UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

THIAGO KAN NISHIMURA

**Influências da condição corporal e atividade ovariana sobre a
taxa de prenhez de vacas de corte suplementadas com
progesterona de longa ação após a IATF**

THIAGO KAN NISHIMURA

**Influências da condição corporal e atividade ovariana sobre a
taxa de prenhez de vacas de corte suplementadas com
progesterona de longa ação após a IATF**

Versão Corrigida

Dissertação apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal

Orientador: Prof. Dr. Arlindo Saran Netto

Coorientador: Prof. Dr. Guilherme Pugliesi

Pirassununga

2018

Ficha catalográfica elaborada pelo
Serviço de Biblioteca e Informação, FZEA/USP,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

NN724i Nishimura, Thiago Kan
Influências da condição corporal e atividade
ovariana sobre a taxa de prenhez de vacas de corte
suplementadas com progesterona de longa ação após
a... / Thiago Kan Nishimura ; orientador Arlindo
Saran Netto ; coorientador Guilherme Pugliesi. --
Pirassununga, 2018.
72 f.
Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação
em Zootecnia) -- Faculdade de Zootecnia e
Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo.
1. Progesterone de longa ação. 2. IATF. 3.
Nelore. 4. Atividade ovariana. 5. Escore de condição
corporal. I. Netto, Arlindo Saran, orient. II.
Pugliesi, Guilherme, coorient. III. Título.

THIAGO KAN NISHIMURA

**Influências da condição corporal e atividade ovariana sobre a
taxa de prenhez de vacas de corte suplementadas com
progesterona de longa ação após a IATF**

Versão Corrigida

Dissertação apresentada à
Faculdade de Zootecnia e
Engenharia de Alimentos da
Universidade de São Paulo, como
parte dos requisitos para a obtenção
do Título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Qualidade e
Produtividade Animal

Data de aprovação: ____/____/____

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Arlindo Saran Netto

Instituição: Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos
FZEA/USP

Presidente da Banca Examinadora

Prof.(a) Dr.(a) Rodrigo Silva Goulart

Instituição: Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos
FZEA/USP

Prof.(a) Dr.(a) Ed Hoffmann Madureira

Instituição: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, USP

Dr.(a) Michele Ricieri Bastos

Instituição: Ouro Fino Saúde Animal

Dedicatória

Dedico aos meus pais e minha família que sempre me apoiaram em todos os momentos da vida, e que merecem de mim todo o respeito e amor eterno.

Agradecimentos

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus que sempre me acompanha, me guiando e iluminando meus passos e me oferecendo forças para seguir meu caminho.

Agradeço aos meus pais Rosa e Mario, aos meus irmãos Leandro e Renata por sempre me apoiarem nas minhas decisões, e me incentivarem durante toda minha vida.

Ao meu orientador, Prof Dr. Arlindo Saran Netto, por acreditar e confiar em mim, e por me dar a oportunidade de realizar o mestrado junto ao seu laboratório.

Ao meu coorientador, Prof Dr. Guilherme Pugliesi, por acreditar em mim, e por todas as conversas e dicas durante o experimento, e por colaborar durante todo o trabalho.

Aos meus amigos de trabalho, Marreco, Suruba, Maurício, Bruna, por todo o trabalho, risadas, conversas e empenho.

Aos funcionários da Fazenda Água Preta por todo o trabalho e empenho durante a fase experimental.

Ao João Paulo Massoneto e ao Luiz, por permitir a realização do experimento na fazenda, e por todo o auxílio durante todo esse tempo.

Aos funcionários do gado de leite e gado de corte, por toda amizade e companheirismo.

Aos meus amigos da República Tatu Corrido, a minha família em Pirassununga, obrigado por toda experiência de poder morar e conviver com todos vocês.

Aos meus amigos de quarto Marcelo (Mayza) e Henrique (Pajé), por toda amizade e confiança durante todos esses anos.

Ao meu amigo Danilo (Kuseco) por todas as conversas e por toda amizade, sempre juntos lado a lado.

A minha companheira Rafaella, por estar sempre ao meu lado me incentivando e me apoiando em todas as situações e decisões.

À Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo

RESUMO

Grande parte das perdas embrionárias ocorrem nas três primeiras semanas após a inseminação e grande parte pode-se atribuir a baixas concentrações de progesterona. Desta maneira, o objetivo do presente experimento foi avaliar os efeitos e a interação entre o escore de condição corporal (ECC) e condição ovariana (EO) em vacas suplementadas com progesterona de longa ação (P4) após IATF sobre a taxa de prenhez em vacas de corte. Neste experimento foram utilizados 1573 vacas de corte, lactantes entre 30 e 60 dias pós-parto. As vacas tiveram a ovulação sincronizada iniciando-se no dia -10 e foram inseminadas no dia 0. No dia 4, os animais foram bloqueados de acordo com ECC e EO e ordem de parto e divididos em dois tratamentos: (P4, n = 786) e (Controle, n = 787). Foram feitas avaliações ultrassonográficas dos ovários nos dias -10, 0 e 4, para mensurações de tamanho de folículo e corpo lúteo e no dia -10 foi feita a avaliação do ECC. A taxa de prenhez (P/IA) entre os grupos P4 vs CONTROLE não apresentou diferenças $P=0,49$. Vacas com $ECC > 2,75$ tiveram melhor P/IA ($P<0,05$) comparadas com vacas com $ECC \leq 2,5$. Vacas com presença de folículo ≥ 8 mm no dia -10 apresentou melhor P/IA ($P<0,05$) comparadas com vacas com presença de CL ou folículo <8 mm. Vacas com folículo ≥ 8 mm e CL apresentaram maior tamanho de folículo, maior área de CL, no entanto, os animais com presença de folículo ≥ 8 mm apresentaram maior taxa de concepção comparado com os animais com folículo < 8 mm e com presença de CL. Concluímos que a suplementação com P4 após a IATF não melhora as taxas de prenhez, independente do ECC e do EO, no entanto, o ECC e o EO apresentam influências nas taxas de prenhez, onde os animais com melhor ECC no início do protocolo apresentaram melhor EO e maior taxa de prenhez.

Palavras-chave: Progesterona injetável, bovino, IATF, prenhez, escore corporal

ABSTRACT

Embryo loss commonly occurs in the first three weeks after insemination due to low progesterone (P4) concentrations. Therefore, this study evaluates the effects of body condition score (BCS) and ovarian condition (OC) on pregnancy rates (P/AI) in beef cows supplemented with long-acting P4 after timed artificial insemination (TAI). We used 1573 lactating Nelore cows at 30-60 days postpartum. The animals were pre-synchronized on Day -10 and inseminated on Day 0. On Day 4, they were evaluated for BCS, OC and parturition order and divided into two treatment groups: P4 supplementation (N= 786) and control group (N = 787). Ultrasound exams were performed on Days -10 and 0 to measure follicle diameter and on Day 4 to evaluate corpus luteum (CL) area. BCS was determined on Day -10. P/AI did not vary between P4 supplementation and control treatments ($P = 0.49$). Cows with BCS > 2.75 had better P/AI than cows with BCS ≤ 2.5 ($P < 0.05$). Cows without CL and with follicle diameter ≥ 8 mm on Day -10 presented better P/AI than cows with follicle < 8 mm or CL ($P < 0.05$). In conclusion, P4 supplementation after TAI did not improve P/AI. However, BCS and OC affected P/AI and the animals with better BCS at the beginning of the experiment had better OC and P/AI.

Key-words: bovine; corpus luteum, Nelore; ovary; uterus,

LISTA DE ABREVIATURAS

CL – Corpo lúteo

E2 – Estradiol

ECC – Escore de condição corporal

eCG – Gonadotrofina coriônica equina

EO – Escore de condição ovariana

FSH – Hormônio folículo estimulante

GnRH – Hormônio liberador de gonadotrofinas

hCG – Gonadotrofina coriônica humana

IA – Inseminação artificial

IATF – Inseminação artificial em tempo fixo

IFN-tau – Interferon-tau

IGF-I – Fator de crescimento semelhante a insulina tipo 1

ISGs – Genes estimulados por interferon-tau

LH – Hormônio luteinizante

P/IA – Prenhes por inseminação

P4 – Progesterona

PGF2 α – Prostaglandina F2 α

SUMÁRIO

<u>1.INTRODUÇÃO</u>	13
<u>2. REVISÃO DE LITERATURA</u>	15
<u>2.1 Influência do escore corporal na fertilidade de vacas zebuínas</u>	15
<u>2.2 Influência da atividade ovariana no pós parto na fertilidade de vacas zebuínas</u>	16
<u>2.3 Desenvolvimento embrionário inicial em bovinos</u>	19
<u>2.4 Reconhecimento materno e a importância da manutenção do corpo lúteo</u> . 21	
<u>2.5 Influência da P4 no desenvolvimento do embrião</u>	23
<u>2.6 Estratégias para aumentar a concentração de P4 pós inseminação</u>	24
<u>2.6.1 Indução da formação de um corpo lúteo acessório</u>	25
<u>2.6.2 Aumento do tamanho do corpo lúteo</u>	26
<u>2.6.3 Suplementação com P4 exógena</u>	26
<u>3 JUSTIFICATIVA</u>	29
<u>3.1 HIPÓTESE</u>	30
<u>4 OBJETIVOS</u>	30
<u>4.1 Objetivo Geral</u>	30
<u>4.2 Objetivos específicos</u>	30
<u>5 MATERIAL E MÉTODOS</u>	30
<u>5.1 Animais e local do experimento</u>	30
<u>5.2 Delineamento experimental</u>	31
<u>5.3 Exames ultrassonográficos</u>	33
<u>5.4 Análise estatística</u>	34
<u>6 RESULTADOS</u>	37

<u>7. DISCUSSÃO</u>	45
<u>8. CONCLUSÕES</u>	53
<u>9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u>	54

1.INTRODUÇÃO

O Brasil, tem um importante papel na cadeia de produção da carne mundial, possuindo um total de 218,23 milhões de cabeças de gado, uma alta capacidade de aumentar a produção e uma grande extensão territorial, somando cerca de 165 milhões de hectares de pasto (ABIEC, 2017). Este cenário permite uma grande capacidade de produção e com baixos custos. No entanto, um fator limitante no aumento da produção na pecuária de corte brasileira é a baixa eficiência reprodutiva nas operações de cria. Assim, o aumento da eficiência reprodutiva das explorações pecuárias com o objetivo de incrementar a produção de carne, sem aumentar o número de matrizes, se torna de grande importância para evitar impactos ambientais associados à maior utilização de terra para a atividade pecuária.

Entre as alternativas para reprodução de bovinos, a utilização da inseminação artificial (IA) se torna uma ferramenta fundamental para acelerar o ganho genético dos animais e obter maiores índices reprodutivos tanto em fazendas de corte como de leite. No Brasil, a utilização da IA vem em conjunto com a utilização de protocolos hormonais a base de estradiol (E2) e dispositivos liberadores de progesterona (P4). Estes fármacos atuam na sincronização da ovulação dos animais, permitindo que as fêmeas sejam inseminadas em tempo fixo, essa técnica é conhecida como inseminação artificial em tempo fixo (IATF) (BARUSELLI et al., 2004).

A utilização da IATF proporciona diversas vantagens em fazendas comerciais de bovinos de corte, pois permite uma maior concentração de manejo dos animais durante o período de estação de monta e estação de parição dos bezerros, e uma maior homogeneidade entre os lotes. Além disso, a IATF permite uma taxa de serviço (número de animais inseminados por animais disponíveis para reprodução) de 100%, aumento na taxa de prenhez, que proporciona maior ganho genético dos animais, por meio da utilização de sêmen de animais geneticamente melhoradores. Outra vantagem do uso da IATF é que os protocolos hormonais induzem a ciclicidade em vacas em anestro pós-parto. Apesar das diversas vantagens, as taxas de prenhez após IATF em

vacas de corte zebuínas apresentam uma grande variação e se situam ao redor de 40–60% (SÁ FILHO et al., 2012; SALES et al., 2013). A taxa de prenhez por inseminação (P/IA) pode ser influenciada por diversos fatores como escore de condição corporal (ECC) (SÁ FILHO et al., 2009; AYRES et al., 2014), categoria animal (nulípara, primípara e plurípara) (SÁ FILHO et al., 2009), dias após o parto e atividade ovariana.

No entanto, apesar das taxas de prenhez entre 40-60% observadas após a primeira IATF, Diskin e colaboradores (2006) observaram altas taxas de fertilização (90-95%) após a inseminação observadas em bovinos. Isso evidencia que um dos maiores fatores que impedem maiores taxas de prenhez são as altas taxas de perdas embrionárias durante as três primeiras semanas de gestação (THATCHER et al., 1995; DISKIN et al., 2006). Essa mortalidade pode ocorrer em parte pela falha direta do desenvolvimento do embrião, ou, pela falha do embrião em prevenir a luteólise (VANROOSE et al., 2000).

A concentração de P4 circulante durante a gestação inicial, tem um efeito significativo na sobrevivência do conceito/embrião (MANN et al., 1999; CARTER et al., 2008). Uma baixa concentração de P4 nos primeiros dias de gestação (Dia 3-8) está associado a um embrião menor no Dia 16, e para que ocorra a prevenção da luteólise o embrião deve estar bem desenvolvido para permitir uma secreção suficiente de interferon-tau (IFN-tau) prevenindo assim a secreção pulsátil de prostaglandina F2 α (PGF2 α) (CARTER et al., 2008). A quantidade de P4 secretada pelo corpo lúteo (CL) no início da gestação está relacionada com o tamanho do folículo pré-ovulatório e apresenta um efeito positivo na sobrevivência embrionário em vacas (MANN et al., 2003; PERES et al., 2009).

Sendo assim, a suplementação com P4 exógena, apresenta ser uma alternativa para os animais que apresentam baixas concentrações P4 no início da gestação. Vacas de leite suplementadas com P4 exógena entre os dias 5 e 9 após IATF, apresentaram um crescimento 4 vezes maior e 6 vezes maior no tamanho de trofoblasto e nas concentrações de IFN-tau, respectivamente quando comparados com animais não suplementados (MANN et al., 2006). Estudos observaram maiores taxas

de prenhez em vacas suplementadas com P4 exógena (PUGLIESI et al., 2016; GARCIA-ISPIERTO et al., 2017).

No entanto, os dados com suplementação com P4 ainda são inconsistentes, com isso objetivou-se com este trabalho avaliar os efeitos da administração com P4 injetável de longa ação 4 dias após a IATF na fertilidade de vacas zebuínas de corte, e avaliar possíveis interações com o escore ovariano (EO; presença de CL ou ausência de CL) e ECC no início do protocolo de IATF.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Influência do escore corporal na fertilidade de vacas zebuínas

A nutrição é um dos principais fatores que afetam a fertilidade de ruminantes, pois fornece nutrientes essenciais para o desenvolvimento do oócito e do espermatozoide, ovulação, fertilização, sobrevivência do embrião e estabelecimento da gestação. Além disso, pode alterar as concentrações de hormônios e outros metabólitos necessários para o sucesso desses processos (ROBINSON et al., 2006). Esse fator apresenta grande impacto em sistemas de criação de *Bos indicus* criados a pasto em climas tropicais (SAMADI et al., 2013). A avaliação visual de ECC é amplamente aceita como uma importante ferramenta para quantificação subjetiva de reservas energéticas em *Bos indicus* (AYRES et al., 2009; SILVEIRA et al., 2015). Apesar de ser uma avaliação subjetiva, o ECC é uma ferramenta fácil e sem custos para se avaliar as reservas energéticas em bovinos, independente do tamanho do animal e do peso corporal (EDMONSON et al., 1989).

A rentabilidade de fazendas de corte está altamente associada com a capacidade das vacas em retornarem a atividade ovariana e capazes de responder ao protocolo de IATF tendo chance de tornar-se gestante logo após o parto. O ECC no período pré-parto e pós-parto está associado com as taxas de prenhez no início da estação de monta (RICHARDS et al., 1986; MORAES et al., 2007). Estudos recentes

avaliando ECC e reprodução em vacas Nelore, utilizando um sistema de avaliação de ECC de escala 1 a 5 pontos (1 = emaciado e 5 = obeso) demonstraram que o ECC no momento da estação de monta, apresenta uma grande influência no desempenho reprodutivo (AYRES et al., 2009; SOUZA et al., 2009; TORRES et al., 2014).

Estudos reportaram um efeito positivo de ECC adequado nas taxas de prenhez após a IATF em vacas nelore lactantes (SALES et al., 2011; SÁ FILHO et al., 2013). Vacas Nelore com baixo ECC ($< 2,75$) em uma escala de 1 – 5, apresentam menor taxa de prenhez do que vacas com ECC $> 2,75$ no momento da IA (SÁ FILHO et al., 2010; SALES et al., 2011). Resultados semelhantes foram observados por Meneghetti et al. (2009), onde vacas Nelore com ECC 2,5 tiveram menor taxa de prenhez comparado com vacas de ECC 3,5. SÁ FILHO et al. (2009) observaram que o ECC no início do protocolo de IATF em vacas Nelore inferiu nos resultados de taxa de prenhez, com 42,5%, 49,6% e 53,2% para ECC 2,5; 3,0 e 3,5 (escala de 1 a 5), respectivamente. Peres et al. (2016), observaram taxas de prenhez semelhantes encontrados por SÁ FILHO et al. (2009) em vacas Nelore avaliadas no dia 0 da IATF, apresentando taxas de prenhez de 44%, 55% e 56%, para ECC 2,5; 3,0 e 3,25, respectivamente.

Vacas com alto ECC podem apresentar um desempenho reprodutivo inferior (MCCANN e REIMERS, 1986; KAWASHIMA et al., 2008). Com isso vacas com ECC moderado ($2,75 \leq \text{ECC} \leq 4,5$; escala de 1 a 5) apresentam melhores resultados de fertilidade do que vacas muito magras, ou, obesas. Sendo assim, melhores taxas de prenhez podem ser alcançadas por meio da avaliação de ECC, permitindo a seleção das melhores fêmeas capazes de responderem aos programas de IATF.

2.2 Influência da atividade ovariana no pós parto na fertilidade de vacas zebuínas

No Brasil, grande parte da produção de bovinos de corte, são feitas em regiões onde o clima tropical predomina, sendo assim, dois períodos distintos são predominantes: período das “águas” e período “seco”. No período das águas a produção de forragens é favorecida devido a um conjunto de fatores como: alta temperatura, fotoperíodo prolongado e uma maior incidência de chuvas; sendo assim,

nestes período de “águas”, os animais tem uma maior disponibilidade de forragens e forragens de melhor qualidade (TEIXEIRA et al., 2011). No período da seca as condições para o crescimento das forragens são limitados, diminuindo a taxa de crescimento e alta taxa de senescência, resultando em um piora qualitativa e quantitativa da forragem (CASAGRANDE et al., 2013).

Sendo assim, em algumas partes do ano a produção de forragens não supri as exigências nutricionais dos animais, podendo estes, entrar em balanço energético negativo. Em grande parte do Brasil o período de partos, ocorre no final da estação seca e transição para início das chuvas (PAULINO et al., 2004), caracterizado por uma menor oferta e pior qualidade de forragem (DA SILVA et al., 2004) fazendo com que agrave a situação de condição corporal dos animais, e atrasando ainda mais o retorno a ciclicidade desses animais após o parto.

Uma fêmea criada em condições favoráveis de clima, nutrição, sanidade, tem um potencial para produzir um bezerro por ano, com um intervalo entre partos de 12 meses (STAGG et al., 1995). No entanto, vacas Nelore em condições de pastejo sem suplementação adequada em clima tropical, apresentam uma alta incidência de anestro pós parto, fazendo com que aumente o intervalo entre partos.

Uma nutrição deficiente é uma das principais causas de baixa fertilidade em vacas criadas em sistema de pastejo em climas tropicais e subtropicais (BÓ et al., 2003). Diversos trabalhos demonstraram que fêmeas com baixo ECC no parto (WILTBANK et al., 1962; RUTTER e RANDEL, 1984), baixo ECC na IATF (MENEGETTI, 2006; PERES, 2016; CARVALHO, 2014) e baixo plano nutricional pós-parto (WILTBANK et al., 2002; AYRES, 2009; SAMADI et al., 2013), apresentam um maior período em anestro pós parto, ocasionando em perdas nos índices reprodutivos e em perdas econômicas para o sistema de produção.

A duração do anestro pós-parto pode ser afetado por quatro fatores principais: lactação, status nutricional, estação do ano e idade (nulíparas, primíparas ou pluríparas), e outros fatores de menor impacto como: raça, estresse, presença de touros, doenças, distocias e retenção de placenta (SHORT et al., 1990). O status

nutricional, lactação e interação vaca/bezerro são os principais fatores que inibem a primeira ovulação pós-parto em vacas de corte.

Ao final da gestação, o eixo hipotálamo-hipófise sofre um *feedback* negativo pelos efeitos de esteroides da placenta e dos ovários, suprimindo a liberação de hormônio folículo estimulante (FSH) e acumulando na hipófise anterior e esgotando os estoques de hormônio luteinizante (LH) (YAVAS e WALTON, 2000a).

Após o parto, os níveis de FSH retornam a níveis basais, sendo capaz de causar a emergência da primeira onda folicular 2–7 dias pós-parto (WILTBANK et al., 2002). No entanto, grande parte dos folículos que se tornam dominantes, não chegam a ovular e entram em atresia. Por volta de 15 a 30 dias após o parto ocorre a involução uterina e o reestabelecimento dos estoques de LH na hipófise, dando condições para que ocorra a primeira ovulação após o parto (YAVAS e WALTON, 2000b). A presença do bezerro é um importante fator que diminui a pulsatilidade de LH, agindo por meio da produção opióides e β -endorfinas que inibem a secreção do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) durante a mamada, ajudando a prolongar o período de anestro pós-parto (CARVALHO, 2014; CROWE et al., 2014).

Trinta dias após o parto, as concentrações de gonadotrofinas na hipófise anterior, são semelhantes a de vacas ciclando, sendo capazes de responder a GnRH exógeno (HESS et al., 2005). No entanto, vacas em baixo plano nutricional permanecem sob efeito do *feedback* negativo causado pelo estradiol no hipotálamo (WILTBANK et al., 2002), retardando o retorno a ciclicidade (HESS et al., 2005). Wiltbank et al. (2002), observaram que o efeito da subnutrição na dinâmica folicular, ocorre de maneira semelhante em novilhas pré-púberes, em que o E2 produzido pelo folículo após a divergência, mesmo em baixas concentrações, é capaz de inibir a liberação hipotalâmica de GnRH. Em consequência a esses fatores, os pulsos de LH também são inibidos, sendo assim, o folículo não tem condições para ovular, entrando em atresia (WILTBANK et al., 2002)

Os principais fatores que alteram a frequência de pulsos de LH em vacas no pós-parto incluem a presença do bezerro, interação vaca/bezerro e amamentação

(MYERS et al., 1989), e baixa condição corporal (CANFIELD e BUTLER, 1990). A presença do bezerro tem um efeito negativo no retorno da ciclicidade em vacas de corte com a presença de bezerro. A restrição do aleitamento em vacas de corte (uma vez por dia) a partir de 30 dias pós-parto, onde os bezerros ficam isolados das vacas, apresentam um avanço de intervalo entre o parto e a primeira ovulação de 51 dias, enquanto, que vacas que permanecem com o bezerro sem restrição da mamada tem um intervalo de 79 dias. Vacas que concebem com baixo ECC ($<2,5$) tem maior chance de apresentar um período de anestro prolongado (STAGG et al., 1995) devido a uma baixa frequência de pulsos de LH (STAGG et al., 1998).

As concentrações do fator de crescimento semelhante a insulina tipo 1 (IGF-I) aumentam linearmente 75 dias antes da primeira ovulação, que esta associado com uma diminuição linear das concentrações de hormônio do crescimento durante o mesmo período (STAGG et al., 1998). Com isso, vacas de corte no pós-parto necessitam de um aumento na frequência de pulsos de LH, podendo ser mediado pelo aleitamento controlado e por um plano nutricional, levando assim em um aumento nas concentrações de IGF-I que estimulam o crescimento e maturação do folículo dominante, tendo este uma maior capacidade de secreção de E2 induzindo um pico de LH e conseqüentemente a ovulação. Sendo assim, alguns ajustes de manejos podem ser feitos para antecipar a primeira ovulação, como a restrição de aleitamento a partir de 30 dias pós-parto (STAGG et al., 1998) ou por meio de um plano nutricional adequado para que os animais entrem na estação de parição e na estação de monta com uma boa condição corporal.

2.3 Desenvolvimento embrionário inicial em bovinos

Após a fertilização e formação do zigoto, o embrião permanece na tuba uterina, próximo da junção ampola-istimo (BAZER et al., 2012). No quarto dia após a fertilização, o embrião bovino entra no lúmen uterino em um estágio de aproximadamente 16 células. Logo após, forma-se um compactado celular denominado mórula, onde as primeiras junções celulares são estabelecidas. No sétimo dia, o embrião está na forma de blastocisto, constituindo-se de uma massa celular interna

que dá origem ao embrião, e do trofoblasto que posteriormente será chamado de trofotoderma e originará a placenta.

O embrião é considerado praticamente autônomo até o estágio de blastocisto, e não necessita de contato com o ambiente uterino, permitindo o desenvolvimento do embrião até blastocisto após fertilização e produção *in vitro* em meio adequado. No entanto, o ambiente maternal modifica o embrião durante seu desenvolvimento inicial como evidenciado pelos efeitos positivos na qualidade de embriões cultivados *in vivo* (RIZOS et al.,2002). Além disso, o desenvolvimento após o rompimento da zona pelúcida e pré-implantação do conceito é completamente conduzida pelo ambiente materno, dependente de substâncias presentes no lúmen uterino, definido como histotrofo. O histotrofo é constituído por secreções que incluem proteínas, glicose, amino ácidos e outras moléculas derivadas do lúmen uterino, particularmente produzido pelas glândulas endometriais, e são essenciais para o crescimento e desenvolvimento do conceito (BAZER et al., 2012).

O útero tem um papel central na comunicação materno-embrionária, e o sucesso da gestação depende de uma série de moléculas endometriais e eventos celulares. O transcriptoma do endométrio é influenciado por um número de fatores incluindo o ambiente endócrino periovulatório (MESQUITA et al., 2015), as concentrações de P4 após a ovulação (FORDE et al., 2009, 2010, 2011, 2012), doenças uterinas (JOHNSON et al., 2015; WALKER et al., 2015; OGUEJIOFOR et al., 2015), mérito genético para fertilidade (MORAN et al., 2015; MOORE et al., 2016), e presença do conceito (FORDE et al., 2011; BAUERSACHS et al., 2012).

A presença do embrião no ambiente uterino tem uma grande importância durante o período pré- e peri- implantação pois pode alterar o transcriptoma endometrial e assim possivelmente modificar a receptividade endometrial (BAUERSACHS et al.,2009; MANSOURI-ATTIA et al., 2009). Assim, a comunicação entre o conceito e o endométrio é vital para o estabelecimento da gestação.

Após a eclosão da zona pelúcida por volta do dia 9 a 10, o blastocisto esférico continua a crescer e muda sua morfologia. O alongamento do conceito envolve a

transição da forma esférica do blastocisto no dia 7 da gestação, para uma forma ovoide (dia 12-13), tubular (dia 14-15), e finalmente toma a forma filamentosa por volta do dia 16 a 17 (DEGRELLE et al., 2005). O embrião chega a ocupar cerca de dois terços do corno gestante entre os dias 17 e 18; e ocupa todo o corno gestante entre os dias 18 e 20, estendendo-se por todo o corno uterino contralateral por volta do dia 24 da gestação (BAZER et al., 2012).

Após o dia 19, o conceito totalmente filamentoso inicia o processo de nidação com uma firme justaposição e acoplamento do trofotoderma com o epitélio endometrial. Durante o alongamento do embrião, o conceito aumenta de tamanho mais do que 1000 vezes (BETTERIDGE et al., 1980; GREALY et al., 1996) associado com o aumento do teor proteico (GREALY et al., 1996; MORRIS et al., 2000). A justaposição em bovinos é de forma superficial e não invasiva com o crescimento do epitélio do trofotoderma e útero formando assim uma aposição e adesão sem que ocorra erosão do epitélio uterino permanente

O endométrio uterino possui tecido caruncular e intracaruncular, que estão envolvidos no processo de implantação do conceito. Durante a fase de alongamento, os microvilos são abundantes na superfície do trofotoderma até o dia 14, após isso começam a ficar menores e menos densos, até desaparecerem com a aposição com a superfície do lúmen uterino e com as glândulas endometriais. Os microvilos presentes na superfície do lúmen uterino e das glândulas endometriais, ficam em contato com as membranas do trofotoderma a partir do dia 16 e penetram no trofotoderma iniciando adesão entre os tecidos. As células dos trofotoderma também desenvolvem vilosidades, que se projetam entre as glândulas uterinas. Essa junção entre o trofotoderma e lúmen uterino e glândulas endometriais ocorrem a partir do dia 18 a 19 da gestação. Essas microvilosidades permitem que o conceito permaneça imóvel e facilita a absorção das secreções fornecidas pelas glândulas uterinas.

2.4 Reconhecimento materno e a importância da manutenção do corpo lúteo.

A P4 produzida no corpo lúteo age diretamente no endométrio estimulando o crescimento do embrião e alongamento do conceito (SPENCER et al., 2015; LONERGAN et al., 2016).

Nas vacas o estabelecimento da gestação depende da funcionalidade efetiva da comunicação endócrina entre a mãe e o embrião. Esse sistema decide pela vaca a manutenção do corpo lúteo e da gestação, ou, se ocorre a luteólise e uma nova ovulação, gerando uma nova oportunidade de se tornar gestante. Em fêmeas cíclicas, a luteólise resulta da produção da PGF2 α pelas células do lúmen epitelial presente no endométrio (FORTIER et al., 1988). Um componente importante para o mecanismo de luteólise é o desenvolvimento de receptores de ocitocina no epitélio luminal do endométrio, que faz com que a ocitocina exerça uma ação estimulatória para secreção de PGF2 α . Durante o início da gestação, o embrião inibi a estimulação de liberação de PGF2 α pela ocitocina, por meio da inibição do desenvolvimento dos receptores de ocitocina no epitélio luminal (MANN et al., 1998) e pela inibição da síntese de PGF2 α (THATCHER et al., 1995).

Conceptos viáveis modificam o ambiente uterino maternal para que permita sua sobrevivência, estimulando a vasodilatação e angiogênese, aumentando assim o fluxo sanguíneo e o suporte de substratos para o útero; estimula a atividade de transporte de nutrientes para o lúmen uterino partindo dos tecidos e fluidos maternos; regula a migração intrauterina do blastocisto; estimula a placentação e sinaliza o processo do reconhecimento fetal estabelecendo e mantendo a gestação. Os conceptos de ruminantes secretam proteínas, esteroides e prostaglandinas que regulam essas respostas (BAZER et al., 2010; SIMMONS et al., 2010; BAZER et al., 2011; DORNIÁK et al., 2011). Em ruminantes, para que ocorra o reconhecimento materno da gestação é necessário a secreção adequada de uma glicoproteína denominada IFN-tau por células mononucleares do trofotoderma (ROBERTS et al., 1992) durante o alongamento do embrião e consequentemente prevenir a secreção dos pulsos luteolítico de PGF2 α pelo endométrio para manter o CL ativo (SHORT et al., 1991). Sponchiado e colaboradores (2016) observaram uma maior atividades dos genes estimulados por IFN-tau (ISGs) no endométrio bovino 7 dias após a inseminação, indicando assim uma produção precoce de IFN-tau pelo embrião logo na primeira semana após fertilização. O IFN-tau age como um hormônio parácrino inibindo os eventos luteolíticos por meio da inibição da expressão dos receptores de E2 e ocitocina no útero e assim reduz a ação do E2 e da ocitocina para estimular os pulsos luteolíticos de PGF2 α .

O IFN-tau é detectado em quantidades suficientes em lavados uterinos por volta do dia 14 e 16, quando os embriões iniciam o alongamento (MANN et al., 1998). Para prevenir a luteólise o embrião deve estar desenvolvido o suficiente para permitir a secreção de quantidades suficientes de IFN-tau para prevenir a luteólise pela secreção de PGF2 α . Embriões pouco desenvolvidos estão associados com baixa produção de IFN-tau, falha da inibição da luteólise e perda embrionária (MANN et al., 1996; MANN et al., 1998). Um estudo feito por Ribeiro e colaboradores (2016) demonstraram que conceptos maiores no dia 15 após IA de vacas cruzadas (Holandes/Jersey) apresentaram uma tendência a secretar maiores quantidades de IFN-tau, e uma maior quantidade de expressão para o PPAR γ , um importante fator de transcrição que coordena o metabolismo de lipídios e alongamento durante o período de pré-implantação. Estes animais também demonstraram uma maior concentração de P4 e E2 no plasma em conjunto com um maior tamanho de CL e folículos, o que sugere que estes esteróides ovarianos tenham um papel importante para melhorar a fertilidade nos períodos de peri-estrais e início da gestação. No entanto, o completo entendimento do controle do desenvolvimento embrionário e produção de IFN-tau é, portanto, de extrema importância para determinar estratégia para reduzir os altos índices de mortalidade embrionária. E o principal hormônio que controla esse processo é a P4. (MANN et al., 1999).

2.5 Influência da P4 no desenvolvimento do embrião.

A P4 tem um papel importante para a estimulação de produção de diversas secreções endometriais (histotrofo) necessárias para o desenvolvimento do embrião (GEISERT et al., 1992). O efeito da P4 no desenvolvimento do embrião nas fases iniciais foram demonstrados por diversos estudos. Mann (1999) observou embriões menores no dia 16 após a inseminação que produziram pouca ou nenhum IFN-tau em vacas que apresentaram baixa concentração de P4 na fase luteal pós IA. No entanto, vacas que apresentaram um aumento rápido de P4 e com uma fase luteal com altas concentrações de P4, os embriões tiveram um maior desenvolvimento, e associaram com uma maior quantidade de IFN-tau. Alguns dados também foram demonstrados em

ovelhas, Nephew e colaboradores (1991) demonstraram que um dia de atraso no aumento da P4 pós-ovulação, pode resultar em um retardo no desenvolvimento embrionário no dia 13 e uma associação com um decréscimo de até três vezes a produção de IFN-tau. Estudo feito por Stronge (2005) mostrou um efeito linear e quadrático positivo entre as concentrações de P4 no leite nos dias 5, 6, e 7 pós inseminação com a sobrevivência embrionária, concluindo que baixa concentração de P4 durante os dias 5 à 7 após IA, foi associado com baixa fertilidade em vacas de leite. Foi observado por Mann e Lamming (2001), que vacas com embriões pouco desenvolvidos, não apresentaram concentração de IFN-tau detectáveis e concentrações de P4 menores em relação as vacas com embriões mais desenvolvidos e com concentrações de IFN-tau maiores. Concluindo que o sucesso do reconhecimento materno em vacas depende da presença de um embrião desenvolvido, produzindo quantidades suficientes de IFN-tau que depende diretamente de uma secreção adequada de P4 materna. Neste contexto, os protocolos hormonais usados para sincronização da ovulação podem promover a ovulação de um folículo menor que o normal, com isso gerando um CL pequeno, resultando em uma menor concentração de P4 após a IA (VASCONCELOS et al., 2001; PERRY et al., 2005; GAJA et al., 2008).

2.6 Estratégias para aumentar a concentração de P4 pós inseminação.

Diversas estratégias para aumentar as concentrações circulantes de P4 durante o início do diestro foram feitas em busca de obter maiores concentrações de P4 e assim um embrião melhor e maior no início da gestação. Algumas dessas estratégias são: i) formar um CL acessório por meio da indução da ovulação do folículo dominante da primeira onda folicular pós-IA com administração de GnRH, LH, ou gonadotrofina coriônica humana (hCG) ; ii) aumentar a área de tecido luteal em resposta ao tratamento de hCG ou gonadotrofina coriônica equina (eCG) 2 ou 5 dias após o estro; ou iii) realizar uma suplementação exógena de P4.

2.6.1 Indução da formação de um corpo lúteo acessório.

A hCG é glicoproteína, com ação similar ao LH (STENMAN et al., 2006). A hCG é sintetizada pelo embrião humano entre os dia 2 ao dia 8 após a fertilização e depois é produzido pelas células do sinciciotrofoblasto placentar (De MEDEIROS et al., 2009). A hCG possui duas subunidades α e β . As sequências de aminoácidos da subunidade- α são comuns para todos os hormônios glicoproteicos, enquanto que a subunidade- β é única e tem a função de atividade biológica. As subunidades- β do hCG e do LH são semelhantes em (80%), sendo assim a hCG pode ser utilizado para induzir a ovulação ou para ação de luteinização. A meia vida da hCG após o tratamento ocorre de forma bifásica, com uma fase rápida de 5 a 9 horas e depois uma fase lenta durando de 24 a 33 horas (RIZKALLAH et al., 1969; STENMAN et al., 2006). A administração intramuscular resulta em uma meia vida mais longa do que pela via intravenosa (RIZKALLAH et al., 1969). A hCG é utilizada em animais domésticos devido a sua ação semelhante ao do LH.

A ovulação de um folículo dominante da primeira onda folicular com a utilização hCG pode produzir um CL acessório e assim aumentar as concentrações de P4. Uma meta-análise feita por Nascimento (2013), mostrou que a utilização de hCG entre os dias 4 a 9 pós IA em vacas de leite pode aumentar em até 3% as taxas de gestação e quando utilizada no dia 5 após IA pode aumentar em até 3,5%. Rosseti et al. (2011) utilizando hCG nos dias 7 a 16 obtiveram um aumento de 7,6% nas taxas de gestação e observaram um aumento de 11,1% nas concentrações de P4 nos animais tratados.

Uma segunda opção para indução de CL acessório é o uso de análogos do GnRH, o qual é um decapeptídeo sintetizado e armazenado no hipotálamo basal médio, e é liberado no sistema porta-hipotálamo-hipofisário promovendo assim a liberação de LH e FSH da hipófise anterior (HAFEZ et al., 2004). A administração de GnRH no dia 5 ou 6 após o estro e antes da transferência de embrião em novilhas receptoras altera a dinâmica folicular, induz o desenvolvimento do tecido luteal, e aumenta a concentração de P4 sistêmica resultando em um aumento de 45% na taxa de prenhez em relação aos animais não tratados (ARNETT et al., 2002). Willard (2003) observou que a administração de GnRH 5 ou 11 dias após a IA, aumenta a

concentração de P4, e tende a aumentar as taxas de concepção e vacas de leite em condições de estresse térmico. Uma meta-análise feita por Peters (2000), reportou que 6 de 14 estudos, não resultaram em melhora na taxa de prenhez quando foi administrado GnRH 11 a 14 dias após a inseminação artificial.

2.6.2 Aumento do tamanho do corpo lúteo.

A administração da hCG pode ser feita também para se obter um maior desenvolvimento do CL, e conseqüentemente uma maior concentração circulante de P4 nos estágios iniciais da gestação. Diversos estudos utilizando hCG logo após o estro demonstraram alguns resultados positivos nesta técnica. Maillo (2014), utilizando uma dose de 3000 UI hCG nos dias 1 a 4 após o estro, obteve um maior desenvolvimento do CL aplicando o hCG nos dias 2, 3 e 4, a partir dos dias 6 e 12, 9 a 11, e 9 a 10 respectivamente. Demonstrou também aumentos na concentração de P4 aplicando no dia 2 e dia 4 após o estro. No entanto, Schmitt e colaboradores (1996) não observaram nenhum efeito do hCG nas taxas de concepção.

2.6.3 Suplementação com P4 exógena.

Os conhecimentos atuais sobre a P4 e seus papéis fundamentais durante os primeiros estágios da gestação e controle do desenvolvimento embrionário primário, levou a uma série de estudos utilizando a suplementação de P4 após o estro. A suplementação exógena de P4 ou progestágenos pode ser feita por meio de três métodos: i) uso de dispositivo intravaginal de P4; ii) administração de doses injetáveis diárias de P4; iii) administração de P4 injetável de longa ação; e iv) fornecimento de progestágenos na alimentação como a utilização de acetado de melengestrol (MGA).

Mann (1999) realizou uma meta-análise de todos os estudos nos quais se suplementou P4 durante o período inicial da gestação e examinou o efeito do dia de início da suplementação sobre a taxa de prenhez. O consenso entre a maioria dos estudos é que o período crítico para a P4 promover um aumento na taxa de desenvolvimento embrionário é do Dia 3 ao 7. Neste contexto, a elevação da concentração de P4 nestes dias aumenta significativamente o tamanho do concepto nos dias 13 e 16 de gestação (CARTER et al., 2008). Outros estudos (MANN et al., 1999; STRONGE et al., 2005) têm demonstrado que o uso de implantes

intravaginais entre os Dias 2 e 7 aumentam em 10–15% a sobrevivência embrionária. Tal aumento foi atribuído aos efeitos embriotróficos da P4, especialmente em vacas com baixas concentrações de P4 no momento da suplementação. Estudo feito por Mann (2006) observou um aumento das concentrações de P4 nos tratamentos com implante intravaginal de P4 (CIDR) do dia 5 a 9 e do dia 12 a 16, no entanto, o tratamento do dia 5 a 9 foi o único que demonstrou um aumento de 4 vezes maior do embrião que o tratamento do dia 12 a 16 e controle, e um aumento da concentração de IFN-tau de seis vezes maior que os outros grupos, demonstrando uma interação da suplementação de P4 nos primeiros dias após a ovulação com um aumento do desenvolvimento embrionário e da produção de IFN-tau.

No trabalho de Monteiro (2015) não foi observado diferença nas taxas de gestação no dia 32 e 60 entre vacas de leite não tratadas (32,0 % e 25,9 %, respectivamente) e tratadas com dispositivo intravaginal de P4 (31,8 % e 25,0 %, respectivamente) quatro dias após IATF. No entanto, em outro trabalho feito em vacas leiteiras (MONTEIRO et al., 2014) tratadas com dispositivo intravaginal de P4 a partir do dia 4 após IATF aumentaram as taxas de prenhez, quando comparadas com vacas que foram tratadas com dois dispositivos intravaginais de P4, um com inserção no dia 4 e outro no dia 7 após IATF. Neste mesmo trabalho quando se comparou as vacas inseminadas após observação de estro, as vacas tratadas com dois dispositivos intravaginais de P4 apresentaram uma maior taxa de prenhez. Estes resultados divergem com o trabalho feito por (PARR et al., 2014) onde o grupo de vacas leiteiras que receberam um dispositivo intravaginal de P4 quatro dias após a observação de estro seguida por IA apresentou menor taxa de gestação em relação ao grupo controle de (44% vs. 56%). Com isso os trabalhos com suplementação com dispositivos intravaginais de P4 demonstram algumas divergências de resultados.

Outra possibilidade de suplementação com P4, é por meio da administração de fármacos injetáveis com aplicações diárias por via intramuscular. Ginther (1970), utilizando doses diárias de P4 (100mg/vaca/dia), observou que quando aplicada diariamente por 3 dias a partir do dia 0 (estro), dia 1 ou dia 2, promove um encurtamento do ciclo estral em bovinos (16,2 dias, 17,6 dias e 16,7 dias,

respectivamente). O mesmo foi observado por Garret (1988), utilizando a mesma dose (100mg/vaca/dia) iniciando o tratamento no dia 1 até o dia 4, tendo um encurtamento do ciclo estral para no grupo tratamento em relação ao grupo controle (16,7 dias vs. 21,6 dias). Neste estudo foi observado que o encurtamento do ciclo estral dos animais tratados com P4 ocorreu devido a uma queda precoce das concentrações circulantes de P4, e coincidentemente observou um aumento na pulsatilidade do metabólito da prostaglandina F2a (PGFM).

O tratamento diário com P4 é uma forma interessante pois promove um aumento abrupto e bem controlado da P4 circulante, no entanto, se torna inviável em fazendas de cortes comerciais devido ao aumento considerável no manejo dos animais nessas propriedades. Com isso a utilização da P4 injetável de longa ação vem sendo estudada como uma nova alternativa buscando os mesmos resultados e efeitos da utilização dos dispositivos intravaginais e das aplicações diárias de P4, minimizando o manejo e a manipulação dos animais.

O primeiro estudo feito com P4 injetável de longa ação demonstrou que uma única dose de 150 mg 3 dias após a ovulação é a melhor estratégia para suplementação. No entanto, foi observado que os animais que foram suplementados com P4 injetável de longa ação apresentaram uma antecipação da luteólise em até 3 dias (PUGLIESI et al., 2014). O mesmo efeito de luteólise precoce foi observado nos estudos com suplementação de P4 por meio de um dispositivo intravaginal (O'HARA et al., 2014; 2016).

Uma possível explicação para a incidência de luteólise precoce em vacas suplementadas com P4, é que o aumento precoce das concentrações periféricas de P4 está relacionada com o avanço do downregulation dos receptores nucleares de P4 no epitélio endometrial (OKUMU et al., 2010). O downregulation nos receptores de P4 é seguido pelo aumento dos receptores alpha de E2 e receptores de oxitocina, resultando na secreção pulsátil de PGF2 α , o qual induz a luteólise (SPENCER, 2014; SPENCER et al., 2007).

Um recente estudo feito em vacas de corte com a utilização de P4 injetável de longa ação no quarto dia após a IATF, mostrou que as taxas de gestação não diferiram entre o grupo tratado e o grupo controle em vacas em boa condição corporal

(média:3,7; escala:1 a 5) e sem conhecimento da atividade ovariana . No entanto, quando foi comparado a taxa de concepção de acordo com o tamanho do CL, os animais com CL pequeno ($<0,9\text{cm}^2$) e tratados com P4 obtiveram uma taxa de gestação maior em relação ao grupo controle (57,9% vs. 40,4%). Além disso, a taxa de concepção foi significativamente maior nas vacas em anestro tratadas com P4 (55%) em relação aos animais que receberam apenas placebo (45%), mostrando assim que a suplementação de P4 no início do diestro pode melhorar a baixa fertilidade de vacas com CL pequeno e/ou em anestro (PUGLIESI et al., 2016).

Sampaio (2015) utilizou a administração de eCG (400UI no D-2), P4 injetável de longa ação (600mg no D+3) e a combinação de ambos os tratamentos (400UI de eCG no D-2 e 600mg de P4 no D+3) em vacas de raças leiteiras em lactação. Neste estudo não houve interação entre os tratamento de eCG e P4 e também não foi detectada nenhuma melhora nas taxas de gestação.

Os dados utilizando P4 injetável de longa ação, ainda são muito restritos e inconsistentes, demonstrando assim a necessidade de mais experimentos utilizando a P4 injetável de longa ação após a IATF para melhor compreensão dos seus efeitos na fertilidade e no desenvolvimento embrionário de vacas de corte.

3 JUSTIFICATIVA

A concentração de P4 tem um papel fundamental no início da gestação e um efeito significativo no desenvolvimento do conceito/embrião (MANN et al., 2003; CARTER et al., 2008). Uma baixa concentração de P4 nos primeiros dias da gestação (dia 3-8) está associado a um menor desenvolvimento embrionário no dia 16, sendo assim, o embrião tem uma menor capacidade de produção de IFN-tau, prejudicando a comunicação materno embrionária, sendo incapaz de impedir a secreção pulsátil de $\text{PGF2}\alpha$, ocasionando a luteólise (CARTER et al., 2008). Desta forma, a aplicação de P4 exógena logo após a IA terá efeito de mimetizar uma maior produção de P4 pelo CL, obtendo um maior desenvolvimento embrionário, levando a uma maior produção de

IFN-tau e melhor comunicação materno embrionária, prevenindo a luteólise precoce e aumentando a taxa de prenhez.

3.1 HIPÓTESES

As hipóteses deste estudo, são: 1) a administração de P4 pós-IATF irá aumentar a taxa de prenhez em vacas em anestro e/ou com baixa condição corporal; 2) tratamento com P4 não possui efeito benéfico sobre a fertilidade em vacas ciclando no início do protocolo de sincronização; e 3) vacas com melhor condição corporal e/ou com presença de CL no início do protocolo de IATF apresentarão melhores taxas de prenhez.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo Geral

Avaliar os efeitos da suplementação de P4 injetável de longa ação após a IATF sobre as taxas de concepção em vacas de corte da raça Nelore com diferentes ECC e EO ao início da IATF.

4.2 Objetivos específicos

Objetiva-se com o presente projeto (1) estudar se a administração de P4 injetável de longa ação no quarto dia pós-IATF melhora a fertilidade em vacas de corte, (2) avaliar o efeito ou interação da administração de P4 de longa ação com a condição ovariana (presença ou ausência de CL) e condição corporal no início do protocolo de IATF, (3) avaliar se o escore de condição corporal e a condição ovariana (presença ou ausência de CL) possui efeito na fertilidade em vacas de corte.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Animais e local do experimento

Neste estudo, foram utilizadas 1573 vacas lactantes [Nelore (*Bos indicus*; $n = 1419$) e vacas cruzadas (*Bos indicus* x *Bos taurus*; $n = 154$)] oriundas de duas fazendas

comerciais dos estados do Mato Grosso do Sul e do Mato Grosso. As vacas da fazenda 1 da raça Nelore (*Bos indicus*; n = 201) e cruzadas (*Bos indicus* x *Bos taurus*; n = 105) foram mantidas sob pastejo em pastagem de *Brachiaria decumbens*, com livre acesso a água e suplementação mineral. As vacas da fazenda 2 da raça Nelore (*Bos indicus*; n = 1218) e vacas cruzadas (*Bos indicus* x *Bos taurus*; n = 49) foram mantidas sob pastejo em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv: Marandú e algumas áreas com *Andropogon SP*, *Panicum maximum* cv Mombaça, com livre acesso a água e suplementação mineral.

O experimento foi desenvolvido em três períodos diferentes: 1º período (Fazenda 1; Novembro 2014 a Maio de 2015; n = 306 vacas); 2º período (Fazenda 2; Janeiro a Março de 2016; n = 589 vacas); 3º período (Fazenda 2; Abril a Julho de 2017; n = 678 vacas). Para cada período as informações dos animais foram coletadas individualmente para os dados de: raça, ordem de parto (primíparas ou pluríparas), ECC (escala de 1 a 5), EO (escala de 1 a 3), mês de parição, touro e partida de sêmen utilizada na inseminação artificial, inseminador, protocolo de sincronização e dados de cio (realizado apenas no 3º período). Os animais foram manipulados de acordo com o Comitê de Ética em Pesquisa da FZEA (CEUA-FZEA/USP, No. 2719260117).

5.2 Delineamento experimental

Após o parto, as vacas foram divididas em lotes de acordo com o mês de parição. O início do protocolo de sincronização da ovulação, iniciou-se com animais com no mínimo 30 e no máximo 60 dias pós-parto.

As vacas tiveram a ovulação sincronizada por meio da utilização de um protocolo à base de estradiol (E2) e progesterona (P4). O protocolo utilizado em ambas as fazendas, consistiu na inserção de um dispositivo intravaginal de progesterona (Fazenda 1 – 1g, Sincrogest; Ouro Fino Saúde Animal, Cravinhos, SP; Fazenda 2 – 1g, DIB, Zoetis, Campinas, SP) novo ou usado, e uma dose de benzoato de estradiol intramuscular (Fazenda 1 - 2 mg; Sincrodiol, Ouro Fino Saúde Animal, Cravinhos, SP; Fazenda 2 – 2 mg; Gonadiol, Zoetis, Campinas, SP) no Dia -10. Neste dia, foi feita uma

avaliação visual de escore de condição corporal utilizando uma escala de 1 a 5, com incrementos de 0,25 de intervalo, onde os animais com escore 1 foram classificados como caquéticos e os animais de escore 5 foram considerados animais obesos (AYRES et al., 2009). Foi feito também um exame por ultrassonografia transretal para excluir qualquer vaca com anormalidades reprodutivas e estabelecer o escore ovariano dos animais. O escore ovariano (EO) foi determinado em três categorias pré-definidas, EO1 ausência de CL e presença de folículos <8,0 mm, EO2 ausência de CL e presença de folículo ≥8,0 mm e EO3 presença de CL.

No Dia -2, os dispositivos de P4 foram removidos e todos os animais receberam uma dose de PGF2 α (0,5 mg; Fazenda 1 e 2 - Sincrocio, Ouro Fino Saúde Animal, Cravinhos, SP), uma dose de eCG (300 UI; Fazenda 1 – Sincro eCG, Ouro Fino Saúde Animal, Cravinhos, SP; Fazenda 2 - Norvormon, Zoetis, Campinas, SP) e uma dose cipationato de estradiol (Fazenda 1 - 1mg; SincroCP, Ouro Fino Saúde Animal, Cravinhos, SP/ Fazenda 2 - 0,6mg; ECP, Zoetis, Campinas, SP). No momento da retirada do implante de P4, um dispositivo EstroTECT™ (Western Point Inc., Apple Valley, MN) foi aplicado na base da cauda para determinar a ocorrência do comportamento de estro em um subgrupo de animais (somente no 3º período experimental; n= 339).

No Dia 0, todas as vacas foram inseminadas. Na fazenda 1 foram utilizados sêmen de 5 touros diferentes e a IA foi realizada por 5 inseminadores experientes. Na fazenda 2 foi utilizado sêmen de um único touro (variando apenas a partida) e a inseminação artificial foi realizada por 2 inseminadores experientes da fazenda. No momento da inseminação artificial, as vacas que apresentaram pelo menos 50% ou mais da tinta cinza raspada do dispositivo EstroTECT™, foram consideradas em estro.

Animais que apresentaram desordens reprodutivas (cisto ou infecção uterina), ou, por não apresentarem dados de diâmetro de folículo ou área de CL (n=17) em algum momento até o dia 4, foram excluídos do experimento. No dia 4, metade dos animais (Grupo tratado-P4; n=786) receberam uma dose única de P4 injetável de longa ação via intramuscular (150 mg; 1 ml de Sincrogest injetável, Ouro Fino Saúde Animal,

Cravinhos, SP) e a outra metade dos animais receberam uma dose única de 1 ml de solução salina 0,9% via intramuscular (Grupo Controle; n=787).

As vacas foram agrupadas de acordo com o ECC, EO, raça e ordem de parto para receberem um dos tratamento (P4 vs Controle), para que assim, os tratamentos fossem aplicados igualmente entre as categorias de animais avaliados.

Figura 1. Atividades de sincronização, indução da ovulação, suplementação hormonal e diagnóstico gestacional.

Animais da raça Nelore entre 30-60 dias pós-parto (n=1573) tiveram o ciclo estral sincronizado por inserção do implante de P4 (Fazenda 1 – 1,0g, Sincrogest, Ouro Fino Saúde Animal, Cravinhos, SP; Fazenda 2 – 1,0g, DIB, Zoetis, Campinas, SP) e aplicação de benzoato de estradiol im (Fazenda 1 – 2mg; Sincrodiol, Ouro Fino Saúde Animal; Fazenda 2 - 2mg; Gonadiol, Zoetis). O implante de P4 foi mantido por 8 dias e todos os animais receberam uma dose de PGF2 α (0,5 mg; Sincrocio, Ouro Fino Saúde Animal), uma dose de cipionato de estradiol (Fazenda 1 – 1mg; SincroCP, Ouro Fino Saúde Animal; Fazenda 2 - 0,6 mg; ECP, Zoetis) e uma dose de eCG (300 UI; Fazenda 1 - SincroeCG, Ouro Fino Saúde Animal; Fazenda 2 - Norvormon, Zoetis) na retirada do implante. Todos os animais foram inseminados 2 dias após a retirada do implante. Uma única dose de P4 injetável de longa ação (150 mg; 1 mL de Sincrogest injetável, Ouro Fino Saúde Animal) foi administrada IM no quarto dia após a IATF em metade dos animais (Grupo TRATADO-P4, n=786) e a outra metade recebeu 1 mL de solução salina 0,9% (Grupo CONTROLE, n=787). Diagnóstico de gestação (DG) foi realizado com auxílio de ultrassom (US) no 30º dia pós-IA.

5.3 Exames ultrassonográficos

Os exames ultrassonográficos dos ovários foram realizados nos Dias -10, 0 e 4 por meio de ultrassonografia em modo B por um mesmo operador com aparelho

ultrassonográfico (Dpvet50; MindRay, São Paulo, Brasil) equipado com um transdutor linear multifrequencial (5-7,5MHz) .

No dia – 10, os dois ovários foram avaliados e os animais foram classificados de acordo com o EO descrito acima.

No dia 0, o diâmetro do maior folículo presente no momento foi mensurado por meio da média entre duas medidas perpendiculares entre si. Essas medidas foram realizadas apenas em um subgrupo de animais e nas vacas que apresentavam folículos $\geq 6,5$ mm (n = 846).

No dia 4, os ovários de todas as vacas foram avaliados para detecção da presença de um novo CL e quando presente, foi salvo uma imagem com maior área visível do CL e em seguida a área do CL foi mensurada por meio da marcação do perímetro do CL usando a função traço (“tracing”). No caso, da presença de um CL cavitário, a área da cavidade foi subtraída da área total do CL.

O diagnóstico de gestação foi feito por ultrassonografia transretal por volta de 30-35 dias após a IATF. As vacas que apresentaram presença de embrião com batimento cardíaco ao exame ultrassonográfico foram consideradas gestantes. A taxa de concepção foi calculada como a proporção de vacas ovuladas (presença de CL no dia 4) que se tornaram gestantes após a IATF, e a taxa de prenhez foi calculada pela proporção de vacas totais inseminadas que se tornaram gestantes.

5.4 Análise estatística

Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o SAS (versão 9.3, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) considerando a vaca como unidade experimental e um delineamento inteiramente casualizado. As variáveis dependentes contínuas (diâmetro do folículo e área do CL) foram analisadas por ANOVA utilizando o procedimento MIXED. As premissas de normalidade do resíduo e homogeneidade das variâncias foram checadas antes de se proceder a ANOVA. A normalidade do resíduo

foi checada por meio dos gráficos de diagnóstico do PROC MIXED e pelo teste de Shapiro-Wilk do PROC UNIVARIATE, enquanto que a homogeneidade das variâncias foi determinada pelo teste de Levene do PROC GLM. Quando as premissas não foram atendidas, os dados foram transformados utilizando a função log, sendo então, reanalisados. As variáveis dependentes binárias (taxa de prenhez, taxa de concepção e taxa de ovulação) foram analisadas utilizando o procedimento GLIMMIX e distribuição binária. A opção Between-Within de ajuste dos graus de liberdade do denominador foi incorporada em todos os modelos do PROC GLIMMIX.

Para análise das taxas de prenhez, concepção e ovulação, primeiramente, considerou-se um modelo contendo os efeitos fixos de fazenda, raça, tratamento e suas interações, e um modelo contendo os efeitos fixos de categoria (i.e. primípara ou múltipara), tratamento e sua interação. A variável independente da categoria não foi considerada num mesmo modelo, pois apenas a fazenda 2 continha essa variável.

Para determinar a influência das variáveis independentes ECC, escore ovariano no D-10, diâmetro folicular, expressão de cio e área do CL sobre a taxa de prenhez ou concepção de acordo com o tratamento, foram realizadas análises secundárias. Para isso, geraram-se modelos contendo como efeito fixo de cada variável, uma por vez, tratamento e a interação. A variável ECC foi dividida em 3 classes (baixo: 2,00 – 2,50, médio: 2,75 – 3,25 e alto: 3,50-5,00), diâmetro folicular em 2 classes (pequeno: $\leq 11,6$ mm e grande: $>11,6$ mm) e área do CL em 2 classes (pequeno $\leq 1,16$ cm² e grande $>1,16$ cm²). Ao invés de classes, os efeitos da variável diâmetro folicular e área do CL sobre a taxa de prenhez ou concepção também foram estudadas por regressão logística, considerando-as como covariável. Para isso, empregou-se o PROC GLM para determinar se a relação foi linear, quadrática ou cúbica, selecionando o modelo significativo mais complexo. De acordo com a relação encontrada, a covariável foi inserida no modelo previamente descrito e o PROC LOGISTIC DESC foi utilizado para se determinar os valores de slope e intercept, empregados na seguinte equação $\text{Probabilidade} = (e^{\text{equação logística}})/(1+e^{\text{equação logística}})$, para se determinar o efeito.

A análise do diâmetro folicular e área do CL de acordo com tratamento foram realizadas por One-way ANOVA considerando no modelo apenas o efeito fixo de

tratamento. A análise do ECC de acordo com tratamento foi realizada pelo PROC NPAR1WAY utilizando o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis.

Análises subsequentes foram realizadas para se estudar separadamente os efeitos do ECC (baixo: 2,00 – 2,50, médio: 2,75 – 3,25 e alto: 3,50-5,00) e da condição ovariana no D-10 sobre a taxa de prenhez e concepção, e determinar suas relações com diâmetro folicular, área do CL e taxa de ovulação. Para tanto se utilizou os modelos previamente descritos, substituindo a variável tratamento pelas variáveis desejadas (i.e. ECC ou condição ovariana) e as possíveis interações.

Os efeitos das variáveis independentes foram determinados pelo teste F utilizando a soma de quadrados tipo III. Quando necessário, as médias entre os tratamentos foram comparadas utilizando o teste t protegido (i.e., a opção DIFF do comando LSMEANS). Os resultados foram reportados como LSMEANS $\pm$ EPM. Em todos os casos uma probabilidade $\leq 0,05$ indicou que a diferença foi significativa e entre $0,05 > P \leq 0,10$ indicou que diferença tendeu a ser significativa.

6 RESULTADOS

A média do diâmetro folicular no momento da IATF foi de 11,56 mm, independente do grupo experimental. A média da área do CL 4 dias após a IATF foi de 1,22 cm². Taxa de ovulação foi de 88,4% (1364/1542) considerando os dois grupos experimentais. Taxa de concepção geral (vacas gestantes/vacas ovuladas) após IATF foi de 53,5 % (730/1364). Taxa de prenhez geral após IATF foi de 47,1% (741/1573)

Em uma análise prévia dos resultados, levando em consideração os efeitos de raça, tratamento, fazenda, categoria animal e suas interações, sobre as taxas de prenhez, taxa de concepção, foi encontrado apenas um efeito de fazenda sobre a taxa de prenhez (Fazenda 1: 55,5% [172/306] vs Fazenda 2: 42% [569/1267]; P=0,005), e efeito de fazenda sobre a taxa de concepção (Fazenda 1: 58,9% [172/289] vs Fazenda 2: 48,7% [558/1075]; P=0,04). No entanto, não foi encontrado efeito de raça, tratamento, ou, interação dessas variáveis sobre as taxas de prenhez e concepção. Não foi observado diferença entre os períodos feitos nas diferentes fazenda em relação a taxa de prenhez, taxa de concepção ou interação com o tratamento.

A suplementação com P4 injetável de longa ação não teve efeito sobre a taxa de prenhez (Controle: 50,4% [384/787] vs P4: 47,1% [357/786]; P=0,49), nem a taxa de concepção (Controle: 56,5% [379/687] vs P4: 51,2% [351/677]; P=0,29). Da mesma forma não foi observado diferença entre os grupos controle e tratado com P4 em relação a categoria animal (P=0,18), ECC (P=0,51), diâmetro de folículo (P=0,52), cio (P=0,71) ou área de CL (P=0,82; Tabela 1).

Tabela 1. Variáveis reprodutivas e escore de condição corporal (ECC) associadas aos tratamentos.

Variáveis	Tratamentos		P value
	Controle	P4	
ECC*	2,80 ± 0,01	2,80 ± 0,01	0,51
Diâmetro folicular, mm*	11,54 ± 0,12	11,44 ± 0,11	0,52
Estro, % (estro/n)	48,5 (81/167)	46,5 (80/172)	0,71
Área de CL, cm ² *	1,20 ± 0,02	1,21 ± 0,02	0,82
Taxa de ovulação, % (ovuladas/n) ^x	89,1 (687/773)	88,3 (677/769)	0,60
Taxa de prenhez, % (P/AI) ^a	50,4 (384/787)	47,1 (357/786)	0,49
Taxa de concepção, % (P/ovuladas) ^b	56,5 (379/687)	51,2 (351/677)	0,29

Vacas submetidas a um protocolo de IATF com ou sem suplementação de 150mg de progesterona injetável de longa-ação no quarto dia pós-IATF.

* Valores expressos em média ± erro padrão da média.

^x Dados de 31 animais não foram incluídos devido à anotações perdidas ou ovulação não checada.

^a P/AI = número de vacas prenhe dividido pelo total de vacas que foram inseminadas.

^b Taxa de concepção = número de vacas prenhe dividido pelo número de vacas com presença de CL 4 dias após IATF.

Independente do tratamento com P4, as vacas com identificação de cio no momento da IATF apresentaram uma maior taxa de prenhez (CIO: 55,9% [90/161] vs S/CIO : 41,1% [73/178]; P=0,006).

Em relação aos dados de ECC avaliados no início do protocolo de IATF, o ECC apresentou efeito sobre o diâmetro folicular (P=0,0001), área de CL (P=0,006) e taxa de ovulação (P<0,0001). As vacas com ECC acima de 3,5, apresentaram maior diâmetro folicular e maior área de CL. Já a taxa de ovulação, foi maior para os animais com ECC acima de 2,75, quando comparados com os animais com ECC abaixo de 2,75 (Tabela 2).

Tabela 2. Associação entre o escore de condição corporal (ECC) mensurado no início da sincronização da ovulação (D-10) e as variáveis reprodutivas: diâmetro de folículo, área de corpo lúteo (CL), taxa de ovulação e taxa de prenhez.

Variáveis	ECC			P value
	2,00 – 2,50	2,75 – 3,25	3,50 – 5,00	
Diâmetro folicular, mm [*]	11,53±0,15 ^b	11,25±0,10 ^b	12,35±0,24 ^a	0,0001
Área do CL, cm ^{2*}	1,21±0,02 ^b	1,19±0,02 ^b	1,35±0,04 ^a	0,006
Taxa de ovulação, %	82,9 ^b	90,5 ^a	94,9 ^a	
(ovuladas/n) ^x	(353/426)	(904/999)	(111/117)	<0,0001
Taxa de prenhez, % (P/AI) ^c	41,4 ^b	48,5 ^a	56,3 ^a	0,005
	(179/432)	(495/1022)	(67/119)	
Taxa de concepção, %	50,1	54,2	60,4	
(P/ vacas ovuladas) ^y	(177/353)	(490/904)	(67/111)	0,15

Vacas submetidas a um protocolo de IATF com ou sem suplementação de 150mg de progesterona injetável de longa-ação no quarto dia pós-IATF.

^{ab} Valores expressos em média ± erro padrão da média.

Letras diferentes na mesma linha indica diferença (P<0,05) entre grupos pela análise de variância.

^c P/AI = número de vacas prenhe dividido pelo total de vacas que foram inseminadas.

^x Dados de 31 animais não foram incluídos devido à anotações perdidas ou ovulação não checada.

^y P/ vacas ovuladas = número de vacas prenhe dividido pelo número vacas com presença de CL 4 dias após IATF.

Em relação aos dados de EO avaliados nos animais no início do protocolo de IATF, o EO apresentou efeito sobre o diâmetro folicular (P<0,0001), área de CL (P<0,0001), taxa de ovulação (P=0,0007) e taxa de prenhez (P=0,02). Os animais com EO 2 e 3, apresentaram maior diâmetro folicular, maior área de CL e maior taxa de ovulação comparados com os animais de EO1. No entanto, a taxa de prenhez foi maior nos animais com EO2, enquanto que os animais EO1 e EO3 não diferiram. (Tabela 3). Podemos observar também que as vacas que estavam com CL (EO3) no início do protocolo, apresentaram um maior ECC.

Tabela 3. Associação entre os escores ovarianos (EO) avaliados no D-10 e as variáveis reprodutiva e escore de condição corporal (ECC).

Variáveis	Condição ovariana no D-10			P value
	EO 1 (< 8,0 mm)	EO 2 (≥ 8,0 mm)	EO 3 (CL)	
ECC*	2,69±0,02 ^c	2,76±0,01 ^b	3,10±0,04 ^a	< 0,0001
Diâmetro folicular, mm*	10,69±0,19 ^b	11,62±0,09 ^a	11,77±0,22 ^a	< 0,0001
Área do CL, cm ² *	1,09±0,03 ^b	1,24±0,02 ^a	1,22±0,03 ^a	< 0,0001
Taxa de ovulação, % (ovuladas/n) ^y	81,5 ^b (291/357)	91,0 ^a (862/947)	90,3 ^a (213/236)	0,0007
Taxa de prenhez, % (P/AI) ^x	40,5 ^b (150/370)	51,0 ^a (491/962)	41,9 ^b (100/239)	0,0006
Taxa de concepção, % (P/vacas ovuladas) ^z	51,2 ^{a,b} (149/291)	56,4 ^a (486/862)	46,5 ^b (99/213)	0,02

Vacas submetidas a um protocolo de IATF com ou sem suplementação de 150mg de progesterona injetável de longa-ação no quarto dia pós-IATF.

Valores expressos em média ± erro padrão da média.

abc Letras diferentes na mesma linha indica diferença (P<0,05) entre grupos pela análise de variância.

^x P/AI = número de vacas prenhe dividido pelo total de vacas que foram inseminadas.

^y Dados de 31 animais não foram incluídos devido à anotações perdidas ou ovulação não checada.

^z P/ vacas ovuladas = número de vacas prenhe dividido pelo número vacas com presença de CL 4 dias após IATF.

Taxa de ovulação geral após o protocolo de IATF foi de 88,3%. Em análise separada, foi verificado efeito significativo (P<0,001) do diâmetro folicular sobre a taxa de concepção. Quando os folículos foram categorizados de acordo com a mediana (11,6 mm) em classes < 11,6 e ≥11,6mm, os animais que apresentaram folículos < 11,6 mm tiveram menor (P<0,001) taxa de prenhez do que os animais com folículos ≥ 11,6 mm (39,9% [171/429] vs 59,5% [248/417], respectivamente). No entanto, quando o diâmetro folicular atingiu um tamanho máximo de 14,2mm os animais que apresentaram um diâmetro folicular maior que isso, apresentaram uma menor chance de se tornarem gestantes (Figura 2).

Figura 2. Relação entre o diâmetro folicular no momento da IA (dia 0) e a probabilidade de se tornarem gestantes de vacas de corte (n = 846) sincronizadas com protocolo a base de E2/P4 e que foram distribuídas para receberem 150mg de P4 de longa ação ou 1ml de solução salina 0,9% no dia 4. A probabilidade das vacas de se tornarem gestantes variou de acordo com o diâmetro folicular ($P < 0,0001$). A equação de regressão foi a seguinte : $FOL = \exp (-0,05x^2 + 1,37x - 9,19)/1 + \exp (-0,05x^2 + 1,37x - 9,19)$.

Fazendo uma análise entre a covariável tamanho de CL e taxa de concepção, a taxa de concepção foi influenciada pelo tamanho do CL ($P < 0,001$). Quando o CL foi categorizado de acordo com a mediana ($1,16 \text{ cm}^2$) em classes $\leq 1,16 \text{ cm}^2$, e $> 1,16 \text{ cm}^2$, os animais que apresentaram $CL < 1,16 \text{ cm}^2$ tiveram uma menor taxa de prenhez do que os animais com $CL > 1,16 \text{ cm}^2$ (44,6 % [298/668] vs 62,1% [405/652] $P < 0,001$). No entanto, quando a área do CL atingiu um tamanho de $1,98 \text{ cm}^2$ houve uma queda na probabilidade dos animais se tornarem gestantes (Figura 3).

Figura 3. Relação entre a área do corpo lúteo 4 dias após a IA (dia 4) e a probabilidade de se tornarem gestantes de vacas de corte (n = 1320) sincronizadas com protocolo a base de E2/P4 e que foram distribuídas para receberem 150mg de P4 de longa ação ou 1ml de solução salina 0.9% no dia 4. A probabilidade das vacas de se tornarem gestantes variou de acordo com a área do CL ($P < 0,0001$) de forma quadrática : $CL = \exp (-0,79x^2 + 2,89x - 2,03)/1 + \exp (-0,79x^2 + 2,89x - 2,03)$.

Houve uma interação ($P < 0,0001$) entre a covariável diâmetro de folículo no momento da IATF (dia 0) e as variáveis de EO no início do protocolo sobre as taxas de concepção. A relação que melhor explica essa interação de EO e tamanho do folículo dominante na IATF foi uma relação linear para EO 1 e 3 e uma relação quadrática para o EO 2 (figura 4). Vacas com EO 1 e 3 no início do protocolo apresentaram uma maior chance de se tornarem gestantes quanto maior o diâmetro folicular no momento da IATF. Já as vacas com EO 2, apresentaram a mesma relação, no entanto, quando o diâmetro folicular passou de 13,95 mm houve uma queda na probabilidade de se tornarem gestantes.

Figura 4. Relação entre o diâmetro folicular no momento da IATF (dia 0) e a probabilidade de prenhez de vacas de corte (n = 844) sincronizadas com protocolo a base de E2/P4 e que foram distribuídas para receberem 150mg de P4 de longa ação ou 1ml de solução salina 0,9% no dia 4. A probabilidade das vacas de se tornarem gestantes variou de acordo com o diâmetro folicular ($P < 0,0001$). As equações de regressão foram: fol < 8,0mm = $\exp(0,41x - 4,39)/1 + \exp(0,41x - 4,39)$; fol $\geq$ 8,0mm = $\exp(-0,05x^2 + 1,41x - 9,12)/1 + \exp(-0,05x^2 + 1,41x - 9,12)$; CL = $\exp(0,41x - 4,92)/1 + \exp(0,41x - 4,92)$.

Houve também uma interação ($P = 0,0031$) entre a covariável área de CL após a IATF e as variáveis de EO no início do protocolo sobre as taxas de concepção. A relação que melhor explica essa interação do tamanho do CL com EO, foi uma relação quadrática com EO 1 e 2, e uma relação linear com o EO 3. Para os EO 1 e 2, a taxa de concepção aumentou de acordo com a área de CL até o tamanho de $1,8 \text{ cm}^2$, seguida por uma diminuição da taxa de concepção. Para as vacas com EO 3 foi observado um aumento progressivo e linear na taxa de concepção de acordo com o aumento do tamanho do CL.

Figura 5. Relação entre a área de CL (cm²) 4 dias após IATF (dia 4) e a probabilidade de concepção de vacas de corte (n = 1318) sincronizadas com protocolo a base de E2/P4 e que foram distribuídas para receberem 150mg de P4 de longa ação ou 1ml de solução salina 0,9% no dia 4. A probabilidade das vacas de se tornarem gestantes variou de acordo com a área do CL (P=0,0031). As equações de regressão foram: fol < 8,0mm = $\exp(-1,34x^2 + 4,72x - 3,24)/1 + \exp(-1,34x^2 + 4,72x - 3,24)$; fol ≥ 8,0mm = $\exp(-0,69x^2 + 2,43x - 1,57)/1 + \exp(-0,69x^2 + 2,43x - 1,57)$; CL = $\exp(0,80x - 1,13)/1 + \exp(0,80x - 1,13)$.

7. DISCUSSÃO

Os programas de IATF têm sido utilizados com grande sucesso em rebanhos comerciais de corte e de leite, proporcionando diversas vantagens na produção animal (BARUSELLI., 2016). As taxas de prenhez (P/IA) em programas de IATF ainda apresentam valores ao redor de 40% e 60% (SALES et al., 2012; SÁ FILHO et al., 2013), indicando que aproximadamente metade das vacas falham em se tornarem gestantes após a IATF. Uma grande parte dessas falhas, é devido à perdas embrionárias que ocorrem durante as 3 primeiras semanas de gestação (DISKIN et al., 1980; 2008), visto que a taxa de fertilização (oócito fertilizado/ovulação) é em torno de 90–95% em vacas (SARTORI et al., 2002; DISKIN et al., 2011).

Altas taxas de mortalidade embrionária, podem ser atribuídas à baixas concentrações de P4 circulantes após a ovulação (DISKIN et al., 1980; MANN et al., 2003; MANN et al., 2006). A manipulação dos níveis de P4 após a IA pode induzir alterações na expressão de genes que podem alterar os perfis proteicos do tecido endometrial, sendo assim, a suplementação com uma fonte de P4 exógena durante o início do diestro, pode ser uma ferramenta para melhorar o desenvolvimento embrionário inicial e o reconhecimento materno (FORDE et al., 2009, 2011, 2012).

Entretanto, nenhum efeito sobre as taxas de prenhez e taxa de concepção foi observado para os animais tratados com P4 injetável ou interação entre a suplementação com P4 e categoria animal (primíparas e pluríparas), ECC, EO, taxa de ovulação, diâmetro de folículo ou área de CL.

Os resultados reportados sobre o efeito da suplementação de P4 no início do diestro são divergentes, variando de resultados positivos (JOHNSON et al., 1958; ROBINSON et al., 1989), resultados neutros (VAN CLEEFF et al., 1991; STEVENSON et al., 1991; ARNDT et al., 2009; GARCIA-ISPIERTO et al., 2012; COLAZO et al., 2013; MONTEIRO et al., 2014; MARQUES et al., 2014) e também resultados negativos (VAN CLEEFF et al., 1996; PARR et al., 2014). No entanto, estes estudos apresentaram muitas diferenças entre categoria animal (primíparas vs pluríparas), métodos para aumentar a concentração de P4, início da suplementação de P4 relativo ao dia da IA e número de animais utilizados nos trabalhos. Diversos estudos avaliando a

suplementação com P4 por meio de dispositivos intravaginais de P4 em vacas de leite também não indicaram aumento na P/AI (VAN CLEEFF et al., 1991; STEVENSON et al., 1991; ARNDT et al., 2009; GARCIA-ISPIERTO et al., 2012; COLAZO et al., 2013; MARQUES et al., 2014). Monteiro (2014) avaliando os efeitos da suplementação com P4 por meio da inserção de um dispositivo intravaginal nos dias 4 ou dois dispositivos nos dias 4 e 7 mantidos até o dia 18 em vacas de leite, não observaram diferença na P/AI aos dias 34 e 62 dias de gestação. No entanto, houve interação entre o nível de suplementação com o método de IA. As vacas submetidas à IATF apresentaram melhor P/AI quando suplementadas com apenas um dispositivo no dia 4. Entretanto, nenhum efeito foi observado nas vacas inseminadas após observação de cio. Outros estudos anteriores, no entanto, reportaram melhoras na P/AI em vacas de leite suplementadas com P4 por meio de dispositivo intravaginal (JOHNSON et al., 1958; ROBINSON et al., 1989).

Em relação a suplementação de P4 injetável de longa ação, resultados em programas de IATF ainda são escassos. Estudos recentes avaliando os efeitos da suplementação de P4 injetável de longa ação foram realizados em vacas de corte e leite (SOUZA., 2015; PUGLIESI et al., 2016; MARTINS et al., 2017). Pugliesi (2016) reportou que o efeito benéfico da suplementação de P4 pode depender do status ovariano que as fêmeas se encontram. Em seu estudo a suplementação apresentou um aumento de 20% na taxa de prenhez em vacas em condição de anestro pós-parto ao início do protocolo. No presente estudo, apesar da condição de anestro (ausência de CL) não ter sido avaliada por duas avaliações de ovário num intervalo de 7-10 dias, nenhum efeito benéfico foi observado no grupo de vacas que não possuíam CL no início do protocolo. No estudo de Martins (2017), as taxas de prenhez em vacas suplementadas com P4 de longa ação (150mg) ou não e que tiveram a ovulação induzida com GnRH ou ECP foram avaliadas. Observou-se que a suplementação com P4 aumentou as taxas de prenhez em vacas tratadas e não tratadas com ECP, mas esse efeito foi dependente do tamanho do folículo no momento da IATF. Para as vacas tratadas com ECP, a suplementação com P4 melhorou as taxas de P/AI em uma subpopulação de vacas com folículos <12,35 mm (42% [34/81] vs 53,1% [34/64]),

enquanto que para as vacas não tratadas com ECP, foi observado uma melhora em vacas que apresentaram folículos $\geq 12,35\text{mm}$ (46,1% [35/76] vs 58,7% [37/63]).

Analisando os experimentos de Pugliesi (2016) e Martins (2017) os animais apresentaram uma média de ECC de (3,3 e 3,48) respectivamente, enquanto que no presente experimento os animais apresentam uma média de ECC de (2,8) em uma escala de 1-5. Analisando as médias de ECC dos três períodos do presente estudo, podemos observar que os animais da fazenda 2 apresentaram uma menor média de ECC (3,09; 2,74; 2,72) respectivamente aos períodos 1, 2 e 3. No entanto, não apresentou diferença em relação a taxa de prenhez ou concepção entre os períodos.

O terceiro período da fazenda 2, os animais foram inseminados no período da seca, sendo assim, os animais foram inseminados em épocas com baixa produção de forragens e forragens de baixa qualidade para regiões de clima tropical. Essa baixa condição corporal dos animais e baixa disponibilidade de forragem pode ter levado a uma diminuição da metabolização dos hormônios esteróides no fígado, podendo levar a um acúmulo de P4 circulantes.

Alguns estudos com suplementação com P4, observaram um efeito paradoxo da P4, onde foi observado um encurtamento do ciclo estral dos animais. No estudo de Pugliesi et al. (2014) onde os animais foram suplementados com P4 de longa ação nas doses de 150mg e 300mg nos dias 2 e 3 após a ovulação, foi observado uma antecipação da luteólise em aproximadamente 3 dias. Efeito similar foi observado nos estudos de O'Hara et al. (2014, 2016) com animais suplementados com dispositivos intravaginais de P4. Uma explicação plausível do efeito paradoxo da suplementação com P4, deve-se ao aumento precoce das concentrações de P4 circulantes está relacionado com o downregulation dos receptores nucleares de P4 no epitélio endometrial. Esse efeito no receptores de P4 leva a um aumento dos receptores alfa de E2 e de oxitocina resultando na secreção pulsátil de PGF2 α , levando assim a luteólise precoce.

Uma meta análise feita por Yan (2016), onde foram analisados 53 trabalhos com suplementação de P4 por meio de dispositivos intravaginais ou doses diárias de injeção

intramuscular e comparando diferentes períodos de aplicação, observou que o efeito da suplementação de P4 melhorou a taxa de prenhez em vacas que foram inseminadas em cio natural, tendo uma taxa de prenhez de 49.7% em vacas controle e 54.5% em vacas tratadas com P4. Analisando os dados de vacas que tiveram a ovulação sincronizada, a suplementação com P4 não apresentou nenhuma melhora na taxa de prenhez, sendo o mesmo resultado observado no presente estudo. De acordo com esse trabalho, o melhor período para realizar a suplementação com P4 é entre os dias 3 e 7 após a inseminação (OR = 1.15; $P < 0.01$), corroborando com o período utilizado neste estudo e também com Pugliesi et al. (2014; 2016) onde se utilizou a mesma fonte de P4 sendo aplicada na mesma dose e no mesmo período.

A taxa de liberação de P4 pode depender do tipo de dispositivo, podendo chegar a 0,8-2 ng/mL circulante em fêmeas de leite e corte (CERRI et al., 2009; LIMA et al., 2009; CARTER et al., 2010). Na forma do produto injetável utilizado no presente estudo, a liberação da P4 ocorre de forma mais acentuada alcançando concentrações de até 6-8 ng/mL (PUGLIESI et al., 2014). Tal perfil distinto de liberação de P4 pode ser um dos componentes que afetam a inconsistência nos resultados entre os estudos com suplementação de P4. Altas concentrações de P4 em amostras de epitélio da tuba uterina em humanos pode causar disfunção nos batimentos ciliares e ser uma possível causa de falhas na gestação (PALTIELI et al., 2000). Excesso de P4 pode ser prejudicial para o processo de implantação em ratos, devido à modificações do endométrio para manter a gestação (LIANG et al., 2018).

Por outro lado, uma nutrição deficiente é um dos principais fatores que reduzem a fertilidade em vacas criadas à pasto em países subtropicais e tropicais (BÓ et al., 2003). A avaliação visual de ECC é uma importante ferramenta nos sistemas de produção animal, pois é uma ferramenta simples e barata, e que pode indicar o status nutricional do animal, independente do tamanho e do peso do animal (EDMONSON et al., 1989; ROBINSON et al., 2006; AYRES et al., 2009).

Observando os dados de ECC e as co-variáveis analisadas, as vacas que apresentaram ECC de 2,75 - 3,25 e 3,5 - 5, em um escala de 1 – 5, apresentaram melhores taxas de prenhez, quando comparadas com as vacas com ECC $< 2,50$. Tal

resultado condiz com a relação de baixo ECC e baixa taxa de prenhez tanto em vacas de corte (FILHO et al. 2009; MENEGETTI et al. 2009; PFEIFER et al. 2017), quanto em vacas de leite (SOUZA et al. 2009). Tal associação pode ser explicada pelos resultados de diâmetro folicular no momento da IATF e taxa de ovulação, em que os animais com baixo ECC apresentaram menor diâmetro folicular e menor taxa de ovulação. Segundo Sá Filho (2013), animais com $ECC \geq 3$ apresentam melhor P/IA em relação aos animais com $ECC < 3$ (62,6% vs 40,5%), respectivamente.

Outros estudos demonstraram os efeitos do ECC na ciclicidade ovariana e taxas de prenhez em vacas de corte submetidas a protocolo de IATF (BARUSELLI et al., 2003a; CUTAIA et al., 2003b), com um ECC de 2,5 numa escala de 1-5, sendo o valor mínimo aceitável para que haja sucesso na sincronização do estro em vacas *B. indicus*. Carvalho (2017), observou que primíparas com $ECC \geq 3,0$ no momento do parto, apresentaram maiores taxas de prenhez do que vacas com $ECC \leq 2,75$. Em relação aos animais que perderam ECC entre o parto e o diagnóstico de gestação, estes apresentaram uma menor taxa de prenhez comparado aos animais que mantiveram ou ganharam ECC durante este período. Em vacas secundíparas, o $ECC \leq 2,75$ teve uma influência negativa nas taxas de prenhez, independente da alteração de ECC no pós-parto. Secundíparas com ECC (3,00 e 3,25) ganhando e mantendo ECC, apresentaram altas taxas de prenhez (70%) à primeira IATF. As vacas pluríparas, também foram influenciadas pela perda de ECC nos resultados reprodutivos, no entanto, demonstraram ser mais resistentes as alterações de ECC no pó-parto com menor dispersão das taxas de prenhez.

No presente estudo foi observado que animais com melhor condição corporal ao início do protocolo de sincronização, apresentaram um maior diâmetro folicular no momento da IATF (dia 0), corroborando os estudos anteriores em vacas de corte zebuínas (FILHO et al. 2009; MENEGETTI et al. 2009; PFEIFER et al. 2017). Os animais com maior diâmetro folicular, apresentaram uma maior taxa de ovulação e maior taxa de concepção. Assim, a maior taxa de concepção pode ter refletido a maior taxa de ovulação e melhor sincronização das vacas que apresentaram maior ECC no início do protocolo. Por outro lado, em animais com perda de peso e perda de ECC o

eixo hipotálamo-hipófise pode se tornar sensível ao *feedback* negativo ao E2, e diminuir a secreção de GnRH e consequentemente a de FSH e LH (IMAKAWA et al., 1987; WILTBANK et al., 2002). Podendo explicar o menor diâmetro folicular e menor taxa de ovulação e concepção de vacas com menor ECC no presente experimento.

Observando a figura 2, podemos observar que o diâmetro folicular influencia a taxa de prenhez, onde os animais apresentam uma probabilidade crescente de prenhez de acordo com o crescimento folicular, no entanto, a probabilidade de prenhez diminui quando o folículo atinge 14,2 mm. Resultados semelhantes foram observados em novilhas de corte LYNCH., (2010) e vacas de leite VASCONCELOS., (1999). Uma possível causa dessa queda de fertilidade em folículos maiores, pode ser devido a idade desses folículos maiores, assim como o oócito de folículos mais velhos podem ser menos férteis como reportado no trabalho de TOWSON (2002). No estudo feito por Perry (2007), foi observado um efeito quadrático do tamanho do folículo sobre a taxa de prenhez, a taxa de prenhez foi máximo para folículos com 12,8mm em novilhas, e reduziu para folículos <10,5mm ou >15,7mm. A mesma relação entre área de CL e probabilidade de concepção, foi observada no presente estudo (figura 3), a probabilidade de concepção foi correlacionado positivamente com a área do CL; no entanto, a probabilidade diminui quando a área de CL atinge 1,98 cm². Peres (2009) relatou uma influência do tamanho do folículo pré ovulatório com o tamanho do CL a ser formado, animais com folículos maiores, geram um CL maior e com maior capacidade de produção de P4, no entanto, como visto por Townson (2002), folículos maiores podem ser mais velhos e menos férteis, podendo assim, ser um dos fatores que explicam a queda da probabilidade de concepção desses animais com CLs maiores.

Os animais com melhor ECC nos períodos do pré-parto e pós-parto, apresentam menor intervalo do parto ao retorno da ciclicidade (STAGG et al., 1995). Os efeitos das subnutrição sobre a dinâmica folicular, se assemelham com os efeitos de *feedback* negativo ao E2 que ocorre com novilhas pré-pubescentes (WILTBANK et al., 2002). Neste período os folículos após a divergência produzem quantidade mínimas de E2, suficientes para inibir a liberação hipotalâmica de GnRH, levando a inibição dos pulsos

de LH, impedindo assim, o crescimento final do folículo e maior produção de E2 para que estimule o pico de LH, levando à atresia do mesmo (IMAKAWA et al., 1987; WILTBANK et al., 2002; HESS et al., 2005; CROWE et al., 2014). Além disso, baixas concentrações de glicose e insulina que estão diretamente ligadas a condição corporal e nível nutricional, apresentam papéis importantes na reprodução, visto que a glicose é uma das principais moléculas utilizadas pelas células no sistema central como fonte de energia. Randel (1990), observou que baixas concentrações de glicose podem afetar o hipotálamo, prejudicando a liberação de GnRH, e consequentemente a liberação de FSH e LH. A insulina funciona como sinal metabólico que influencia a liberação de LH pela hipófise e aumenta a responsividade do folículo as gonadotrofinas (CROWE et al., 2014), estimula a proliferação celular, a esteroidogênese (WETTEMANN e BOSSIS, 2000), e facilita produção de IGF-I pelo fígado.

No Brasil, grande parte da produção de bovinos destinados a produção de carne, são feitas em regiões onde o clima tropical predomina, sendo possível observar dois períodos distintos: período das “águas” e período “seco”. No período das águas a produção de forragens é favorecida devido a um conjunto de fatores como: alta temperatura, fotoperíodo prolongado e uma maior incidência de chuvas. Nesta época os animais tem uma maior disponibilidade de forragens e forragens de melhor qualidade (TEIXEIRA et al., 2011). No período da seca as condições para o crescimento das forragens são limitados, diminuindo a taxa de crescimento e alta taxa de senescência, resultando em uma piora qualitativa e quantitativa da forragem (CASAGRANDE et al., 2013). Em algumas partes do ano a produção de forragens pode não suprir as exigências nutricionais dos animais, podendo estes, entrar em balanço energético negativo.

Em grande parte do Brasil a estação de parição, ocorre no final da estação seca e transição para início das chuvas (PAULINO et al., 2004), caracterizado por uma menor oferta e pior qualidade de forragem (DA SILVA et al., 2004) fazendo com que agrave a situação de condição corporal dos animais, e atrasando ainda mais o retorno a ciclicidade desses animais após o parto.

O anestro pós-parto também tem grande relação com o ECC das vacas no final da gestação e no pós-parto. Dos 1573 animais avaliados no início do protocolo de IATF, apenas 15,2% (239/1571) dos animais apresentaram CL, com uma média de ECC de 2,8 (escala de 1 - 5) nos animais avaliados, indicando um grande número de animais sem presença de CL e com baixo ECC dos animais. Avaliando os resultados de condição ovariana no início do protocolo, observamos que os animais que estavam com certeza ciclando (presença de CL –EO3) ao início do protocolo foram os animais que apresentaram melhor ECC, que por sua vez apresentaram maior diâmetro folicular e maior área de CL e melhor taxa de ovulação (Tabela 3). Apesar destas condições corpórea e ovariana favoráveis e do já estabelecimento do eixo-hipotalâmico-hipofisário-gonadal, os animais que apresentaram CL no início do protocolo apresentaram menor taxa de concepção. Tal resultado pode ser reflexo da presença de um CL ativo ao início do protocolo e portanto maior concentração circulante de P4 durante o protocolo de sincronização, o que pode ter influenciado negativamente o crescimento do folículo dominante após sua seleção.

Neste contexto, a P4 causa um *feedback* negativo na liberação de LH, causando um menor desenvolvimento folicular e consequentemente menor produção de E2 e menor taxa de ovulação (DADARWAL et al., 2013). Em trabalho recente de Pugliesi (2016) foi observado que vacas de corte sincronizadas para terem um CL ativo durante a sincronização da ovulação apresentaram um folículo ovulatório de menor tamanho e menor perfusão sanguínea, assim como menores taxas de ovulação e concepção. De forma similar, Dadarwal (2013) por meio da indução da luteólise com PGF2 α ou aumentando a duração do proestro em vacas ciclando, observou uma maior secreção de estradiol 17 β (E2) do folículo pré-ovulatório, maior diâmetro folicular, melhor taxa de ovulação, maior área de CL e maior produção de P4, melhorando a receptividade uterina favorecendo a sobrevivência embrionária. Neste contexto, reduzidas concentrações de P4 até o momento da retirada do dispositivo de P4 leva a um maior desenvolvimento folicular, gerando um CL maior, capaz de produzir maiores concentrações de P4 7 dias após IATF e melhorar as taxas de prenhez em vacas ciclando que receberam PGF2 α 2 dias antes da retirada do implante de P4 (MENEGETTI et al., 2009; CHAVES NETO et al., 2015). Sugerindo um efeito benéfico

na fertilidade, em vacas que tiveram uma menor concentração de P4 durante o desenvolvimento do folículo dominante, resultando em um folículo de maior tamanho e consequentemente um CL maior (PERRY et al., 2012).

8. CONCLUSÕES

A suplementação de P4 de longa-ação 4 dias após a IATF, não aumentou as taxas de prenhez, independente de categoria animal (primípara ou plurípara), ECC ou EO (presença ou ausência de CL no início do protocolo). As melhores taxas de concepção e prenhez observadas em animais com melhor condição corporal refletem o maior crescimento do folículo ovulatório, melhor taxa de ovulação e maior CL nestas fêmeas. Apesar da melhor condição corporal, a presença de CL ao início do protocolo de sincronização pode influenciar negativamente na taxa de prenhez em vacas de corte paridas.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIEC. Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne. Pecuária: Pecuária Brasileira, 2017. Disponível em: <http://www.abiec.com.br> . Acesso em :10/04/2018.

Arndt, W.J., Holle, A.J., Bauer, M.L., Kirsch, J.D., Schimek, D.E., Odde, K.G., Vonnahme, K.A. Effect of post-insemination progesterone supplementation on pregnancy rate in dairy cows. *Can. J. Vet. Res.* 2009;73:271-274.

Arnett, M., Rhinehart, J.D., Bailey, J.D., Hightstone, R.B., Anderson, L.H. Administration of gonadotropin releasing hormone on days 5 or 6 of the estrous cycle alters follicle dynamics and increases pregnancy rates in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 2002;80:133–134.

Ayres H, Ferreira RM, Torres-Júnior JRS, Demétrio CGB, Lima CG, Baruselli OS. Validation of body condition score as a predictor of subcutaneous fat in Nelore (*Bos indicus*) cows. *Livestock Science* 2009;123:175-179.

Ayres H, Ferreira RM, Torres-Júnior JRS, Demétrio CGB, Sá Filho MF, Gimenes LU, Penteado L, D'Occhio MJ, Baruselli PS. Inferences of body energy reserves on conception rate of suckled Zebu beef cows subjected to timed artificial insemination followed by natural mating. *Theriogenology*. 2014; 82: 529-536.

Baruselli, P.S. IATF supera dez milhões de procedimentos e amplia o mercado de trabalho. *Revista CFMV* 2016; 69: 57-60.

Baruselli, P.S.; Reis, E.L.; Marques, M.O. et al. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. *Animal Reproduction Science*, v.82-83, p.479-486, 2004.

Bauersachs, S., Ulbrich, S.E., Reichenbach, H.D., Reichenbach, M., Buttner, M., Meyer, H.H., Spencer, T.E., Minten, M., Sax, G., Winter, E., Wolf, E. Comparison of the effects of early pregnancy with human interferon, alpha 2 (IFNA2), on gene expression in bovine endometrium. *Biol Reprod* 2012;86:46.

Bauersachs, S., Ulbrich, S.E., Zakhartchenko, V., Minten, M., Reichenbach, M., Reichenbach, H.D., Blum, H., Spencer, T.E., Wolf, E. The endometrium responds differently to cloned versus fertilized embryos. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009;106:5681–6.

Bazer, F. W., G. Wu, T. E. Spencer, G. A. Johnson, R. C. Burghardt and K. Bayless. Novel pathways for implantation and establishment and maintenance of pregnancy in mammals. *Mol. Hum. Reprod.* 2010;16:135-152.

Bazer, F. W., T. E. Spencer, G. A. Johnson and R. C. Burghardt. Uterine receptivity to implantation of blastocysts in mammals. *Front. Biosci.* 2011;S3:745-767.

Bazer, F.W., Song, G., Thatcher, W.W. Roles of conceptus secretory proteins in establishment and maintenance of pregnancy in ruminants. *J. Anim. Sci.* 2012;25:1-16.

Betteridge, K.J., Eaglesome, M.D., Randall, G.C., Mitchell, D. Collection, description and transfer of embryos from cattle 10-16 days after oestrus. *J Reprod Fertil* 1980;59:205–16.

Bó, G.A., Baruselli, P.S., Martinez, M.F. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. *Animal Reproduction Science.* 2003; 78: 307-326.

Bosch, E., Labarta, E., Crespo, J., Simón, C., Remohí, J., Jenkins, J., Pellicer, A. Circulating progesterone levels and ongoing pregnancy rates in controlled ovarian stimulation cycles for in vitro fertilization: analysis of over 4000 cycles. *Hum Reprod* 2010;25:2092-100.

Canfield, R.W., Butler, W.R. Energy balance and pulsatile LH secretion in early postpartum dairy cattle. *Domest Anim Endocrinol.* 1990; 7: 323-330.

Carter F, Forde N, Duffy P, Wade M, Fair T, Crowe MA, Evans AC, Kenny DA, Roche JF, Lonergan P. Effect of increasing progesterone concentration from Day 3 of pregnancy on subsequent embryo survival and development in beef heifers. *Reprod Fertil Dev* 2008;20:368-75.

Carter, F., Rings, F., Mamo, S., Holker, M., Kuzmany, A., Besenfelder, U., Havlicek, V., Mehta, J.P., Tesfaye, D., Schellander, K., Lonergan, P. Effect of elevated circulating progesterone concentration in bovine blastocyst development and global transcriptome following endoscopic transfer of In Vitro produced embryos to the bovine oviduct. *Biology of Reproduction* 2010;83:707-719.

Carvalho, E.R. Remoção de bezerros e/ou eCG na taxa de prenhez de vacas Nelore paridas submetidas à IATF e seus efeitos no desempenho das crias. 61 f. Dissertação (mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2014.

Carvalho, P.D., Souza, A.H., Amundson, M.C., Hackbart, K.S., Fuenzalida, M.J., Herlihy, M.M., Ayres, H., Dresch, A.R., Vieira, L.M., Guenther, J.N., Grummer, R.R., Fricke, P.M., Shaver, R.D., Wiltbank, M.C. Relationships between fertility and postpartum changes in body condition and body weight in lactating dairy cows. *Journal of dairy science*. 2014; 97:3666-3683.

Carvalho, R.S. Influência da alteração do escore de condição corporal e de hormônios metabólicos pós-parto na eficiência reprodutiva de vacas nelore inseminadas em tempo fixo. 64f Dissertação (mestrado). Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu. 2017

Casagrande, D. R., Azenha, M. V., Vieira, B. R., Resende, F. D. D., Faria, M. H. D., Berchielli, T. T., ... & Reis, R. A. Performance and carcass quality of feedlot-or pasture-finished Nellore heifers according to feeding managements in the postweaning phase. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 2013;42: 899-908.

Cerri, R.L.A., Rutigliano, H.M., Bruno, R.G.S., Santos, J.E.P. Progesterone concentration, follicular development and induction of cyclicity in dairy cows receiving intravaginal progesterone inserts. *Anim. Reprod. Sci.* 2009;110:56-70.

Chaves Neto, A.F., Sartori, J.G., Ramos, R.S., Bastos, M.R., Rezende, M.L.G., Vieira, L.M., Barusselli, P.S. Treatment with prostaglandin at the beginning of the protocol in beef cows with CL increases conception rate after FTAI. *Anim. Reprod.* 2015;12:669.

Colazo, M.G., Dourey, A., Rajamahendran, R., Ambrose, D.J. Progesterone supplementation before timed AI increased ovulation synchrony and pregnancy per AI, and supplementation after timed AI reduced pregnancy losses in lactating dairy cows. *Theriogenology* 2013;79:833-41.

Crowe, M.A., Diskin, M.G., Williams, E.J. Parturition to resumption of ovarian cyclicity: comparative aspects of beef and dairy cows. *Animal: an international journal of animal bioscience*. 2014; 8: 40-53.

Cutaia, L., Bó, G.A. Factores que afectan los resultados en programas de inseminación artificial a tiempo fijo en rodeos de cría utilizando dispositivos con progesterona. In: *Simposio internacional de reproducción bovina*. 2004:109-123.

Da Silva, S.C. Fundamentos para o manejo de pastejo de plantas forrageiras dos gêneros *Brachiaria* e *Panicum*. *Simpósio sobre manejo estratégico da pastagem*. 2004; 2: 347-385.

Dardawal, D., Mapletoft, R.J., Adams, G.P., Pfeifer, L.F.M., Creelman, C., Singh, J. Effect of progesterone concentration and duration of proestrus on fertility in beef cattle after fixed-time artificial insemination. *Theriogenology* 2013;79:859-866.

De Medeiros, S.F., Norman, R.J. Human chorionic gonadotropin protein core and sugar branches heterogeneity: basic and clinical insights. *Hum Reprod Update* 2009;15:69–95.

Degrelle, S.A., Campion, E., Cabau, C., Piumi, F., Reinaud, P., Richard, C., Renard, J.P., Hue, I. Molecular evidence for a critical period in mural trophoblast development in bovine blastocysts. *Dev Biol* 2005;288:448–60.

Diskin MG, Murohy JJ, Sreenan JM. Embryo survival in dairy cows managed under pastoral conditions. *Anim Reprod Sci*. 2006;96:297-311.

Diskin, M.G., Morris, D.G. Embryonic and early foetal losses in cattle and other ruminants. *Reprod Domest Anim* 2008;43:260-7.

Diskin, M.G., Parr, M.H., Morris, D.G. Embryo death in cattle: na update. *Reprod Fertil Dev* 2011;24:244-51.

Diskin, M.G., Sreenan, J.M. Fertilization and embryonic mortality rates in beef heifers after artificial insemination. *J Reprod Fertil* 1980;59:463-8.

Dorniak, P., F. W. Bazer and T. E. Spencer. Prostaglandins regulate conceptus elongation and mediate effects of interferon tau on the ovine uterine endometrium. *Biol. Reprod.* 2011;84:1119- 1127.

Edmonson AJ, Lean IJ, Weaver LD, Farver T, Webster G. A body condition scoring for Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1989;72:68-78.

Forde N, Carter F, Spencer TE, Bazer FW, Sandra O, Mansouri-Attia N, Okumu, L.A., McGettiga, P.A., Mehta, J.P., McBride, R., O'Gaora, P., Roche, J.F., Lonergan, P. Conceptus-induced changes in the endometrial transcriptome: how soon does the cow know she is pregnant? *Biol Reprod* 2011; 85:144–56.

Forde, N., Beltman, M.E., Duffy, G.B., Duffy, P., Mehta, J.P., O'Gaora, P. Changes in the endometrial transcriptome during the bovine estrous cycle: effect of low circulating progesterone and consequences for conceptus elongation. *Biol Reprod* 2011;84:266-78.

Forde, N., Carter, F., Fair, T., Crowe, M.A., Evans, A.C., Spencer, T.E., Bazer, F.W., McBride, R., Boland, M.P., O'Gaora, P., Lonergan, P., Roche, J.F. Progesterone-regulated changes in endometrial gene expression contribute to advanced conceptus development in cattle. *Biol Reprod* 2009;81:784-94.

Forde, N., Mehta, J.P., Minten, M., Crowe, M.A., Roche, J.F., Spencer, T.E., Lonergan, P. Effects of low progesterone on the endometrial transcriptome in cattle. *Biol Reprod* 2012;87:124.

Forde, N., Spencer, T.E., Bazer, F.W., Song, G., Roche, J.F., Lonergan, P. Effect of pregnancy and progesterone concentration on expression of genes encoding for

transporters or secreted proteins in the bovine endometrium. *Physiol Genomics* 2010;41:53-62.

Fortier, M.A., Guilbault, L.A., Grasso, F. Specific properties of epithelial and stromal cells from endometrium of cows. *J Reprod Fertil* 1988;83:239-248.

Gaja, A. O., K. Hamana, C. Kubota, and T. Kojima. 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. *J. Vet. Sci.* 2008;9:273–279.\

Garcia-Ispuerto I, López-Gatius F. Progesterone supplementation in the early luteal phase after artificial insemination improves conception rates in high-producing dairy cows. *Theriogenology* 2017; 90: 20-24.

Garcia-Ispuerto, I., López-Gatius, F. Effects of GnRH or progesterone treatment on day 5 post-AI on plasma progesterone, luteal blood flow and leucocyte counts during the luteal phase in dairy cows. *Reprod Domest Anim* 2012;47:224-9.

Garret, J.E., Geisert, R.D., Zavys, M.T., Morgan, G.L. Evidence for maternal regulation of early conceptus growth and development in beef cattle. *J. Reprod. Fert* 1988;84:437-446.

Geisert, R.D., Morgan, G.L., Short, E.C., Zavy, M.T. Endocrine events associated with endometrial function and conceptus development in cattle *Reprod Fertil* 1992;4:301-305.

Gimenes, L.U., Carvalho, N.A.T., Sá Filho, M.F. et al. Follicle deviation and ovulatory capacity in *Bos indicus* heifers. *Reprod. Fertil. Dev.* 2007;19:242

Ginther, O.J. Effect of progesterone on length of estrous cycle in cattle. *Am. J. Vet. Res.* 1970;31.

Grealy, M., Diskin, M.G., Sreenan, J.M. Protein content of cattle oocytes and embryos from the two-cell to the elongated blastocyst stage at day 16. *J Reprod Fertil* 1996;107:229–33.

Hafez, B.; Hafez, E. S. E. Reprodução Animal. 7. ed. São Paulo: Manole. 2004.

Hess, B.W., Lake, S.L., Scholljegerdes, E.J., Weston, T.R., Nayigihugu, V., Molle, J.D.C., Moss, G.E. Nutritional controls of beef cows reproduction, Journal of Animal Science. 2005; 83: 90-106.

Imakawa, K., Day, M.L., Zalesky, D.D., Clutter, A., Kittok, R.J., Kinder, J.E. Effects of 17-estradiol and diets varying in energy on secretion of luteinizing hormone in beef heifers. Journal of animals science 1987;64:805-815.

Johnson, H., Torres, C.G., Carvalho, F., Duchens, M., Peralta, O.A. Endometrial expression of selected transcripts in postpartum of primiparous Holstein cows with clinical and subclinical endometritis. Anim Reprod Sci 2015;156:34-9.

Johnson, K.R. Effect of 17 alpha-hydroxyprogesterone 17-n-caproate on the reproductive performance of cattle. Ann N Y Acad Sci 1958;71:577-9.

Kawashima, C., Kida, K., Matsushashi, M., Matsui, M., Shimizu, T., Matsunaga, N., Ishii, M., Miyake, Y., Miyamoto, A. Effect of suckling on the reproductive performance and metabolic status of obese japanese blk cattle during the early postpartum period. J. Reprod. Dev. 2008; 54: 46-51.

Kyrou, D., Kolibianakis, E.M., Fatemi, H.M., Camus, M., Tournaye, H., Tarlatzis, B.C., Devroey, P. High exposure to progesterone between the end of menstruation and the day of triggering final oocyte maturation is associated with a decreased probability of pregnancy in patients treated by in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection. Fertil Steril 2011;96:884-8.

Liang, Y.X., Liu, L., Jin, Z.Y., Liang, X.H., Fu, Y.S., Gu, X.G., Yang, Z.M. The high concentration of progesterone is harmful for endometrial receptivity and decidualization. Nature 2018;8:712.

Lima, J.R., Rivera, F.A., Narciso, C.D., Oliveira, R., Chebel, R.C., Santos J.E.P. Effect of increasing amounts of supplemental progesterone in a timed artificial insemination protocol on fertility of lactating dairy cows. J Dairy Sci 2009;92:5436-5446.

Lonergan, P., Forde, N., Spencer, T.E. Role of progesterone in embryo development in cattle. *Reprod Fertil Dev* 2016;28:66–74.

Lynch, C.O., Kenny, D.A., Childs, S., Diskin, MG. The relationship between periovulatory endocrine and follicular activity on corpus luteum size, function, and subsequent embryo survival. *Theriogenology* 2010; 190-198-73.

Maillo, V., Duffy, P., O'Hara, L., de Frutos, C., Kelly, A.K., Lonergan, P., Rizos, D. Effect of hCG administration during corpus luteum establishment on subsequent corpus luteum development and circulating progesterone concentrations in beef heifers. *Reproduction, Fertility and Development*, 2014;26:367-374.

Mann GE, Green MP, Sinclair KD, Demmers KJ, Fray MD, Gutierrez CG. Effects of circulating progesterone and insulin on early embryo development in beef heifers. *Anim Reprod Sci.* 2003;79:71-79.

Mann, G. E., M. D. Fray, and G. E. Lamming. Effects of time of progesterone supplementation on embryo development and interferon-tau production in the cow. *Vet. J* 2006;171:500–503.

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. *Anim Reprod Sci* 2003;79:71-9.

Mann, G.E., Lamming, G.E. Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. *Reproduction* 2001;121:175–180.

Mann, G.E., Lamming, G.E. The influence of progesterone during early pregnancy in cattle. *Reprod Domestic Anim.* 1999;34:269-274.

Mann, G.E., Lamming, G.E., Fisher, P.A. Progesterone control of embryonic interferon-r production during early pregnancy in the cow *J Reprod Fertil.* 1998.

Mann, G.E., Lamming, G.E., Robinson, R.S., Wathes, D.C. The regulation of interferon-tau production and uterine hormone receptors during early pregnancy. *J Reprod Fertil* 1998;54

Mann, G.E., Mann, S.J., Lamming, G.E. The interrelationship between the maternal hormone environment and the embryo during the early stages of pregnancy. *J Reprod Fertil*.1996.

Mansouri-Attia N, Sandra O, Aubert J, Degrelle S, Everts RE, Giraud- Delville C, Heyman, Y., Galio, L., Hue, I., Yang, X., Tian, X.C., Lewin, H.A., Renard, J.P. Endometrium as an early sensor of in vitro embryo manipulation technologies. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009;106: 5687–92.

Marques, T.C., Leão, K.M., de OliveiraViu, M.A., Sartori, R. The effects of progesterone treatment following artificial insemination on the reproductive performance of dairy cows. *Trop Anim Health Prod* 2014;46:405-10.

Martins, T., Talamoni, J.P., Sponchiado, M., Maio, J.R.G., Nogueira, G.P., Pugliesi, G., Binelli, M. Impact of estradiol cypionate prior to TAI and progesterone supplementation at initial diestrus on ovarian and fertility responses in beef cows. *Theriogenology* 2017;104:156-163.

McMann, J.P., Reimers, T.J. Effects of obesity on insulin and glucose metabolism in cyclic heifers. *Journal of Animal Science*. 1986; 62: 772-782.

Meneghetti, M., Sa 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*. 2009; 72: 179-189.

Meneghetti, M., Vasconcelos, J.L.M. Mês de parição, condição corporal e resposta a protocolos de inseminação artificial em tempo fixo em vacas de corte primíparas. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec*. 2006; 786-793.

Mesquita, F.S., Ramos, R.S., Pugliesi, G., Andrade, S.C., Van Hoeck, V., Langbeen, A. The receptive endometrial transcriptomic signature indicates an earlier shift from proliferation to metabolism at early diestrus in the cow. *Biol Reprod* 2015;93:52.

Monteiro Jr, P.L.J., Nascimento, A.B., Pontes, G.C.S., Fernandes, G.O., Melo, L.F., Wiltbank, M.C., Sartori, R. Progesterone supplementation after ovulation. Effects on corpus luteum function in fertility of dairy cows subjected to AI or TE. *Theriogenology* 2015;84:1215-1224.

Monteiro Jr, P.L.J., Ribeiro, E.S., Maciel, R.P., Dias, A.L.G., Solé Jr, E., Lima, F.S., Bisinotto, R.S., Thatcher, W.W., Sartori, R., Santos, J.E. Effects of supplemental progesterone after artificial insemination on expression of interferon-stimulated genes and fertility in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2014;97:4907-4921.

Moore, S.G., Pryce, J.E., Hayes, B.J., Chamberlain, A.J., Kemper, K.E., Berry, D.P., McCabe, M., Cormican, P., Lonergan, P., Fair, T., Butler, S.T. Differentially expressed genes in endometrium and corpus luteum of Holstein cows selected for high and low fertility are enriched for sequence variants associated with fertility. *Biol Reprod* 2016;94:19.

Moraes, J.C.F., Jaume, C.M., Souza, C.J.H. Body condition score to predict the postpartum fertility of crossbred beef cows. *Pesq. Agropec. Bras.* 2007; 42: 741-746.

Moran, B., Butler, S.T., Moore, S.G., MacHugh, D.E., Creevey, C.J. Differential gene expression in the endometrium reveals cytoskeletal and immunological genes in lactating dairy cows genetically divergent for fertility traits. *Reprod Fertil Dev* 2015.

Morris, D.G., Diskin, M.G., Sreenan, J.M. Protein synthesis and phosphorylation by elongating 13-15-day-old cattle blastocysts. *Reprod Fertil Dev* 2000;12:39–44.

Myers, T.R., Myers, D.A., Gregg, D.W., Moss, G.E. Endogenous opioid suppression of release of luteinizing hormone during suckling in postpartum anestrous beef cows. *Dom. Anim Endocrinol.* 1989; 6:183-190.

Nascimento, A.B., Bender, R.W., Souza, A.H., Ayres, H., Araujo, R.R., Guenther, J.N., Sartori, R., Wiltbank, M.C. Effect of treatment with human chorionic gonadotropin on day 5 after timed artificial insemination on fertility of lactating dairy cows. *J.Dairy Sci.*2013;96:2873-2882.

Nephew, K.P., McClure, K.E., Ott, T., Budois, D.H., Bazer, F.W., Pope, W.F. Relationship between variation in conceptus development and differences in estrous cycle duration in ewes. *Biol Reprod.*1991;44:536-539.

Neto, A. C., Sartori, J. G., Ramos, R. S., Bastos, M. R., Rezende, M. L. G., Vieira, L. M., & Baruselli, P. S. Treatment with prostaglandin at the beginning of the protocol in beef cows with CL increases conception rate after FTAI. *Animal Reproduction*, 2015, 12(3), 669-669.

Oguejiofor, C.F., Cheng, Z., Abudureyimu, A., Fouladi-Nashta, A.A., Wathes, D.C. Global transcriptomic profiling of bovine endometrial immune response in vitro. I. Effect of lipopolysaccharide on innate immunity. *Biol Reprod* 2015;93:100.

O'Hara, L., Forde, N., Carter, F., Rizos, D., Maillo, V., Ealy, A.D., et al. Paradoxical effect of supplementary progesterone between day 3 and day 7 on corpus luteum function and conceptus development in cattle. *Reprod Fertil* 2014; 26: 328-36.

O'Hara, L., Forde, N., Duffy, P., Randi, F., Kelly, A.K., Valenza, A., et al. Effect of combined exogenous progesterone with luteotrophic support via equine chorionic gonadotrophin (eCG) on corpus luteum development, circulating progesterone concentrations and embryo development in cattle. *Reprod Fertil Dev* 2014; 369-77.

Okumu, L.A., Forde, N., Fahey, A.G., Fitzpatrick, E., Roche, J.F., Crowe, M.A., et al. The effect of elevated progesterone and pregnancy status on mRNA expression and localisation of progesterone and oestrogen receptors in the bovine uterus. *Reproduction* 2010; 140:143-53.

Paltiel, Y., Eibschitz, I., Ziskind, G., Ohel, G., Silbermann, M., Weichselbaum, A. High progesterone levels and ciliary dysfunction: a possible cause of ectopic pregnancy. *J Assist Reprod Genet* 2000;17:103-6.

Parr, M.H., Crowe, M.A., Lonergan, P., Evans, A.C.O., Rizos, D., Diskin, M.G. Effect of exogenous progesterone supplementation in the early luteal phase post-insemination on pregnancy per artificial insemination in Holstein Friesian cows. *Animal Reproduction Science* 2014;150:7-14.

Paulino, M.F., Figueiredo, D.D., Moraes, E.H.B.K., Porto, M.O., Sales, M.F.S., Acedo, T.S., Villela, S.D.J., Valadares Filho, S.D.C. Suplementação de bovinos em pastagens: uma visão sistêmica. *Simpósio de produção de gado de corte*. 2004; 4: 93-144.

Peres RFG, Claro Júnior I, Sá Filho OG, Nogueira GP, Vasconcelos JLM. Strategies to improve fertility in *Bos indicus* postpubertal heifers and nonlactating cows submitted to fixed-timed artificial insemination. *Theriogenology* 2009; 72: 681-689.

Peres, R.F.G. Relação entre os hormônios metabólicos IGF-1, leptina e GH e eficiência reprodutiva em fêmeas Nelore. 169f. Tese (doutorado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2016.

Perry, G. A., M. F. Smith, M. C. Lucy, J. A. Green, T. E. Parks, M.D. MacNeil, A. J. Roberts, and T. W. Geary. Relationship between follicle size at insemination and pregnancy success. *Proc.Natl. Acad. Sci.*2005;102:5268–5273.

Perry, G.A., Smith, M.F., Roberts, A.J., MacNeil, M.D., Geary, T.W. Relationship between size of the ovulatory follicle and pregnancy success in beef heifers. *J Anim Sci*. 2007;85:684-9

Perry, G. A., Perry, B. L., Krantz, J. H., & Rodgers, J. Influence of inducing luteal regression before a modified fixed-time artificial insemination protocol in postpartum beef cows on pregnancy success. *Journal of animal science*, 2012, 90(2), 489-494.

Peters, A.R., Martinez, T.A., Cook, A.J. A meta-analysis of studies of the effect of GnRH 11–14 days after insemination on pregnancy rates in cattle. *Theriogenology* 2000;54:1317–1326.

Pfeifer, L.F.M., Castro, N.A., Neves, P.M.A., Cestaro, J.P., Siqueira, L.G.B. Development and validation of a objective method for the assessment of body condition scores and

selection of beef cows for timed artificial insemination. *Livestock Science* 2017;197:82-87.

Pugliesi G, Santos FB, Lopes E, Nogueira E, Maio JRG, Binelli M. Improved fertility in suckled beef cows ovulating large follicles or supplemented with long-acting progesterone after timed-AI. *Theriogenology* 2016:1-10.

Pugliesi, G., Oliveira, M.L., Scolari, S.C., Lopes, E., Pinaffi, F.V., Miagawa, B.T., Paiva, Y.N., Maio, J.R.G., Nogueira, G.P., Binelli, M. Corpus luteum development and function after supplementation of long-acting progesterone during the early luteal phase in beef cattle. *Reproduction in domestic animals* 2014;49:85-91.

Randel, R.D. Nutrition and postpartum rebreeding in cattle. *J. Anim. Sci.* 1990; 687:853-862.

Richards, M.W., Spitzer J.C., Warner, M.B. Effect of varying levels of postpartum nutrition and body condition at calving on subsequent reproductive performance in beef cattle. *Journal of Animal Science.* 1986; 62: 300.

Rizkallah, T., Gurside, E., Van deWiele, R.L. Metabolism of hCG in man. *J Clin Endocrinol Metab* 1969;29:92–100.

Rizos, D., Ward, F., Duffy, P., Boland, M.P., Lonergan, P. Consequences of bovine oocyte maturation, fertilization or early embryo development in vitro versus in vivo: implications for blastocyst yield and blastocyst quality. *Mol Reprod Dev* 2002;61:234-48.

Roberts, R. M., J. C. Cross and D. W. Leaman. Interferons as hormones of pregnancy. *Endocrine Rev.* 1992;13:432-452.

Robinson JJ, Ashworth CJ, Rooke JÁ, Mitchell LM, McEvoy TG. Nutrition and fertility in ruminant livestock. *Animal Feed Science and Technology* 2006; 126: 259-276.

Robinson, N.A., Leslie, K.E., Walton, J.S. Effect of treatment with progesterone on pregnancy rate and plasma concentrations of progesterone in Holstein cows. *J Dairy Sci* 1989;72:202-.

Rossetti, R. C., Perdigão, A., Mesquita, F. S., Sá Filho, M., Nogueira, G. D. P., Machado, R., Binelli, M. Effects of flunixin meglumine, recombinant bovine somatotropin and/or human chorionic gonadotropin on pregnancy rates in Nelore cows. *Theriogenology* 2011;76:751-758.

Rutter, L.M., Randel, R.D. Luteal competency during the resumption of ovarian cyclicity in postpartum Brahman cows. *Theriogenology* 1984; 21: 713.

Sá Filho, M.F., Crespilho, A.M., Santos, J.E., Perry, G.A., Baruselli, P.S. Ovarian follicle diameter at timed insemination and estrous response influence likelihood of ovulation and pregnancy after estrous synchronization with progesterone or progestin-based protocols in suckled *Bos indicus* cows. *Animal Reproduction Science*. 2010; 120: 23-30.

Sá Filho, M.F., Meneghetti, M., Peres, R.F.G., Lamb, G.C., Vasconcelos, J.L.M. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows II: Strategies and factors affecting fertility. *Theriogenology* 2009; 72: 210-218.

Sá Filho, M.F., Penteado, L., Reis, E.L., Reis, T.A., Galvão, K.N., Baruselli, P.S. Timed artificial insemination early in the breeding season improves the reproductive performance of suckled beef cows. *Theriogenology* 2013;79:625-32.

Sá Filho, O.G., Efeitos de tratamentos com progesterona e/ou estradiol na incidência de regressão prematura do corpo lúteo após a primeira ovulação em vacas Nelore pós-parto. 120f. Dissertação (Mestrado) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulist, Botucatu. 2006.

Sales J.N., Crepaldi, G.A., Girotto, R.W., Souza, A.H., Baruselli, P.S. Fixed-time AI protocols replacing eCG with a single dose of FSH were less effective in stimulating follicular growth, ovulation, and fertility in suckled-anestrus Nelore beef cows. *Animal Reproduction Science*. 2011; 124: 12-18

Sales JNS, Carvalho JBP, Crepaldi GA, Cipriano RS, Jacomini JO, Maio JRG, Souza JC, Nogueira GP, Baruselli PS. Effects of two estradiol esters (benzoate and cypionate) on the induction of synchronized ovulation in *Bos indicus* cows submitted to a timed artificial insemination protocol. *Theriogenology* 2012;78:510-516.

Samadi F, Phillips NJ, Blache D, Martin GB, D'Occhio MJ. Interrelationships of nutrition, metabolic hormones and resumption of ovulation in multiparous suckled beef cows on subtropical pastures. *Animal Reproduction Science*. 2013; 137: 137-144.

Sampaio, P.C., Alves, N.G., Souza, J.C., Sales, J.N., Carvalho, R.J., Lima, R.R., Teixeira, A.A., Nogueira, G.P., Ascari, I.J. Comparative efficacy of exogenous eCG and progesterone on endogenous progesterone and pregnancy in Holstein cows submitted to timed artificial insemination. *Anim Reprod Sci*. 2015;162:88-94.

Sartori, R., Sartor-Bergfelt, R., Mertens, S.A., Guenther, J.N., Parrish, J.J., Wiltbank, M.C. Fertilization cows in summer and lactating and dry cows in Winter. *J Dairy Sci* 2002;85:2803-12.

Schmitt, E. J., Barros, C. M., Fields, P. A., Fields, M. J., Diaz, T., Kluge, J. M., and Thatcher, W.W. A cellular and endocrine characterization of the original and induced corpus luteum after administration of a gonadotrophin-releasing hormone agonist or human chorionic gonadotrophin on Day 5 of the oestrous cycle. *J. Anim. Sci*. 1996;74(8):1915–1929.

Short, E. C., R. D. Geisert, S. D. Helmer, M. T. Zavy and R. W. Fulton. Expression of antiviral activity and induction of 2',5' oligoadenylate synthetase by conceptus secretory proteins enriched in bovine trophoblast protein-1. *Biol. Reprod*. 1991;44:261-268.

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. *J. Anim. Sci*. 1990; 68: 799-816.

Silveira, D.D., Souza, F.R.P., Brauner, C.C., Ayres, D.R., Silveira, F.A., Dionello, N.J., Boligon, A.A. Body condition score of Nelore cows and its relation with mature size and gestation length. *Liv. Sci*. 2015; 175: 10-17.

Simmons, R. M., M. C. Satterfield, T. H. Welsh, F. W. Bazer and T. E. Spencer. HSD11B1, HSD11B2, PTGS2 and NR3C1 expression in the peri-implantation ovine uterus: effects of pregnancy, progesterone and interferon tau. *Biol. Reprod*. 2010;82:35-43.

Souza, A.H., Viechnieski, S., Lima, F.A., Silva., F.F., Araujo, R., Bo, 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*. 2009; 72: 10-21.

Souza, E.D.F. Efeito da progesterona injetável de longa ação na função luteínica e na taxa de concepção de vacas Holandesas de alta produção submetidas à IATF. 68 f. Dissertação (mestrado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Reprodução Animal, São Paulo, 2015.

Spencer, T.E., Forde, N., Lonergan, P. The role of progesterone and conceptus-derived factors in uterine biology during early pregnancy in ruminants. *J Dairy Sci* 2015.

Spencer, T. Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy. *Anim Reprod Sci* 2004;15:1-15.

Spencer, T.E., Johnson, G.A., Bazer, F.W., Burghart, R.C., Palmarini, M. Pregnancy recognition and conceptus implantation in domestic ruminants: roles of progesterone, interferons and endogenous retrovirus. *Reprod Fertil Dev* 2007; 19:65-78.

Sponchiado, M., Gomes, N.S., Fontes, P.K., Silva, M.I.S., Martins, T., Pugliesi, G., Collado, M.D., Pastore, A.A., Nogueira, M.F.G., Binelli, M. O embrião bovino modula a função do endométrio 7 dias após o estro in vivo. Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões, 2016 Foz do Iguaçu. Anais Foz do Iguaçu: SBTE, 2016.

Stagg, K., Diskin, M.G., Sreenan, J.M., Roche, J.F. Follicular development in long-term anoestrous suckler beef cows fed two levels of energy postpartum. *Animal Reproduction Science*. 1995; 38: 49-61.

Stagg, K., Spicer, L.J., Sreenan, J.M., Roche, J.F., Diskin, M.G. Effect of calf isolation on follicular wave dynamics, gonadotrophin, and metabolic hormone changes, and interval to first ovulation in beef cows fed either of two energy levels postpartum. *Biol Reprod*. 1998; 59: 777-783.

Stenman, U.H., Tiitinen, A., Alfthan, H., Valmu, L. The classification, functions and clinical use of different isoforms of HCG. *Hum Reprod Update* 2006;12:769–84.

Stevenson, J.S., Mee, M.O. Pregnancy rates of Holstein cows after postinsemination treatment with a progesterone-releasing intravaginal device. *J Dairy Sci* 1991;74:3849-56.

Stronge, A.J., J.M. Sreenan, M.G. Diskin, J.F. Mee, D.A. Kenny, and D.G. Morris. Post-insemination milk progesterone concentration and embryo survival in dairy cows. *Theriogenology* 2005;64(5):1212–1224.

Teixeira, F.A., Bonomo, P., Pires, A.J.V., Silva, F.F., Fries, D.D., Hora, D.S. Produção anual e qualidade de pastagem de *Brachiaria decumbens* diferida e estratégias de adubação nitrogenada. *Acta Scientiarum* 2011; 33: 241-248.

Thatcher, W.W., Meyer, M.D., Danet-Desnoyers, G. Maternal recognition of pregnancy. *J. Reprod. Fertility*. 1985;49:15-28.

Torres, J.R., Penteado Jr, L., Sales, J.N., Sá Filho, M.F., Ayres, H., Baruselli, P.S. A comparison of two different esters of estradiol for the induction of ovulation in na estradiol plus progestin-based timed artificial insemination protocol of suckled *Bos indicus* beef cows. *Animal Reproduction Science*. 2014; 151: 9-14.

Townson, D.H., Tsang, P.C., Butler, W.R., Frajblat, M., Griel Jr, L.C., Johnson, C.J., et al. Relationship of fertility to ovarian follicular waves before breeding in dairy cows. *J Anim Sci*. 2002;80:1053-8.

Van Cleeff, J., Drost, M., Thatcher, W.W. Effects of postinsemination progesterone supplementation on fertility and subsequent estrous responses of dairy heifers. *Theriogenolgy* 1991;36:795-807.

Van Cleeff, J., Macmillan, K.L., Drost, M., Lucy, MC., Thatcher, W.W. Effects of administering progesterone at selected intervals after insemination of synchronized heifers on pregnancy rates and resynchronization of returns to service. *Theriogenology* 1996;46:1117-30.

Vanroose G, de Kruif A, Van Soom A. Embryonic mortality and embryo pathogen interactions. *Anim Reprod Sci.*2000;60-61:131-43.

Vasconcelos, J. L., R. Sartori, H. N. Oliveira, J. G. Guenther, and M. C. Wiltbank. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. *Theriogenology* 2001;56:307–314

Vasconcelos, J.L.R., Silcox, R.W., Rosa, G.J.M., Pursley, J.R., Wiltbank, M.C. Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows. *Theriogenology* 1999;52:1067-78.

Venetis,C.A., Kolibianakis, E.M., Bosdou, J.K., Tarlatzis, B.C. Progesterone elevation and probability of pregnancy cycles after ivf: a systematic review and meta-analysis of over 60000 cycles. *Hum Reprod Update* 2013;19:433-457.

Walker, C.G., Meier, S., Hussein, H., McDougall, S., Burke, C.R., Roche, J.R., Mitchell, M.D. Modulation of the immune system during postpartum uterine inflammation. *Physiol Genomics* 2015;47:89-101.

Wettemann, R. P., & Bossis, I. Energy Intake Regulates Ovarian Function in Beef Cattle1. *Journal of Animal Science*, 2000;7:1-10.

Willard, S., Gandy, S., Bowers, S., Graves, K., Elias, A., Whisnant, C. The effects of GnRH administration post insemination on serum concentrations of progesterone and pregnancy rates in dairy cattle exposed to mild summer heat stress. *Theriogenology* 2003;59:1799–1810.

Wiltbank, J.N., Rowden, W.W., Ingalls, J.E., Gregory, K.E., Koch, R.M. Effect of energy level on reproductive phenomena of mature Hereford cows. *Journal of Animal Science*. 1962; 21: 219.

Wiltbank, M.C., Gumen, A., Sartori, R. Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. *Theriogenology*. 2002; 57: 21-52.

Yan, L., Robinson, R., Shi, Z., Mann, G. Efficacy of progesterone supplementation during early pregnancy in cows: A meta-analysis. *Theriogenology* 2016;85:1390-1398.

Yavas, Y., Walton, J.S. Induction of ovulation in postpartum suckled beef cows: a review. *Theriogenology*. 2000b ; 54: 1-23.

Yavas, Y., Walton, J.S. Postpartum acyclicity in suckled beef cows: a review. *Theriogenology*. 2000a; 54: 25-55.