Nelore cows with different body condition scores (meta-analyses). **Acta Scientiae Veterinariae**, São Paulo, SP v. 32, p. 228, 2004.

BARUSELLI, P.; MARQUES, M.; NASSER, L.; REIS, E.; BÓ, G. Effect of eCG on pregnancy rates of lactating zebu beef cows treated with CIDR-B devices for timed artificial insemination [abstract]. **Theriogenology**, Philadelphia, PA, v. 59, p. 214, 2003.

BARUSELLI, P. S.; FERREIRA, R. M.; FILHO, M. F.; NASSER, L. F.; RODRIGUES, C. A.; BÓ, G. Bovine embryo transfer recipient synchronization and management in tropical environments. **Reproduction, Fertility and Development**, Collingwood, VIC, v. 22, n. 1, p. 67-74, 2010.

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

BARUSELLI, P. S.; MARQUES, M. O.; MADUREIRA, E. H.; COSTA NETO, W. P.; GRANDINETTI, R. R.; BÓ, G. A. Increased pregnancy rates in embryo recipients treated with CIDR-B devices. **Theriogenology**, Philadelphia, PA, v. 55, p. 355, 2001.

BARUSELLI, P. S.; REIS, E. L.; MARQUES, M. O.; NASSER, L. F.; BÓ, G. A. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. **Animal Reproduction Science**, Champaign, IL, v. 82-83, p. 479-86, 2004.

BASTOS, M. R.; MESCHIATTI, M. A. P.; SURJUS, R. S.; PRATA, A. B.; LEMES, A. P.; GUARDIEIRO, M. M.; SANTOS, F. A. P.; SARTORI, R. Estrus length and intensity in *Bos taurus* (Holstein) vs *Bos indicus* (Nelore) nonlactating cows. In: **Annual Conference of the International Embryo Transfer Society**, 2011, Orlando, Florida. p.110.

BASTOS, M. R.; SURJUS, R. S.; PRATA, A. B.; MESCHIATTI, M. A. P.; BORSATO, M.; MOURÃO, G. B.; PEDROSO, A. M.; PIRES, A. V.; SARTORI, R. Efeito da dose de benzoato de estradiol em associação à progesterona na sincronização da emergência da onda folicular em vacas *Bos indicus* e *Bos taurus* [Abstract]. **Acta Scientiae Veterinariae**, São Paulo, SP, v. 39 (Suppl 1), p. 376, 2011.

BEG, M. A.; BERGFELT, D. R.; KOT, K.; WILTBANK, M. C.; GINTHER, O.J. Follicular-fluid factors and granulosa-cell gene expression associated with follicle deviation in cattle. **Biology of Reproduction**, Madison, WI, v. 64, n. 2, p. 432-41, 2001.

BINELLI, M.; THATCHER, W. W.; MATTOS, R.; BARUSELLI, P. S. Antiluteolytic strategies to improve fertility in cattle. **Theriogenology**, Philadelphia, PA, v. 56, n. 9, p. 1451-63, 2001.

BOETA, M.; ZARCO, L. Progesterone and equine chorionic gonadotropin concentrations around the time of pregnancy loss in Mare impregnated by donkeys or stallions. **Journal of Equine Veterinary Science**, Philadelphia, PA, v. 25, p. 531-538, 2005.

BOLAND, M. D.; CRODBY, T. F.; GORDON, I. Morphological normality of cattle embryos following superovulation using PMSG. **Theriogenology**, Philadelphia, PA, v. 10, p. 175-180, 1978.

BRAVO, P. W.; TSUTSUI, T.; LASLEY, B. L. Dose response to equine chorionic gonadotropin and subsequent ovulation in llamas. **Small Ruminant Research**, Philadelphia, PA, v. 18, p. 157-163, 2006.

BRIDGES, G. A.; MUSSARD, M. L.; BURKE, C. R.; DAY, M. L. Influence of the length of proestrus on fertility and endocrine function in female cattle. **Animal Reproduction Science**, Champaign, IL, v. 117, n. 3-4, p. 208-15, 2010.

BROWNING, R.; LEITE-BROWNING, M. L.; NEUENDORFF, D. A.; RANDEL, R. D. Preweaning growth of Angus- (*Bos taurus*), Brahman- (*Bos indicus*), and Tuli- (Sanga) sired calves and reproductive performance of their Brahman dams. **Journal of Animal Science**, Champaign, IL, v. 73, n. 9, p. 2558-63, 1995.

BURKE, C. R.; MUSSARD, M. L.; GASSER, C. L.; GRUM, D. E.; DAY, M. L. Estradiol benzoate delays new follicular wave emergence in a dose-dependent manner after ablation of the dominant ovarian follicle in cattle. **Theriogenology**, Philadelphia, PA, v. 60, n. 4, p. 647-658, 2003.

BUTLER, S. A.; ATKINSON, P. C.; BOE-HANSEN, G. B.; BURNS, B. M.; DAWSON, K.; BO, G. A.; MCGOWAN, M. R. Pregnancy rates after fixed-time artificial insemination of Brahman heifers treated to synchronize ovulation with low-dose intravaginal progesterone releasing devices, with or without eCG. **Theriogenology**, Philadelphia, PA, v. 76, n. 8, p. 1416-23, 2011.

BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S.; MARTÍNEZ, M. F. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. **Animal Reproduction Science**, Champaign, IL, v. 78, n. 3-4, p. 307-26, 2003.

CALEGARE, L.; ALENCAR, M. M.; PACKER, I. U.; FERRELL, C. L.; LANNA, D. P. Cow/calf preweaning efficiency of Nellore and *Bos taurus* x *Bos indicus* crosses. **Journal of Animal Science**, Champaign, IL, v. 87, n. 2, p. 740-7, 2009.

CALEGARE, L.; ALENCAR, M. M.; PACKER, I. U.; LEME, P. R.; FERRELL, C. L.; LANNA, D. P. Preweaning performance and body composition of calves from straightbred Nellore and *Bos taurus* x Nellore crosses. **Journal of Animal Science**, v. 87, n. 5, p. 1814-20, 2009.

CARTER, F.; FORDE, N.; DUFFY, P.; WADE, M.; FAIR, T.; CROWE, M. A.; EVANS, A. C.; KENNY, D. A.; ROCHE, J. F.; LONERGAN, P. Effect of increasing progesterone concentration from Day 3 of pregnancy on subsequent embryo survival and development in beef heifers. **Reproduction, Fertility and Development**, Collingwood, VIC, v. 20, n. 3, p. 368-75, 2008.

CLARO, I.; SÁFILHO, O. G.; PERES, R. F.; AONO, F. H.; DAY, M. L.; VASCONCELOS, J. L. Reproductive performance of prepubertal *Bos indicus* heifers after progesterone-based treatments. **Theriogenology**, Philadelphia, PA, v. 74, n. 6, p. 903-11, 2010.

CLEMENTE, M.; DE LA FUENTE, J.; FAIR, T.; AL NAIB, A.; GUTIERREZ-ADAN, A.; ROCHE, J. F.; RIZOS, D.; LONERGAN, P. Progesterone and conceptus elongation

in cattle: a direct effect on the embryo or an indirect effect via the endometrium? **Reproduction**, Southampton, UK , v. 138, n. 3, p. 507-17, 2009.

COLAZO, M.; KASTELIC, J.; DAVIS, H.; RUTLEDGE, M.; MARTINEZ, M.; SMALL, J.; MAPLETOFT, R. Effects of plasma progesterone concentrations on LH release and ovulation in beef cattle given GnRH. **Domestic Animal Endocrinology**, Philadelphia, PA, v. 34, n. 1, p. 109-17, 2008.

COLAZO, M. G.; KASTELIC, J. P.; WHITTAKER, P. R.; GAVAGA, Q. A.; WILDE, R. MAPLETOFT, R. J. Fertility in beef cattle given a new or previously used CIDR insert and estradiol, with or without progesterone. **Animal Reproduction Science**, Champaign, IL v. 81, n. 1-2, p. 25-34, 2004.

COLE, H. H.; HART, G. H. Potency of blood serum of mares in progressive stages of pregnancy in effecting the sexual maturity of the immature rat. **American Journal of Physiology**, Bethesda, MD, v. 93, p. 57-58, 1930.

CRITSER, J. K.; ROWE, F. F.; DEL CAMPO, M. R.; GENTHER, O. J. Embryo transfer in cattle: factor affecting superovulatory response, number of transferable embryos, and length of post-treatment estrous cycle. **Theriogenology**, Philadelphia, PA , v. 13, p. 397-406, 1978.

CUTAIA, A. L.; RAMOS, A. P.; CHESTA, A.; BÓ, G. A. **Pregnancy rates in suckled beef cows synchronized with progesterone intravaginal devices and receiving eCG fourteen days after breeding.** IN: Conference of the International Embryo Transfer Society. Córdoba, Argentina. 22(1) 2010.

CUTAIA, L.; TRÍBULO, R.; MORENO, D.; BÓ, G. Pregnancy rates in lactating beef cows treated with progesterone releasing devices, estradiol benzoate and equine chorionic gonadotropin (eCG) [abstract]. **Theriogenology**, Philadelphia, PA , v. 59, p. 216, 2003.

DAY, M. L.; MUSSARD, M. L.; BRIDGES, G. A.; BURKE, C. R. Controlling the dominant follicle in beef cattle to improve estrous synchronization and early embryonic development. **Society of Reproduction and Fertility Supplement in Reproduction Journal**, Southampton, UK, v. 67, p. 405-19, 2010.

DEJARNETTE, J. M.; DAY, M. L.; HOUSE, R. B.; WALLACE, R. A.; MARSHALL, C. E. Effect of GnRH pretreatment on reproductive performance of postpartum suckled beef cows following synchronization of estrus using GnRH and PGF2alpha. **Journal of Animal Science**, Champaign, IL, v. 79, n. 7, p. 1675-82, 2001.

DIAS, C. C.; WECHSLER, F. S.; DAY, M. L.; VASCONCELOS, J. L. Progesterone concentrations, exogenous equine chorionic gonadotropin, and timing of prostaglandin F(2alpha) treatment affect fertility in postpuberal Nelore heifers. **Theriogenology**, Philadelphia, PA, v. 72, n. 3, p. 378-85, 2009.

DIAZ, T.; SOUTON, M.; CUTAIA, L. **Efecto de la aplicación de eCG al día 22 IATF sobre las tasas de preñez em vacas de leche tratadas com dispositivos com**

progesterona. VIII Simposio Internacional de Reproduccion Animal. Cordoba, Argentina 2009.

DISKIN, M. G.; MACKEY, D. R.; ROCHE, J. F.; SREENAN, J. M. Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. **Animal Reproduction Science**, Champaign, IL, v. 78, n. 3-4, p. 345-70, 2003.

DISKIN, M. G.; MORRIS, D. G. Embryonic and early foetal losses in cattle and other ruminants. **Reproduction of Domestic Animals**, Malden, MA, v. 43 Suppl 2, p. 260-7, 2008.

ELSDEN, R. P.; NELSON, L. D.; SEIDEL, G. E. Superovulating cows with FSH and PMSG. **Theriogenology**, Philadelphia, PA, v. 9, p. 529-534, 1978.

FAO. **Food and Agriculture Organization of the United Nations - The State of Food and Agriculture.** Roma, Italy 2011.

FUNSTON, R. N.; LIPSEY, R. J.; GEARY, T. W.; ROBERTS, A. J. Effect of administration of human chorionic gonadotropin after artificial insemination on concentrations of progesterone and conception rates in beef heifers. **Journal of Animal Science**, Champaign, IL v. 83, n. 6, p. 1403-5, 2005.

FUNSTON, R. N.; SUMMERS, A. F.; ROBERTS, A. J. Implications of nutritional management for beef cow-calf systems. **Journal of Animal Science**, Champaign, IL, v. 76, n.3, p. 4333-4341, 2011.

GAJA, A. O.; HAMANA, K.; KUBOTA, C.; KOJIMA, T. Evaluation of the effect of a 3rd GnRH injection administered six days after the 2nd GnRH injection of Ovsynch on the reproductive performance of Japanese black cows. **Journal of Veterinary Science**, Seoul, Korea, v. 9, n. 3, p. 273-9, 2008.

HENRICKS, D. M.; LAMOND, D. R.; HILL, J. R.; DICKEY, J. F. Plasma progesterone concentrations before mating and in early pregnancy in the beef heifer. **Journal of Animal Science**, Champaign, IL , v. 33, n. 2, p. 450-4, 1971.

HOUGHTON, P.; LEMENAGER, R.; MOSS, G.; HENDRIX, K. Prediction of postpartum beef cow body composition using weight to height ratio and visual body condition score. **Journal of Animal Science**, Champaign, IL, v. 68, p. 1428-37, 1990.

HUMBLOT, P. Use of pregnancy specific proteins and progesterone assays to monitor pregnancy and determine the timing, frequencies and sources of embryonic mortality in ruminants. **Theriogenology**, Philadelphia, PA , v. 56, n. 9, p. 1417-33, 2001.

HUMPHREY, W.; MURPHY, B.; RIEGER, D.; MAPLETOFT, R.; MANNS, J.; FRETZ, P. Effects of FSH/LH ratio of PMSG on ovulatory responses. **Theriogenology**, Philadelphia, PA, v. 11, n. 1, p. 101, 1979.

IBGE. Pesquisa de Pecuária Municipal 2011. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**, v. 39, p.1-63, 2012.

KASTELIC, J. P.; GINTHER, O. J. Factors affecting the origin of the ovulatory follicle in heifers with induced luteolysis. **Animal Reproduction Science**, Champaign, IL, v. 26, p. 13-24, 1991.

KASTELIC, J. P.; OLSON, W. O.; MARTINEZ, M.; COOK, R. B.; MAPLETOF, R. J. Synchronization of estrus in beef cattle with norgestomet and estradiol valerate. **The Canadian Veterinary Journal**, Southampton, UK, Ottawa, ON, v. 40, n. 3, p. 173-8, 1999.

LEGARDINIER, S.; CAHOREAU, C.; KLETT, D.; COMBARNOUS, Y. Involvement of equine chorionic gonadotropin (eCG) carbohydrate side chains in its bioactivity; lessons from recombinant hormone expressed in insect cells. **Reproduction, Nutrition and Development**, Les Ulis Cedex, France, v. 45, n. 3, p. 255-9, 2005.

USDA. Livestock and Poultry: World Markets and Trade, Foreign Agricultural Service/**USDA**, Abril de 2012.

KURAN, M.; HUTCHINSON, J.S.M.; BROADBENT, P.J. The response of bovine granulosa cells to different gonadotrophins in culture. **Animal Reproduction Science**, Champaign, IL , 1996;45:1–12.

LONERGAN, P. Influence of progesterone on oocyte quality and embryo development in cows. **Theriogenology**, Philadelphia, PA, v. 76, n. 9, p. 1594-601, 2011.

LOPES, A. S.; BUTLER, S. T.; GILBERT, R. O.; BUTLER, W. R. Relationship of pre-ovulatory follicle size, estradiol concentrations and season to pregnancy outcome in dairy cows. **Animal Reproduction Science**, Champaign, IL , v. 99, n. 1-2, p. 34-43, 2007.

LÓPEZ-GATIUS, F.; SANTOLARIA, P.; YÁNIZ, J. L.; HUNTER, R. H. Progesterone supplementation during the early fetal period reduces pregnancy loss in high-yielding dairy cattle. **Theriogenology**, Philadelphia, PA, v. 62, n. 8, p. 1529-35, 2004.

MAMLUK, R.; CHEN, D.; GREBER, Y.; DAVIS, J. S.; MEIDAN, R. Characterization of messenger ribonucleic acid expression for prostaglandin F2 alpha and luteinizing hormone receptors in various bovine luteal cell types. **Biology of Reproduction**, Madison, WI , v. 58, n. 3, p. 849-56, 1998.

MANN, G.; LAMMING, G.; ROBINSON, R.; WATHES, D. The regulation of interferon-tau production and uterine hormone receptors during early pregnancy. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, GB, **Suppl**, v. 54, p. 317-28, 1999.

MANN, G. E.; FRAY, M. D.; LAMMING, G. E. Effects of time of progesterone supplementation on embryo development and interferon-tau production in the cow. **Veterinary Journal**, Southampton, UK, v. 171, n. 3, p. 500-3, 2006.

MANN, G. E.; GREEN, M. P.; SINCLAIR, K. D.; DEMMERS, K. J.; FRAY, M. D.; GUTIERREZ, C. G.; GARNSWORTHY, P. C.; WEBB, R. Effects of circulating progesterone and insulin on early embryo development in beef heifers. **Animal Reproduction Science**, Champaign, IL , v. 79, n. 1-2, p. 71-9, 2003.

MANN, G. E.; LAMMING, G. E. The role of sub-optimal preovulatory oestradiol secretion in the etiology of premature luteolysis during the short oestrous cycle in the cow. **Animal Reproduction Science**, Champaign, IL, v. 64, n. 3-4, p. 171-80, 2000.

MANN, G. E.; LAMMING, G. E. Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. **Reproduction**, Southampton, UK, v. 121, n. 1, p. 175-80, 2001.

MAPLETOFT, R. J.; MARTINEZ, M. F.; COLAZO, M. G.; KASTELIC, J. P. The use of controlled internal drug release devices for the regulation of bovine reproduction. **Journal of Animal Science**, Champaign, IL, v. 81(E. Suppl. 2), p. E28-E36, 2003.

MAPLETOFT, R. J.; STEWARD, K. B.; ADAMS, G. P. Recent advances in the superovulation in cattle. **Reproduction, Nutrition and Development**, Les Ulis Cedex, France, v. 42, n. 6, p. 601-11, 2002.

MARQUES, M. O.; REIS, E. L.; CAMPOS FILHO, E. P.; BARUSELLI, P. S. Efeitos da administração de eCG e de Benzoato de Estradiol para sincronização da ovulação em vacas zebuínas no período pós- parto., V Simposio Internacional de Reproducción Animal, 2003, Córdoba, Argentina. p.392.

MARQUES, M. O.; SÁ FILHO, M. F.; GIMENES, L. U.; FIGUEIREDO, T. B.; SORIA, G. F.; BARUSELLI, P. S. Efeito do tratamento com PGF2 α na inserção e/ou tratamento com eCG na remoção do dispositivo intravaginal de progesterona na taxa de concepção à inseminação artificial em tempo fixo em novilhas nelore. **Acta Scientiae Veterinarie**, São Paulo, SP, v. 1, p. 287, 2005.

MARTINS, C. A.; SALOMONI, F. Efeito do sexo e do genótipo da progênie no desempenho reprodutivo subsequente de vacas Hereford. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, MG, v. 14, n. 3, p. 187-199, 1990.

MARTINUK, S. D.; MANNING, A. W.; BLACK, W. D.; MURPHY, B. D. Effects of carbohydrates on the pharmacokinetics and biological activity of equine chorionic gonadotropin in vivo. **Biology of Reproduction**, Madison, WI , v. 45, n. 4, p. 598-604, 1991.

MARTÍNEZ, M. F.; KASTELIC, J. P.; COLAZO, M. G.; MAPLETOFT, R. J. Effects of estradiol on gonadotrophin release, estrus and ovulation in CIDR-treated beef cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, Philadelphia, PA, v. 33, n. 1, p. 77-90, 2007.

MATTERI, R. L.; PAPKOFF, H.; MURTHY, H. M. S.; ROSER, J. F.; CHANG, Y. S. Comparison of the properties of highly purified equine chorionic gonadotropin isolated from comercial concentrates of pregnant mare serum and endometrial cups. **Domestic Animal Endocrinology**, Philadelphia, PA, p. 39-48, 1986.

MATTOS, M.; BASTOS, M.; OLIVEIRA, A.; GONÇALVES, J.; OLIVEIRA, T.; MOURÃO, G.; SARTORI, R. Use of equine chorionic gonadotropin after embryo transfer in Nelore and crossbred recipient cattle. In: 37th Annual Conference of the IETS, 2011, Orlando. **Reproduction, Fertility and Development**, Collingwood, VIC, v. 23, p. 17, 2011.

MENEGHETTI, M.; SÁ FILHO, O. G.; PERES, R. F.; LAMB, G. C.; VASCONCELOS, J. L. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows I: basis for development of protocols. **Theriogenology**, Philadelphia, PA, v. 72, n. 2, p. 179-89, 2009.

MENEGHETTI, M.; VASCONCELOS, J. Calving date, body condition score, and response to a timed artificial insemination protocol in first-calving beef cows. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, MG, p. 786-793, 2008.

MIZUTA, K. **Estudo comparativo dos aspectos comportamentais do estro e dos teores plasmáticos de LH, FSH, progesterona, e estradiol que precedem a ovulação em fêmeas bovinas Nelore (*Bos taurus indicus*), Angus (*Bos taurus taurus*) e Nelore x Angus (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*).** 2003. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 2003.

MONTEIRO, JR.; SILVA, F.L.M.; BORSATO, M.; NOGUEIRA, G.P.; MOURÃO, G.B.; SILVA, L.D.; WILTBANK, M.C.; SARTORI, R. Effect of progesterone (P4) supplementation after AI on circulating P4 and development of the corpus luteum (CL) in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Vol. 95, Suppl. 2, p. 74, 2012.

MURPHY, B. D.; MARTINUK, S. D. Equine chorionic gonadotropin. **Endocrine Reviews**, v. 12, n. 1, p. 27-44, 1991.

NOGUEIRA, M. F.; MELO, D. S.; CARVALHO, L. M.; FUCK, E. J.; TRINCA, L. A.; BARROS, C. M. Do high progesterone concentrations decrease pregnancy rates in embryo recipients synchronized with PGF2alpha and eCG? **Theriogenology**, Philadelphia, PA, v. 61, n. 7-8, p. 1283-90, 2004.

COMMITTEE ON REPRODUCTIVE NOMENCLATURE. Recommendations for standardizing bovine reproductive terms: **Cornell Vet.** 62: 216-237 p. 1972.

NUÑEZ, R.; CASTRO, T.; CUTAIA, L.; BÓ, G.; MENCHACA, A. Pregnancy rates after administration of equine chorionic gonadotropin (eCG) at progesterone intravaginal device removal and 14 days after fixed-time AI in beef cattle. **Reproduction, Fertility and Development**, Collingwood, VIC, v. 23, n. Suppl 1, p. 163, 2011.

PAPKOFF, H. Variations in the properties of equine chorionic gonadotropin. **Theriogenology**, Philadelphia, PA, v. 15, n. 1, p. 1-11, 1981.

PEGORER, M. F.; ERENO, R. L.; SATRAPA, F. A.; PINHEIRO, V. G.; TRINCA, L. A.; BARROS, C. M. Neither plasma progesterone concentrations nor exogenous eCG affects rates of ovulation or pregnancy in fixed-time artificial insemination (FTAI) protocols for puberal Nellore heifers. **Theriogenology**, Philadelphia, PA, v. 75, n. 1, p. 17-23, 2011.

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

PERRY, G. A.; KOJIMA, F. N.; SALFEN, B. E.; BADER, J. F.; PATTERSON, D. J.; SMITH, M. F. Effect of an orally active progestin on follicular dynamics in cycling and anestrous postpartum beef cows. **Journal of Animal Science**, Champaign, IL, v. 80, n. 7, p. 1932-8, 2002.

PERRY, G. A.; SMITH, M. F.; LUCY, M. C.; GREEN, J. A.; PARKS, T. E.; MACNEIL, M. D.; ROBERTS, A. J.; GEARY, T. W. Relationship between follicle size at insemination and pregnancy success. **Proceedings of National Academic Sciences**, Washington, DC, v. 102, n. 14, p. 5268-73, 2005.

PESCADOR, N.; SOUMANO, D. M.; STOCCO, D. M.; PRICE, C. A.; MURPHY, B. D. Steroidogenic acute regulatory protein in bovine corpora lutea. **Biology of Reproduction**, Madison, WI, v. 55, n. 2, p. 485-91, 1996.

PINHEIRO, O. L.; BARROS, C. M.; FIGUEIREDO, R. A.; DO VALLE, E. R.; ENCARNÇÃO, R. O.; PADOVANI, C. R. Estrous behavior and the estrus-to-ovulation interval in Nelore cattle (*Bos indicus*) with natural estrus or estrus induced with prostaglandin F2 alpha or norgestomet and estradiol valerate. **Theriogenology**, Philadelphia, PA, v. 49, n. 3, p. 667-81, 1998.

PINHEIRO, V. G.; SOUZA, A. F.; PEGORER, M. F.; SATRAPA, R. A.; ERENO, R. L.; TRINCA, L. A.; BARROS, C. M. Effects of temporary calf removal and eCG on pregnancy rates to timed-insemination in progesterone-treated postpartum Nellore cows. **Theriogenology**, Philadelphia, PA, v. 71, n. 3, p. 519-24, 2009.

PURSLEY, J.; MEE, M.; WILTBANK, M. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2alpha and GnRH. **Theriogenology**, Philadelphia, PA, v. 44, n. 7, p. 915-23, 1995.

QUINTANS, G.; VÁZQUEZ, A. I.; WEIGEL, K. A. Effect of suckling restriction with nose plates and premature weaning on postpartum anestrous interval in primiparous cows under range conditions. **Animal Reproduction Science**, Champaign, IL, v. 116, n. 1-2, p. 10-8, 2009.

RANDEL, R. D. Nutrition and postpartum rebreeding in cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, IL, v. 68, n. 3, p. 853-62, 1990.

REYNOLDS, W. L.; DEROUEN, T. M.; BELLOWS, R. A. Relationships of milk yield of dam to early growth rate of straightbred and crossbred calves. **Journal of Animal Science**, Champaign, IL, v. 47, p. 584, 1978.

RIZOS, D.; SCULLY, S.; KELLY, A. K.; EALY, A. D.; MOROS, R.; DUFFY, P.; AL NAIB, A.; FORDE, N.; LONERGAN, P. Effects of human chorionic gonadotrophin administration on day 5 after oestrus on corpus luteum characteristics, circulating progesterone and conceptus elongation in cattle. **Reproduction, Fertility and Development**, Collingwood, VIC, v. 24, n. 3, p. 472-81, 2012.

SANTOS, J. E.; THATCHER, W. W.; CHEBEL, R. C.; CERRI, R. L.; GALVÃO, K. N. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. **Animal Reproduction Science**, Champaign, IL, v. 82-83, p. 513-35, 2004.

SARTORI, R. BASTOS, M.R., BARUSELLI, P.S.; GIMENES, L.U.; ERENO, R.L.; BARROS, C.M. Physiological differences and implications to reproductive management of *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle in a tropical environment. **Proceedings of the Eighth International Symposium on Reproduction in Domestic Ruminants. Society of Reproduction and Fertility**, v.67, p.357-375, de 3 a 7 de Setembro de 2010, Anchorage, Alaska.

SARTORI, R.; HAUGHIAN, J. M.; SHAVER, R. D.; ROSA, G. J.; WILTBANK, M. C. Comparison of ovarian function and circulating steroids in estrous cycles of Holstein heifers and lactating cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, IL, v. 87, n. 4, p. 905-20, 2004.

SARTORI, R.; ROSA, G. J.; WILTBANK, M. C. Ovarian structures and circulating steroids in heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in winter. **Journal of Dairy Science**, Champaign, IL, v. 85, n. 11, p. 2813-22, Nov 2002. ISSN 0022-0302.

SMALL, G.A.; COLAZO, M.G.; KASTELIC, J.P.; MAPLETOFT, R.J. Effects of progesterone presynchronization and eCG on pregnancy rates to GnRH-based, timed-AI in beef cattle. **Theriogenology**, Philadelphia, PA, 71: 698–706, 2009.

SHEFFEL, C. E.; PRATT, B. R.; FERRELL, W. L.; INSKEEP, E. K. Induced corpora lutea in the postpartum beef cow. II. Effects of treatment with progestogen and gonadotropins. **Journal of Animal Science**, Champaign, IL, v. 54, n. 4, p. 830-6, 1982.

SHORT, R. E.; ADAMS, D. C. Nutritional and hormonal interrelationships in beef cattle reproduction. **Canadian Journal Animal Science**, Ottawa, ON, v. 68, p. 29-39, 1988.

SHORT, R. E.; BELLOWS, 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**, Champaign, IL, v. 68, n. 3, p. 799-816, 1990.

SOUMANO, K.; LUSSIER, J. G.; PRICE, C. A. Levels of messenger RNA encoding ovarian receptors for FSH and LH in cattle during superovulation with equine chorionic gonadotrophin versus FSH. **Journal of Endocrinology**, London, UK, v. 156, n. 2, p. 373-8, 1998.

SOUMANO, K.; PRICE, C. A. Ovarian follicular steroidogenic acute regulatory protein, low-density lipoprotein receptor, and cytochrome P450 side-chain cleavage messenger ribonucleic acids in cattle undergoing superovulation. **Biology of Reproduction**, Madison, WI, v. 56, n. 2, p. 516-22, 1997.

SOUMANO, K.; SILVERSIDES, D. W.; DOIZÉ, F.; PRICE, C. A. Follicular 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase and cytochromes P450 17 alpha-hydroxylase and aromatase messenger ribonucleic acids in cattle undergoing superovulation. **Biology of Reproduction**, Madison, WI, v. 55, n. 6, p. 1419-26, 1996.

SOUZA, A. H.; VIECHNIESKI, S.; LIMA, F. A.; SILVA, F. F.; ARAÚJO, R.; BÓ, G. A.; WILTBANK, M. C.; BARUSELLI, P. S. Effects of equine chorionic gonadotropin and type of ovulatory stimulus in a timed-AI protocol on reproductive responses in dairy cows. **Theriogenology**, Philadelphia, PA, v. 72, n. 1, p. 10-21, 2009.

STEVENSON, J. S.; KNOPPEL, E. L.; MINTON, J. E.; SALFEN, B. E.; GARVERICK, H. A. Estrus, ovulation, luteinizing hormone, and suckling-induced hormones in mastectomized cows with and without unrestricted presence of the calf. **Journal of Animal Science**, Champaign, IL, v. 72, n. 3, p. 690-9, 1994.

STEVENSON, J. S.; LAMB, G. C.; HOFFMANN, D. P.; MINTON, J. E. Interrelationships of lactation and postpartum anovulation in suckled and milked cows. **Livestock Production Science**, Philadelphia, PA, v. 50, p. 57-74, 1997.

STEVENSON, J. S.; PORTALUPPI, M. A.; TENHOUSE, D. E.; LLOYD, A.; EBORN, D. R.; KACUBA, S.; DEJARNETTE, J. M. Interventions after artificial insemination: conception rates, pregnancy survival, and ovarian responses to gonadotropin-releasing hormone, human chorionic gonadotropin, and progesterone. **Journal of Dairy Science**, Champaign, IL, v. 90, n. 1, p. 331-40, 2007.

SÁ FILHO, M.; CRESPILOHO, A.; SANTOS, J.; PERRY, G.; BARUSELLI, P. 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**, Champaign, IL, v. 120, n. 1-4, p. 23-30, 2010.

SÁ FILHO, M.; TORRES-JÚNIOR, J.; PENTEADO, L.; GIMENES, L.; FERREIRA, R.; AYRES, H.; CASTRO E PAULA, L.; SALES, J.; BARUSELLI, P. Equine chorionic gonadotropin improves the efficacy of a progestin-based fixed-time artificial insemination protocol in Nelore (*Bos indicus*) heifers. **Animal Reproduction Science**, Champaign, IL, v. 118, n. 2-4, p. 182-7, 2010.

SÁ FILHO, M. F.; SAYRES, H.; FERREIRA, R. M.; MARQUES, M. O.; REIS, E. L.; SILVA, R. C.; RODRIGUES, C. A.; MADUREIRA, E. H.; BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S. Equine chorionic gonadotropin and gonadotropin-releasing hormone enhance

fertility in a norgestomet-based, timed artificial insemination protocol in suckled Nelore (*Bos indicus*) cows. **Theriogenology**, Philadelphia, PA, v. 73, n. 5, p. 651-8, 2010.

SÁ FILHO, O.; MENEGHETTI, M.; PERES, R.; LAMB, G.; VASCONCELOS, J. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows II: strategies and factors affecting fertility. **Theriogenology**, Philadelphia, PA, v. 72, n. 2, p. 210-8, 2009.

SÁ FILHO, O. G.; DIAS, C. C.; LAMB, G. C.; VASCONCELOS, J. L. Progesterone-based estrous synchronization protocols in non-suckled and suckled primiparous *Bos indicus* beef cows. **Animal Reproduction Science**, Champaign, IL, v. 119, n. 1-2, p. 9-16, 2010.

VASCONCELOS JLM, SARTORI R, OLIVEIRA HN, GUENTHER JN, WILTBANK MC. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rates. **Theriogenology**, Philadelphia, PA,;56:307–14, 2001.

VARGAS JR, F. M. **Efeito do grupo genético da progênie sobre a eficiência produtiva e reprodutiva de matrizes Nelores**. 2003. 101 (2003). Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".

VARGAS JR, F. M. WECHSLER, F. S.; ROSSI, P.; SEGA, D.; CAETANO, M.. Ganho de peso e consumo de leite de bezerros Nelore e 1/2 Simental 1/2 Nelore. 40ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2003, Santa Maria, RS.

VARGAS, JR, F. M.; WECHSLER, F. S.; ROSSI, P.; SEGA, D.; CAETANO, M. Comportamento de bezerros Nelores ou 1/2 Simental 1/2 Nelore na fase de cria. In: 40ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, v. 3, Santa Maria, RS, p. 250, 2003.

WILLIAMS, G. L.; GRIFFITH, M. K. Sensory and behavioural control of gonadotrophin secretion during suckling-mediated anovulation in cows. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, GB, **Supplement**, v. 49, p. 463-75, 1995.

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

WILTBANK, M.C.; SARTORI, R.; HERLIHY, M.M.; VASCONCELOS, J.L.M.; NASCIMENTO, A.B.; SOUZA, A.H.; AYRES, H.; CUNHA, A.P.; KESKIN, A.; GUENTHER, J.N.; GUMEN, A. Managing the dominant follicle in lactating dairy cows. **Theriogenology**, Philadelphia, PA, v. 76, n.9, p. 1568 – 1582, 2011.

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

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