

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo deste trabalho será disponibilizado somente a partir de 24/07/2019.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“Júlio de Mesquita Filho”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

EFEITO DO USO DE UMA DOSE ADICIONAL DE
PROSTAGLANDINA $F_{2\alpha}$ DURANTE O PROTOCOLO DE IATF À
BASE DE ESTRADIOL E PROGESTERONA NA FERTILIDADE DE
VACAS HOLANDESAS EM LACTAÇÃO EM ANESTRO

FRANCISCO REBÔLO LOPES JUNIOR

Trabalho de apresentado ao
programa de Pós-
graduação em Zootecnia
como parte das exigências
para obtenção do título de
Mestre.

BOTUCATU - SP
Julho – 2017

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“Júlio de Mesquita Filho”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

EFEITO DO USO DE UMA DOSE ADICIONAL DE PROSTAGLANDINA
 $F_{2\alpha}$ DURANTE O PROTOCOLO DE IATF À BASE DE ESTRADIOL E
PROGESTERONA NA FERTILIDADE DE VACAS HOLANDESAS EM
LACTAÇÃO EM ANESTRO

FRANCISCO REBÔLO LOPES JUNIOR
Médico Veterinário

Orientador: Prof. Dr. José Eduardo Portela Santos
Co-Orientador: Prof. Dr. José Luiz Moraes Vasconcelos

Trabalho de apresentado ao
programa de Pós-graduação
em Zootecnia como parte das
exigências para obtenção do
título de Mestre.

BOTUCATU - SP
Julho – 2017

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

L864e Lopes Junior, Francisco Rebôlo, 1990-
Efeito do uso de uma dose adicional de prostaglandina f2 α durante o protocolo de IATF à base de estradiol e progesterona na fertilidade de vacas holandesas em lactação em anestro / Francisco Rebôlo Lopes Junior.- Botucatu: [s.n.], 2017
75 f.: il., grafs., tabs.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2017

Orientador: José Eduardo Portela Santos
Coorientador: José Luiz Moraes Vasconcelos
Inclui bibliografia

1. Bovino de Leite - Criação. 2. Reprodução animal - Desempenho. 3. Stress (Fisiologia). 4. Progesterona. 5. Estradiol. I. Santos, José Eduardo Portela. II. Vasconcelos, José Luiz Moraes. III. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. IV. Título.

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

BIOGRAFIA DO AUTOR

Francisco Rebôlo Lopes Junior, nascido no município de Campinas - SP, em 22 de Julho de 1990, filho de Francisco Rebôlo Lopes e Esvani Brait Leite Lopes. No ano de 2008 mudou-se para a cidade de Umuarama no Estado do Paraná onde iniciou seus estudos no curso de medicina veterinária na Universidade Estadual de Maringá (UEM), durante a graduação focou seus estudos e estágios na área de reprodução e produção de bovinos. No ano de 2013 ao finalizar a graduação em medicina veterinária mudou-se para Carmo do Rio Claro, no Estado de Minas Gerais, onde participou de pesquisas na área de desenvolvimento de programas de sincronização do ciclo estral (IATF), sob a orientação do Prof. Dr. José Luiz Moraes Vasconcelos. Em 2015 ingressou no programa de mestrado em zootecnia pela FMVZ-UNESP/Botucatu-SP, no departamento de pós-graduação em produção animal, sob a orientação do Prof. Dr. José Eduardo Portela Santos e co-orientação do Prof. Dr. José Luiz Moraes Vasconcelos. Em agosto de 2015 mudou-se para a cidade de Gainesville, no Estado da Flórida nos Estados Unidos, onde realizou parte de suas pesquisas do mestrado no Department of Animal Science na University of Florida. Durante o mestrado desenvolveu trabalhos na área de fertilidade de vacas de leite e participou de pesquisas nas áreas de saúde e nutrição de vacas de leite em período de transição. Tendo como trabalho para apresentação para obtenção do título de mestre intitulado como: Efeito do uso de uma dose adicional de prostaglandina $F_{2\alpha}$ durante o protocolo de IATF à base de estradiol e progesterona na fertilidade de vacas Holandesas em lactação em anestro.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Francisco Rebôlo Lopes e Esvani Brait Leite Lopes, pelo amor incondicional e por todo incentivo e esforços que fizeram e fazem para que eu consiga alcançar meus objetivos.

As minhas irmãs, Natália de Freitas Lopes e Marina de Freitas Lopes, por nossa amizade, carinho, amor e por toda ajuda e torcida para meu sucesso.

A toda minha família e amigos.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por sempre estar presente em minha vida, me guardando, me dando sabedoria e sempre me mostrando os caminhos onde devo seguir.

Ao Prof. Dr. José Luiz Moraes Vasconcelos pela grande oportunidade ao deixar eu participar do seu grupo de pesquisa, pela amizade, por todos os ensinamentos que levaram ao crescimento pessoal e profissional.

Ao Prof. Dr. José Eduardo Portela Santos pela confiança e oportunidade, que me foi dada ao ter participado de seu grupo de pesquisa, pelos ensinamentos, amizade e cobranças, durante o período de convivência, que ajudaram para meu amadurecimento profissional e pessoal.

Aos Professores Dr. Guilherme de Paula Nogueira, Dr. João Carlos Pinheiro Ferreira e Dr. Ocilon Gomes Sá Filho por participarem da banca do Exame Geral de Qualificação e/ou da Defesa de Dissertação, pelas sugestões e críticas que contribuíram para melhorar a dissertação.

A Universidade Estadual de Maringá, além de proporcionar minha formação profissional, também me deu grandes amigos, João Luiz, Márcio Miranda, Adriano Bach, Thiago Nitta, Darwin Fernandes, Gustavo Alcarria, André Ladeia, Fábio Borges, Heitor Kawase, Fabrício Martini, Fernando Nalin, Gustavo Batista, Isabella Dias, Mariah Vasques e toda a 7ª Turma Vet também!!

Aos companheiros de pós-graduação, professores e estagiários por todo convívio, ensinamentos, companheirismo e pelos momentos de distração nesse período de mestrado: Achilles V. Neto, Adnan Rodrigues, Alan Lorencetti, Alice Brandão, Anderson Kloster, Augusto Madureira, Bárbara Mello, Prof. Bolivar Farias, Camilo Lopera, Carlos Sanches, Diandra Leziér, Eraldo Drago, Everton Carvalho, Prof. Fernanda Paiva (e Ewerton), Giancarlo Negro, Henrique Dias, Izaias Claro Jr., João Pedro, Letícia Sinedino, Lucas

Barbosa, Lucas Giordano, Lucas Menezes, Marcos Pereira, Prof. Maria Lucia Gambarini, Michael Poindexter, Murilo Romulo, Mycon Araújo, Paula Molinari, Rafael Carvalho, Rogério Peres, Roney Zimpel, Thiago Guzella, Tiago Leiva, Wedson Costa e William Ortiz.

A toda ajuda que recebi durante as análises laboratoriais dos experimentos. Obrigado Achilles Vieira-Neto, Estela Araújo, Gessica Franco e Prof. Dr. Maria Lúcia Gambarini e Roney Zimpel.

Ao pessoal da UNESP, por todo período de convívio, amizade e companheirismo: Thiago Nitta, Pedro Victor, Fábio Ximenes, Rodrigo Gennari, Pedro Levy, Fabiana Nunes, todo o pessoal da República Boi na Zona e CONAPEC Jr.

Aos funcionários da sessão de pós-graduação da UNESP – Botucatu: Seila, Ellen e Cláudia; departamento de produção Animal: Renato e Barbosa, pela disposição e prontidão para ajudar

A todos os funcionários (Kino, Joel, Cláudio, Donato, Zé Vitor, Uian, Agnaldo, Joaquim, Todd, Manuel, Erick, Jack, entre outros) e proprietários das fazendas pela ajuda e compreensão da importância da realização dos experimentos.

Ao Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa fornecida.

A todos meus amigos, e todos que de alguma maneira participaram desta caminhada.

Muito Obrigado a Todos!

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS	vii
SUMÁRIO DE TABELAS	ix
SUMÁRIO DE FIGURAS	x
CAPÍTULO 1	1
CONSIDERAÇÕES INICIAIS	1
INTRODUÇÃO	2
REVISÃO DE LITERATURA	4
Estresse calórico.....	4
Condição anovulatória pós-parto.....	5
Estratégia reprodutiva.....	7
Desenvolvimento de programas de sincronização da ovulação.....	8
Programas à base de E2 e P4.....	8
Proestro.....	10
Relação entre prostaglandina F _{2α} e reprodução.....	12
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	15
CAPÍTULO 2	26
ABSTRACT	27
INTRODUCTION	29
MATERIALS AND METHODS.....	31
Experiment 1.....	31
Cows, Housing and Diets.....	31
Reproductive Management.....	32
Ultrasonography of the Ovaries and Treatments.....	33
Blood Sampling and Analyses of Progesterone.....	34
Pregnancy Diagnosis and Calculation of Reproductive Responses.....	35
Body Condition Score, Milk Yield and Rectal Temperature.....	35
Experiment 2.....	36
Animals, Housing, Diet and Milking.....	36

Treatments.....	37
Ovarian Ultrasonography.....	37
Blood Sampling and Analyses of Progesterone.....	38
Intensive Bleeding Samples and Analyses of Luteinizing Hormone LH and 13,14-Dihydro-15-keto-PGF _{2α} metabolite (PGFM)	38
Follicular Fluid Collection and Hormonal Analyses.....	40
Experimental Design and Statistical Analyses.....	41
 RESULTS	 43
Experiment 1.....	43
Follicle Diameter at AI, Expression of Estrus and Synchronization	44
Protocol.....	
Pregnancy per AI and Pregnancy Loss.....	45
Experiment 2.....	47
Concentration, Pulsatility and Peak of LH.....	47
Dominant Follicle Diameter and Fluid Follicular Hormonal profile.....	48
 DISCUSSION	 48
 CONCLUSION.....	 53
 REFERENCES.....	 55
 TABLES AND FIGURES.....	 65
 CAPÍTULO 3	 73
 CONSIDERAÇÕES GERAIS E IMPLICAÇÕES	 74

LISTA DE ABREVIATURAS

- AGNE - Ácido graxo não esterificado
- BCS – Body condition score
- BEN - Balanço energético negativo
- BHBA - β -hidroxibutirato
- CIDR - Dispositivo intravaginal de liberação de progesterona
- CL - Corpo lúteo
- DIM – Days in milk
- DPP - Dias pós-parto
- E2 - Estradiol
- ECC - Escore de condição corporal
- eCG - Gonadotrofina coriônica equina
- ECP – Cipionato de estradiol
- FCM – Fat-corrected milk
- FSH - Hormônio folículo estimulante
- GH - Hormônio do crescimento
- GnRH - Hormônio liberador de gonadotrofinas
- hCG - Gonadotrofina coriônica humana
- IA - Inseminação artificial
- IATF - Inseminação artificial em tempo fixo
- IEP - Intervalo entre partos
- IFN- τ - Interferon-tau
- IGF-1 - Insulin like growth factor 1 (Fator de crescimento semelhante à insulina 1)
- IMS - Ingestão de matéria seca
- Kg – Quilograma
- LH - Hormônio luteinizante
- MS - Matéria seca
- P/IA - Prenhez por IA
- P4 - Progesterona

PGF_{2α} - Prostaglandina F_{2α}

TC - Taxas de concepção

TMR – Total mixed ration

TS - Taxa de serviço

US – Ultrassonografia

SUMÁRIO DE TABELAS

- Table 1.** Effects of the number of prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) injection (1PGF, injection on day -4 and 2PGF, injections on days -4 and -2) and protocol length (9 vs. 10 days with CIDR) of the timed AI program on fertility responses in lactating dairy cows subjected to the P4/E2 timed AI program.....65
- Table 2.** Effects of treatments on expression of estrus, diameter at ovulatory follicle, estrous cycle synchronization, double ovulation and fertility responses in anestrus lactating dairy cows subjected to the one (day -4) or two doses of $PGF_{2\alpha}$ (days -4 and -2) to the P4/E2 timed AI program.....66
- Table 3.** Effect of doses of Prostaglandin $F_{2\alpha}$ on the estrous cycle synchronization and fertility responses after TAI program on according to the average of rectal temperature between days 0 and 7.....67
- Table 4.** Effect of treatment with prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) in lactating dairy cows subjected to the P4/E2 timed AI program on the follicle diameter, composition of the follicular and characteristics of pulses and pre-ovulatory LH surges.....68

SUMÁRIO DE FIGURAS

Figure 1 - Diagram of activities. Study day 0 is the day of insemination. Treatments were: 1PGF9d = 9 days with progesterone (P4) device and one injection of PGF_{2α}; 2PGF9d = 9 days with P4 device and two injections of PGF_{2α}; 1PGF10d = 10 days with P4 device and one injection of PGF_{2α}; 2PGF10d = 10 days with P4 device and two injections of PGF_{2α}. TAI = timed artificial insemination; BCS = body condition scoring; BS = blood sampling; US = ovarian ultrasonography; RT = rectal temperature.....69

Figure 2 - Diagram of activities. Study day 10.8 is the day of follicle aspiration. Treatments were: 1PGF = 7 days pre-synchronization for CL lysis and 9 days with progesterone (P4) device and one injection of PGF_{2α}; 2PGF = 7 days pre-synchronization for CL lysis and 9 days with progesterone (P4) device and two injection of PGF_{2α}. BCS = body condition scoring on day -7; BS = blood sampling; US = ovarian ultrasonography on days -7; -3; 0; 5; 7; 9; 10; Intensive blood sampling on days 9 - 11.4 (-1h – 6h, every 15 minutes; 12h, 18h, 24h – 58h every 2 hours).....70

Figure 3 - Effect of PGFM release in response to an injection of 25mg of dinoprost tromethamine (PGF_{2α}), during E2/P4 timed-AI protocol. . Treatments: 1PGF received saline injection on 0:00 hour; 2PGF received second dose of PGF_{2α} on 0:00 hour. Blood was sampled for PGFM every 15 min from -1 to 6 min relative to PGF_{2α} injection and at 12, 18 and 24 hours. Concentrations of PGFM from d 0 to 6 hour averaged 47.0 vs. 702.8 ± 25.1 pg/mL for 1PGF and 2PGF, respectively Effects of treatment ($P = 0.001$), hour ($P < 0.001$), and interaction between treatment and hour ($P < 0.001$).....71

Figure 4 - Pre-ovulatory surge of LH in response to an E2/P4 timed-AI protocol. Treatments: 1PGF received saline injection on 9 d; 2PGF received second dose of PGF_{2α} on 9 d. The peak of LH (4.1 vs. 3.7 ± 0.3 ng/mL) and AUC [29.1 vs. 29.4 ± 2.4 (ng/mL) Hour] were similar between treatments for 1PGF and 2PGF, respectively.....72

CAPÍTULO 1

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

INTRODUÇÃO

O Brasil se destaca no cenário da agropecuária mundial, com um dos maiores rebanhos bovinos do mundo. A bovinocultura leiteira se destaca por ser quinto maior produtor mundial de leite, com 35,2 bilhões de litros/ano e com aproximadamente 23 milhões de vacas em lactação, porém a baixa eficiência produtiva (1.581 litros/vaca/ano - EMBRAPA, 2014) mostra uma das fragilidades no sistema de produção, e a eficiência reprodutiva é um fator limitante para aumentar a produção de leite no Brasil.

Vacas de leite de alta produção apresentam falhas reprodutivas, que são de causas multifatoriais (LUCY, 2001). O atraso no retorno à ciclicidade causa impacto negativo na reprodução, pois há comprometimento para inseminar as vacas imediatamente após o período de espera voluntária (PEV; RHODES et al., 2003). Dependendo do rebanho, a proporção de vacas que não possuem corpus lúteo (CL) aos 60 dias pós-parto pode exceder 40% (WALSH et al., 2007b; SANTOS et al., 2009). Mesmo quando essas vacas são submetidas a programas de sincronização de ovulação apresentam baixa prenhez por inseminação artificial (P/IA; SANTOS et al., 2009; BISINOTTO et al., 2010a; BISINOTTO et al., 2013), e mesmo que se tornem gestantes, existe maior chance de perda de prenhez (SANTOS et al., 2004).

A anovulação no pós-parto é de causas multifatoriais, como exemplo o estado nutricional das vacas (BUTTLER, 2003), hipotálamo refratário ao efeito positivo do estradiol (ALLRICH, 1994), pela liberação de opióide endógeno, resultado do estímulo da mamada ou ordenha (GORDON et al., 1987), perda de escore de condição corporal, ordem de parição (primípara ou múltipara), estação de parição, o rebanho e doenças pós-parto (SANTOS et al., 2009; RIBEIRO et al., 2013).

O estresse térmico também é um fator que afeta o desempenho reprodutivo. Temperaturas elevadas podem levar a diminuição de ingestão de matéria seca (IMS; TURNER E TAYLOR, 1983), e como consequência pode levar a vaca a um BEN. O balanço energético negativo pode diminuir a concentração de glicose (JOLLY et al., 1995), que é diretamente ligada a liberação de hormônio luteinizante (LH; BUCHOLTZ et al., 1996), importante para o mecanismo de ovulação. Além disso, vacas que sofrem de estresse térmico tem sua fertilidade comprometida por diversos fatores, como: crescimento do folículo dominante (WILSON et al., 1998), diminuição da esteridogênese (WOLFENSON et al.,

1997), da concentração de estradiol periovulatória (WILSON et al., 1998), competência oocitária (TORRES-JUNIOR et al., 2008), redução da taxa de fertilização (SARTORI et al., 2002) e do desenvolvimento embrionário inicial (HANSEN E ARECHIGA, 1999; WOLFENSON et al., 2000; HANSEN et al., 2001).

Sabendo-se que as vacas em anestro têm baixa pulsatilidade da LH (RICHARDS et al., 1989), e que a pulsatilidade da LH é importante para o crescimento do folículo ovulatório, e o diâmetro do folículo está associado positivamente com a produção de estradiol próximo a ovulação e a fertilidade (VASCONCELOS et al. 2001, BRIDGES et al., 2010, JINKS et al., 2013). Assim uma possível causa da baixa fertilidade em vacas em anestro seja relacionada com problemas no desenvolvimento do folículo ovulatório.

Estudos com prostaglandina $F_{2\alpha}$ visando diferentes efeitos, além o da luteólise, mostraram que $PGF_{2\alpha}$ pode atuar na liberação hormônio que é importante para o desenvolvimento folicular. Estudos obtiveram como resultado que a $PGF_{2\alpha}$ pode atuar como estimulador ovulatório em novilhas pré-pubescentes (LEONARDI et al., 2012; PFEIFER et al., 2014), $PGF_{2\alpha}$ auxiliando na liberação de LH em vacas de corte (RANDEL et al., 1996), em vacas de corte em anestro (CRUZ et al., 1997), ovelhas (CARLSON et al., 1973) e ratos (WARBERG et al., 1976).

Diferentemente de outros estudos, onde foi adicionado uma segunda dose de $PGF_{2\alpha}$ em protocolos de IATF (1 vs. 2 doses) com o objetivo de aumentar a taxa de luteólise e conseqüentemente melhorar a fertilidade dessas vacas. A adição de uma segunda dose mostrou-se que melhorou a fertilidade em vacas leiteiras (RIBEIRO et al., 2012a), em vacas de corte (KASIMANICKAM et al., 2009) e tendiam a melhorar em novilhas de corte (PETERSON et al., 2011). No entanto, nenhum desses estudos avaliaram ciclicidade dos animais. Porém, Pereira et al., (2015) avaliaram ciclicidade das vacas e mostraram que as vacas leiteiras em anestro que receberam duas injeções de $PGF_{2\alpha}$ durante um programa de sincronização da ovulação foram beneficiadas e tiveram sua fertilidade aumentada quando comparadas com animais que receberam apenas uma injeção de $PGF_{2\alpha}$, sugerindo que a melhora na fertilidade pelo uso da $PGF_{2\alpha}$ não vem apenas da luteólise, que pode ser que a $PGF_{2\alpha}$ desempenha outras funções na reprodução.

Além do uso da $\text{PGF}_{2\alpha}$ como estímulo de liberação de LH que possa com que melhore o desenvolvimento folicular em programas de sincronização, o aumento da duração do protocolo de sincronização também é uma ferramenta que pode levar o aumento do folículo ovulatório e consequentemente a concentração de estradiol e expressão de estro próximo a IA. (VASCONCELOS et al., 2001; PERRY et al., 2014), e vacas que manifestam estro têm melhor fertilidade e maior manutenção da gestação (PEREIRA et al., 2016). Existem algumas estratégias que podem ser utilizadas para aumentar a circulação de estradiol próximo a IA e para melhorar a expressão do estro, como o uso de ECP no final dos protocolos ovsynch (PANCARCI et al., 2002; CERRI et al., 2004), aumentar o intervalo entre a injeção de $\text{PGF}_{2\alpha}$ e o momento da IA, proporcionando maior proestro (PEREIRA et al., 2013b) e aumentando o comprimento do protocolo de sincronização (PEREIRA et al., 2014).

Portanto em protocolos de sincronização o estímulo para o desenvolvimento do folículo ovulatório tem grande importância, seja esse estímulo por uso de hormônios onde faça com que esse folículo se desenvolva melhor e mais rápido ou, seja por aumentar a duração do procolo, onde esse folículo tenha mais tempo para se desenvolver. Isso pode levar um aumento da fertilidade das vacas em protocolos de sincronização, otimizando seu uso.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, G. P., R. L. MATTERI, J. P. KASTELIC, J. C. H. KO, AND O. J. GINTHER. 1992. **Association between surges of follicle-stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers.** *J. Reprod. Fertil.* 94:177-188.
- ALLRICH, R. D. 1994. **Symposium: Estrus, New Devices, and Monitoring Endocrine and Neural Control of Estrus In Dairy Cows.** *J Dairy Sci.* 77: 2738-2744.
- BADINGA, L., W. W. THATCHER, T. DIAZ, M. DROST, AND D. WOLFENSON. 1993. **Effect of environmental heat stress on follicular development and steroidogenesis in lactating Holstein cows.** *Theriogenology.* 39:797-810.
- BARUSELLI, P. S., J. N. S. SALES, R. V. SALA, L. M. VIEIRA, AND M. F. SÁ FILHO. 2012. **History, evolution and perspectives of timed artificial insemination programs in Brazil.** *Anim. Reprod.* 9:139-152.
- BEAM, S. W., AND W. R. BUTLER. 1999. **Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cows.** *J. Reprod. Fertil.* 54:411-424.
- BELLO, N. M., J. P. STEIBEL, AND J. R. PURSLEY. 2006. **Optimizing ovulation to first GnRH improved outcomes to each hormonal injection of Ovsynch in lactating dairy cows.** *J. Dairy Sci.* 89:3413-3424.
- BISINOTTO, R. S., R. C. CHEBEL, AND J. E. P. SANTOS. 2010a. **Follicular wave of the ovulatory follicle and not cyclic status influences fertility of dairy cows.** *J. Dairy Sci.* 93:3578-3587.
- BISINOTTO, R. S., E. S. RIBEIRO, F. S. LIMA, N. MARTINEZ, L. F. GRECO, L. F. S. P. BARBOSA, P. P. BUENO, L. F. S. SCAGION, W. W. THATCHER, AND J. E. P. SANTOS. 2013. **Targeted progesterone supplementation improves fertility in lactating dairy cows without a corpus luteum at the initiation of the timed artificial insemination protocol.** *J. Dairy Sci.* 96:1-12.
- BISINOTTO, R. S., L. O. CASTRO, M. B. PANSANI, C. D. NARCISO, N. MARTINEZ, L. D. P. SINEDINO, T. L. C. PINTO, N. S. VAN DE BURG WAL, H. M. BOSMAN, R. S. SURJUS, W. W. THATCHER, AND J. E. P. SANTOS. 2015a. **Progesterone supplementation to lactating dairy cows without corpus luteum at the initiation of the Ovsynch protocol.** *J. Dairy Sci.* 98: 2515-2528.
- BÓ, G. A., G. P. ADAMS, R. A. PIERSON, E. H. TRIBULO, M. CACCIA, AND R. J. MAPLETOFT. 1994. **Follicular wave dynamics after estradiol 17- β treatment of heifers with or without a progestogen implant.** *Theriogenology.* 41:1555-1569.

- BOURNE, G. R., S. R. MOSS, P. J. PHILLIPS, AND B. SHUKER. 1980. **The metabolic fate of the synthetic prostaglandin cloprostenol ('Estrumate') in the cow: use of ion cluster techniques to facilitate metabolite identification.** *Biomed. Mass Spec.* 7(5):226-230.
- BRIDGES, G. A., M. L. MUSSARD, C. R. BURKE, AND M. L. DAY. 2010. **Influence of the length of proestrus on fertility and endocrine function in female cattle.** *Anim. of Reprod. Sci.* 117:208-215.
- BRUSVEEN, D. J., A. H. SOUZA, AND M. C. WILTBANK. 2009. **Effects of additional prostaglandin F-2 alpha and estradiol-17 beta during Ovsynch in lactating dairy cows.** *J. Dairy Sci.* 92:1412-1422.
- BUCHOLTZ D. C., N. M. VIDWANS, C. G. HERBOSA, K. K. SCHILLO, AND D. L. FOSTER. 1996. **Metabolic interfaces between growth and reproduction: pulsatile luteinizing hormone secretion is dependent on glucose availability.** *Endocrinology.* 137:601-607.
- BURKE C. R., K. L. MACMILLAN, AND M. P. BOLAND. 1996. **Oestradiol potentiates a prolonged progesterone-induced suppression of LH release in ovariectomised cows.** *Anim. Reprod. Sci.* 45:13-28.
- BURKE, C. R.; M. L. MUSSARD, C. L. GASSER, D. E. GRUM, AND M. L. DAY. 2003. **Estradiol benzoate delays new follicular wave emergence in a dose-dependent manner after ablation of the dominant ovarian follicle in cattle.** *Theriogenology.* 60:647-658.
- BUTLER, W. R., 2000. **Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle.** *Anim. of Reprod. Sci.* 60-61: 449-457.
- BUTLER, W.R. 2003. **Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows.** *Livest Production Sci.* 83: 211-218.
- CARLSON J. C, B. BARCIKOWSKI AND J. A. McCRACKEN.1973. **Prostaglandin F_{2α} and the release of LH in sheep.** *J. Reprod. Fert.* 34:357-361.
- CERRI, R. L., J. E. SANTOS, S. O. JUCHEM, K. N. GALVÃO, AND R. C. CHEBEL. 2004. **Timed artificial insemination with estradiol cypionate or insemination at estrus in high producing dairy cows.** *J. Dairy Sci.* 87:3704-3715.
- CERRI, R. L., H. M. RUTIGLIANO, R. C. CHEBEL, AND J. E. SANTOS. 2009. **Period of dominance of the ovulatory follicle influences embryo quality in lactating dairy cows.** *Reproduction.* 137: 813-823.

- CHEBEL, R.C., J. E. P. SANTOS, R. L. A. CERRI, H. M. RUTIGLIANO, AND R. G. S. BRUNO. 2006. **Reproduction in dairy cows following progesterone insert presynchronization and resynchronization protocols.** *J. Dairy Sci.* 89:4205-4219.
- CRUZ, L. C., E. R. DOVALLE, AND D. J. KESLER. 1997. **Effect of prostaglandin F_{2α} and gonadotropin releasing hormone-induced luteinizing hormone releases on ovulation and corpus luteum function of beef cows.** *Anim. of Reprod. Sci.* 49:135-142.
- DAVOODI, S., R. F. COOKE, A. C. FERNANDES, B. I. CAPPELLOZZA, J. L. VASCONCELOS, AND R. L. CERRI. 2016. **Expression of estrus modifies the gene expression profile in reproductive tissues on Day 19 of gestation in beef cows.** *Theriogenology.* 85: 645-655.
- DEMÉTRIO, D. G. B., R. M. SANTOS, C. G. DEMETRIO, AND J. L. M. VASCONCELOS. 2007. **Factors affecting conception rates following artificial insemination or embryo transfer in lactating Holstein cows.** *J. Anim. Sci.* 90:5073-5082.
- DENICOL, A. C., G. JR. LOPES, L. G. MENDONÇA, F. A. RIVERA, F. GUAGNINI, R. V. PEREZ, J. R. LIMA, R. G. BRUNO, J. E. P. SANTOS, AND R. C. CHEBEL. 2012. **Low progesterone concentration during the development of the first follicular wave reduces pregnancy per insemination of lactating dairy cows.** *J. Dairy Sci.* 95:1794-1806.
- FRICKE, P. M., D. Z. CARAVIELLO, K. A. WEIGEL, AND M. L. WELLE. 2003. **Fertility of dairy cows after resynchronization of ovulation at three intervals following first timed insemination.** *J. Dairy Sci.* 86:3941-3950.
- GINTHER, O. J., K. KOT, L. J. KULICK, S. MARTIN, AND M. C. WILTBANK. 1996a. **Relationships between FSH and ovarian follicular waves during the last six months of pregnancy in cattle.** *J. Reprod. Fertil.* 108:271-279.
- GORDON, K., RENFREE, M. B., SHORT, R. V. AND CLARKE, I. J. 1987. **Hypothalamo-pituitary portal blood concentrations of β -endorphin during suckling in the ewe.** *J. Reprod. Fert.* 79: 397-408.
- GÜMEN, A. AND M. C. WILTBANK. 2002. **An alteration in the hypothalamic action of estradiol due to lack of progesterone exposure can cause follicular cysts in cattle.** *Biol. Reprod.* 66:1689-1695.
- GÜMEN, A. AND M. C. WILTBANK. 2005a. **Follicular cysts occur after a normal estradiol-induced GnRH/LH surge if the corpus hemorrhagicum is removed.** *Reproduction.* 129:737-745.
- HANSEN, P. J. AND C. F. ARÉCHIGA. 1999. **Strategies for managing reproduction in the heat-stressed dairy cow.** *J. Anim. Sci.* 77 Suppl 2:36-50.

- HANSEN, P. J., M. DROST, R. M. RIVERA, F. F. PAULA-LOPES, Y. M. AL-KATANANI, C. E. KRININGER, AND C. C. CHASE. 2001. **Adverse impact of heat stress on embryo production: Causes and strategies for mitigation.** *Theriogenology*. 55:91–103.
- HAWK, H. W. 1983. **Sperm survival and transport in the female reproductive tract.** *J Dairy Sci*. 66:2645-2660.
- IMAKAWA, K., DAY, M. L., ZALESKY, D. D., GARCIA-WINDER, M., KITTOK, R. J., AND KINDER, J. E. 1986. **Regulation of pulsatile LH secretion by ovarian steroids in the heifer.** *J. Anim. Sci.* 63:162.
- INGRAHAM, R. H., D. D. GILLETTE, AND W. D. WAGNER. 1974. **Relationship of temperature and humidity to conception rate of Holstein cows in subtropical climate.** *J Dairy Sci*. 57:476-81.
- JINKS, E. M., M. F. SMITH, J. A. ATKINS, K. G. POHLER, G. A. PERRY, M. D. MACNEIL, A. J. ROBERTS, R. C. WATERMAN, L. J. ALEXANDER, AND T. W. GEARY. 2013. **Preovulatory estradiol and the establishment and maintenance of pregnancy in suckled beef cows.** *J. Anim. Sci.* 91: 1176-1185.
- JOLLY, P. D., S. McDOUGALL, L. A. FITZPATRICK, K. L. MACMILLAN, AND K. ENTWHITSLE. 1995. **Physiological effects of under nutrition on postpartum anestrous in cows.** *J. Reprod. Fertil.* 49:477-492.
- KASIMANICKAM, R., M. L. DAY, J. S. RUDOLPH, J. B. HAL, AND W. D. WHITTIER. 2009. **Two doses of prostaglandin improve pregnancy rates to timed-AI in a 5-day progesterone-based synchronization protocol in beef cows.** *Theriogenology* 71:762-767.
- KINDAHL, H., L. E. EDQUIST, A. BANE, AND E. GRANSTROM. 1976. **Blood levels of progesterone and 15-keto-13,14-dihydro-prostaglandin F2 α during the normal oestrous cycle and early pregnancy in heifers.** *Acta Endocrinol.* 82:134-149.
- KINDER, J. E., KOJIMA, F. N., BERGFELD, E. G. M., WEHRMAN, M. E., AND FIKE, K. E. 1996. **Progestin and Estrogen Regulation of Pulsatile LH Release and Development of Persistent Ovarian Follicles in Cattle.** *J. Anim. Sci.* 74: 1424–1440.
- LEONARDI, C. E., L. F. PFEIFER, M. I. RUBIN, J. SINGH, R. J. MAPLETOFT, G. A. PESSOA, A. M. BAINY, AND C. A. SILVA. 2012. **Prostaglandin F2 α promotes ovulation in prepubertal heifers.** *Theriogenology*. 78:1578-1582.
- LEROY, J. L. M. R., T. VANHOLDER, B. MATEUSEN, A. CHRISTOPHE, G. D. E. OPSOMER A. KRUIF, G. GENICOT, AND A. VAN SOOM. 2005. **Non-esterified fatty acids in follicular fluid of dairy cows and their effect on developmental capacity of bovine oocytes in vitro.** *Reproduction*. 130:485-495.

LEROY, J. L., G. OPSOMER, A. VAN SOOM, I. G. GOOVAERTS, AND P. E. BOLS. 2008a. **Reduced fertility in high-yielding dairy cows: are the oocyte and embryo in danger? Part I. The importance of negative energy balance and altered corpus luteum function to the reduction of oocyte and embryo quality in high-yielding dairy cows.** *Reproduction in Domestic Animal*. 43:612-622.

LUCY, M. C., J. D. SAVIO, L. BADINGA, RL DE LA SOTA, AND W. W. THATCHER. 1992. **Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle.** *J. Anim Sci*. 70:3615–3626.

LUCY, M. C., **Reproductive loss in high-producing dairy cattle: Where will it end?** 2001. *J. Dairy Sci*. 84:1277–1293.

MADSEN, C. A., G. A. PERRY, C. L. MOGCK, R. F. DALY, M. D. MACNEIL, AND T. W. GEARY. 2015. **Effects of preovulatory estradiol on embryo survival and pregnancy establishment in beef cows.** *Anim. Reprod. Sci*. 158: 96-103.

MANN, G. E., M. D. FRAY, AND G. E. LAMMING. 2006. **Effects of time of progesterone supplementation on embryo development and interferon-tau production in the cow.** *Vet. J*. 171:500-503.

McCRACKEN, J. A., E. E. CUSTER, AND J. C. LAMSA. 1999. **Luteolysis: a neuroendocrine-mediated event.** *Physiol. Rev*. 79(2):263-323.

MELO, L. F., P. L. J. MONTEIRO JR., R. S. SURJUS, J. N. DRUM, M. C. WILTBANK, AND R. SARTORI. 2016. **Progesterone-based fixed-time artificial insemination protocols for dairy cows: Gonadotropin-releasing hormone versus estradiol benzoate at initiation and estradiol cypionate versus estradiol benzoate at the end.** *J. Dairy Sci*. 99:9227-9237.

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

MONTEIRO JR., P. L. J., M. BORSATO, F. L. M. SILVA, A. B. PRATA, M. C. WILTBANK, AND R. SARTORI. 2015. **Increasing estradiol benzoate, pretreatment with gonadotropin-releasing hormone, and impediments for successful estradiol-based fixed-time artificial insemination protocols in dairy cattle.** *J. Dairy Sci*. 98:3826-3839.

OTTEM, E. N., ZULOAGA, D. G. AND BREEDLOVE, S. M. 2004. **Brain gender: prostaglandins have their say.** *Nature Sci*. 7 -6: 570-572.

PANCARCI, S. M., E. R. JORDAN, C. A. RISCO, M. J. SCHOUTEN, F. L. LOPES, F. MOREIRA, AND W. W. THATCHER. 2002. **Use of estradiol cypionate in a presynchronized timed artificial insemination program for lactating dairy cattle.** *J. Dairy Sci.* 85:122-131.

PEREIRA, M. H., A. D. RODRIGUES, T. MARTINS, W. V. OLIVEIRA, P. S. SILVEIRA, M. C. WILTBANK, AND J. L. VASCONCELOS. 2013a. **Timed artificial insemination programs during the summer in lactating dairy cows: comparison of the 5-d Cosynch protocol with an estrogen/progesterone-based protocol.** *J. Dairy Sci.* 96:6904-6914.

PEREIRA, M. H. C., C. P. SANCHES, T. G. GUIDA, A. D. P. RODRIGUES, F. L. ARAGON, M. B. VERAS, P. T. BORGES, M. C. WILTBANK, AND J. L. M. VASCONCELOS. 2013b. **Timing of prostaglandin F2 α treatment in an estrogen-based protocol for timed artificial insemination or timed embryo transfer in lactating dairy cows.** *J. Dairy Sci.* 96:2837-2846.

PEREIRA, M. H., A. D. RODRIGUES, R. J. DE CARVALHO, M. C. WILTBANK, AND J. L. VASCONCELOS. 2014. **Increasing length of an estradiol and progesterone timed artificial insemination protocol decreases pregnancy losses in lactating dairy cows.** *J. Dairy Sci.* 97:1454-1464.

PEREIRA, M. H. C., M. C. WILTBANK, L. F. S. BARBOSA, W. M. COSTA JR., M. A. P. CARVALHO AND J. L. M. VASCONCELOS. 2015. **Effect of adding a gonadotropin-releasing-hormone treatment at the beginning and second prostaglandin F2 α treatment at the end of an estradiol-based protocol for timed artificial insemination in lactating dairy cows during cool or hot seasons of the year.** *J. Dairy Sci.* 98:947-959.

PEREIRA, M. H. C., M. C. WILTBANK, AND J. L. M. VASCONCELOS. 2016. **Expression of estrus improves fertility and decreases pregnancy losses in lactating dairy cows that receive artificial insemination or embryo transfer.** *J. Dairy Sci.* 99:2237-2247.

PEREIRA, M. H. C., C. P. SANCHES JR, T. G. GUIDA, M. C. WILTBANK, AND J. L. M. VASCONCELOS. 2017. **Comparison of fertility following use of one versus two intravaginal progesterone inserts in dairy cows without a CL during a synchronization protocol before timed AI or timed embryo transfer.** *Theriogenology* 89:72-78.

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

- PERRY, G. A., O. L. SWANSON, E. L. LARIMORE, B. L. PERRY, G. D. DJIRA, AND R. A. CUSHMAN. 2014. **Relationship of follicle size and concentrations of estradiol among cows exhibiting or not exhibiting estrus during a fixed-time AI protocol.** *Domest. Anim. Endocrinol.* 48:15–20.
- PETERSON, C., A. ALKAR, S. SMITH, S. KERR, J.B. HALL, D. MOORE, R. KASIMANICKAM. 2011. **Effects of one versus two doses of prostaglandin F2alpha on AI pregnancy rates in a 5-day, progesterone-based, CO-Synch protocol in crossbred beef heifers.** *Theriogenology.* 75:1536-1542.
- PFEIFER, L. F. M., C. E. P. LEONARDI, N. A. CASTRO, J. H. M. VIANA, L. G. B. SIQUEIRA, E. M. CASTILHO, J. SINGH, R. H. KRUSSER, AND M. I. B. RUBIN. 2014. **The use of prostaglandin F2 α as ovulatory stimulus for timed artificial insemination in cattle.** *Theriogenology.* 81:689-695.
- PURSLEY, J. R., M. R. KOSOROK, AND M. C. WILTBANK. 1997. **Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation.** *J. Dairy Sci.* 80:301-306.
- RANDEL, R. D., R. P. DEL VECCHIO, D. A. NEUENDORFF, AND L. A. PETERSON. 1988. **Effect of alfaprostol on postpartum reproductive efficiency In Brahman cows and heifers.** *Theriogenology.* 29: 657-670.
- RANDEL, R. D., M. A. LAMMOGLIA, A. W. LEWIS, D. A. NEUENDORFF, AND M. J. GUTHRIE. 1996. **Exogenous PGF(2)alpha enhanced GnRH induced LH release in postpartum cows.** *Theriogenology.* 45:643-654.
- RATHBONE, M. J., J. E. KINDER, K. FIKE, F. KOJIMA, D. CLOPTON, C. R. OGLE, AND C. R. BUNT. 2001. **Recent advances in bovine reproductive endocrinology and physiology and their impact on drug delivery system design for the control of the estrous cycle in cattle.** *Advanced Drug Delivery Reviews.* 50:277-320.
- REEVES, P. R. 1978. **Distribution, elimination, and residue studies in the cow with the synthetic prostaglandin estrumate.** *J. Agric. Food Chem.* 26(1):152-155.
- RHODES, F. M., S. MCDUGALL, C. R. BURKE, G. A. VERKERK, AND K. L. MACMILLAN, 2003. **Invited review: treatment of cows with extended postpartum anestrus interval.** *J. Dairy Sci.* 86: 1876–1894.
- RIBEIRO, E. S., R. S. BISINOTTO, M. G. FAVORETO, L. T. MARTINS, R. L. A. CERRI, F. T. SILVESTRE, L. F. GRECO, W. W. THATCHER, AND J. E. P. SANTOS. 2012a. **Fertility in dairy cows following presynchronization and administering twice the luteolytic dose of prostaglandin F-2 alpha as one or two injections in the 5-day timed artificial insemination protocol.** *Theriogenology.* 78:273-284.

RIBEIRO, E. S., A. P. MONTEIRO, F. S. LIMA, H. AYRES, R. S. BISINOTTO, M. FAVORETO, L. F. GRECO, R. S. MARSOLA, W. W. THATCHER, AND J. E. SANTOS. 2012b. **Effects of presynchronization and length of proestrus on fertility of grazing dairy cows subjected to a 5-day timed artificial insemination protocol.** *J. Dairy Sci.* 95:2513-2522.

RIBEIRO, E. S., F. S. LIMA, L. F. GRECO, R. S. BISINOTTO, A. P. MONTEIRO, M. FAVORETO, H. AYRES, R. S. MARSOLA, N. MARTINEZ, W. W. THATCHER, AND J. E. SANTOS. 2013. **Prevalence of periparturient diseases and effects on fertility of seasonally calving grazing dairy cows supplemented with concentrates.** *J. Dairy Sci.* 96:5682-5697.

RICHARDS, M. W., R. P. WETTEMANN, AND H. M. SCHOENEMANN. 1989. **Nutritional anestrus in beef cows: body weight change, body condition, luteinizing hormone in serum and ovarian activity.** *J. Anim. Sci.* 67:1520-1526.

RYAN, D. P.; AND M. P. BOLAND. 1991. **Frequency of twin births among Holstein-Friesian cows in a warm dry climate.** *Theriogenology.* 36:1-10.

SAMUELSSON, B., M. GOLDYNE, E. GRANSTROM, M. HAMBERG, S. HAMMARSTROM AND C. MALMSTEN. 1978. **Prostaglandins and Thromboxanes.** *Ann. Rev. Biochem.* 47:997-1029.

SANTOS, J. E. P., W. W. THATCHER, R. C. CHEBEL, R. L. A. CERRI, AND K. N. GALVÃO. 2004. **The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrous synchronization programs.** *Anim. Reprod. Sci.* 82-83, 513-535.

SANTOS, J. E. P., H. M. RUTIGLIANO, AND M. F. SÁ FILHO. 2009. **Risk factors for resumption of postpartum estrous cycles and embryonic survival in lactating dairy cows.** *Anim. Reprod. Sci.* 110:207-221.

SANTOS, J. E., C. D. NARCISO, F. RIVERA, W. W. THATCHER, AND R. C. CHEBEL. 2010a. **Effect of reducing the period of follicle dominance in a timed artificial insemination protocol on reproduction of dairy cows.** *J. Dairy Sci.* 93:2976-2988.

SARTORI, R., R. SARTOR-BERGFELT, S. A. MERTENS, J. N. GUENTHER, J. J. PARRISH, AND M. C. WILTBANK. 2002. **Fertilization and early embryonic development in heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in winter.** *J. Dairy Sci.* 85:2803-2812.

SARTORI, R., J. M. HAUGHIAN, R. D. SHAVER, G. J. M. ROSA, AND M. C. WILTBANK. 2004. **Comparison of ovarian functions and circulating steroids in estrous cycles of Holstein heifers and lactation cows.** *J. Dairy Sci.* 87:905.

SAVIO J. D., W. W. THATCHER, G. R. MORRIS, K. ENTWISTLE, M. DROST, AND M. R. MATTIACCI. 1993. **Effects of induction of low plasma progesterone concentrations with a progesterone-releasing intravaginal device on follicular turnover and fertility in cattle.** *J. Reprod. Fertil.* 98:77-84.

SHORT, R. E., BELLOWS, R. A., STAIGMILLER, R. B., BERARDINELLI, J. G. AND CUSTEP, E. E. 1990. **Physiological mechanisms controlling anestrus and infertility in postpartum beef.** *J. Anim. Sci.* 68:79-816.

SILVA, E., R. A. STERRY, D. KOLB, N. MATHIALAGAN, M. F. MCGRATH, J. M. BALLAM, AND P. M. FRICKE. 2009. **Effect of interval to resynchronization of ovulation on fertility of lactating Holstein cows when using transrectal ultrasonography or a pregnancy-associated glycoprotein enzyme-linked immunosorbent assay to diagnose pregnancy status.** *J. Dairy Sci.* 92:3643-3650.

SOUZA, A. H., A. GUMEN, E. P. SILVA, A. P. CUNHA, J. N. GUENTHER, C. M. PETO, D. Z. CARAVIELLO, AND M. C. WILTBANK. 2007. **Supplementation with estradiol-17beta before the last gonadotropin-releasing hormone injection of the Ovsynch protocol in lactating dairy cows.** *J. Dairy Sci.* 90(10):4623-4634.

STEVENSON, J. S., G. C. LAMB, D. P. HOFFMANN, AND J. E. MINTON. 1997. **Review Interrelationships of lactation and postpartum anovulation in suckled and milked cows** *Livestock Production Sci.* 50: 57-74.

STEVENSON, J. S., D. E. TENHOUSE, R. L. KRISHER, G. C. LAMB, J. E. LARSON, C. R. DAHLEN, J. R. PURSLEY, N. M. BELLO, P. M. FRICKE, M. C. WILTBANK, D. J. BRUSVEEN, M. BURKHART, R. S. YOUNGQUIST, AND H. A. GARVERICK. 2008. **Detection of anovulation by heatmount detectors and transrectal ultrasonography before treatment with progesterone in a timed insemination protocol.** *J. Dairy Sci.* 91:2901-2915.

STEVENSON, J.S., AND A. P. PHATAK. 2010. **Rates of luteolysis and pregnancy in dairy cows after treatment with cloprostenol or dinoprost.** *Theriogenology.* 73: 1127–1138.

THATCHER, W. W., T. R. BILBY, J. A. BARTOLOME, F. SILVESTRE, C. R. STAPLES, AND J. E. P. SANTOS. 2006. **Strategies for improving fertility in the modern dairy cow.** *Theriogenology.* 65:30-44.

TORRES-JÚNIOR, J. R., M. de F A. PIRES, W. F. de SÁ, A. de M. FERREIRA, J. H. VIANA, L. S. CAMARGO, A. A. RAMOS, I. M. FOLHADELLA, J. POLISSENI, C. DE FREITAS, C. A. CLEMENTE, M. F. DE SÁ FILHO, F. F. PAULA-LOPES, AND P. S. BARUSELLI. 2008. **Effect of maternal heat-stress on follicular growth and oocyte competence in *Bos indicus* cattle.** *Theriogenology.* 69:155-166.

- TURNER, H. G., AND St C. S. TAYLOR. 1983. **Dynamic factors in models of energy utilization with particular reference to maintenance requirements of cattle.** *World Review of Nutrition and Dietetics*. 42:135-190.
- VASCONCELOS, J. L. M., R. W. SILCOX, G. J. ROSA, J. R. PURSLEY, AND M. C. WILTBANK. 1999. **Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows.** *Theriogenology*. 52:1067-1078.
- VASCONCELOS, J. L. M., R. SARTORI, H. N. OLIVEIRA, J. G. GUENTHER AND M. C. WILTBANK. 2001. **Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate.** *Theriogenology*. 56:307-314.
- VASCONCELOS J. L. M., D. T. G. JARDINA, O. G. SÁ FILHO, F. L. ARAGON, AND M. B. VERAS. 2011. **Comparison of progesterone-based protocols with gonadotropin-releasing hormone or estradiol benzoate for timed artificial insemination or embryo transfer in lactating dairy cows.** *Theriogenology*. 75:1153-1160.
- VELEZ, J. S., RANDEL, R.D. AND NEUENDORFF, D. A. 1991. **Effect of uterine manipulation on postpartum fertility and plasma 13,14-dihydro-15keto-prostaglandin f2a in brahman cows and first-calf heifers.** *Theriogenology*. 36: 987-998.
- WALSH, R. B.; D. F. KELTON, T. F. DUFFIELD, K. E. LESLIE, J. S. WALTON, AND S. J. LEBLANC. 2007b. **Prevalence and risk factors for postpartum anovulatory condition in dairy cows.** *J. Dairy Sci*. 90:315-324.
- WARBERG J., R. L. ESKAY, J. C. PORTER. 1976. **Prostaglandin-induced release of anterior pituitary hormones: structure-activity relationships.** *Endocrinology*. 98:1135-1141.
- WEEMS, C. W., Y. S. WEEMS, AND R. D. RANDEL. 2006. **Prostaglandins and reproduction in female farm animals.** *Vet J*. 171:206–228.
- WETTERMANN, R. P., H. D. HAFS, L. A. EDGERTON, AND L. V. SWANSON. 1972. **Estradiol and progesterone in blood serum during the bovine estrous cycle.** *J. Anim. Sci*. 34:1020-1024.
- WILLIAMS, G. L. 1990. **Suckling as a regulator of postpartum rebreeding in cattle: a review.** *J. Anim. Sci*. 68:831-852.
- WILSON, S. J., R. S. MARION, J. N. SPAIN, D. E. SPIERS, D. H. KEISLER, AND M. C. LUCY. 1998. **Effect of controlled heat stress on ovarian function in dairy cattle: I. Lactating cows.** *J. Dairy Sci*. 81:2124–2131.

WILTBANK, M. C., A. GÜMEN, AND R. SARTORI. 2002. **Physiological classification of anovulatory conditions in cattle.** *Theriogenology*. 57:21-52.

WOLFENSON, D., W. W. THATCHER, L. BADINGA, J.D. SAVIO, R. MEIDAN, B. J. LEW, R. BRAW-TAL, AND A. BERMAN. 1995. **Effect of heat stress on follicular development during the oestrous cycle in lactating dairy cattle.** *Biol. Reprod.* 52:1106-1113.

WOLFENSON, D., B. J. LEW, W. W. THATCHER, Y. GRABER, AND R. MEIDAN. 1997. **Seasonal and acute heat stress effects on steroid production by dominant follicles in cows.** *Anim. Reprod. Sci.* 47: 9–19.

WOLFENSON, D., Z. ROTH, AND R. MEIDAN. 2000. **Impaired reproduction in heat-stressed cattle: basic and applied aspects.** *Anim. Reprod. Sci.* 60-6:535-547.

CAPÍTULO 3

CONSIDERAÇÕES GERAIS E IMPLICAÇÕES

CONSIDERAÇÕES GERAIS E IMPLICAÇÕES

Existem rebanhos onde aproximadamente 40% das vacas ainda não retornaram sua ciclicidade aos 60 dias pós-parto, levando a fazenda à uma menor taxa de inseminação logo após ao PEV, pois essas vacas não são visualizadas em cio e apenas através do uso da IA convencional elas não podem ser inseminadas. Com o desenvolvimento da IATF, todas as vacas podem ser inseminadas, independentemente de sua ciclicidade, porém vacas que estão em anestro tem menor chance de se tornarem gestantes e quando gestantes tem maior chance de perda de gestação, ou seja, essas vacas tem pior fertilidade. Dessa forma, melhorar a fertilidade nesses animais é de grande valia para as fazendas leiteiras.

O estudo confirmou dados da literatura relacionados à hipertermia das vacas e baixa fertilidade, mostrando que além da preocupação em melhorar os programas reprodutivos os técnicos que trabalham na área também precisam se preocupar com conforto térmico das vacas.

O uso de um protocolo mais longo (10 dias com CIDR) proporcionou mais animais que expressaram estro e mais animais que sincronizaram o ciclo estral, entretanto não foi observado maior número de vacas gestantes, portanto esse protocolo pode ser indicado para vacas receptoras de embrião, onde o uso desse protocolo levará ao maior aproveitamento do protocolo, ou seja, mais vacas receberão um embrião ao fim do protocolo, e conseqüentemente melhorará a taxa de serviço da fazenda. O uso de 2 doses de PGF_{2α} foi benéfica nas vacas que não sofreram com hipertermia nos primeiros 7 dias após a IA, esse protocolo melhorou em aproximadamente 15 pontos percentuais a prenhez em animais que receberam a segunda dose, um aumento expressivo, sugerindo que em propriedades que tem um controle adequado do conforto térmico das vacas e/ou em épocas mais frias do ano, o uso desse protocolo melhorará o desempenho reprodutivo das vacas.

Programas reprodutivos que melhoram a fertilidade das vacas tem vantagens em: diminuição de mão-de-obra nas propriedades, diminuição de descarte involuntário de vacas, aumento do número de novilhas para reposição ou venda e são associados a aumento da produção leiteira, entre outros benefícios.

Com os resultados obtidos nos experimentos dessa dissertação é notório a necessidade de mais pesquisas sobre o uso de $\text{PGF}_{2\alpha}$, de descobrir e/ou elucidar suas funções em folículo e esteroidogênese.