



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS  
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE ARAGUAÍNA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANIDADE ANIMAL E SAÚDE  
PÚBLICA NOS TRÓPICOS**

**FELIPE SESANA MOREIRA**

**ESTRATÉGIAS ANTI-LUTEÍNICAS SOBRE A FERTILIDADE DE NOVILHAS DE  
CORTE**

**ARAGUAÍNA/TO**

**2018**

**FELIPE SESANA MOREIRA**

**ESTRATÉGIAS ANTI-LUTEÍNICAS SOBRE A FERTILIDADE DE NOVILHAS DE CORTE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos (PPGSaspt), da Universidade Federal do Tocantins, como requisito parcial para obtenção do título de *Mestre* em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos.

**Área de Concentração:** Fisiopatologia e Biotecnologia da Reprodução Animal

**Linha de Pesquisa:** Biotecnologias da Reprodução e Fatores Genéticos e/ou Ambientais que Interferem no Desempenho Animal.

**Orientador:** Prof. Dr. Jorge Luís Ferreira

**Comitê de Co-orientação:**

Dr. Fernando Brito Lopes

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Clarissa Amorim Silva de Córdova

**ARAGUAÍNA/TO**

**2018**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**  
**Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins**

---

- M838c Moreira, Felipe Sesana.  
ESTRATÉGIAS ANTI-LUTEÍNICAS SOBRE A FERTILIDADE DE  
NOVILHAS DE CORTE. / Felipe Sesana Moreira. – Araguaína, TO, 2018.  
56 f.
- Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do Tocantins  
– Câmpus Universitário de Araguaína - Curso de Pós-Graduação (Mestrado)  
em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos, 2018.
- Orientador: Jorge Luis Ferreira  
Coorientadora : Clarissa Amorim Silva de Córdova
1. Novilhas;. 2. progesterona exógena; .3. Taxa de gestação. 4. Via de  
administração. I. Título

**CDD 636.089**

---

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer  
forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte.  
A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184  
do Código Penal.

**Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os  
dados fornecidos pelo(a) autor(a).**

FELIPE SESANA MOREIRA

ESTRATÉGIAS ANTI-LUTEÍNICAS SOBRE A FERTILIDADE DE NOVILHAS  
DE CORTE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos (PPGSaspt), da Universidade Federal do Tocantins, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos.

Orientador: Prof. Dr. Jorge Luis Ferreira  
Co-orientadores: Dr. Fernando Brito Lopes  
Profª. Drª. Clarissa Amorim Silva de Córdova

Aprovado em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Banca Examinadora

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Jorge Luis Ferreira  
Orientador

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Pedro Alves de Moura Sobrinho  
Examinador externo

  
\_\_\_\_\_  
Profª. Drª. Clarissa Amorim Silva de Córdova  
Examinador interno

## AGRADECIMENTOS

À Deus minha eterna gratidão.

Àos meus filhos Nara Pabline e Luiz Felipe dedico todo meu amor e compaixão, qualquer batalha e destino os levo em meu coração.

Ao meu amado Pai, Flávio Moreira (*in memoriam*), dedico toda a minha construção, evolução e formação. Obrigado por tudo meu velho, seus ensinamentos ecoam no meu trilhar.

À minha amada mãe, Martha Sesana, eu agradeço pela paciência e compreensão, partilhando sempre comigo todos os meus obstáculos e dividindo as minhas emoções.

À minha irmã, Ana Clara Sesana eu agradeço pela compaixão e participação da minha formação, deixando a mensagem que a superação é uma eterna construção.

Ao meu orientador, Jorge Luís Ferreira sempre ficará a minha emoção em forma de gratidão, ao escultor de toda essa obra eu desejo eternamente felicidade, obrigado Jorge por tudo.

A toda Universidade Federal do Tocantins, em especial a Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Clarissa Amorim Silva Córdova agradeço pelos preciosos ensinamentos, paciência e amizade nesses anos todos de convívio.

A todas as pessoas que trilham comigo essa caminhada e que alimentam meus sonhos.

*O meu sincero muito obrigado!*

*"Todo aquele que se dedica ao estudo da ciência chega a convencer-se de que nas leis do Universo se manifesta um Espírito sumamente superior ao do homem, e perante o qual nós, com os nossos poderes limitados, devemos humilhar-nos."*

*Albert Einstein*

Ao longo da caminhada devemos sempre atuar e sonhar, planejar e crer. A mudança representa nossa evolução, sempre repense e mude. Mas, mude devagar, porque a direção é mais importante que a velocidade.

*Dedico esta vitória a ti meu amado pai.*

## RESUMO

O presente trabalho tem como objetivo avaliar a eficiência do uso de progesterona exógena, sob duas vias de administração, intramuscular e oral, sobre a taxa de prenhez de novilhas bovinas após protocolo de IATF. Utilizou-se quarenta e cinco novilhas Nelores, com idade média de trinta meses e peso médio de onze arrobas. Os animais foram distribuídos aleatoriamente em três grupos e colocados em sistema de pastejo extensivo com suplementação de sal mineral, sendo cada grupo constituído de 15 animais. Sendo G1: grupo controle, sem administração de progesterona exógena; G2: recebendo no 4º dia pós-inseminação, por via intramuscular 1,0 mL de progesterona injetável (Sincrogest® Injetável, Ourofino); e G3: a partir do 4º dia pós-protocolo de IA receberam progesterona (MGA®, Zoetis) na dosagem de 2,28 mg/animal/dia, durante seis dias consecutivos adicionada a suplementação mineral protéica com fontes energéticas (Phós verão –Acabamento – Matsuda). Todos os grupos receberam implantes auriculares (Crestar®; MSD) juntamente com 2,0 ml (2,0mg) de Ferticare Sincronização (Benzoato de estradiol; MSD) intramuscular no dia zero (D0). No dia oito (D8) foi efetuada a retirada dos implantes auriculares e realizada a administração de 2,0 ml de Ciosin® (Prostaglandina sintética; MSD), 1,5ml de Folligon® 5000 UI (ecG; MSD) e 1,0 ml de Ferticare Ovulação (Cipionato de estradiol; MSD) todos por via intramuscular. No Dia dez (D10) as vacas foram inseminadas em tempo fixo (IATF) e o diâmetro do folículo pré-ovulatório foi mensurado por ultrassonografia transretal (Modelo MINDRY DP-2200 VET, com transdutor linear de 10 Mhz). O diagnóstico gestacional foi realizado aos 35 pós-IATF através de ultrassonografia transretal. Os dados foram analisados através do procedimento ONE PARWAY do software SAS, e as médias comparadas através do teste de Kruskal-Wallis. Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos experimentais, tendo o G3 maior taxa de prenhez. O diâmetro folicular, a presença de cio, e adição de progesterona exógena não exerceram influencia positiva sobre a taxa de concepção de novilhas Nelore durante o período seco.

**Palavras-chave:** Novilhas; progesterona exógena; taxa de gestação.

## ABSTRACT

This study was carried out to evaluate the effects of progesterone (P4) supplementation after fixed-time artificial insemination (AI) through two different routes of administration (oral and intramuscular) on pregnancy rate of Nellore heifers. Forty-five Nellore heifers were used averaging months ( $30 \pm 2.08$ ) of age, ( $330 \pm 0.707$ ) kg BW and 2.5 BCS (five-point scale) at the beginning of the experiment. Heifers were randomly assigned to three experimental groups of fifteen animals each and maintained on an extensive grazing system (Andropogon pasture) with mineral supplementation and water *ad libitum*. Experimental groups (treatments) included: group 1 (control group) (no exogenous P4 administration (G1)); group 2: intramuscular (IM) administration of 1.0 mL P4 (Sincrogest injectable; OuroFino) on day 4 after AI (G2); and group 3: supplementation of 2.28 mg/animal/day P4 (melengestrol acetate MGA; Zoetis), starting 4 days after AI and remaining until day 9 (d 4 – d 9). Progesterone (MGA) was incorporated to the mineral-protein energy supplement (Phósverão–Acabamento–Matsuda) and offered to the animals (G3), daily in the morning. All animals were submitted to the following fixed-time AI protocol: On d zero, an ear implant of P4 was placed (Crestar, MSD) and 2 mg estradiol benzoate (EB, Fertilcare Sincronização, MSD) was administered IM. Eight days later (d 8), the ear implant was removed and 2 ml of synthetic prostaglandin (Ciosin, MSD), 1.5 ml ecG (Folligon 5000 UI, MSD) and 1 ml estradiol cypionate (Fertilcare Ovulação, MSD) were administered IM. On d 10 of the protocol, AI was performed and the diameter of preovulatory follicles were measured by transrectal ultrasonography. Pregnancy diagnosis was performed thirty-five days after-AI. Estrus expression was evaluated by tail-painting of each cow on d 8 of the protocol, and evaluating the presence of paint at AI. Statistical analyses were performed using the ONE PARWAY procedure of SAS. The Kruskal-Wallis test was used to check for significant differences among treatments. There was no significant difference on pregnancy rate among experimental groups. Supplementation of P4 from d 4 to d 9 after AI, through oral administration, resulted in numerically higher percentage of pregnant animals (G3) compared to IMP4 administration (G2) and no P4 administration (G1). Both diameter of dominant follicle and the estrus expression showed no positive effect on conception rate in Nellore heifers during the dry season.

**Keywords:** Exogenous progesterone; pregnancy rate; progesterone supplementation; reproduction performance, routes of administration.

**LISTA DE ILUSTRAÇÕES**

Figura 1 - Esquema de Dinâmica folicular ovariana em bovinos .....	14
Figura 2 - Esquema do Eixo hipotalâmico hipofisário gonadal .....	16
Figura 3 - Scarterplot for the effects of body weight and size of pre-ovulatory follicles on pregnancy rate of Nellore heifers .....	37

**LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 - Pregnancy rate (%) in Nellore heifers receiving or not progesterone supplementation after fixed-time artificial insemination according to ovarian follicle diameter at timed insemination .....	35
Tabela 2 - Pregnancy rate in Nellore heifers receiving progesterone supplementation after fixed-time artificial insemination.....	38

## SUMÁRIO

<b>1 Introdução</b> .....	11
<b>2 Considerações Iniciais</b> .....	13
2.1 Fisiologia do ciclo estral e dinâmica folicular ovariana em fêmeas bovinas ...	13
2.2 Controle do ciclo estral .....	15
2.2.1 Progestágenos .....	16
2.2.2 Estrógenos .....	17
2.2.3 Prostaglandinas (PGF <sub>2</sub> α).....	18
2.2.4 Hormônio Liberador de Gonadotrofinas (GnRH) .....	19
2.2.5 Biotecnologias reprodutivas como forma de controle do ciclo estral –IATF..	20
2.2.6 Progesterona (P4) após IATF .....	21
2.2.7 Indicadores de fertilidade em fêmeas bovinas .....	23
2.2.8 Presença de corpo lúteo (CL).....	24
2.2.9 Índice de escore de condição corporal (IEC).....	25
2.2.10 Expressão de estro .....	26
2.2.11 Diâmetro do folículo pré-ovulatório.....	27
Referências Bibliográficas.....	29
<b>3. Artigo: Post-insemination progesterone supplementation (oral and intramuscular on reproductive performance of Nellore heifers</b> .....	38
3.1. Abstract .....	38
3.2. Introduction.....	40
3.3. Material and Methods.....	42
3.4. Results and Discussion .....	43
References .....	50
<b>4. Considerações Finais e Implicações</b> .....	55

## 1. Introdução

O Brasil figura atualmente como um dos principais atores na produção e comércio de carne bovina no mundo, reflexo de um estruturado processo de desenvolvimento que elevou não só a produtividade como também a qualidade do produto brasileiro e, conseqüentemente sua competitividade e abrangência de mercado. No ano de 2015, o Brasil se posicionou como o maior rebanho bovino (209 milhões de cabeças), o segundo maior consumidor (38,6 kg/habitante/ano) e o segundo maior exportador (1,9 milhões toneladas equivalente carcaça) de carne bovina do mundo, tendo abatido mais de 39 milhões de cabeças (GOMES, FEIJÓ, CHIARI, 2017).

O perfil dos mercados e dos consumidores está cada vez mais exigente, e a busca por um produto de qualidade e segurança, tem feito que a pecuária de corte esteja sempre em busca de novas estratégias de manejo e reprodutivas que venham permitir um maior retorno econômico da atividade. Segundo Baldi et al. (2008), a rentabilidade está diretamente relacionada à eficiência reprodutiva do rebanho. Assim, a busca por estratégias reprodutivas que garantam maior retorno econômico e eficiência produtiva é constante.

A eficiência reprodutiva é fundamental para o sistema de produção de bovinos, que apresentam ciclo reprodutivo longo, com um descendente a cada parto. Uma boa eficiência reprodutiva, seja pelo acasalamento ou pela inseminação artificial, permite maior vida útil dos animais e mais nascimentos de bezerros. Dessa forma a utilização de biotecnologias reprodutivas vem ganhando destaque no cenário nacional, principalmente pela praticidade, obtenção de ganho genético rápido e aumento da eficiência reprodutiva dos rebanhos comerciais. Apesar da tecnologia dos protocolos reprodutivos estar bem compreendida e difundida, os índices de fertilidade ainda apresentam grandes variações. Vários são os fatores que interferem no sucesso da fertilidade e prenhez dos animais, como nutrição, saúde, manejo, escore corporal, níveis hormonais, entre outros, que ainda necessitam de maiores estudos e domínio nos rebanhos.

Um dos principais limitantes no sucesso desses protocolos está no reduzido reconhecimento materno da gestação e conseqüente implantação do embrião. A maioria da perda embrionária, em bovinos de corte, ocorre nas primeiras semanas depois da concepção (Lonergan et al. 2016). A maioria desses embriões é perdida

entre a fecundação e o reconhecimento materno da gestação, que em bovinos ocorre ao redor do 16º dia pós-acasalamento (Diskin & Morris, 2008; Wiltbank et al. 2016).

Diante ao exposto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência do uso de progesterona exógena (natural e sintética), sob duas vias de administração, sobre a taxa de prenhez de novilhas bovinas após protocolo de IATF.

## 2 Capítulo I. Considerações Iniciais

### 2.1 Fisiologia do ciclo estral e dinâmica folicular ovariana em fêmeas bovinas

Define-se ciclo estral como sendo o período entre dois estros consecutivos. As fêmeas bovinas são categorizadas em poliéstricas anuais, ou seja, apresentam ciclo estral o ano inteiro (HAFEZ e HAFEZ, 2004). Durante esse período, ocorre uma série de modificações cíclicas na fisiologia e morfologia dos órgãos reprodutivos, bem como no perfil dos hormônios relacionados (FERREIRA, 2010).

O ciclo estral das fêmeas bovinas tem duração média de 21 dias, podendo variar entre 16 a 25 dias, essa variação vai depender do número de ondas foliculares que se desenvolvem durante esse período, normalmente ocorrem duas a três ondas, podendo apresentar até quatro ondas de desenvolvimento folicular (SIROIES e FORTUNE, 1988; ALVES et al., 2002). No entanto, esse número de ondas foliculares pode ser modificado por inúmeros fatores, dentre eles: estação do ano (WOLFENSON et al, 1995), dieta consumida (MURPHY et al, 1991; LUCY et al, 1992), ordem de parição, estágio de lactação e uso de somatotropina bovina recombinante (LUCY et al, 1992).

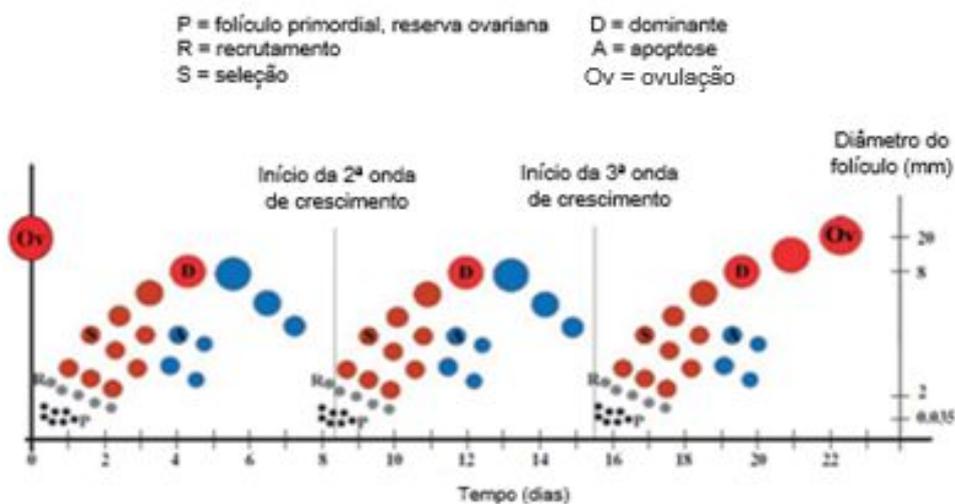
O ciclo estral dos bovinos é dividido em duas fases distintas. Sendo a primeira denominada de fase folicular, que se inicia com a regressão do corpo lúteo e prolonga-se até a ovulação. A segunda fase é caracterizada por intensa atividade do corpo lúteo (CL) e período de produção de progesterona (P4), denominada de fase luteínica (COULSON; IRELAND; MURPHY, 1980; HAFEZ e HAFEZ, 1995).

Segundo Peter et al., 2009, a fase folicular é caracterizada por altas concentrações de estrógeno (E2) produzido pelo folículo dominante, início da luteólise e final do momento da ovulação, compreendendo em média do 17º ao 21º dia do ciclo estral. Nessa fase predomina o proestro, com duração média de três dias, início após a regressão do CL e término com o aparecimento do estro, que possui duração de 14 horas em média.

A fase luteínica é considerada a etapa mais longa do ciclo estral, sendo marcada por alta concentração sanguínea de P4, estendendo-se da ovulação (dia "0" do ciclo estral), até a luteólise, que ocorre aproximadamente no 16º dia. Com predominância dos estágios de metaestro, conhecido como período pós-ovulatório com início do desenvolvimento do CL, duração média de dois a três dias, e o estágio

de diestro, em que se observa um corpo lúteo já maduro, produzindo níveis significantes de P4 com duração em média de 13 a 15 dias (SENGER, 2003).

Relembrando a fisiologia da dinâmica folicular ovariana para entender melhor todo o processo (Figura 1). A foliculogênese ovariana possui, em média, três ondas de crescimento folicular nas vacas de corte e duas ondas nas vacas de leite de alta produção. Em geral, os processos que levam ao desenvolvimento de um grupo de folículos ovulatórios variam com a espécie. Inicialmente, ocorre o recrutamento, no qual um grupo de folículos começa a se desenvolver, estes culminam num folículo pré-ovulatório, após passar pelo estágio de seleção folicular. Tal grupo de folículos se torna dominante e continua o seu crescimento até que ocorra a ovulação, enquanto o restante dos folículos passa por atresia. Esse padrão de desenvolvimento do folículo dominante, também ocorre durante a fase luteal do ciclo estral, na qual ele entra em atresia em vez de ser ovulado, em função da presença do corpo lúteo hormonalmente ativo.



**Figura 1.** Esquema de Dinâmica folicular ovariana em bovinos. Fonte: AERTS e BOLS, 2010 (adaptada)

O folículo dominante, do ponto de vista funcional, tem a habilidade de inibir o desenvolvimento dos folículos menores, também chamados de subordinados (FORTUNE et al., 1991). Resumidamente, dinâmica folicular é o processo contínuo de crescimento e regressão dos folículos, que cessa com o desenvolvimento do folículo ovulatório (LUCY et al., 1992).

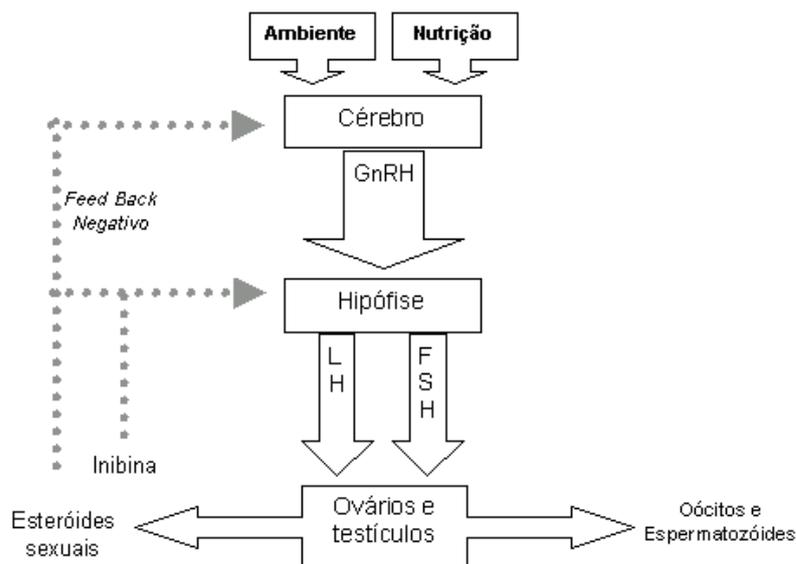
O recrutamento é um evento dependente de gonadotrofinas, durante o qual um grupo de folículos adquire habilidade para respondê-las e depende delas para o crescimento contínuo. Nessa fase de crescimento folicular, os receptores de FSH estão predominantemente localizados nas células da granulosa, enquanto os de LH nas células da teca. A seleção é um processo no qual apenas poucos folículos recrutados são selecionados.

Nas fêmeas bovinas, a seleção se define como o momento pelo qual um folículo estrogenicamente ativo promove seu próprio crescimento e inibe o crescimento dos outros subordinados. Fatores inerentes ao tamanho, à concentração de E2, P4, IGF-I, IGFBP e inibina, no interior do folículo, podem ser importantes para estabelecer qual será o folículo dominante. O folículo dominante tornar-se-á ovulatório se a luteólise ocorrer durante a fase de crescimento ou no início da fase estática, quando está livre da restrição hormonal imposta pelo corpo lúteo (P4) sobre o eixo hipotalâmico-Hipofisário (FORTUNE et al., 1991, 1994).

Conhecer a dinâmica folicular, através do comportamento das ondas de crescimento dos folículos, favorece a execução de programas de superovulação, sincronização do estro e da ovulação, melhorando assim o desempenho reprodutivo dos animais (SILVA et al., 2001).

## **2.2 Controle do ciclo estral**

O ciclo estral é regulado por mecanismos endócrinos e neuroendócrinos, principalmente os hormônios hipotalâmicos (GnRH), as gonadotrofinas (FSH e LH) e os esteroides (E2 e P4) secretados pelo ovário (Figura 2). A regulação da secreção das gonadotrofinas durante o ciclo estral requer um delicado balanceamento entre complexas interações hormonais. O GnRH é produzido pelo hipotálamo, e regula a liberação das gonadotrofinas FSH e LH, produzidos pela glândula pituitária anterior, estes são responsáveis pelo desenvolvimento folicular e ovulação, respectivamente. Os hormônios E2 e P4 são produzidos pelas estruturas ovarianas (folículo e corpo lúteo, respectivamente) e estão ligados à manifestação do cio e manutenção da gestação (HAFEZ & HAFEZ, 2004).



**Figura 2.** Esquema do Eixo hipotalâmico hipofisário gonadal. Fonte: BeefPoint, 2003.

Quando esses mecanismos fisiológicos falham ou não são suficientes para realizar o controle do ciclo estral, temos a opção de realizar o controle farmacológico através da administração exógena de hormônios e métodos artificiais de controle, por meio das biotecnologias aplicadas a reprodução como a Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF), Transferência de Embrião (TE) e a Inseminação Artificial (IA).

### 2.2.1 Progestágenos

A progesterona (P4) é um hormônio esteroide, lipossolúvel e derivada do colesterol (SWENSON e REECE, 1996). Sintetizada no ovário pelo corpo lúteo, pela placenta e córtex da glândula adrenal, a partir do colesterol circulante. Atua como precursora dos estrogênios, androgênios e esteroides do córtex da adrenal, está relacionada com o processo da ovulação, estabelecimento e manutenção da prenhez (LEONARDT e EDWARDS, 2002; KATZUNG, 2003).

Uma fonte exógena de progesterona ou um progestágeno sintético funcionam como um corpo lúteo artificial, exercendo assim um efeito de "feedback" negativo sobre o eixo hipotalâmico-hipofisário e suprimindo a atividade cíclica. Quando removida, há um retorno ao estro e retomada desta atividade (NOAKES, 1991).

As concentrações circulantes de P4 durante o ciclo estral regulam a secreção do GnRH pelo hipotálamo e das gonadotrofinas (LH e FSH) pela hipófise anterior

(SCHALLENBERGER et al, 1985; RAHE et al, 1986; SAVIO et al, 1993; GONG et al, 1995; KINDER et al, 1996). Altas concentrações deste composto, resultam em redução da atividade do centro pulsátil do LH.

No entanto, na presença de baixas concentrações de P4, após a luteólise por exemplo, a frequência de pulsos de LH aumenta (RAHE et al, 1980). Após a luteólise, quando as concentrações de P4 estão baixas, a maior pulsatilidade de LH estimula o crescimento do folículo dominante, o aumento da produção de estradiol e a ocorrência de estro e ovulação (TAFT et al, 1996). Em contrapartida, durante os períodos de altas concentrações de P4, a baixa frequência de pulsos de LH deixa de sustentar o crescimento folicular, resultando em atresia do folículo dominante (ADAMS et al, 1992).

Kinder et al., (1996) chegaram à conclusão de que a P4 tem efeito dose-dependente sobre a secreção de LH. Quando o período de exposição a concentrações subluteais de P4 é muito prolongado, folículos persistentes se desenvolvem, com drástica redução da fertilidade.

Nos anos 50, diversos progestágenos ativos por via oral foram sintetizados, mas somente na década de 60 é que passaram a ser empregados na sincronização de estro de bovinos. Tratamento com progestágenos por períodos prolongados sincronizam o estro com precisão, porém, as inseminações após o estro sincronizado resultaram em baixa taxa de prenhez (BARROS et al., 2000). Segundo Odde (1990) a progesterona, assim como os progestágenos atuam suprimindo o estro e a ovulação, porém, causam um cio de baixa fertilidade quando em tratamentos prolongados, acima de 14 dias, por isso deve-se associar ao protocolo um agente luteolítico para possibilitar o encurtamento do período de tratamento e evitar problemas futuros por superdosagem hormonal.

### **2.2.2 Estrógenos**

Os estrógenos apresentam inúmeras funções fisiológicas, que nas fêmeas estão incluídas ações neuroendócrinas envolvidas no controle da ovulação, preparo cíclico do trato reprodutor para fertilização e implantação do óvulo deixando assim sua grande contribuição para as características sexuais da fêmea (WILLIANS e STANCEL, 1996; HAFEZ e HAFEZ, 2004).

O estradiol e seus ésteres são amplamente utilizados para promover o controle farmacológico do ciclo estral em fêmeas bovinas, uma vez que na ausência de P4, a administração de E2 pode estimular a liberação de GnRH/LH e promover a ovulação do folículo dominante (MOENTER et al., 1990). Os estrógenos mais utilizados com esta finalidade são o 17 $\beta$ -estradiol e os ésteres de estradiol, como o Benzoato de estradiol (BE) e o Cipionato de estradiol (CE). O 17 $\beta$ -estradiol apresenta meia-vida menor do que o BE, e CE. O CE e outros tipos de estradiol, como o BE e o 17 $\beta$ -estradiol, têm sido bastante utilizados como substitutos ao tratamento com GnRH para induzir a ovulação sincronizada em protocolos de IATF (CREPALDI, 2009).

A aplicação de BE associado a um progestágeno, induz eficientemente o surgimento de uma nova onda folicular no período entre o 4<sup>o</sup> e 5<sup>o</sup> dia após o tratamento, independentemente do tamanho folicular no início do teste. Já a utilização do Cipionato de estradiol (CE) provoca a regressão folicular, no entanto, a meia-vida longa desse fármaco resulta numa emergência da onda folicular em um intervalo de tempo mais prolongado do que a originada por fármacos de ação mais curta, temos como exemplo o BE, como fármaco de ação mais curta (PEREIRA, 2009).

### **2.2.3 Prostaglandinas (PGF $2\alpha$ )**

As prostaglandinas endógenas fazem parte de um grupo de compostos denominados eicosanoides, derivados do ácido araquidônico, que são produzidos em praticamente todos os tecidos animais, exercendo diversas funções (WEEMS et al., 2006; FERNANDES e FIGUEIREDO, 2007; RICCIOTTI e FITZGERALD, 2011). A ação mais associada às prostaglandinas é a indução de contrações ou relaxamento das células musculares lisas em diversos órgãos (FERNANDES e FIGUEIREDO, 2007), sendo que a propriedade terapêutica mais utilizada em medicina veterinária é a capacidade de algumas prostaglandinas da série F provocarem a luteólise (TSAI e WILTBANK, 1997), causando a regressão morfológica e funcional do CL (KOTWICA et al., 2002). Assim, na década de 70 vários compostos análogos à PGF $2\alpha$  natural foram sintetizados, como o Cloprostenol e Dinoprost (COOPER & FURR, 1974).

Posteriormente descobriu-se que o corpo lúteo só é responsivo à ação da PGF entre os dias 5<sup>o</sup> e 17<sup>o</sup> do ciclo estral, a partir daí se inicia a regressão luteal espontânea pela ação da PGF endógena (ODDE, 1990; LARSON, 1992). Essa descoberta resultou em melhores taxas de ovulação, pois somente após a regressão luteal, o folículo dominante presente no ovário adquire capacidade ovulatória (KASTELIC et al., 1990). Estudos recentes demonstraram que a PGF está ligada diretamente à ovulação em novilhas e vacas, atuando por meio de um mecanismo independente da luteólise (PFEIFER et al., 2009; 2014; LEONARDI et al., 2012). Entretanto, o mecanismo pelo qual a PGF atua ainda não foi totalmente elucidado, sendo que diversos estudos têm buscado compreender como ocorre a indução da ovulação pela PGF (MURDOCH et al., 1993; RANDEL et al., 1996; NAOR et al., 2007; FORTUNE et al., 2009).

Além disso, quando utilizada em protocolos de sincronização de ovulação, associada à utilização de progestágenos, a PGF pode potencializar os efeitos da progesterona exógena após a remoção do progestágeno (PFEIFER et al., 2009), aumentando, assim, a capacidade de resposta da hipófise ao GnRH (RANDEL et al., 1996) e induzindo a ovulação. De acordo com Weems et al. (2006), a PGF exerce um efeito direto sobre a hipófise anterior para aumentar essa capacidade de resposta da hipófise, resultando, assim, na maior liberação de LH (RANDEL et al., 1996). Entretanto, os efeitos da PGF sobre a secreção de LH são controversos, pois embora a sua administração cause ovulação em vacas e ovelhas em anestro (CRUZ et al., 1997) a relação com o aumento na liberação de LH é citada apenas em vacas.

Portanto, a influência da PGF sobre a ovulação já foi comprovada, sendo que em um estudo recente foi demonstrado que a PGF possui efeito semelhante ao do ECP e BE na indução da ovulação de novilhas e vacas submetidas a protocolos de IATF baseados na associação de progesterona intravaginal e BE, resultando inclusive, em taxas de gestação de aproximadamente 50%, considerada uma porcentagem aceitável (PFEIFER et al., 2014).

#### **2.2.4 Hormônio Liberador de Gonadotrofinas (GnRH)**

O GnRH é um decapeptídeo sintetizado por neurônios específicos, localizados na região pré-óptica hipotalâmica e liberado de maneira pulsátil na extremidade dos axônios em direção à rede de vasos do sistema porta hipotalâmico-

hipofisário, promovendo assim a liberação dos hormônios FSH e LH pela hipófise anterior (ESTES et al., 1977).

A administração de análogos sintéticos ao GnRH exerce uma função fisiológica nas fêmeas, induzindo o pico pré-ovulatório de LH e conseqüentemente a ovulação e/ou a luteinização do folículo induzindo uma nova onda de crescimento folicular (GOTTSCHELL et al., 2008). Segundo Lucy e Stevenson (1986) o GnRH aplicado antes da inseminação pode aumentar fertilidade por sua ação direta ou indireta (por secreção de LH) agindo sobre o folículo ovulatório, resultando em uma ação semelhante a que ocorre em uma inseminação depois do estro espontâneo. Estudos prévios em bovinos de leite indicaram que o tratamento com análogo sintético do GnRH aumentou (SCHELS; MOSTAFAWI, 1978) ou não a taxa de concepção de primeiro-serviço (LEE et al., 1983). Semelhantemente, Mee et al. (1990) descreveram que GnRH administrado no início do estro não apresentou efeito sobre a taxa de concepção em vacas de leite. Entretanto, Lee et al. (1983) identificaram efeito consistente na administração do GnRH sobre o aumento de fertilidade em vacas repetidoras de estro. Kaim et al. (2003) também encontraram resultados variados sobre as taxas de prenhez de vacas submetidas a inseminação após a aplicação de GnRH.

### **2.2.5 Biotecnologias reprodutivas como forma de controle do ciclo estral – IATF**

A inseminação artificial (IA) foi a primeira biotecnologia reprodutiva aplicada na multiplicação genética dos animais de fazenda, tendo um grande impacto em diversas espécies no mundo, particularmente nos rebanhos bovinos (FOOTE, 2002). A IA promoveu um grande avanço tecnológico para o melhoramento genético animal. Segundo Baruselli & Marques (2008), inúmeras vantagens são obtidas com a adoção da IA nos rebanhos bovinos. No entanto, a baixa taxa de prenhez, seja pela ineficiência na detecção do cio ou pelo alto grau de anestro no período pós parto, compõem os principais fatores que comprometem a eficiência de programas reprodutivos que empregam biotecnologias da reprodução. Diante disso, a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) surgiu para superar esses entraves.

Existem várias vantagens no uso da IATF, tais como: padronização do rebanho, controle de doenças sexualmente transmissíveis, racionalização da mão de

obra, diminuição do custo de reposição de touros, maior número de vacas em menos tempo, diminui o intervalo entre partos, aumentando o número de bezerros nascidos, diminui o descarte e o custo de reposição de matrizes no rebanho e elimina a necessidade de observação deaios. Mas, as principais vantagens estão ligadas ao processo de melhoramento genético e na obtenção de animais com maior potencial de produção e reprodução. IATF é uma técnica que facilita o manejo e aumenta a eficiência da inseminação em bovinos de corte (BARUSELLI & MARQUES, 2008).

Um fator limitante da IATF em algumas propriedades relaciona-se à viabilidade econômica desta técnica, pois o custo-benefício pode ser desfavorável, a julgar pelo preço oneroso dos medicamentos utilizados. Para que a IATF garanta bons resultados é necessário um acompanhamento técnico eficiente desde a seleção das vacas aptas a reprodução, aplicação dos hormônios, escolha do protocolo a ser utilizado, escolha do sêmen, descongelamento do sêmen, manejo das vacas no curral e capacitação do inseminador (SALISTRE, 2008). Há inúmeros protocolos no mercado para sincronizar a ovulação com o objetivo de realizar a IATF, a escolha do protocolo mais apropriado depende da avaliação técnica, buscar condições tanto corporais como fisiológicas positivas aos animais que irão ser inseminados são os caminhos para o sucesso (BARUSELLI & MARQUES, 2008).

### **2.2.6 Progesterona (P4) após IATF**

A progesterona (P4) é um hormônio lipídico produzido pelo CL do ovário, córtex da adrenal e pela placenta (REEECE, 2014). Em bovinos, os níveis plasmáticos de P4 variam de acordo com o desenvolvimento, manutenção e regressão do corpo lúteo. É considerada um hormônio essencial para a harmonia do ambiente uterino, auxiliando o útero a proporcionar maior quantidade de nutrientes para o concepto, sendo importante para que este perpetue e desenvolva. Sua principal ação é a inativação da luteólise através da redução da sensibilidade dos receptores de ocitocina (HAFEZ & HAFEZ, 2004).

Estudos realizados em fêmeas bovinas por Diskin e Morris (2008) detectaram correlação positiva entre a elevada concentração de P4 pós-concepção até o dia 7 e o aumento no alongamento do concepto. Starbuck et al., (2004) relataram que as concentrações de P4 no início da gestação podem influenciar diretamente a

probabilidade de sobrevivência ou perda embrionária. Em novilhas de corte, Diskinet al., (2006) demonstraram uma relação linear positiva e quadrática entre as concentrações circulantes de P4 e a sobrevivência do embrião. Garrett et al., (1988) demonstraram que concentrações insuficientes de P4 afetam negativamente o crescimento do concepto e que concentrações mais altas geram conceptos maiores.

Posteriormente, Mann et al., (1999) observaram que a elevação das concentrações de P4 e o estímulo subsequente do desenvolvimento do concepto no início da gestação pode favorecer o sucesso da prenhez por melhorar a capacidade do concepto de sinalizar o reconhecimento materno da gestação. Da mesma forma que a produção insuficiente de interferon-tau (IFN- $\tau$ ) pelo concepto foi atribuída como o principal fator envolvido na perda embrionária precoce em bovinos, uma vez que o IFN- $\tau$  corresponde ao fator de sinalização do reconhecimento materno da gestação produzido pelo concepto (MANN et al., 1999). Há uma forte correlação entre as concentrações circulantes de P4 e a secreção de IFN- $\tau$  (KERBLER et al., 1997).

Sabe-se que baixas concentrações de P4 após IA são um dos principais motivos do baixo sucesso no estabelecimento e manutenção da gestação em rebanhos leiteiros especializados (MORRIS e DISKIN, 2008). Concentrações ideais desse hormônio após a IA podem promover vários benefícios, dentre os quais, aumento da receptividade uterina, melhor desenvolvimento do concepto, maior produção de IFN- $\tau$ , e conseqüentemente, maior incremento no sucesso gestacional em fêmeas bovinas (ASHWORTH et al., 1989; STRONG et al., 2005; McNEIL et al., 2006; CARTER et al., 2008).

Há bastante informações dentro da literatura à respeito das diversas formas de suplementação com P4 após IA. Pugliesi et al., (2014) realizaram um trabalho com vacas de corte, onde verificaram luteólise precoce nas fêmeas tratadas com 300 mg de P4 injetável dois dias após ovulação. Van Cleeff et al., (1996) afirmaram que o comprometimento do desenvolvimento e da funcionalidade do CL pode estar relacionado com o momento e a dose de P4 administrada. Na tentativa de minimizar esse possível efeito negativo da P4 exógena, pesquisadores iniciaram estudos que associavam a P4 com outro hormônio luteotrófico, a gonadotrofina coriônica humana (hCG), por exemplo. Verificaram que animais tratados com P4 e hCG, em um mesmo momento, apresentaram maior concentração de P4, sem comprometer o desenvolvimento do CL (NASCIMENTO et al., 2013).

A taxa de prenhez é menor em novilhas (DISKIN e MORRIS, 2008) e vacas (STARBUCK, 1999; STRONGE et al., 2005) com reduzida concentração de P4 no início do diestro. Sabe-se que baixas concentrações desse hormônio neste período reduzem o tamanho do conceito no dia 16 e conseqüentemente podem resultar em baixa secreção de IFN- $\tau$ , comprometendo a manutenção da prenhez (MANN e LAMMING, 2001). Assim sendo, existe uma busca constante por estratégias pós-ovulatórias que promovam um aumento das concentrações de P4 no início do diestro, e conseqüentemente objetiva o favorecimento do estabelecimento da gestação e conseqüentemente almeja aumentar as taxas de prenhez, independente dos efeitos prévios da exposição dos tecidos reprodutivos ao E2 no proestro/estro.

Pugliesi et al., (2014) chegaram à seguinte conclusão, a administração de P4 de longa ação no quarto dia após a IATF aumenta a fertilidade em vacas de corte em anestro. Esse acréscimo pode resultar de uma melhoria no ambiente uterino menos favorável a sobrevivência embrionária em animais não-cíclicos após o parto. Assim, a suplementação com P4 no início do diestro pode reduzir a baixa fertilidade de vacas com CL pequeno e/ou em anestro.

Diante das evidências da importância da P4 sobre o desenvolvimento embrionário e manutenção da gestação, vários estudos comprovaram a correlação positiva existente entre concentração de P4 e taxa de concepção, observando um maior número de prenhez nos animais com maiores concentrações deste hormônio, seja adquirida de maneira exógena (implantes de liberação lenta; P4 injetável de longa duração) ou utilizando hormônios como hCG ou GnRH que propiciam elevação na sua produção pela indução da ovulação e emergência de CL acessório (LARSON et al., 2007; NASCIMENTO et al., 2013; LOIOLA et al., 2014; PUGLIESI et al., 2015). Portanto, a busca por ferramentas que possibilitem uma maior concentração sérica de P4 no período inicial de gestação, pode contribuir com melhores resultados nos programas de IATF, ao propiciar menor taxa de mortalidade embrionária (PUGLIESI et al., 2016).

### **2.2.7 Indicadores de fertilidade em fêmeas bovinas**

Fertilidade é a capacidade dos indivíduos de se reproduzirem com finalidade de manutenção da espécie. Uma vaca é fértil quando é capaz de engravidar já no início de sua maturidade sexual, levar esta prenhez até o fim, produzir crias saudáveis e

viáveis, produzir um bezerro por ano e, assim, sucessivamente até o momento de ser substituída. A fertilidade de um rebanho é medida através de sua produção para cada cem vacas em idade reprodutiva. A fertilidade se traduz pela soma de variados parâmetros, são eles, índice de inseminação, percentagem de não retorno a 1ª inseminação, percentagem de gestação e de parição e intervalo entre partos (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

Aos marcadores de fertilidade são atribuídos fatores como perdas embrionárias, categoria animal, índice de escore corporal (IEC), presença de corpo lúteo (CL) no início do protocolo, manifestação de estro, localidade, raças e tratamentos hormonais (SÁ FILHO et al., 2009; LAMB et al., 2010). Dentre esses marcadores vamos dar ênfase aos marcadores de cio (presença de CL, IEC e manifestação/expressão de estro) e ao marcador de tamanho de folículo (diâmetro do folículo pré-ovulatório).

### **2.2.8 Presença de corpo lúteo (CL)**

O CL é oriundo de um folículo dominante da última onda folicular. Se desenvolve a partir das células da teca e da granulosa, advindo da reorganização das células foliculares após o processo ovulatório (BORGES et al., 2001). É importante no funcionamento e regulação dos órgãos genitais femininos, tendo como função primária a produção de P4, hormônio responsável pela manutenção da prenhez (SMITH, 1986).

A fase de desenvolvimento do CL é caracterizada pelo o período que vai desde a diferenciação do corpo hemorrágico até o momento em que o CL totalmente diferenciado atinge a capacidade máxima de secreção de P4, que ocorre aproximadamente entre os dias 8 a 10 após a ovulação (HERZOG et al., 2008, 2010).

Um estudo realizado para avaliar o desenvolvimento do CL por meio do tamanho e da concentração de P4 circulante, este não sugeriu um efeito negativo sobre a função do CL durante seu desenvolvimento. As diferenças nos efeitos sobre o desenvolvimento luteínico podem ser atribuídas ao momento da suplementação, fonte e farmacocinética das formulações de P4 utilizadas no decorrer da IATF. Esses resultados sugerem que o tempo e a amplitude do aumento das

concentrações de P4 afetam de forma crítica a função do CL durante seu desenvolvimento (PUGLIESI et al., 2014).

Rodrigues et al. (2015) notaram melhores taxa de prenhez em fêmeas múltiparas da raça Nelore que apresentaram CL no início da sincronização em relação aos animais que não apresentaram esta estrutura. Os autores consideram as primeiras fêmeas com maior capacidade de resposta à terapia hormonal e atribuíram a ausência do CL em um único exame ultrassonográfico a uma alta taxa de anestro pós-parto. Foi possível observar também que as fêmeas bovinas em anestro pós-parto apresentam comprometimento da secreção pulsátil de LH, determinando níveis insuficientes dessa gonadotrofina para apoiar o desenvolvimento folicular e a ovulação (YAVAS e WALTON et al., 2000; WILTBANK et al., 2002). Esses animais, quando submetidos à programas de sincronização, normalmente, apresentam baixa taxa de concepção e elevada perda de prenhez em comparação a vacas cíclicas (SANTOS et al., 2004; 2009; BISINOTTO et al., 2010).

### **2.2.9 Índice de escore de condição corporal (IEC)**

O conhecimento do IEC do rebanho contribui para a tomada de decisões sobre medidas de impacto na produção e nos custos do empreendimento pecuário. De fato, é possível ajustar épocas de desmamar as crias ou definir quando e quanto suplementar a dieta de matrizes, visando reduzir o período de anestro pós-parto (SHORT et al., 1996; SIMPLÍCIO e SANTOS, 2005; MORAES et al., 2007). Além disto, conhecer o IEC é útil até mesmo na predição do desempenho produtivo (SHORT et al., 1996) e do desempenho reprodutivo do rebanho (DUNN e MOSS, 1992).

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

Há diferentes escalas de escores, as quais variam no conceito, na topologia dos pontos de observação e na espécie animal à qual são aplicados. As notas são dadas aos animais de acordo com a quantidade de reservas teciduais,

especialmente de gordura e de músculos, em determinadas regiões do corpo. As escalas mais utilizadas são duas: uma com escores de 1 a 5 (EDMONSON et al., 1989) e a outra a escala aplica escores entre 1 e 9 (SPITZER, 1986). A escala de 1-5 é a mais utilizada atualmente, onde o escore 1 é para vacas muito magras, o 2 é para vacas magras, o 3 é para vacas em estado corporal intermediário, o 4 é para vacas gordas e o 5 é para vacas muito gordas (EDMONSON et al., 1989). Segundo Baruselli et al. (2006) a condição corporal igual ou acima de 3,0 é considerada satisfatória, com pouco ou nenhum prejuízo no desenvolvimento folicular e na ovulação.

A atribuição do IEC é uma ferramenta indispensável dentro da propriedade, pois permite conhecer o estado nutricional do rebanho, principalmente o balanço energético, e auxilia na elaboração de estratégias alimentares e de descarte. Além de ser um método que apresenta muitas vantagens por ser rápido, prático, barato e não invasivo, podendo ser atribuído no diagnóstico de gestação, ao parto (na primavera) ou 60 dias antes do parto (inverno) e na desmama das fêmeas (MARQUES et al., 2010).

### **2.2.10 Expressão de estro**

A expressão do estro é considerada um importante marcador de fertilidade em fêmeas bovinas submetidas a protocolos de sincronização da ovulação para IATF. As informações obtidas da expressão do estro no momento da inseminação são importantes para identificar fêmeas com maiores chances de ficarem prenhes, possibilitando, por exemplo, maior segurança na utilização de sêmen de maior valor agregado e permitindo a utilização de estratégias após a IATF para melhorar as taxas de concepção de fêmeas que não expressaram o estro (BARUSELLI et al., 2011).

A ocorrência do estro está associada à elevados níveis séricos circulantes de estrógeno (E2), estimulando regiões específicas do centro comportamental (ROELOFS et al., 2010). Altas concentrações de E2 próximo à inseminação são indicativos e atuam como possíveis responsáveis pela melhoria na fertilidade dos animais que expressaram estro. Isto por que, possibilitam uma modulação do pH uterino, levando a uma redução no metabolismo espermático e conseqüentemente,

aumentando o tempo de viabilidade dos espermatozoides no trato reprodutivo das vacas (PERRY e PERRY, 2008).

O E2 promove melhora nas taxas de concepção em fêmeas que expressaram estro. Esses resultados podem ainda ser explicados pelo fato desses animais apresentarem uma melhor sincronia no momento da ovulação associada a maiores taxas de ovulação em comparação as fêmeas que não expressaram estro, sendo desencadeada pelo tamanho do folículo pré-ovulatório no momento da IATF e pela elevada concentração de estradiol que favorece a uma maior taxa de concepção (PERRY et al., 2007).

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

Um importante fator que influencia nas taxas de concepção e na eficiência reprodutiva de vacas nos programas de sincronização para IATF é o tamanho do folículo pré-ovulatório no final do programa de sincronização (SÁ FILHO et al., 2009; SÁ FILHO et al., 2010). Em bovinos, a capacidade ovulatória do folículo é obtida entre 7 e 10 mm de diâmetro (SARTORI et al., 2001; GIMENES et al., 2008). O diâmetro do folículo pré-ovulatório está relacionado com as taxas de concentração de estradiol. Este hormônio aumenta a responsividade da hipófise ao GnRH pelo aumento de seus receptores ou por ação direta estimulando a secreção de LH (BARATTA et al., 2001; NETT et al., 2002).

O aumento nos níveis de E2 durante o proestro e/ou estro está envolvido no controle de diversos processos fisiológicos que contribuem para o estabelecimento e manutenção da gestação, incluindo efeitos sobre as células foliculares, o oócito, o transporte de gametas e preparação do ambiente uterino (POHLER et al., 2012). Sendo assim, folículos pré-ovulatórios de maior diâmetro irão promover maior concentração de estradiol e podem propiciar mudanças no ambiente uterino melhorando o transporte espermático e favorecendo a concepção (SÁ FILHO et al., 2012).

Além de tudo que já foi citado anteriormente, o maior diâmetro do folículo pré-ovulatório também está relacionado com o diâmetro do CL formado, ou seja, a ovulação de folículos de menor diâmetro pode representar a formação de CL de menor volume e, conseqüentemente, baixa capacidade de produzir P4 e insuficiente desenvolvimento embrionário, promovendo assim, uma redução na fertilidade

(LONERGAN et al., 2013). Apoiando essas informações, Peres (2008) encontrou maiores concentrações circulante de P4 sete dias após a ovulação em vacas que tinham maior diâmetro folicular no dia da IATF.

Sá Filho (2012) verificou uma associação positiva e significativa entre o diâmetro folicular e a taxa de concepção em fêmeas Nelore submetidas em programas de IATF. Os folículos nas categorias acima de 11 mm tiveram taxas de concepção similares, mas diferiram daqueles categorizados com menos de 11 mm de diâmetro. Os resultados positivos do maior diâmetro folicular na probabilidade de concepção em novilhas Nelore sincronizadas para IATF também foram confirmados por Dias et al. (2009) e Peres et al. (2009). Pugliesi et al. (2016) atribuíram as menores taxas de concepção encontradas em vacas Nelore que apresentaram menor diâmetro do folículo pré-ovulatório no momento da IATF a diminuição na taxa de ovulação em relação aos animais com folículos maiores.

A presença de um maior folículo pré-ovulatório no momento da inseminação está associado com uma elevada concentração de estradiol (ATKINS et al., 2013). Sá Filho et al. (2009) verificaram uma proporção linear entre o diâmetro do folículo pré-ovulatório e a concentração de estradiol em vacas Nelore. Atkins et al. (2013) verificaram uma correlação positiva e significativa entre a concentração de estradiol e o diâmetro do folículo pré-ovulatório, corroborando com os outros autores.

Diante do tudo que foi descrito pelos autores citados acima, podemos concluir que esse conjunto de fatores hormonais, biotecnologias reprodutivas, manejo e nutrição adequada correlacionados com os fatores extrínsecos e intrínsecos ligados a fertilidade dos animais é possível melhorar ainda mais os índices e a eficiência reprodutiva desses animais.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AERTS, J. M.; BOLS, P. E. Ovarian follicular dynamics: a review with emphasis on the bovine species. Part I: Folliculogenesis and pre-antral follicle development. **Reprod. Domest. Anim.** v. 45, p. 171-179, 2010.

ADAMS, G. P.; MATTERI, R. L.; KASTELIC, O. J. et al. Association between surges of FSH and emergence of follicular waves in heifers. **Journal Reproduction and Fertility**, v. 94, p. 177-188, 1992.

ALVES, N. G. et al. Atividade ovariana em fêmeas bovinas da raça holandesa e mestiças holandês x zebu, durante dois ciclos estrais normais consecutivos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 2, p. 627-634, 2002.

ASHWORTH, C. J.; SALES, D. I.; AND WILMUT, I. Evidence of no association between the survival of embryos and the periovulatory plasma progesterone concentration in the ewe. **J. Reprod. Fertil.** p. 87, 23-32, 1989.

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

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

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

BARUSELLI, P. S.; AYRES, H.; SOUZA, A. H. et al. Impacto da IATF na eficiência reprodutiva em bovinos de corte. In: **Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada**, Londrina: Biotecnologia da Reprodução em Bovinos, 2006.

BARUSELLI, P. S.; MARQUES, M. O.; CREPALDI, G. A. et al. Rate and timing of ovulation and pregnancy rate in Nelore cows treated with estradiol Cypionate or Benzoate to induce ovulation on FTAI protocols. In: **Reproduction in domestic animals**. commerce place, 350 main st, malden 02148, ma usa: wiley-blackwell publishing, inc, p. 175-175, 2008.

BEEFPOINT. Nutrição e reprodução – aspectos gerais. 2003. Disponível em: <[beefpoint.com.br/nutricao-e-reproducao-em-bovinos-7172/](http://beefpoint.com.br/nutricao-e-reproducao-em-bovinos-7172/)>.

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

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

BORGES, A. M.; TORRES, C. A. A.; RUAS, J. R. M. et al. Ovarian follicular dynamics in crossbred Holstein-Zebu heifers. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 53, n. 5, p. 595-604, 2001. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S010209352001000500015&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010209352001000500015&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 05 nov. 2004>.

CARTER, F.; FORDE, N.; DUFFY, P. et al. Effect of increasing progesterone concentration from day 3 of pregnancy on subsequent embryo survival and development in beef heifers. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 20, p. 368-375, 2008.

COOPER, M. J.; FURR, B. J. A. The role of prostaglandins in animal breeding. **Vet. Rec.**, v. 94, p. 161, 1974.

COULSON, P. B.; IRELAND, J. J.; MURPHEE, R. L. Accuracy of predicting stages of bovine estrous cycle by gross appearance of the corpus luteum. **J. Dairy Sci**, v. 63, p. 155-160, 1980.

CREPALDI, G. A. **Eficácia de diferentes protocolos de indução da ovulação e de intervalos de inseminação em vacas de corte submetidas à IATF**, 87 p. 2009.

CRUZ, L. C.; DOVALLE, E. R.; KESLER, D. J. Effect of prostaglandin F<sub>2α</sub> - and gonadotropin releasing hormone-induced luteinizing hormone releases on ovulation and corpus luteum function of beef cows. **Anim. of Reprod. Sci**, v. 49, p. 135-142, 1997.

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

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

DISKIN, M. G.; MURPHY, J. J.; SREENAN, J. M. Embryo survival in dairy cows managed under pastoral conditions. **Anim. Reprod. Science**, v. 96, p. 297-311, 2006.

DUNN, T. G.; MOSS, A. J. Effects of nutrient deficiencies and excesses on reproductive efficiency of livestock. **Journal of Animal Science, Champaign**, v. 70, p. 1580-1593, 1992.

EDMONSON, A. J.; LEAN, I. J.; WEAVER, L. D. et al. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 72, p. 68-78, 1989.

ESTES, K.S. et al. Localization of gonadotropin releasing hormone (GnRH) within the bovine hypothalamus. **Biology of Reproduction**, v. 17, n.5, p. 706-711, 1977. Disponível em: <<http://www.biolreprod.org/content/17/5/706.abstract>>.

FERNANDES, C. A. C.; FIGUEIREDO, A. C. S. Avanços na utilização de prostaglandinas na reprodução de bovinos. **Rev Bras Reprod Anim**, v. 31, p. 406-414, 2007.

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

FOOTE, R. H. The history of artificial insemination: Selected notes and notables. **Journal of Animal Science, Champaign**, v. 80, p. 1-10, 2002.

FORTUNE, J. E. Ovarian follicular growth and development in mammals. **Biological reproduction**, v. 50, p. 225-232, 1994.

FORTUNE, J. E.; SIROIS, J.; TURZILLO, A. P. et al. Follicle selection in domestic animals. **Journal Reprod Fertil**, v. 43, p. 187-198, 1991.

FORTUNE, J. E.; WILLIS, E. L.; BRIDGES, P. J. et al. The periovulatory period in cattle: progesterone, prostaglandins, oxytocin and ADAMTS proteases. **Animal reproduction / Colegio Brasileiro de Reproducao Animal**, v. 6, p. 60-71, 2009.

GARRETT, J. E.; GEISERT, R. D.; ZAVY, M. T. et al. Effect of exogenous progesterone on prostaglandin F2 $\alpha$  release and the inter estrous interval in the bovine. **Prostaglandins**, v. 36, p. 85-96, 1988.

GIMENES, L. U.; SÁ FILHO, M. F.; CARVALHO, N. A. T. et al. Follicle deviation and ovulatory capacity in *Bos indicus* heifers. **Theriogenology**, v. 69, p. 852-858, 2008.

GONG, J. G.; BRAMLEY, T. A.; GUTIERREZ, C. G. et al. Effects of chronic treatment with a gonadotrophin-releasing hormone agonist on peripheral concentrations of FSH and LH, and ovarian function in heifers. **Journal Reprod Fertil**, v. 105, p. 263, 1995.

GOTTSCHALL, C. S. et al. Aspectos relacionados à sincronização do estro e ovulação em bovinos de corte. **A Hora Veterinária**, v. 164, p. 43-48, 2008.

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

HAFEZ, E. S. E. **Reprodução animal**. 6ª ed. São Paulo: SP, Editora Manole, 582 p. 1995.

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

HERZOG, K.; BROCKHAN-LÜDEMANN, M.; KASKE, M. et al. Luteal blood flow is a more appropriate indicator for luteal function during the bovine estrous cycle than luteal size. **Theriogenology**, v. 73, p. 691-697, 2010.

HERZOG, K.; HONNENS, A. Fluxo de sangue uterino durante as primeiras 3 semanas de gravidez em vacas leiteiras. **Theriogenology**, 7<sup>a</sup> ed. v. 70, p. 1048 – 1056, 2008.

IRELAND, J. J.; MURPHEE, R. L.; COULSON, P. B. Accuracy of predicting stages of bovine estrous cycle by gross appearance of the corpus luteum. **Journal of Dairy Science**, v. 63, n.1, p. 155-160, 1980.

KAIM, M. et al. Effects of GnRH Administered to Cows at the Onset of Estrus on Timing of Ovulation, Endocrine Responses, and Conception. **Journal Dairy Sci**, v. 86, p. 2012-2021, 2003.

KERBLER, T. L.; BUHR, M. M.; JORDAN, L. T. et al. Relationship between maternal plasma progesterone concentration and interferon-tau synthesis by the conceptus in cattle. **Theriogenology**, v. 47, p. 703-714, 1997.

KINDER, J. E.; KOJIMA, F. N.; BERGFELD, E. G. et al. Progestin and estrogen regulation of pulsatile LH release and development of persistent ovarian follicles in cattle. **Journal Animal Science**, v. 74, p. 1424–1440, 1996.

LAMB, G. C.; DAHLEN, C. R.; LARSON, J. E. et al. Control of the estrous cycle to improve fertility for fixed-time artificial insemination in beef cattle: a review. **Journal Anim Science**, v. 88, p. 181–192, 2010.

LARSON, L. L.; BALL, P. J. H. Regulation of estrus cycle in dairy cattle: a review. **Theriogenology**, v. 38, p. 255-267, 1992.

LARSON, S. F.; BUTLER, W. R.; CURRIE, W. B. Pregnancy rates in lactating dairy cattle following supplementation of progesterone after artificial insemination. **Anim. Reprod. Sci.** 102, 172–179, 2007.

LEE, C. N. et al. Efficacy of gonadotropin-releasing hormone administered at the time of artificial insemination of heifers and postpartum and repeat breeder dairy cows. **Am J Vet Res.**; v. 44, p. 2160-2163, 1983.

LEONARDI, C. E. P.; PFEIFER, L. F. M.; RUBIN, M. I. B. et al. Prostaglandin F<sub>2α</sub> promotes ovulation in prepubertal heifers. **Theriogenology**, v. 78, p. 1578–1582, 2012.

LEONHARDT, S. A.; EDWARDS, D. P. Mechanism of action of progesterone antagonists. **Experimental Biology and Medicine**, v. 227, p. 969-980, 2002.

LOIOLA, M. V. G.; PEREIRA, D. F. C.; VASCONCELOS, L. V. et al. Taxa de gestação de receptoras de embriões bovinos tratadas com um análogo de GnRH no momento da inoculação. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 15, n. 3, p. 782-789, 2014.

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

LUCY, M. C.; SAVIO, J. D.; THATCHER, W. W. et al. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. **Journal of Animal Science**, v. 70, p. 3615-3626, 1992.

LUCY, M. C.; STEVENSON, J. S. Gonadotropin-Releasing Hormone at Estrus: Luteinizing Hormone, Estradiol, and Progesterone during the Peri-estrus and Postinsemination Periods in Dairy Cattle. **Biology of Reproduction** v. 35, p. 300-311, 1986.

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

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

MARQUES, P. R. et al. **Manejo da parição ao acasalamento: Curso para capatazes e gerentes rurais de empresas de gado de corte**. Departamento de zootecnia – UFRGS. Porta alegre, 2010.

MCNEILL, R. E.; SREENAN, J. M.; DISKIN, M. G. et al. Effect of systemic progesterone concentration on the expression of progesterone-responsive genes in the bovine endometrium during the early luteal phase. **Reprod Fertil Dev**; p. 573-583, 2006.

MEE, M. O. et al. Influence of gonadotrophin-releasing hormone and timing of insemination relative to estrus on pregnancy rates of dairy cattle at first service. **Journal Dairy Sci**. v. 73, p. 1500–1507, 1990.

MOENTER, S. M.; CARATY, A.; KARSCH, F. J. The estradiol-induced surge of gonadotropin-releasing hormone in the ewe. **Endocrinology**, v. 127, p. 1375-1384, 1990.

MORAES, J. C. F.; JAUME, C. M.; SOUZA, C. J. H. Manejo reprodutivo da vaca de corte. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 31, n. 2, p. 160-166, 2007.

MOSTAFAWI, D.; SCHELS, H. F. The effect of GnRH on the pregnancy rate of artificially inseminated cows. **Vet Rec**, v. 103, p. 31-32, 1978.

MURDOCH, W. J.; McCORMICK, R. J. Mechanisms and physiological implications of leucocyte chemoattraction into periovulatory ovine follicles. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 97, p. 375-380, 1993.

MURPHY, M. G.; ENRIGHT, W. J.; CROWE, M. A. Effect of dietary intake on pattern of growth of dominant follicles during the oestrus cycle in beef heifers. **Journal of reproduction and fertility**, v. 92, p. 333-338, 1991.

NAOR, Z.; JABBOUR, H. N.; NAIDICH, M. et al. Reciprocal cross talk between gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and prostaglandin receptors regulates GnRH receptor expression and differential gonadotropin secretion. **Molecular Endocrinology**, v. 21, p. 524–537, 2007.

NASCIMENTO, A. B.; BENDER, R. W.; SOUZA, A. H. et al. Effect of treatment with human chorionic gonadotropin on day 5 after timed artificial insemination on fertility of lactating dairy cows. **Journal Dairy Science**, v. 96, p. 2873-288, 2013.

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

NOAKES, D. E. **Fertilidade e obstetrícia em bovinos**. 1ª ed. São Paulo, v. 1, p. 12-22, 1991.

ODDE, K. G. A review of synchronization of estrus in post partum cattle. **Journal of Animal Science**, v. 68, p. 817-830, 1990.

PEREIRA, V. C. **Inseminação artificial e sincronização de cio em bovinos**. 33f. Trabalho de conclusão de curso - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Veterinária. Curso de Medicina Veterinária. Rio Grande do Sul, 2009.

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

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

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

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

PFEIFER, L. F. M.; LEONARDI, C. E. P.; CASTRO, N. A. et al. The use of PGF2 $\alpha$  as ovulatory stimulus for timed artificial insemination in cattle. **Theriogenology**, v. 81, p. 689-695, 2014.

PFEIFER, L. F.; SIQUEIRA, L. G.; MAPLETOFT, R. J. et al. Effects of exogenous progesterone and cloprostenol on ovarian follicular development and first ovulation in prepubertal heifers. **Theriogenology**, v. 72, p. 1054–64, 2009.

POHLER, K. G.; GEARY, T. W.; ATKINS, J. A. et al. Follicular determinants of pregnancy establishment and maintenance. **Cell Tissue Research**, v. 349, p. 649-664, 2012.

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

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

PUGLIESI, G.; SCOLARI, S. C.; MESQUITA, F. S. et al. Impact of probing the reproductive tract during early pregnancy on fertility of beef cows. *Reprod Domest Anim*, v. 49, p. 35-39, 2014.

RAHE, C. H.; OWENS, R. E.; FLEEGER, J. L. et al. Pattern of plasma luteinizing hormone in the cyclic cow: Dependence upon the period of the cycle. *Endocrinology*, v. 107, p. 498, 1980.

RANDEL, R. D.; LAMMONGLIA, M. A.; LEWIS, A.W. et al. Exogenous PGF(2) alpha enhanced GnRH-induced LH release in postpartum cows. *Theriogenology*, v. 45, p. 643-654, 1996.

RICCIOTTI, E.; FITZGERALD, G. A. Prostaglandins and Inflammation. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*, v. 31, n. 5, p. 986-1000, 2011.

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

ROELOFS, J.; LÓPEZ-GATIUS, F.; HUNTER, R. H. F. et al. When is a cow in estrus? Clinical and practical aspects. *Theriogenology*, v. 74, p. 327-344, 2010.

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

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

SÁ FILHO, O. G.; VASCONCELOS, J. L. M. Inseminação artificial em tempo fixo. In: **Bovinocultura de Corte.** Alexandre Vaz Pires. 1º edição, Piracicaba, FEALQ, cap. 27, p. 529-546, 2010.

SALISTRE, M. V. **IATF: a ferramenta ideal para o melhoramento genético do seu rebanho.** Disponível em: <[www.angus.org.br/download/download/?ID\\_DOWNLOAD=114](http://www.angus.org.br/download/download/?ID_DOWNLOAD=114)>.

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

SANTOS, J. E.; BARTOLOME, J. A.; CERRI, R. L. et al. Effect of a deslorelin implant in a timed artificial insemination protocol on follicle development, luteal function and reproductive performance of lactating dairy cows. **Theriogenology**, v. 61, p. 421-435, 2004.

SARTORI, R. et al. Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. **Biology of reproduction**, v. 65, p.1403-1409, 2001.

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

SAVIO, J. D.; THATCHER, W. W.; MORRIS, G. R. et al. Effects of induction of low plasma progesterone concentration with a progesterone-releasing device on follicular turnover and fertility in cattle. **Journal Reprod Fertil**, v. 98, p. 77, 1993.

SCHALLENBERGER, E. Gonadotrophins and ovarian steroids in cattle. Pulsatile changes of gonadotrophin concentrations in the jugular vein postpartum. **Acta Endocrinology**, v. 109, p. 37-43, 1985.

SCHELS, H. F.; MOSTAFAWI, D. The effect of GnRH on the pregnancy rate of artificially inseminated cows. **Vet Rec**, v. 103, p. 31-32, 1978.

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

SHORT, R. E.; GRINGS, E. E.; MCNEILL, M. D. et al. Effects of supplement, and sire breed of calf during fall grazing period on cow and calf performance. **Journal of Animal Science**, v. 74, p. 1701-1710, 1996.

SILVA, A. R. R.; REYES, A. L.; GAMBARINI, M. L. et al. Estudo da dinâmica folicular em novilhas da raça Gir através de ultra-sonografia. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 25, n. 2, p. 130-132, 2001.

SIMPLÍCIO, A. A.; SANTOS, D. O. Manejo de caprinos e ovinos em regiões tropicais. In: **REUNIÃO ANUAL DA SBZ**, Goiânia: SBZ, EFG, p. 136-148, 2005.

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

SMITH, M. F. Recent advances in corpus luteum physiology. **Journal Dairy Science**, v. 3, p. 911-926, 1986.

SPITZER, J. C. Influences of nutrition on reproduction in beef cattle. In: **MORROW, D. A.** (Ed.). Current therapy in Theriogenology. 2. ed. Philadelphia: W. B. Saunders, p. 231-234, 1986.

STARBUCK, G. R.; DARWASH, A. O.; MANN, G. E. et al. The detection and treatment of post insemination progesterone insufficiency in dairy cows. In: **Fertility in the high-producing dairy cow**. British Society of Animal Science Meeting, Galway, Irland, p. 78, 1999.

STARBUCK, M. J.; DAILEY, R.; INSKEEP, E. K. Factors affecting retention of early pregnancy in dairy cattle. **Anim Reprod Sci**, v. 84, p. 27-39, 2004.

STRONGE, A. J. H.; SREENAN, J. M.; DISKIN, M. G. et al. Post-insemination milk progesterone concentration and embryo survival in dairy cows. **Theriogenology**, v. 64, p. 1212–1224, 2005.

SWENSON, M. J.; REECE, W. O. **Dukes - Fisiologia dos animais domésticos**. 11° ed. Guanabara Koogan, 902 p. Rio de Janeiro, 1996.

TAFT, R. N. A.; INSKEEP, K. Exogenous pulses of luteinizing hormone cause persistence of the largest bovine ovarian follicle. **Journal Anim Sci**, v.74, p. 2985, 1996.

TSAI, S.; WILTBANK, M. C.; Prostaglandin F2 $\alpha$  induces expression of prostaglandin G/H synthase-2 in the ovine corpus luteum: a potential positive feedback loop during luteolysis. **Biology of reproduction**, v. 57, p. 1016-1022, 1997.

VAN CLEEF, J.; MACMILLAN, K. L.; DROST, M. et al. Effects af administering progesterone at select intervals after insemination of synchronized heifers on pregnancy rates and resynchronization of returns to service. **Theriogenology**, v. 46, p. 1117-1130, 1996.

WEEMS, C. W.; WEEMS, Y. S.; RANDEL, R. D. Prostaglandins and reproduction in female farm animals. **Veterinary Journal**, v. 171, n. 2, p. 206–228, 2006.

WILLIAMS, C. L.; STANCEL, G. C. Estrogênios e progestogênios. In: **GOODMAN, H.; GILMAN, T. L. As bases farmacológicas da terapêutica**, 8<sup>a</sup> ed. São Paulo: Manole, p. 1045-1067, 1996.

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

WOLFENSON, D.; THATCHER, W. W.; BADINGA, L. et al. Effect of heat stress on follicular development during the estrous cycle in lactating dairy cattle. **Biology of Reproduction**, v. 52, p. 1106-1113, 1995.

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

## Capítulo II – Artigo Científico

### **Post-insemination progesterone supplementation (oral and intramuscular) on reproductive performance of Nellore heifers**

<sup>1</sup>Graduate student, Programa de Pós-graduação em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos, Campus de Araguaína, Universidade Federal do Tocantins. Rodovia BR 153, Km 112, Caixa Postal: 132.CEP: 77804-970. Araguaína – Tocantins. E-mail: felipesesanaft@hotmail.com

<sup>2</sup>Undergraduate student, Medical Veterinary, Campus de Araguaína, Universidade Federal do Tocantins. Rodovia BR 153, Km 112, Caixa Postal: 132. CEP: 77804-970. Araguaína – Tocantins. E-mails: vanessarodrigues.uft@gmail.com; rodowflex@hotmail.com; rajmamscheneder@gmail.com

<sup>3</sup>Profª. Drª. Adjunto II do Curso de Medicina, Campus de Araguaína, Universidade Federal do Tocantins. Rodovia BR 153, Km 112, Caixa Postal: 132. CEP: 77804-970. Araguaína – Tocantins. E-mail: clarissa@uft.edu.br

<sup>4</sup>Prof. Dr. Associado I do Curso de Medicina Veterinária, Campus de Araguaína, Universidade Federal do Tocantins. Rodovia BR 153, Km 112, Caixa Postal: 132.CEP: 77804-970. Araguaína – Tocantins. E-mail: jlferreira@uft.edu.br

#### **ABSTRACT**

This study was carried out to evaluate the effects of progesterone (P4) supplementation after fixed-time artificial insemination (AI) through two different routes of administration (oral and intramuscular) on pregnancy rate of Nellore heifers. Forty-five Nellore heifers were used averaging months ( $30 \pm 2,08$ ) of age, ( $330 \pm 0,707$ ) kg BW and 2.5 BCS (five-point scale) at the beginning of the experiment. Heifers were randomly assigned to three experimental groups of fifteen animals each and maintained on an extensive grazing system (Andropogon pasture) with mineral supplementation and water *ad libitum*. Experimental groups (treatments) included: group 1 (control group) (no exogenous P4 administration (G1)); group 2: intramuscular (IM) administration of 1.0 mL P4 (Sincrogest injectable; OuroFino) on day 4 after-AI (G2); and group 3: supplementation of 2.3 mg/animal/day P4 (melengestrol acetate MGA; Zoetis), starting 4 days after-AI and remaining until day 9 (day 4 – day 9). Progesterone (MGA) was incorporated to the mineral-protein energy supplement (Phósverão–Acabamento–Matsuda) and offered to the animals (G3), daily in the morning. All animals were submitted to the following fixed-time AI protocol: On day zero, an ear implant of P4 was placed (Crestar, MSD) and 2 mg estradiol

benzoate (EB, Ferticare Sincronização, MSD) was administered IM. Eight days later (day 8), the ear implant was removed and 2 ml of synthetic prostaglandin (Ciosin, MSD), 1.5 ml ecG (Folligon 5000 UI, MSD) and 1 ml estradiol cypionate (Ferticare Ovulação, MSD) were administered IM. On d 10 of the protocol, AI was performed and the diameter of preovulatory follicles were measured by transrectal ultrasonography. Pregnancy diagnosis was performed thirty-five days after-AI. Estrus expression was evaluated by tail-painting of each cow on day 8 of the protocol, and evaluating the presence of paint at AI. Statistical analyses were performed using the ONE PARWAY procedure of SAS. The Kruskal-Wallis test was used to check for significant differences among treatments. There was no significant difference on pregnancy rate among experimental groups. Supplementation of P4 from day 4 to day 9 after AI, through oral administration, resulted in numerically higher percentage of pregnant animals (G3) compared to IMP4 administration (G2) and no P4 administration (G3). Both diameter of dominant follicle and the estrus expression showed no positive effect on conception rate in Nellore heifers during the dry season.

**Key words:** Exogenous progesterone; pregnancy rate; reproduction performance, routes of administration, progesterone supplementation.

## 1. Introduction

Profitability of beef production systems is closely related to reproductive efficiency of the herd. In Brazil, low rates of reproductive efficiency are usually related to high mortality rates, including primarily embryonic losses. Poor reproductive efficiency leads to long calving intervals which results in low and inconsistent profitability in beef production systems (SOYDAN e KURAN, 2017).

Overall, improvements in animal genetics and reproductive performance are crucial to maximize productivity and efficiency in the Brazilian beef cattle production system (BARUSELLI et al., 2006). Regarding reproduction of beef cattle, pharmacological strategies have been developed to maximize service rate (VASCONCELOS et al. 2017). Still, the average pregnancy rates at first fixed-time AI in beef cattle is 49.1% and needs improvement (SÁ FILHO et al., 2009; CLARO JUNIOR et al., 2010).

One of the major factors affecting the efficiency of fixed-time AI protocols is the maternal recognition of pregnancy and subsequent implantation of the embryo. In cattle, most embryonic losses occur during the first weeks after conception, around day 16 post-estrus, between fertilization and maternal recognition of pregnancy (DISKIN and MORRIS, 2008; WILTBANK et al. 2016). Embryonic mortality has been associated with impaired function of the corpus luteum (CL) impacting *P4 synthesis with subsequent* embryonic death (MACHADO et al., 2010; SILVA JÚNIOR et al., 2014; LONERGAN et al., 2016).

Studies have demonstrated positive associations between circulating concentrations of P4 (during the post-breeding week) and pregnancy rates in cattle. According to these reports, the association between variables is quadratic and linear. Therefore, both suboptimal and supraoptimal concentrations of P4 from days 4 to 7 after AI or a suboptimal rate of increase in the concentration of P4 during this interval may have negative impact on cattle pregnancy rates (AONO et al., 2008; BAJAJ & SHARMA, 2011; SILVA JUNIOR et al., 2014; LONERGAN et al., 2016; WILTBANK et al., 2016).

It is well known that high circulating concentration of P4 plays a crucial role in embryo development and survival (HAFEZ & HAFEZ, 2004). Strategies to promote early embryo development and survival are important to improve the success of fixed-time AI protocols. Infact, several strategies have been developed to

manipulate post-breeding circulating concentration of P4 in an effort to enhance reproductive performance in cattle. For instance, oral administration of synthetic P4 [i.e. melengestrol acetate (MGA); SÁ FILHO et al., 2009], intramuscular administration (IM) of P4 (Sincrogest injectable; PUGLIESI et al., 2014); and insertion of intravaginal progesterone-releasing device (MARQUES, 2012) have been applied post-AI to tackle and improve circulating P4. These attempts showed positive results on the reproductive performance in dairy and beef cattle.

Potential benefits of exogenous P4 supplementation on reproductive performance have been extensively acknowledged. Nevertheless, data on the effects of post-AIP4 supplementation on pregnancy rate are conflicting (LOIOLA, 2016; SILVA JÚNIOR et al., 2014; COSTA et al., 2015; RODRIGUES et al., 2014). Thus, research may enable finer and more convincing insights on how P4 supplementation post-AI may impact on reproductive efficiency in beef cattle. Additionally, different routes of administration of P4 supplementation after AI may alter the reproductive performance of beef cattle. In this sense, the aim of this study was to evaluate the effects of progesterone supplementation after fixed-time AI using different routes of administration on the pregnancy rate of Nelore heifers.

## 2. Materials and Methods

The experiment was carried at the Fazenda Capingo farm in the county of Piraque in the Tocantins State, Brazil, from September to November in 2017. Forty-five nulliparous Nelore heifers averaging (mean  $\pm$  standard deviation)  $30 \pm 2,08$  months of age and  $330\text{kg} \pm 0,707$  BW in the beginning of the experiment were used. Body condition score of the heifers averaged 2.5 and was measured using a five-point scale (MENEGETTI & VASCONCELOS, 2008).

At the beginning of the study, animals were randomly assigned to three experimental groups of 15 heifers each, in the randomized design. Gynecological and morphological examination of the reproductive tract was made by transrectal palpation and *ultrasonography*. All animals kept in the experiment were diagnosed as cyclic, with the presence of CL. Animals were maintained on an extensive grazing system (Andropogon pasture) with water *ad libitum*. Subjects received a commercial mineral-protein energy supplement (Phósverão–Acabamento–Matsuda) throughout the experiment. The feeding management described above started twenty days before

the beginning of the experiment to insure suitable adaptation and homogeneity of the lot. Mineral-protein supplementation remained until pregnancy diagnosis.

Experimental groups (treatments) included: Group 1 (control group): no exogenous P4 administration (G1); group 2: intramuscular (IM) administration of 150 mg P4 (Sincrogest injectable; OuroFino) on d 4 after AI (G2); and group 3: supplementation of 2.3 mg/animal/day P4 (melengestrol acetate; MGA; Zoetis), starting 4 days after AI and remaining until d 9 (d 4 – d 9). Progesterone (MGA) was incorporated to the mineral-protein energy supplement (Phósverão–Acabamento–Matsuda) and offered to the animals (G3), for 6 days in the morning.

All animals were submitted to the following TFAI protocol: On day zero, an ear implant of 3 mg the norgestomet and 5 mg the estradiol valerate was placed (Crestar, MSD) and 2 mg estradiol benzoate (EB, Fertilcare Sincronização, MSD) was administered IM (intramuscular). Eight days later (d 8), the ear implant was removed and 0,5 mg the cloprostenol (Ciosin, MSD), 750 UI the ecG (Folligon 5000UI, MSD) and 0,5 mg mestradiol cypionate (Fertilcare Ovulação, MSD) were administered IM. Artificial insemination was performed on d 10 of the protocol using frozen semen from one Nellore bull. Semen straws were thawed at 36 °C for 30 seconds using an automatic defroster. A batch of the semen was analyzed for post-thaw semen condition. Thirty-five days after AI, pregnancy diagnosis was performed by transrectal ultrasonography (MINDRYDP-2200VET, with linear probe of 10 MHz). Pregnancy rate was calculated by dividing the number of pregnant cows by the total number of inseminations.

Body weights and BCS were accessed throughout the TFAI protocol. Body condition score was assigned using a five-point scale and averaged 2.5. Diameter of preovulatory follicles was measured by transrectal ultrasonography at AI (Model MINDRY DP-2200 VET, with 10 Mhz linear transducer). Follicular diameter was calculated through the mean of the maximum diameter and its perpendicular diameter of the largest ovarian follicle and categorized by size in: < 11 mm (small), 11 to 14 mm (medium) or > 14 mm (large), according to PUGLIESI et al. (2016).

Expression of standing estrus was evaluated checking for the presence of paint on the cow's back (tail-head) prior to AI (RAIDEX® roxo, Dettingen/Erms, Alemanha). Painting was done on d eight of the fixed-time AI protocol. Indication that the paint had been rubbed was recorded at AI and taken as an evidence of estrus.

Data were analyzed using descriptive statistics, through *contingency table* analysis at 10% significance for the chi-square test. The ONEPARWAY procedure of SAS (SAS version 9.4; SAS Inst. Inc., Cary, NC) was also triggered for analysis of data. The Kruskal-Wallis test was used to test for significant differences among treatments.

### 3. Results and Discussion

Pregnancy rate (percentage of animals with confirmed pregnancy) averaged 34.09% (15/44), which is within the acceptable rate for heifers (age category), according to PRADO et al. (2015) and GRILLO et al. (2017). Progesterone administration after AI resulted in higher percentage of pregnancy, as animals receiving post-AI P4 supplementation (G2 and G3) had greater pregnancy rate (36.67%), than those receiving no P4 supplementation (G1), 26.67%. The improvement in pregnancy rate reported herein indicates that P4 administration after AI promoted 10% increase in embryo survival. The positive effect of post-AI P4 administration on pregnancy rate is evident in animals from G3, with 62.5 % pregnancy rate in animals with small follicles (Table 1).

According to Pugliesi et al. (2014) and Souza (2015), CL development and function is dose-dependent. Therefore, functional CL may favor conception depending on circulating levels of P4. Previous studies have demonstrated a positive association between circulating P4 in the week post-fecundation and embryo development in cattle (PARR et al., 2012; LONERGAN et al., 2016). According to these studies, the association between circulating P4 and pregnancy rate behaves in a quadratic and linear trend, therefore, both suboptimal and supraoptimal concentrations of P4 from days 4 to 7 after-AI or a suboptimal rate of increase in the concentration of P4 during this interval may negatively impact embryo development impairing pregnancy rate (PARR et al., 2012; LONERGAN et al., 2016).

The benefits of exogenous P4 administration post-AI on conception rate have been extensively reported in dairy cattle (PERRY et al., 2005; McNEIL et al., 2006). However, in beef cattle, including Nellore heifers, the effects of post-AI P4 administration on conception rate has not yet been extensively studied. A study done by Pugliesi et al. (2014) reported no effects of P4 administration on conception rate of Nellore cows (PUGLIESI et al., 2014). However, it has been reported that

concentrations of circulating P4 from day three to d 7 post-ovulation are dose dependent (GINTHER et al., 2012; O'HARA et al., 2014; PUGLIESI et al., 2014). A previous study done by Dias (2007) evaluated the effects of P4 serum concentration after-AI on pregnancy rate in Nellore heifers submitted to a fixed-time AI protocol (intravaginal progesterone-releasing device) with PGF2 $\alpha$  application on d 7 of the protocol. The authors reported no effects of serum P4 concentration (on d 7 after-IA) on pregnancy rate. Likewise, no effect of serum concentration of P4 on pregnancy rate was reported by Frade (2012) in Zebu cows.

**Table 1.** Pregnancy rate (%) in Nellore heifers receiving or not progesterone supplementation after fixed-time artificial insemination according to ovarian follicle diameter at timed insemination

Experimental groups <sup>2</sup>	Follicle diameter <sup>1</sup>		
	< 11	11<X<14	>=14
<b>G1</b>	44,4%	0,0%	0,0%
<b>G2</b>	0,0%	33,3%	33,3%
<b>G3</b>	62,5%	75,0%	0,0%

<sup>1</sup>Follicle diameter: < 11 mm (small), 11 to 14 mm (medium) or > 14 mm (large) according to PUGLIESI et al. (2016). <sup>2</sup>Experimental groups: Group 1(control group): no exogenous P4 administration (G1); group 2: intramuscular (IM) administration of 1.0 mL P4 (Sincrogest injectable; OuroFino) on d 4 after AI (G2); and group 3: supplementation of 2.3 mg/animal/day P4 (melengestrol acetate MGA; Zoetis), starting 4 days after AI and remaining until d 9 (d 4 – d 9).

Although the importance of P4 in the establishment and maintenance of pregnancy has been extensively reported (NASCIMENTO et al., 2013), studies evaluating P4 supplementation in the early luteal phase have yielded inconsistent results in terms of animal reproductive performance. Some studies have observed higher P4 level in nonpregnant cows when compared to pregnant cows and no association between post-AI circulating P4 and fertility in cattle (STRONGE et al., 2005; DISKIN & MORRIS, 2008; LONERGAN et al., 2016).

Body weight did not differ among experimental groups and averaged (BW $\pm$ SD): 328.7 $\pm$ 30.55, 328.0 $\pm$ 28.99 kg, and 336.20 $\pm$ 21.75 kg in animals receiving no progesterone (G1), post-AI IM administration of P4 (G2) and post-AI oral

administration of P4 (G3), respectively. A slight weight lost was observed in all experimental groups. This is justified by the critical season period (September to November) regarding pasture availability and quality. Therefore, pasture shortage and high lignin concentration possibly contributed to the low pregnancy rate reported in this study.

The majority of the dominant follicles (53.34%) were classified as small (<11mm). Dominant follicles classified as medium (11 to 14 mm) and large ( $\geq$ 14mm) represented 28.28% and 17.77% of the follicles, respectively. Pregnancy was confirmed in 37.5%, 38.46 % and 17.77% of the follicles classified as small, medium and large, respectively. Studies have reported that the ovulatory capacity of dominant follicles is acquired in follicles measuring between 7 to 10 mm in Zebu cattle (GIMENES et al., 2008; SARTORI et al., 2001). This is associated with acquisition of LH receptor in granulosa cells (SMITH et al., 2012). The size of ovulatory follicles has been reported to affect both pregnancy establishment and maintenance in cattle (BINELLI et al., 2014; DICKINSON et al., 2016).

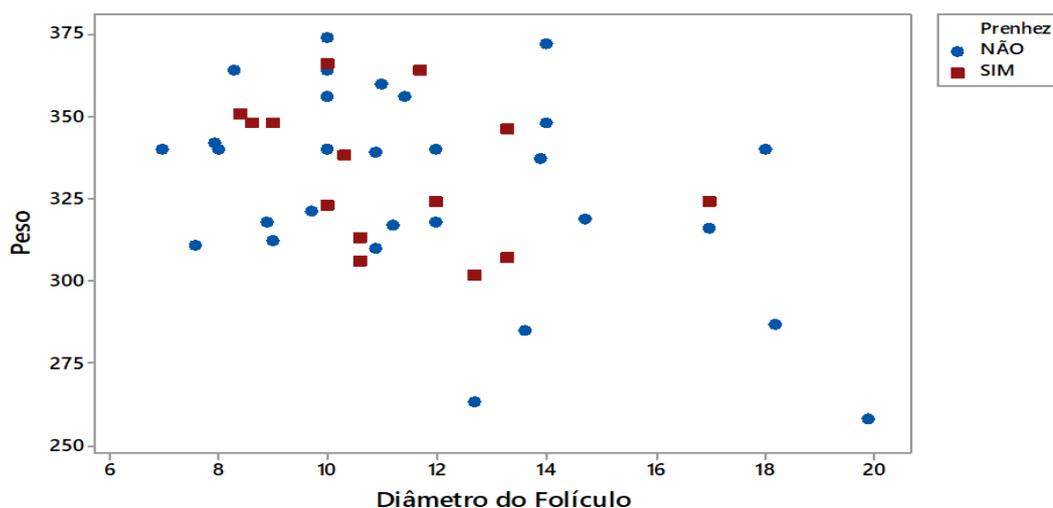
Gonçalves et al., (2014) concluded that the size of follicles in Zebu cattle is strongly related to follicular maturation and fertility. These authors stated that the presence of large follicles at insemination may indicate improved ovarian response and conception rate in *Bos taurus indicus* cattle.

Intramuscular administration of P4 after AI (G2) did not favor pregnancy in subjects presenting small follicles (Table 1). Regarding animals with small follicles, pregnancy rate was higher in those receiving no P4 (G1: 44.4%) compared to those receiving IM administration of P4 after AI (G2). Despite the low pregnancy rate reported herein in smaller follicles (G2), poor pregnancy establishment and maintenance have been associated to physiological immaturity of ovulatory follicles and not to follicle size (PERRY et al., 2005).

Animals receiving oral administration of P4 (G3) from d 4 to d 9 after AI had the highest percentage of pregnancy (53.34%, Table 2). Administration of P4 from d 4 to d 10 post-AI (G3) resulted in 33.34% improvement on embryonic survival. The improvement on embryonic survival reported on animals from G3 may be explained by the embryotropic effect of P4, especially in animals with small (62.5%) and medium follicles (75.0%) at AI, as presented in Table 1.

There was no effect of the variables follicle size and body weight on pregnancy rate, as shown in Figure 1. The majority of the animals had follicles classified as small

(<11 mm) and medium (11<FOL<14), which is expected in heifers. Therefore, the findings reveal that the follicle size had small effect on animal fertility. Loiola (2016) evaluated the effects of follicle size on pregnancy rate in Nellore cattle. The author reported that animals presenting dominant follicles characterized as medium and large had similar pregnancy rate. However, pregnancy rate was lower ( $P<0.05$ ) in animals presenting small dominant follicles (LOIOLA, 2016).



**Figure 1.** Scatterplot for the effects of body weight and size of pre-ovulatory follicles on pregnancy rate of Nellore heifers

The occurrence of estrus, determined by paint removal of the tail-head mark, was recorded in 68.2% (30/44) of the animals and was absent in 34.1% (15/44). Cows that displayed estrus had greater pregnancy rate 7/30, 25% higher than those that did not display estrus 1/15. According to Roelofs et al. (2010), expression of estrus is associated with high circulating levels of estrogen, which can stimulate specific behavioral centers improving conception rate through synchronization of ovulation and insemination. Occurrence of estrus was recorded in 68.96% (20/29) of the animals receiving P4 administration after-AI (G2 and G3) and in 66.67% (10/15) of the animals receiving no P4 (G1).

Results for pregnancy diagnosis are presented in table 2. The percentage of pregnant cows was greatest in animals supplemented with P4, through oral administration, from d 4 to d 9 after-AI (G3; 53.34% of pregnant cows) while the lowest percentage of pregnant cows was observed in animals receiving IM P4 administration after-AI (G2; 20% of pregnant cows). Despite the low percentage of pregnant animals reported with IMP4 administration after-AI (G2), results indicate that

the treatment response may be at random, as the percentage of pregnant cows was similar in animals from G1 and G3 (Table 2).

Experimental group <sup>2</sup>	Pregnancy diagnosis <sup>1</sup>	
	Positive	Negative
<b>G1</b>	26,67%	73,33%
<b>G2</b>	20,00%	80,00%
<b>G3</b>	53,34%	46,66%

**Table 2.** Pregnancy rate in Nellore heifers receiving progesterone supplementation after fixed-time artificial insemination.

<sup>1</sup>Pregnancy diagnosis expressed in percentage of the total animals inseminated.

<sup>2</sup> Experimental groups: Group 1(control group): no exogenous P4 administration (G1); group 2: intramuscular (IM) administration of 1.0 mL P4 (Sincrogest injectable; OuroFino) on d 4 after AI (G2); and group 3: supplementation of 2.3 mg/animal/day P4 (melengestrol acetate MGA; Zoetis), starting 4 days after AI and remaining until d 9 (d 4 – d 9).

Studies have reported beneficial effects of P4 supplementation (via MGA) after-AI on reproductive performance of beef cattle. For instance, Loiola (2016) observed enhanced conception rate in animals receiving MGA. Greater pregnancy rate was reported in multiparous Nellore cows supplemented with P4 (MGA) from d 13 to d 17 after-AI (SILVA JÚNIOR et al., 2014). Similarly, Costa et al. (2015) working with a total of 2.301 multiparous Nellore cows reported higher pregnancy rate in cows supplemented with P4 (MGA) after-AI compared to those from the control group (receiving no P4 administration). In contrast, pregnancy rate did not differ among Nellore cows supplemented with P4 (MGA from d 13 to d 18 after-AI) and those receiving no P4 supplementation in the study developed by Rodrigues et al. (2014). These authors found reduced pregnancy rate with P4 supplementation (via MGA) from d 5 to d 10 after-AI (28% in animals receiving P4 vs. 47.87% in animals receiving no P4).

The effects of P4 supplementation on cattle fertility has been extensively investigated, with conflicting results. Indeed, studies investigating the effects of P4

administration after-AI have found positive (LOIOLA, 2016; LONERGAN et al., 2017) and negative results on animal fertility (PUGLIESI et al., 2014; PUGLIESI et al., 2015). Pinpointing the animal category (i.e. heifers vs. cows), the P4 administration method, the exact time of P4 administration and sample size may be the key to disentangle variability and conflicting results among reports found in literature.

Souza (2015) tested the effects of different concentrations of long-action P4 (administered IM after-AI) on CL function and conception rate in Holstein cows. A positive effect was found only with the highest concentration of P4 (900mg), no effects were observed with administration of 300 and 600 mg P4, suggesting that the response to P4 administration after-AI is dose dependent. Carter et al. (2008) stated that there is a time interval post-estrus in which P4 administration is more likely to improve embryo survival. These authors observed positive effects of IM administration long-term P4 three days after fixed-time AI on embryo function and development (CARTER et al., 2008).

Sala et al. (2014) found no significant differences on conception rate between animals receiving intravaginal P4 display after-AI and those from the control group (receiving no P4). According to these authors, excessive animal handling could have caused stress which could have contributed to the low conception rate observed in animals receiving P4 device. Likewise, excessive handling in animals from G2 (IM P4 administration) may have contributed to the low conception rate observed in this experimental group. Pugliesi et al. (2014) found depressed conception rate in beef cattle receiving IM administration of long-action P4 after-AI, which is in agreement with the results reported herein (G2). Negative result of IM-P4 administration on conception rate was also observed in the study conducted (O'Hara et al., 2014).

Benefits related to the adoption of alternative approaches, aiming to enhance circulating concentrations of P4 in cattle and improve reproductive performance is still doubtful. Progesterone could potentially impact CL function and development (POHLER et al., 2012). Conversely, there is indication that suboptimal P4 in the first week of gestation leads to low pregnancy rate (VASCONCELOS et al., 2017).

Stronge et al. (2005) evaluated the association between circulating levels of P4 and fertility in dairy cows. There was an association between circulating concentrations of P4 from d 5 to 7 post-AI and percentage of pregnant cows.

Supraoptimal circulating concentrations of P4 was observed in 60 to 85% of the animals and suboptimal circulating P4 resulted in low fertility.

Beneficial effects of circulating concentration of P4 in the week post-breeding on conception development and subsequent improvement in pregnancy rate in cattle have been reported in several studies. Pugliesi et al. (2016) investigated the effects of P4 administration (150 mg) in cows and found no treatment effect on pregnancy rate in cyclic and non-cyclic animals. Additionally, it was reported that administration of P4 improved pregnancy rate in animals with small CL, suggesting that P4 administration may favor fertility in cows with impaired CL function (PUGLIESI et al., 2016).

However, P4 supplementation in the present study did not enhance reproductive performance, as no significant difference for pregnancy rate was observed among experimental groups (P4 supplementation: G2 and G3 vs. no P4 supplementation [G1]). Therefore, regarding the results of the present study, it is possible that supplementation of P4 after-AI promoted substantial changes in circulating concentrations of P4 that were either suboptimal or supraoptimal to the concentration required to enhance embryo development and survival, increasing rate of pregnancy. Additionally, the diameter of dominant follicle, as well as estrus expression and exogenous P4 administration, had no positive effect on pregnancy rate of Nellore heifers during the dry season. Therefore, further research is necessary to clarify how P4 supplementation after-AI, associated with factors such as positive energy balance, animal genetics and balanced nutrition, may affect pregnancy rate in Nellore heifers during the dry season.

## REFERENCES

AONO, F.; PERES, R.; MARCON, C. Utilização de MGA premix associado à remoção temporária do bezerro para sincronizar o cio de retorno após IATF em vaca nelore paridas. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 36, p. 622, 2008.

ATKINS, J.A.; SMITH, M.F.; MACNEIL, M.D. et al. Pregnancy establishment and maintenance in cattle. **J. Anim. Sci.** v.91, p.722-733, 2013.

BAJAJ, N.K.; SHARMA, N. Endocrine causes of early embryonic death: An overview. **Current Research in Dairy Sciences**, v.3, n.1, p.1-24, 2011.

BARUSELLI, P.S.; AYRES, H.; SOUZA, A.H. et al. Impacto da IATF na eficiência reprodutiva em bovinos de corte. **Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada**, v.2, n.2006, p.113-132, 2006. Disponível em: <<http://www.geraembryo.com.br/artigos/impacto-da-iatf-na-eficiencia-reprodutiva-em-bovinos-de-corte>>.

BINELLI, M.; PUGLIESI, G.; HOECK, V.V. et al. The role of proestrus on fertility and postovulatory uterine function in the cow. **Anim. Reprod.**, v.11, p.246-253, 2014.

CARTER, F.N.; FORDE, P.; DUFFY, M. et al. Effect of increasing progesterone concentration from Day 3 of pregnancy on subsequent embryo survival and development in beef heifers. **Reproduction, Fertility and Development**, v.20, n.3, p.368-375, 2008.

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**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Botucatu, p. 80. 2017. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/152347>>.

CLARO JUNIOR, I. et al. Reproductive performance of prepubertal *Bos indicus* heifers after progesterone-based treatments. **Theriogenology**. New York: Elsevier B.V., v.74, n.6, p.903-911, 2010. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/14301>>.

COSTA JÚNIOR, W.M.; COOKE, R.F.; PEREIRA, M.H.C. et al. Effects of melengestrol acetate supplementation after fixed-timed artificial insemination on pregnancy RATES OF *Bos indicus* beef cows. **Livestock Science**, v.206, p.71-75, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2017.10.012>>.

COSTA, W.M. et al. Supplementation with melengestrol acetate (MGA) post TAI improves fertility in suckled Nelore cows. **Animal Reproduction**, [S.l.], v.12, n.3, p.660-660, 2015. Disponível em: <<http://revistas.bvs-vet.org.br/animreprod/article/view/27911>>.

DIAS, C.C. **Avaliação dos efeitos da concentração de progesterona nas respostas ao protocolo de sincronização da ovulação em novilhas nelore cíclicas**. 2007. 54 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2007. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/98220>>.

DISKIN, M.G.; MORRIS, D.G. Embryonic and early foetal losses in cattle and other ruminants. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 43, n. 2, p. 260-267, 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/scielo.php?> >.

DICKINSON, S.E.; GEARY, T.W.; MONNIG, J.M. et al. Effect of preovulatory follicle maturity on pregnancy establishment in cattle: the role of oocyte competence and the maternal environment. **Anim. Reprod.** V.13, p.209-216, 2016.

FRADE, M.C. **Efeito da concentração pós-ovulatória de progesterona nas taxas de concepção de vacas nelore submetidas a IAFT e novilhas cruzadas submetidas a TETF.** 2012. 74 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba, 2012. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/99639>>.

GIMENES, L.U.; SÁ FILHO, M.F.; CARVALHO, N.A.T. et al. Follicle deviation and ovulatory capacity in *Bos indicus* heifers. **Theriogenology**, v.69, n.7, p.852-858, 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.01.001>>.

GINTHER, O.J.; KHAN, F.A.; HANNAN, M.A.; BEG, M.A. Temporal interrelationships at 15-min intervals among oxytocin, LH, and progesterone during a pulse of a prostaglandin F<sub>2</sub>α metabolite in heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 133, n. 1, p. 63-70, 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22789699>>.

GONÇALVES, E.A.; CAVALIERI, F.L.B.; SANTOS, J.M.G. et al. Efeito do tamanho do folículo dominante no momento da inseminação artificial em tempo fixo na taxa de gestação em vacas nelore. IN: **Anais Eletrônico VII Mostra Interna de Trabalhos de Iniciação Científica UNICESUMAR – Centro Universitário de Maringá, Maringá-PR**, 21 a 24 de outubro de 2014. Disponível em: <[http://www.cesumar.br/prppge/pesquisa/mostras/sete\\_mostra/eder\\_augusto\\_gon%C3%A7alves.pdf](http://www.cesumar.br/prppge/pesquisa/mostras/sete_mostra/eder_augusto_gon%C3%A7alves.pdf)>.

GRILLO, G.F.; GUIMARÃES, A.L.L.; COUTO, S.R.B. et al. Comparação da taxa de prenhez entre novilhas, primíparas e múltíparas da raça Nelore submetidas à inseminação artificial em tempo fixo. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v.37, n.3, p.193-197, 2017. Disponível em: <<http://rbmv.org/index.php/BJVM/article/download/391/282>>.

HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. **Reprodução animal**. 7. ed. São Paulo: Manole, p.513, 2004.

INSKEEP, E. K. Preovulatory, postovulatory, and postmaternal recognition effects of concentrations of progesterone on embryonic survival in the cow. **Journal of animal science**, v.82, n.13, p.24-39, 2004.

LOIOLA, M.V.G. **Marcadores de fertilidade e associação da suplementação exógena com progesterona a protocolos de IATF em gado de corte.** Salvador, 2016. 127 f. Tese (Doutorado – PPG Ciência Animal nos Trópicos). Universidade Federal da Bahia, Escola de

Medicina Veterinária e Zootecnia, 2016. Disponível em: <[https://repositorio.ufba.br/ri/bitstream/ri/21280/1/LoiolaMV\\_2016.pdf](https://repositorio.ufba.br/ri/bitstream/ri/21280/1/LoiolaMV_2016.pdf)>.

LONERGAN, P.; FORDE, N.; SPENCER, T.E. A importância da progesterona e de fatores derivados do conceito para a sobrevivência e desenvolvimento do conceito. **Anais da XXX Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões**, p.46-55, 2016.

MACHADO, R.; BERGAMASCHI, M.A.C.M.; SILVA, J.C.B. et al. **Estratégias para reduzir a mortalidade embrionária em bovinos: II. Protocolo para reduzir a mortalidade embrionária em vacas de leite e em receptoras de embrião**. Embrapa Pecuária Sudeste-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E), 2010.

MARQUES, T.C. **Incremento de progesterona pós-inseminação artificial em vacas leiteiras**. Dissertação (Mestrado) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Campus de Rio Verde. Rio Verde, Goiás, 54p. 2012. Disponível em: <[https://sistemas.ifgoiano.edu.br/sgursos/uploads/anexos\\_10/2017-06-14-11-36-19Disserta%C3%A7%C3%A3o\\_THAISA%20CAMPOS%20MARQUES.pdf](https://sistemas.ifgoiano.edu.br/sgursos/uploads/anexos_10/2017-06-14-11-36-19Disserta%C3%A7%C3%A3o_THAISA%20CAMPOS%20MARQUES.pdf)>.

MCNEILL, R.E.; SREENAN, J.M.; DISKIN, M.G. et al. Effect of systemic progesterone concentration on the expression of progesterone-responsive genes in the bovine endometrium during the early luteal phase. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 18, n. 5, p. 573-583, 2006. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16836964>>.

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. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 60, n. 4, p.786–793, 2008. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-09352008000400002&script=sci\\_abstract&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-09352008000400002&script=sci_abstract&tlng=pt)>.

NASCIMENTO, A.B.; SOUZA, A.H.; GUENTHER, J.N. et al. Effects of treatment with human chorionic gonadotrophin or intravaginal progesterone-releasing device after IA on circulating progesterone concentrations in lactating dairy cows. **Reproduction Fertility and Development**, v.25, n.5, p.818-824, 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23058209>>.

O'HARA, L.O.; FORDE, N.; CARTER, F. et al. Paradoxical effect of supplementary progesterone between Day 3 and Day 7 on corpus luteum function and conceptus development in cattle. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 26, n. 2, p. 328-336, 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23439105>>.

PARR, M.H., CROWE, M.A., LONERGAN, P. et al. Effect of exogenous progesterone supplementation in the early luteal phase post-insemination on pregnancy per artificial insemination in Holstein-Friesian cows. **Animal Reproduction Science**, v. 150, p.7-14, 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25205297>>.

PERRY, G.A.; SMITH, M.F.; LUCY, M.C. et al. Relationship between follicle size at insemination and pregnancy success. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United**

**States of America**, v. 102, n. 14, p. 5268-5273, 2005. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15795381>>.

PRADO, L.S.; QUEIROZ, G.R.; KOETZ JUNIOR, C. et al. Avaliação da Taxa de Concepção em Novilhas Nelore Submetidas à Inseminação Artificial em Tempo Fixo após um Protocolo de Pré-Sincronização com Progesterona. **Journal of Health Sciences**, v. 11, n. 3, 2015. Disponível em: <[www.pgsskroton.com.br/seer/index.php/JHealthSci/article/viewFile/1473/1412](http://www.pgsskroton.com.br/seer/index.php/JHealthSci/article/viewFile/1473/1412)>.

POHLER, K.G.; GEARY, T.W.; ATKINS, J.A. et al. Follicular determinants of pregnancy establishment and maintenance. **Cell Tissue Res**. v.349, p.649-664, 2012.

PUGLIESI, G.; SANTOS, F.B.; LOPES, E. et al. Impact of supplementation with long-acting progesterone during early diestrus on fertility of Nelore cows submitted to TAI. **Animal Reproduction**, v.11, n.3, p.360-360, 2014. Disponível em: <<http://revistas.bvs-vet.org.br/animreprod/article/view/26976>>.

PUGLIESI, G.; SANTOS, F.B.; LOPES, E. et al. Improved fertility in suckled beef cows ovulating large follicles or supplemented with long-acting progesterone after timed-AI. **Theriogenology**; v.85, n.7, p.1239-1248, 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26764150>>.

RODRIGUES, M.C.; LEAO, K.M. SILVA, N.C. et al. Administração de acetato de melengestrol após inseminação artificial em tempo fixo em vacas nelore lactantes. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.15, n.2, p.361-368, 2014. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1519-99402014000200024&script=sci\\_abstract&lng=es](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1519-99402014000200024&script=sci_abstract&lng=es)>.

ROELOFS, J.; LÓPEZ-GATIUS, F.; HUNTER, R.H.F. et al. When is a cow in estrus? Clinical and practical aspects. **Theriogenology**, v.74, p.327-344, 2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20363020>>.

SAS Institute Inc. **Statistical Analysis System** user's guide. Version 9.0 ed. Cary: SAS Institute, USA, 2002.

SÁ FILHO, O.G.; MENEGHETTI, M.; PERES, R.F.G. et al. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows II: Strategies and factors affecting fertility. **Theriogenology**, v. 72, n. 2, p. 210-218, 2009. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19344945>>.

SALA, P.C.; ROSA, V.; OTUTUMI, L.K. et al. Suplementação de progesterona para aumentar os índices de gestação em vacas de corte submetidas à inseminação artificial em tempo fixo. **Enciclopédia biosfera**, v.10, n.19; p. 1715, 2014. Disponível em: <<http://www.conhecer.org.br/enciclop/2014b/AGRARIAS/suplementacao%20de%20progesterona.pdf>>.

SANTOS, J.E.P.; THATCHER, W.W.; CHEBEL, R.C. et al. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. **Animal Reproduction Science**, v. 82-83 (special issue), p. 513-535, 2004. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15271477>>.

SARTORI, R. et al. Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. **Biology of Reproduction**, v.65, p.1403-1409, 2001. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11673256>>.

SILVA JÚNIOR, L.S.; FREIRIA, L.B.; ANGREVES-SILVA, G.M. et al. Uso do acetato de melengestrol após protocolos de inseminação artificial em tempo fixo em vacas Nelore multíparas. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 15, n. 2, p. 425-429, 2014. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1519-99402014000200025&script=sci\\_abstract&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1519-99402014000200025&script=sci_abstract&tlng=pt)>.

SMITH, M.F.; POHLER, K.G.; PERRY, G.A. et al. Efeito do diâmetro do folículo ovulatório na concepção e manutenção da gestação. IN: **XVI Curso novos enfoques na produção e reprodução de bovinos**, p17, 2012.

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**. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Reprodução Animal, São Paulo, p70, 2015.

SOYDAN, E.; KURAN, M. Calving season on reproductive performance of dairy cows. *Mljekarstvo*. v.67, p.297-304, 2017.

STRONGE, A.J.H.; SREENAN, J.M.; DISKIN, M.G. et al. Post insemination milk progesterone concentration and embryo survival in dairy cows. **Theriogenology**; 64:1212–24, 2005. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16125563>>.

VASCONSELOS, J.L.M.; CARVALHO, R.; PERES, R.F.G. et al. Reproductive programs for beef cattle: incorporating management and reproductive techniques for better fertility. **Anim. Reprod.** v.14, p.547-557, 2017.

WILTBANK, M.C.; MEDIAN, R.; OCHOA, J. Manutenção ou regressão do corpo lúteo durante vários períodos decisivos da prenhez bovina. **Anais da XXX Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões**, p. 115-131, 2016.

### Capítulo III - Considerações finais e Implicações

Os grandes desafios dentro dos objetivos da pecuária de corte é alcançar os melhores e maiores indicadores de lucratividade do sistema de produção de arrobas por hectare. O sistema de cria se comporta como o principal elo dentro do sistema produtivo, portanto, é extremamente importante conseguirmos bons resultados, tendo sempre como consequência a maior entrega de lucro para os produtores.

É essencial que haja o entendimento da fisiologia reprodutiva e índice de escore corporal para aplicação de alguma estratégia reprodutiva. As biotecnologias reprodutivas são amplamente utilizadas dentro do processo reprodutivo das fêmeas bovinas.

A implementação de uma fonte exógena de P4 dentro dos processos reprodutivos empregados, pode ser uma alternativa consistente na melhoria dos índices reprodutivos. Os dados do presente estudo suporta a hipótese que os bons resultados da IATF são multifatoriais e que a soma positiva desses fatores podem juntos entregar bons resultados.

O diâmetro folicular, a presença de cio, e adição de progesterona exógena não exerceu influencia positiva sobre a taxa de concepção de novilhas Nelore durante o período seco dentro do presente estudo.

Sendo assim, alternativas bem como, o balanço energético, genética, sanidade, desenvolvimento fetal, nutrição adequada consorciadas com a adição de P4 de longa ação, bem como aumento da concentração de P4 deve ser estudado para verificação de efeito satisfatório na taxa de prenhez em novilhas Nelore, durante o período seco.

Entender melhor o requerimento nutricional e fisiológico das Novilhas Nelore dentro do período seco pode ser o grande segredo das respostas aos protocolos hormonais e planejamento reprodutivo adotado dentro de cada empresa rural.