

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

CARACTERIZAÇÃO DE PERDAS GESTACIONAIS EM VACAS DE CORTE *BOS*
INDICUS RECEBENDO PROTOCOLO DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO
FIXO.

CAMILA PIRES PRADO

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-graduação em Zootecnia como parte
das exigências para obtenção do título de
Mestre em Zootecnia.

BOTUCATU – SP
Março 2024

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

CARACTERIZAÇÃO DE PERDAS GESTACIONAIS EM VACAS DE CORTE *BOS*
INDICUS RECEBENDO PROTOCOLO DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO
FIXO.

CAMILA PIRES PRADO

Orientador: Prof. Dr. Reinaldo Fernandes Cooke

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-graduação em Zootecnia como parte
das exigências para obtenção do título de
Mestre em Zootecnia.

BOTUCATU – SP
Março 2024

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: MARIA CAROLINA A. CRUZ E SANTOS-CRB 8/10188

Prado, Camila Pires.

Caracterização de perdas gestacionais em vacas de corte
Bos indicus recebendo protocolo de inseminação artificial em
tempo fixo / Camila Pires Prado. - Botucatu, 2024

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
(UNESP), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia,
Botucatu

Orientador: Reinaldo Fernandes Cooke

Capes: 50405004

1. Zebu. 2. Inflamação. 3. Prenhez. 4. Bovinos de corte.

Palavras-chave: *Bos indicus*; Inflamação; Perda de gestação;
Vacas de corte.

ATESTADO DE APROVAÇÃO - DEFESA

Atestamos que **CAMILA PIRES PRADO**, RA nº: ZNP220078, RG nº 45.955.860-2, expedido pela SSP/SP, defendeu, no dia 13/03/2024, a dissertação intitulada **CARACTERIZAÇÃO DE PERDAS GESTACIONAIS EM VACAS DE CORTE BOS INDICUS RECEBENDO PROTOCOLO DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO.** , junto ao Programa de Pós Graduação em Zootecnia, Curso de Mestrado Acadêmico, tendo sido 'APROVADA'.

Atestamos ainda que a obtenção do título dependerá de homologação pelo Órgão Colegiado competente.

Botucatu, 13 de março de 2024



Cláudia Cristina Moreci
Assistente Administrativo
Seção de Pós-Graduação / FMVZ

BIOGRAFIA DO AUTOR

Camila Pires Prado – nascida em 16 de janeiro de 1997, na cidade de Piracicaba/SP, filha de Abiezer dos Santos Prado e Walkiria Pires Prado, ingressou no curso de Engenharia Agrônoma da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP – Faculdade de Ciências Agrônomicas (FCA) Câmpus de Botucatu, em fevereiro de 2016 e graduou-se em dezembro de 2021. Em março de 2022 iniciou o curso de Mestrado em Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) Câmpus de Botucatu, onde foi bolsista pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). Atua na área de produção e reprodução de bovinos.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, a Deus, que fez com que meus objetivos fossem alcançados, por sempre me guiar e proteger, por todas as experiências e pessoas que colocou na minha vida.

A minha mãe Walkiria, meu pai Abiezer, minha irmã Giovana e a toda minha família que sempre acreditou em meus sonhos, que me incentivaram nos momentos difíceis e sempre me apoiaram em todas as decisões, obrigada por todas as orações e apoio.

A minha banca de mestrado: professor Reinaldo Cooke, professor Zequinha e Leandro Cruppe, por me orientar e contribuir no meu processo de formação desde a graduação. Obrigada pelas cobranças, oportunidades, puxões de orelha, convívio, conselhos e exemplo para meu crescimento pessoal e profissional.

As fazendas por permitir a realização do experimento e aos funcionários e estagiários, que foram essenciais para realização, sempre me ajudando e se disponibilizando para colaborar com estudo.

A Susi e ao Anderson por toda ajuda, companheirismo e apoio desde o início, por toda dedicação e horas de estrada, por nunca medirem esforços para me ajudar. A todas as pessoas que fizeram parte da Master Cria e sempre participaram e ajudaram nos projetos, em especial Maurilio Gomes e Vinicius Moressi.

À República Coxera, pela amizade e companheirismo. Em especial a Porta, Glúten, Troglo, Meq, O neg., Xoxo, Regis e Istorie. Ao pessoal da UNESP, por todo período de convívio, amizade e companheirismo: em especial todos os amigos da CONAPEC Jr.

Aos funcionários da seção de pós-graduação da UNESP – Botucatu e ao departamento de Produção Animal e Medicina Veterinária Preventiva.

Aos alunos dos professores Cooke/Pohler por me receberem e acolherem tão bem. E a todos os amigos, aprendizados e experiências que a Texas A&M me proporcionou.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq), pela bolsa fornecida.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO GERAL

Este estudo avaliou as perdas gestacionais do 30º dia de gestação até o parto em fêmeas *Bos indicus* e avaliou se o efeito das concentrações séricas de haptoglobina durante o início da gestação impactam nas perdas gestacionais subsequentes. Foram utilizadas 4.926 fêmeas Nelore, sendo 1.802 nulíparas precoces (13 meses $\pm$ 1), 1.356 nulíparas convencionais (21 meses $\pm$ 3), 887 vacas primíparas lactantes e 881 vacas múltiparas lactantes. Todas as fêmeas foram submetidas a um protocolo de sincronização da ovulação, iniciado no dia -11, para posterior inseminação artificial em tempo fixo (IATF) no dia 0 do experimento. O diagnóstico de gestação (DG) foi realizado por ultrassonografia transretal no D30, D60, D150 e avaliada taxa de parição com nascimento do bezerro. Amostras de sangue foram coletadas de todas as fêmeas diagnosticadas como prenhes no D30 e analisadas quanto às concentrações séricas de haptoglobina e glicoproteínas associadas à gestação (PAGs). A maior ($P < 0,01$) incidência de perda gestacional foi observada do D60 ao D150 (10,2% 210/2035), seguida pelas perdas do D150 ao parto (7,4% 140/1825) que foi maior ($P = 0,04$) do que a incidência de perdas entre os dias 30 e 60 (6,0% 129/2164). A perda gestacional do D30 ao D60 não diferiu ($P = 0,26$) entre as paridades, porém as perdas gestacionais do D30 ao parto foram maiores ($P < 0,01$) em novilhas precoces (28,4% 177/642) e convencionais (27,1% 167/645), em comparação com as primíparas (16,4% 71/391) e múltiparas (13,0% 64/486). As concentrações séricas de PAG no D30 foram menores ($P \leq 0,03$) nas vacas que perderam a gestação (5,63 ng/mL) do D30 ao D60, bem como naquelas que perderam a gestação do D30 ao parto (8,59 ng/mL) em comparação com as que mantiveram a gestação (9,39 e 9,32 ng/mL, respectivamente). Não foram observadas diferenças nas concentrações séricas de PAGs no D30 ($P \geq 0,23$) de acordo com as perdas gestacionais do D60 ao parto. A concentração sérica de haptoglobina no D30 também não diferiu ($P \geq 0,48$) entre vacas que mantiveram ou perderam a gestação, independentemente do período. Como conclusão, este estudo fornece novas informações sobre perdas gestacionais após o 30º dia de gestação em fêmeas *Bos indicus*, demonstrando que a maior incidência de perdas ocorreu após o dia 60 de gestação (mortalidade fetal) e não afetadas por inflamação sistêmica durante o início da gestação. Ainda, a incidência de perdas gestacional em novilhas precoces e convencionais foi aproximadamente duas vezes maior quando comparada à primíparas e múltiparas, demonstrando a relevância e potencial impacto produtivo desta falha reprodutiva nessa categoria, crucial para reposição dos rebanhos.

Palavras-chave: *Bos indicus*, vacas de corte, inflamação, perda de gestação.

ABSTRACT

Characterizing pregnancy losses in *Bos indicus* beef cows receiving a fixed-timed artificial insemination protocol.

This experiment evaluated pregnancy losses from day 30 of gestation to calving in *Bos indicus* females, and evaluated if serum haptoglobin concentrations during early gestation impacts subsequent pregnancy losses. A total of 4926 Nelore females were used, being 1802 nulliparous heifers inseminated as yearlings (precocious heifers), 1356 nulliparous heifers inseminated at 24 months of age (conventional heifers), 887 suckling primiparous cows, and 881 suckling multiparous cows. Cows were assigned to an ovulation synchronization + fixed-time artificial insemination (**FTAI**) protocol from day 11 to 0 of the experiment. Pregnancy status was verified using transrectal ultrasonography on days 30 and 60 after FTAI, via transrectal palpation on day 150 after FTAI, and according to calf birth. Blood samples were collected from all animals diagnosed pregnant on day 30 after FTAI, and analyzed for serum concentrations of haptoglobin and pregnancy associated glycoproteins (**PAG**). Pregnancy loss was greater ($P < 0.01$) from day 60–150 of gestation (10.2 %) compared with day 30–60 of gestation (6.0 %) and with day 150 of gestation to calving (7.4 %), and differed ($P = 0.04$) between these latter two periods. Pregnancy loss from day 30–60 of gestation did not differ ($P = 0.26$) among parities, whereas total pregnancy losses (day 30 to calving) were greater ($P < 0.01$) in precocious (28.4 %) and conventional (27.1 %) heifers compared with primiparous (16.4 %) and multiparous (13.0 %) cows. Serum PAG concentrations on day 30 after FTAI were less ($P \leq 0.03$) in cows that lost the pregnancy (5.63 ng/mL) from day 30–60 of gestation, as well as those that lost the pregnancy from day 30 to calving (8.59 ng/mL) compared with cohorts that maintained the pregnancy (9.39 and 9.32 ng/mL, respectively). No differences in serum PAG concentrations on day 30 after FTAI were noted ($P \geq 0.23$) according to pregnancy losses from day 60 to calving. Serum haptoglobin concentration on day 30 after FTAI also did not differ ($P \geq 0.48$) between cows that maintained or lost the pregnancy. This experiment provides novel information about pregnancy losses after day 30 of gestation in *B. indicus* cattle, with most losses occurring as fetal mortality and not affected by systemic inflammation during early gestation. Pregnancy losses were nearly doubled in precocious and conventional heifers compared with parous cows, demonstrating the relevance of this reproductive failure to *B. indicus* replacement heifers.

Key Words: *Bos indicus*, beef females, inflammation, pregnancy loss.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO 1

Figura 1. Período de perdas e desenvolvimento fisiológico da gestação em bovinos.....	3
--	---

CAPÍTULO 2

Figura 1. Taxa de prenhez e perdas de gestação em vacas de corte <i>Bos indicus</i> submetidas a um protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF)	27
Figura 2. Probabilidade de perda de gestação, do 30º ao 60º dia de gestação e do 30º dia de gestação até o parto, em vacas de corte <i>Bos indicus</i> de acordo com as concentrações séricas de glicoproteínas associadas à gestação (PAGs) no 30º dia de gestação.....	31
Figura 3. Probabilidade de perda de gestação, do 30º ao 60º dia de gestação e do 30º dia de gestação até o parto, em vacas de corte <i>Bos indicus</i> de acordo com as concentrações séricas de PAGs no 30º dia de gestação e paridade	31

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

Tabela 1 Expressão do estro e escore de condição corporal (ECC) em vacas de corte <i>Bos indicus</i> de acordo com o sucesso da prenhez a uma inseminação artificial em tempo fixo (IATF).....	28
Tabela 2. Escore de condição corporal (ECC), respostas reprodutivas e fisiológicas de acordo com a paridade em vacas de corte <i>Bos indicus</i> submetidas a um protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF).....	29
Tabela 3. Expressão de cio e concentração sérica de haptoglobina e glicoproteínas associadas à gestação (PAG) de acordo com a perda gestacional em vacas de corte <i>Bos indicus</i>	30
Tabela 4. Concentração sérica de glicoproteínas associadas à gestação (PAG) e resultados reprodutivos em vacas de corte <i>Bos indicus</i> submetidas a um protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF). Os resultados são relatados de acordo com 4 touros com > 200 e agrupados de acordo com o total de perdas gestacionais (2 touros por grupo).....	32

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

DG	Diagnostico de Gestação
IATF	Inseminação Artificial em Tempo Fixo
FMVZ	Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
PAGs	Glicoproteínas Associadas à Gestação
TETF	Transferência de Embriões de em Tempo Fixo
IBR	Rinotraqueíte Infecciosa Bovina
BVD	Diarreia Viral Bovina
ECC	Escore de Condição Corporal
P4	Progesterona
CL	Corpo Lúteo
mg	miligrama
eCG	Gonadotrofina Coriônica Equina
UI	Unidade Internacional
GL	Grau de Liberdade

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1

Introdução	2
1. Revisão de Literatura	3
1.1 Caracterização dos períodos de perda gestacional	3
1.1.1 Perda embrionária precoce	3
1.1.2 Perda embrionária tardia / perda fetal precoce	4
1.1.3 Perda fetal tardia / aborto	4
1.2 Glicoproteínas Associadas a Gestação (PAGs)	5
1.3 Haptoglobina	6
1.4 Genética	7
1.5 Categoria	8
Referências	9

CAPÍTULO 2. “Characterizing pregnancy losses in *Bos indicus* beef cows receiving a fixed-timed artificial insemination protocol.”

1. Introdução	22
2. Materiais e Métodos	23
2.1. Animais e Manejo Reprodutivo	23
2.2. Diagnostico de Gestação	24
2.3. Escore de Condição Corporal.	25
2.4. Detecção de estro	25
2.5 Amostras de Sangue	25
2.6 Análise Estatística	26
3. Resultados	27
4. Discussão	33
5. Conclusões	37
6. Implicações	38
Referências	39

CAPÍTULO 1

Considerações Iniciais

INTRODUÇÃO

A gestação bem-sucedida é essencial para a produção de bezerros saudáveis e lucrativos. O manejo e planejamento adequado da reprodução do rebanho é essencial para garantir o aumento da produtividade, e a otimização da eficiência reprodutiva, contribui para minimizar os custos operacionais e maximizar os retornos financeiros dos produtores. Investir na melhoria da eficiência reprodutiva envolve utilização de biotecnologias, seleção de touros e matrizes, acompanhamento do ciclo reprodutivo, detecção precoce de problemas de fertilidade e a implementação de estratégias de manejo reprodutivo, sanitário e nutricional adequadas. Ao maximizar a taxa de concepção e minimizar as perdas gestacionais, temos a oportunidade de aumentar a quantidade de quilos de bezerro desmamado/vaca/ano, aumentando assim a produtividade e rentabilidade do sistema (Vasconcelos et al., 2017).

A perda gestacional em bovinos de corte representa um desafio significativo na indústria pecuária, os estudos relacionados demonstram a importância do impacto econômico, quando um animal é mantido no rebanho por um longo ciclo, mas não resulta em um produto comercializável (Dunne et al., 2000; Berg et al., 2010). No entanto, as abordagens para detecção de falhas reprodutivas em bovinos de corte não seguem padrões uniformes, principalmente devido às particularidades das operações em rebanhos comerciais, o que dificulta a determinação precisa dos momentos das perdas, seja de fertilização, perda embrionária tardia ou perda fetal. (Reese et al., 2020).

Diversos fatores podem contribuir para a perda de gestação em bovinos, e é importante entender que muitas vezes é resultado da interação destes, predisposições ou condições ambientais, como doenças e estresse nutricionais (Grooms et al., 2005; Pohler et al., 2020). Portanto a compreensão das causas, fatores de risco e adoção de estratégias de manejo para minimizar tal ocorrência se mostram cruciais para a sustentabilidade e sucesso da produção de carne bovina.

O monitoramento das perdas gestacionais é algo recente e carente em pesquisa em gado de corte quando se comparado as pesquisas em gado de leite, no entanto, é um tema em constante expansão e de crescente relevância.

1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1. Caracterização dos períodos de perda gestacional

Desde a fertilização até o nascimento, diversos fatores influenciam a ocorrência de perda gestacional. Compreender os períodos críticos e as mudanças fisiológicas para possíveis falhas reprodutivas é de extrema importância (Smith et al., 2023). Na literatura a gestação é dividida em três etapas: Período embrionário inicial (1 – 28 dias), período embrionário tardio (28 – 45 dias) e período fetal (45 – 285 dias). Para um melhor entendimento as perdas podem ser classificadas em três períodos distintos: 1) Perda Embrionária Precoce; 2) Perda Embrionária Tardia/Perda Fetal Precoce; 3) Perda Fetal Tardia/Aborto. (Figura 1).

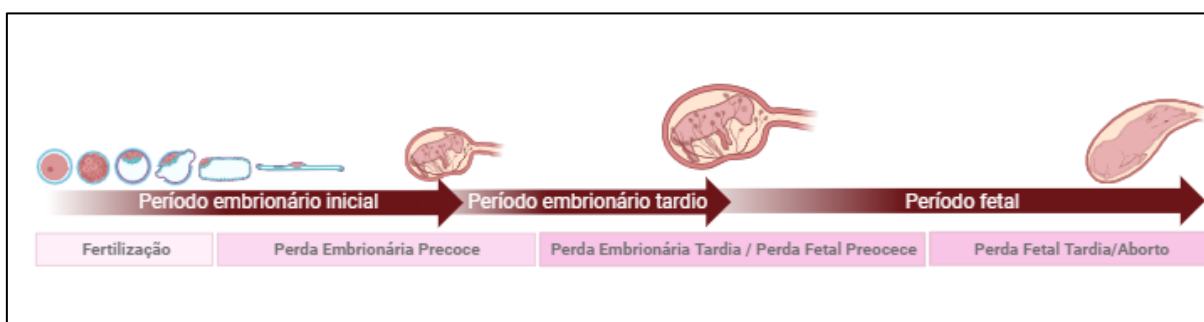


Figura 1. Período de perdas e desenvolvimento fisiológico da gestação em bovinos.

1.1.1. Perda Embrionária Precoce

A perda embrionária precoce pode ser dividida em 2 partes: falhas de fertilização (1-7 dias) e perda embrionária (8-32 dias).

Pouco se tem conhecimento acerca das perdas ocorridas nas primeiras semanas de gestação, predominantemente devido à complexidade e aos custos associados a esse tipo de investigação. De acordo com a meta-análise realizada por Reese et al. (2020), as perdas durante a primeira semana de gestação provavelmente resultam de deficiências na fertilização ou na divisão inicial das células, e a média da taxa de perda é estimada em aproximadamente 28,4%.

Do ponto de vista fisiológico, o período embrionário inicial é tradicionalmente delimitado até o 28º dia de gestação. Entretanto, devido às rotinas e aos manejos de diagnóstico de gestação nas fazendas de bovinos de corte, que geralmente ocorrem por volta do dia 30 ± 2 de gestação, compreende-se o período de perdas embrionária precoce entre os dias 8 e 32 de gestação (Reese et al., 2020). Esse intervalo abrange eventos cruciais, incluindo o alongamento embrionário, o reconhecimento materno da gestação, o processo de

implantação e o início do estabelecimento da placenta (Smith et al., 2023; Bauersachs et al., 2013). O período das perdas embrionárias precoce é o mais crítico de toda gestação, é responsável por 48% (IC 45,8% - 50,0%) das perdas gestacionais (Reese et al., 2020).

1.1.2. Perda Embrionária Tardia / Perda Fetal Precoce

Hubbert et al. (1972) estabeleceram o período embrionário tardio como abrangendo o intervalo entre o 29º e o 45º dia de gestação. No entanto, devido às práticas reprodutivas adotadas nas fazendas de gado de corte, a fase de perda embrionária tardia/perda fetal precoce é mais frequentemente considerada entre os dias 32 e 60 de gestação. A ocorrência de mortalidade embrionária tardia tende a ser inferior à incidência de perdas embrionárias precoces (Santos et al., 2004; Reese et al., 2020).

Conforme ressaltado por Pohler et al. em 2016 e Wiltbank et al. em 2016 a maioria das perdas embrionárias tardias em bovinos está associada à fase inicial de desenvolvimento do placentoma, ocorrendo aproximadamente entre o 35º e o 40º dia de gestação. A formação do placentoma desempenha um papel de extrema importância no transporte adequado de nutrientes no sangue entre a mãe e o feto (King et al., 1980). Qualquer insuficiência na função placentária durante esse período pode potencialmente resultar em mortalidade, pois prejudicar a interação entre a mãe-feto.

As taxas de perda embrionária tardia/fetal precoce muitas vezes têm origem multifatorial (Pohler, 2020; Garcia-isperto et al., 2006), durante o estágio inicial fetal a principal preocupação está centrada nos efeitos adversos que podem afetar a gestação, tais como doenças, traumas, desnutrição e influências ambientais. Porém esse período é caracterizado por uma série de eventos críticos para o desenvolvimento do conceito, incluindo diferenciação, vascularização, organogênese fetal e desenvolvimento placentário (Funston et al., 2010; Vonnahme, 2018).

1.1.3. Perda Fetal Tardia / Aborto

O aborto bovino refere-se à expulsão prematura e involuntária do feto de um bovino fêmea gestante, entre os dias 45 e 260 (Mee, 2020). O aborto pode ser causado por uma variedade de fatores, incluindo condições patológicas, infecciosas, nutricionais, genéticas ou ambientais que afetam o desenvolvimento do feto ou o funcionamento adequado do sistema reprodutivo da vaca (Santos et al., 2004; Pohler, 2020). No entanto, há uma notável escassez de estudos relacionados às perdas fetais tardias em gado de corte.

Há um amplo campo de investigação que se estende a diferentes períodos e fatores, todos contribuindo para um melhor entendimento das falhas reprodutivas em bovinos de corte.

1.2. Glicoproteínas Associadas a Gestação (PAGs)

As glicoproteínas associadas à gestação (PAGs) são substâncias placentárias que têm sua origem nas células trofoblásticas gigantes do trofotoderma. Essas células percorrem a junção das microvilosidades, unem-se ao epitélio uterino e produzem as PAGs e o lactogênio placentário, no estroma uterino, os quais então entram na circulação materna (Wooding et al., 1980; Pohler et al., 2015).

O primeiro aumento significativo de PAG na circulação materna pode ser identificado entre os dias 22 e 24 de gestação (Arnold et al., 2012; Pohler et al., 2013); no entanto, os papéis fisiológicos da PAGs ainda não foram todos esclarecidos. Foi levantada a hipótese de que a PAG pode ajudar a processar fatores de crescimento na interface placentário-uterina, desempenhar um papel na adesão entre o útero e a placenta ou atuar como um fator que controla a modulação imunológica materna (Austin et al., 1999; Hoeben et al., 1999; Wallace et al., 2015).

As PAGs têm sido utilizadas por diversos grupos de pesquisa para monitorar a viabilidade embrionária e/ou fetal, bem como a função placentária em bovinos (Perry et al., 2005; Silva et al., 2007; Pohler et al., 2013; 2016). Pesquisas conduzidas por Pohler et al. em 2016 demonstraram que as concentrações de PAG entre os dias 28 e 31 de gestação podem servir como indicadores do sucesso embrionário tardio em bovinos de corte e leite. O estudo evidenciou que as vacas com altas concentrações circulantes de PAGs no dia 31 estavam associadas a uma maior probabilidade de uma gestação bem-sucedida, enquanto vacas com níveis reduzidos apresentaram maior probabilidade de mortalidade embrionária tardia. As altas concentrações circulantes de PAGs estão diretamente relacionadas à redução da incidência de perdas embrionárias por ser utilizada como um marcador de viabilidade placentária (Thompson et al., 2010; Pohler et al. 2016).

Além de sua relação com a viabilidade embrionária, as concentrações circulantes de PAGs podem ser influenciadas por diversos fatores, incluindo raça, paridade, sexo fetal, número de fetos e o método ou anticorpo utilizado para a medição das PAGs (Wallace et al., 2015; Mercadante et al., 2013). Estudos mais recentes também indicam que o touro, a expressão de estro e o número de dias após o parto podem influenciar nessas concentrações circulantes de PAGs (Franco et al., 2018; Pohler et al., 2016; 2020).

1.3. Haptoglobina

As proteínas de fase aguda, são proteínas produzidas no fígado e ativadas em resposta a mediadores inflamatórios, desempenhando papel crucial na reação inicial a infecções, inflamações, lesões traumáticas e outras situações de estresse (Marinkovic et al., 1989). No contexto bovino, a haptoglobina se destaca como uma das principais proteínas de fase aguda. A concentração de haptoglobina demonstra um aumento significativo em situações de estresse, infecções e estados inflamatórios (Cooke et al., 2011; Salonen et al., 1996).

Durante condições saudáveis dos animais, as concentrações circulantes de haptoglobina são praticamente imperceptíveis. No entanto, em reações inflamatórias e de fase aguda, esse nível pode se elevar em mais de 100 vezes (Morimatsu et al., 1992). É por essa razão que a haptoglobina tem sido empregada como um indicador para detectar infecções, doenças e traumas. Além disso, ela se revela uma ferramenta útil na avaliação da resposta de fase aguda em bovinos, especialmente quando induzida por procedimentos estressantes, como manejo e transporte (Araujo et al., 2010; Cooke et al., 2011).

Nosso grupo de pesquisa conduziu estudos para avaliar os impactos do estresse e do temperamento em aspectos fisiológicos, produtivos e no desempenho reprodutivo de fêmeas das raças *Bos Taurus*, *Bos indicus* e cruzamentos entre elas (Cooke et al., 2012; 2017; 2009; 2011). Observamos que bovinos com temperamento excitável apresentam uma elevação na resposta de estresse adrenocortical. Além disso, foi constatado que níveis elevados de cortisol estão positivamente correlacionados com as concentrações circulantes de haptoglobina em bovinos, o que afeta a produtividade e a eficiência reprodutiva. O cortisol tem um impacto direto nos mecanismos necessários para a fertilidade em gado de corte (Dobson et al., 2001). Isso inclui a síntese e a liberação interrompida de gonadotrofinas, a redução da sensibilidade do cérebro ao estrogênio e a interferência na produção de progesterona pelo corpo lúteo (Dobson et al., 2000; Da Rosa et al., 1981). Consequentemente, nossos estudos concluíram que a probabilidade de que as vacas concebam na primeira IATF diminui de forma linear ($P < 0,01$) à medida que as concentrações séricas de cortisol aumentam. O mesmo padrão foi observado para as concentrações de haptoglobina.

1.4 Genética

A aplicação de biotecnologias reprodutivas desempenha um papel central na melhoria da produtividade e rentabilidade das propriedades pecuárias, permitindo o uso de sêmen de touros geneticamente superiores para aprimorar a qualidade do rebanho. Além de sua função na seleção e melhoria de características produtivas e econômicas, pesquisas têm explorado sua influência na manutenção da gestação (Baruselli et al., 2012). Pesquisas sugerem que a heterose tem um efeito benéfico no desenvolvimento embrionário e na manutenção da gestação (Pegorer et al., 2007), sendo benéfica reduzindo perdas de gestação e indicando que fatores genéticos influenciam o desenvolvimento embrionário e saúde reprodutiva das vacas (Franco et al., 2018). A composição genética tanto da mãe quanto do feto pode influenciar a probabilidade de uma gestação bem-sucedida.

Em um estudo recente realizado por O'Callaghan et. al (2021), foi avaliado o efeito do touro no transporte dos espermatozoides, fertilização bem-sucedida, desenvolvimento embrionário inicial, crescimento e sobrevivência do conceito. Observou-se a influência da utilização sêmen de touros de alta fertilidade vs. baixa fertilidade, touros com alta fertilidade tiveram maior proporção de embriões em estágios mais avançados de desenvolvimento e um aumento significativo no número médio de células embrionárias no dia 7, o que sugere embriões de maior qualidade, assim como maior sobrevivência do conceito no dia 15 quando comparado aos touros de baixa fertilidade. Ou seja, a fertilidade dos touros pode impactar não apenas a fertilização, mas também o desenvolvimento inicial do embrião, envolvendo alterações no transcriptoma do espermatozoide, no metaboloma e proteoma dos espermatozoides e no plasma seminal. Durante a fertilização, os espermatozoides entregam não apenas o DNA paterno, mas também uma carga genética que inclui RNAs, fatores de transcrição e moléculas de sinalização celular.

Foi realizado um estudo por Franco et al. (2020) para avaliar o efeito de touros nos diferentes estágios de desenvolvimento embrionário e fetal, onde os resultados demonstraram que embora não tenha havido um efeito significativo dos touros na taxa de prenhez no dia 31 ($P = 0,31$), houve uma notável variação na incidência de perdas gestacionais ao longo dos dois períodos analisados, com alterações na classificação de fertilidade dos touros, dependendo do período considerado. Isso destaca a importância do touro na manutenção da gestação e a necessidade de desenvolver marcadores que possam identificar touros com maior ou menor probabilidade de perdas gestacionais.

1.5 Categoria

A categoria de paridade da vaca desempenha um papel significativo no contexto da perda gestacional, um aspecto que foi amplamente explorado em pesquisas recentes (Sá Filho et al., 2009; Alves et al., 2021; Reese et al., 2020). Além disso, essa categorização também está intrinsecamente relacionada à nutrição e ao manejo das fêmeas. Atualmente, entre as diferentes categorias de paridade, as primíparas, em especial da raça *Bos indicus*, representam um desafio significativo nos rebanhos de corte, isso pode ser justificado pela complexa demanda nutricional dessa paridade, que precisam simultaneamente crescer e produzir leite durante sua primeira lactação. Esse duplo esforço frequentemente resulta em uma perda de condição corporal (ECC) significativa do parto até a sua próxima IATF, em comparação com vacas múltiparas (Vasconcelos et al., 2008). Essa perda de condição corporal pode, por sua vez, estar associada a uma menor expressão de cio e menor fertilidade (Alves et al., 2021).

Outra categoria que apresenta desafios significativos na pecuária de corte são as novilhas. A seleção de novilhas para fins de reposição geralmente é baseada em critérios genéticos e fenotípicos, algumas das considerações são as características fisiológicas, avaliação do trato reprodutivo, idade, peso corporal, nutrição após a desmama, escore de condição corporal e todos esses fatores influenciam o início da puberdade e a probabilidade de prenhez das novilhas. (Day et al., 2013 e Pohler et al., 2020). Diversos pesquisadores têm se dedicado ao desenvolvimento e estudo de várias estratégias com o objetivo de aprimorar a eficiência reprodutiva nessa categoria, essas estratégias englobam protocolos hormonais, a indução da puberdade, abordagens nutricionais e protocolos sanitários (Vasconcelos et al., 2018).

Portanto, considerar a categoria de paridade das fêmeas é crucial ao avaliar e abordar a perda gestacional, permitindo estratégias de manejo mais direcionadas e eficazes para diferentes grupos de animais no rebanho.

REFERÊNCIAS

ALVES RLOR, SILVA MA, CONSENTINI CEC, E SILVA LO, FOLCHINI NP, OLIVA AL, ET AL. **Hormonal combinations aiming to improve reproductive outcomes of Bos indicus cows submitted to estradiol/progesterone-based timed AI protocols.** Theriogenology 2021; 169:89e99. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2021.04.007>.

AONO, F., COOKE, R.F., ALFIERI, A., VASCONCELOS, J.L.M., 2013. **Effects of vaccination against reproductive diseases on reproductive performance of beef cows submitted to fixed-timed AI in Brazilian cow-calf operations.** Theriogenology 79, 242–248.

ARAUJO, D. B.; COOKE, R. F.; HANSEN, G. R.; STAPLES, C. R.; ARTHINGTON, J. D., 2010: **Effects of rumen-protected polyunsaturated fatty acid supplementation on performance and physiological responses of growing cattle following transportation and feedlot entry.** Journal of Animal Science 87, 4125–4132.

ARNOLD H, MARTINS JP, OLIVEIRA LZ, POLICELLI R, STOMACK K, SASSER G, PURSLEY J. **Effectiveness of pregnancy-specific protein B in pregnancy diagnosis of dairy cows and heifers.** J Dairy Sci. 2012;95(Suppl. 1):128.

AUSTIN KJ, KING CP, VIERK JE, SASSER RG, HANSEN TR. **Pregnancy-specific protein B induces release of an alpha chemokine in bovine endometrium.** Endocrinology. 1999;140(1):542-5. <http://dx.doi.org/10.1210/endo.140.1.6608>. PMID:9886868.

BARTOL, F. F., W. W. THATCHER, G. S. LEWIS, E. L. BLISS, M. DROST, AND F. W. BAZER. 1981. **Effect of estradiol-17beta on PGF and total protein content in bovine uterine flushing and peripheral plasma concentration of 13, 14-dihydro-15-keto-PGF(2alpha).** Theriogenology 15:345–358. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(81\)90002-9](https://doi.org/10.1016/0093-691X(81)90002-9)

BARUSELLI PS, SALES JNS, SALA RV, VIEIRA LM, SÁ FILHO, MF. **History, evolution and perspectives of timed artificial insemination programs in Brazil.** Animal Reproduction, v.9 Issue 3, p.139-152, 2012.

BAUERSACHS, S., WOLF, E., 2013. **Immune aspects of embryo-maternal cross-talk in the bovine uterus.** J. Reprod. Immunol. 97, 20-26.

BERG DK, VAN LEEUWEN J, BEAUMONT S, BERG M, PFEFFER PL. **Embryo loss in cattle between Days 7 and 16 of pregnancy.** Theriogenology 2010;73:250-60.

BRADFORD, B. J., K. YUAN, J. K. FARNEY, L. K. MAMEDOVA, AND A. L. CARPENTER. 2015. **Invited review: Inflammation during the transition to lactation: New adventures with an old flame.** J. Dairy Sci. 98:6631–6650. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9683>.

BUHI, W. C. 2002. **Characterization and biological roles of oviductspecific, oestrogen-dependent glycoprotein.** Reproduction 123:355– 362.

CARROLL, J. A., & FORSBERG, N. E. (2007). **Influence of stress and nutrition on cattle immunity.** Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice, 23(1), 105-149.

COOKE RF. **Early career achievement award: supplementing omega-6 fatty acids to enhance early embryonic development and pregnancy establishment in Bos indicus and B. taurus beef cows.** J Anim Sci. 2019;97(1):485-95. <http://dx.doi.org/10.1093/jas/sky414>. [PMid:30351357](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30351357/).

COOKE, R. F., BOHNERT, D. W., CAPPELLOZZA, B. I., MUELLER, C. J., & DELCURTO, T. (2012). **Effects of temperament and acclimation to handling on reproductive performance of Bos taurus beef females.** Journal of Animal Science, 90(10), 3547-3555.

COOKE, R. F., BOHNERT, D. W., MENEGHETTI, M., LOSI, T. C., & VASCONCELOS, J. L. M. (2011). **Effects of temperament on pregnancy rates to fixed-timed AI in Bos indicus beef cows.** *Livestock science*, 142(1-3), 108-113.

COOKE, R., SCHUBACH, K., MARQUES, R., PERES, R., SILVA, L., CARVALHO, R., CIPRIANO, R., BOHNERT, D., PIRES, A., VASCONCELOS, J., 2017. **Effects of temperament on physiological, productive, and reproductive responses in beef cows.** J. Anim. Sci. 95, 1–8.

COOKE, R.F., ARTHINGTON, J.D., ARAUJO, D.B., LAMB, G.C., 2009. **Effects of acclimation to human interaction on performance, temperament, physiological responses, and pregnancy rates of Brahman-crossbred cows.** J. Anim. Sci. 87, 4125–4132.

CURLEY JR., K.O., NEUENDORFF, D.A., LEWIS, A.W., CLEERE, J.J., WELSH JR., T.H., RANDEL, R.D., 2008. **Functional characteristics of the bovine hypothalamic–pituitary–adrenal axis vary with temperament.** Horm. Behav. 53, 20–27.

DA ROSA, G. O., AND W. C. WAGNER. 1981. **Adrenal-gonad interactions in cattle. Corpus luteum function in intact and adrenalectomized heifers.** J. Anim. Sci. 52:1098–1105.

DAVOODI, S., R. F. COOKE, A. C. C. FERNANDES, B. I. CAPPELLOZZA, J. L. M. VASCONCELOS, AND R. L. A. 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. doi:10.1016/j.theriogenology.2015.10.002

DAY M, IMAKAWA K, GARCIA-WINDER M,. **Endocrine mechanisms of puberty in heifers: estradiol negative feedback regulation of luteinizing hormone secretion.** Biol Reprod. 1984;31(2):332e341.

DOBSON, H., A. Y. RIBADU, K. M. NOBLE, J. E. TEBBLE, AND W. R. WARD. 2000. **Ultrasonography and hormone profiles of adrenocorticotrophic hormone (ACTH)-induced persistent ovarian follicles (cysts) in cattle.** J. Reprod. Fertil. 120:405–410.

DOBSON, H., J. E. TEBBLE, R. F. SMITH, AND W. R. WARD. 2001. **Is stress really all that important?** Theriogenology 55:65–73.

DUNNE, L., DISKIN, M., SREENAN, J., 2000. **Embryo and fetal loss in beef heifers between day 14 of gestation and full term.** Anim. Reprod. Sci. 58, 39-44.

EDELHOFF, I. N. F., M. H. C. PEREIRA, J. J. BROMFIELD, J. L. M. VASCONCELOS, AND J. E. P. SANTOS. 2020. **Inflammatory diseases in dairy cows: Risk factors and associations with pregnancy after embryo transfer.** J. Dairy Sci. 103:11970–11987. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19070>

ELENKOV IJ, WILDER RL, CHROUSOS GP. **The sympathetic nervedan integrative interface between two supersystems: the brain and the immune system.** Pharmacol Rev 2000; 52(4):595–638.

FRANCO G, REESE S, POOLE R, RHINEHART J, THOMPSON K, COOKE R, ET AL. **Sire contribution to pregnancy loss in different periods of embryonic and fetal development of beef cows.** Theriogenology 2020;154:84e91. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2020.05.021>

FRANCO, G.A., PERES, R.F.G., MARTINS, C.F.G., REESE, S.T., VASCONCELOS, J.L.M., POHLER, K.G., 2018. **Sire contribution to pregnancy loss and pregnancy-associated glycoprotein production in Nelore cows.** J. Anim. Sci. 96, 632–640.

FUNSTON RN, MARTIN JL, ADAMS DC, LARSON DM (2010) **Winter grazing system and supplementation of beef cows during late gestation influence heifer progeny.** Journal of Animal Science 88(12), 4094–4101. doi:10.2527/jas.2010-3039

GALVAO KN, SANTOS JEP, JUCHEM SO, CERRI RLA, COSCIONI AC, VILLASENOR M. **Effect of addition of a progesterone intravaginal insert to a timed insemination protocol using estradiol cypionate on ovulation rate, pregnancy rate, and late embryonic loss in lactating dairy cows.** J Anim Sci 2004; 82: 3508-17.

GARCÍA-ISPIERTO I, L´OPEZ-GATIUS F, SANTOLARIA P, YÁNIZ JL, NOGAREDA C, L´OPEZ-BÉJAR M, DE RENSIS F (2006) **Relationship between heat stress during the**

peri-implantation period and early fetal loss in dairy cattle. Theriogenology 65(4), 799–807. doi:10.1016/j.theriogenology. 2005.06.011

GROOMS DL, BOLIN SR, COE PH, BORGES RJ, COUTU CE. **Fetal protection against continual exposure to bovine viral diarrhea virus following administration of a vaccine containing an inactivated bovine viral diarrhea virus fraction to cattle.** Am J Vet Res 2007;68:1417–22.

GROOMS, D.L, BOLIS, C.A, 2005. **Diagnosis of fetal loss caused by bovine viral diarrhea virus and *Leptospira* spp.** Theriogenology 21, 463-472.

GROOMS, D.L., 2004. **Reproductive consequences of infection with bovine viral diarrhea virus.** Vet. Clin. Food Anim. 20, 5-19.

HOEBEN D, BURVENICH C, MASSART-LEËN A-M, LENJOU M, NIJS G, VAN BOCKSTAELE D, BECKERS J-F. **In vitro effect of ketone bodies, glucocorticosteroids and bovine pregnancy-associated glycoprotein on cultures of bone marrow progenitor cells of cows and calves.** Vet Immunol Immunopathol. 1999;68(2-4):229-40. [http://dx.doi.org/10.1016/S0165-2427\(99\)00031-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0165-2427(99)00031-8). PMID:10438322.

HUBBERT W., DENNIS, S., ADAMS, W., BIERSCHWAL, C., BIGGERS, J., CARROLL, E., DUNNE, H., HUTTON, N., KENDRICK, J., AND KENNEY, R., 1972.

Recommendations for standardizing bovine reproductive terms. Cornell Vet. 62, 216-237.

KELLING, C.L., 2007. **Viral Diseases of the Fetus.** Virology, Nebraska Center for Virology Papers. Virology Papers, pp. 399-408.

KING, G.J., ATKINSON, B.A., ROBERTSON, H.A., 1980. **Development of the bovine placentome from days 20 to 29 of gestation.** Journal of Reproduction and Fertility 59, 95–100. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0590095>.

MADUREIRA A, SILPER B, BURNETT T, POLSKY L, CRUPPE L, VEIRA D, VASCONCELOS J, CERRI R. **Factors affecting expression of estrus measured by activity monitors and conception risk of lactating dairy cows.** J Dairy Sci. 2015;98(10):7003-14. <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2015-9672>. PMID:26254517.

MARINKOVIC, S., JAHREIS, G.P., WONG, G.G., BAUMANN, H. 1989. **IL-6 modulates the synthesis of a specific set acute phase plasma proteins in vivo.** J. Immunol. 142; 808-812.

MCEWAN, B., CARMAN, S., 2005. **Animal health laboratory reports – cattle. Bovine abortion update, 1998-2004.** Can. Vet. J. 46, 46.

MEE JF (2020) **Investigation of bovine abortion and stillbirth/perinatal mortality – similar diagnostic challenges, different approaches.** Irish Veterinary Journal, 73(1), 20. doi:10.1186/s13620-020-00172-0

MELTON B. **Attaching Economic Figures to Production Traits;** 1995. http://animal.ifas.ufl.edu/beef_extension/bcsc/1995/docs/melton_traits.pdf.

MERCADANTE PM, WATERS KM, MERCADANTE VR, LAMB GC, ELZO MA, JOHNSON SE, RAE DO, YELICH JV & EALY AD 2013 **Subspecies differences in early fetal development and plasma pregnancy-associated glycoprotein concentrations in cattle.** Journal of Animal Science 91 3693–3701. (doi:10.2527/jas.2012-6130)

MILLER JM, VAN DER MAATEN MJ. **Experimentally induced infectious bovine rhinotracheitis virus infection during early pregnancy: effect on the bovine corpus luteum and conceptus.** Am J Vet Res 1986;47: 223–8.

MINEIRO ALBB, BEZERRA EEA, VASCONCELLOS AS, COSTA FAL, MACEDO NA. **Leptospiral infection in bovine and its association with reproductive failure and climatic conditions.** Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia 2007;59:1103–9.

MORIMATSU, M.; SARIKAPUTI, M.; SYUTO, B.; SAITO, M.; YAMAMOTO, S.; NAIKI, M., 1992: **Bovine haptoglobin: single radial immunodiffusion assay of its polymeric forms and dramatic rise in acute-phase sera.** Veterinary Immunology and Immunopathology 33, 365–372.

MOTTA IG, ROCHA CC, BISINOTTO DZ, MELO GD, ATAIDE GA JR, SILVA AG, GONZAGA VH, SANTOS JA, FREITAS BG, LEMES KM, MADUREIRA EH. **Increased pregnancy rate in beef heifers resynchronized with estradiol at 14 days after TAI.** Theriogenology. 2020;147:62-70. <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.02.009>.

O'CALLAGHAN, E., SÁNCHEZ, J. M., MCDONALD, M., KELLY, A. K., HAMDI, M., MAICAS, C., LONERGAN, P. (2021). **Sire contribution to fertilization failure and early embryo survival in cattle.** *Journal of Dairy Science*, 104(6), 7262-7271.

PATEL O.V., T. TAKAHASHI, N. TAKENOUCI, M. HIRAKO, N. SASAKI, I. DOMEKIS. **Peripheral cortisol levels throughout gestation in the cow: Effect of stage of gestation and foetal number.** British Veterinary Journal, Volume 152, Issue 4, 1996, [https://doi.org/10.1016/S0007-1935\(96\)80036-4](https://doi.org/10.1016/S0007-1935(96)80036-4).

PEGORER, M. F., J. L. M. VASCONCELOS, L. A. TRINCA, P. J. HANSEN, AND C. M. BARROS. 2007. **Influence of sire and sire breed (Gyr versus Holstein) on establishment of pregnancy and embryonic loss in lactating Holstein cows during summer heat stress.** Theriogenology 67:692–697. doi:10.1016/j.theriogenology.2006.09.042

PEREIRA M, WILTBANK M, VASCONCELOS J. **Expression of estrus improves fertility and decreases pregnancy losses in lactating dairy cows that receive artificial insemination or embryo transfer.** J Dairy Sci. 2016;99(3):2237-47. <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2015-9903>. PMID:26723130.

PEREIRA, M.H.C.; COOKE, R.F. ; ALFIERI, A.A. ; VASCONCELOS, J.L.M. . **Effects of vaccination against reproductive diseases on reproductive performance of lactating dairy cows submitted to AI.** Animal Reproduction Science (Print), v. 96, p. 2837, 2013.

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

PERRY GA, SMITH MF, LUCY MC, GREEN JA, PARKS TE, MACNEIL MD, ROBERTS AJ, GEARY TW (2005) **Relationship between follicle size at insemination and pregnancy success.** Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 102(14), 5268–5273. doi:10.1073/pnas.0501700102

POHLER K.G., REESE S.T., FRANCO G.A., OLIVEIRA FILHO R.V., PAIVA R., FERNANDEZ L., MELO G.D., VASCONCELOS J.L., COOKE R.F., POOLE R.K. **New approaches to diagnose and target reproductive failure in cattle.** Anim Reprod 2020;17:e20200057. <https://doi.org/10.1590/1984-3143-AR2020-0057>.

POHLER KG, GREEN JA, GEARY TW, PERES RF, PEREIRA MH, VASCONCELOS JL, SMITH MF. **Predicting embryo presence and viability.** Adv Anat Embryol Cell Biol. 2015;216:253-70. http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-15856-3_13. PMID:26450503.

POHLER KG, PEREIRA MHC, LOPES FR, LAWRENCE JC, KEISLER DH, SMITH MF, VASCONCELOS JLM, GREEN JA. **Circulating concentrations of bovine pregnancy-associated glycoproteins and late embryonic mortality in lactating dairy herds.** J Dairy Sci. 2016a;99(2):1584-94. <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2015-10192>. PMID:26709163.

POHLER, K.G, PERES, R.F.G, GREEN, J.A, GRAFF, H, MARTINS, T, VASCONCELOS, J.L.M. **Use of bovine pregnancy-associated glycoproteins to predict late embryonic mortality in postpartum Nelore beef cows.** Theriogenology 2016; 85: 1652–9. 353.

POHLER. K.G, GEARY. T.W., JOHNSON. C.L., ATKINS. J.A., JINKS. E.M., BUSCH. D.C., GREEN. J.A., MACNEIL. M.D., SMITH. M.F. **Circulating bovine pregnancy associated glycoproteins are associated with late embryonic/fetal survival but not ovulatory follicle size in suckled beef cows.** J. Anim. Sci., 91 (2013), pp. 4158-4167.

PURSLEY JR, SILCOX RW, WILTBANK MC. **Effect of time of artificial insemination on pregnancy rates, calving rates, pregnancy loss, and gender ratio after synchronization of ovulation in lactating dairy cows.** J Dairy Sci. 1998;81(8):2139-44. [http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(98\)75790-X](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75790-X). PMID:9749378

REESE. S. T, FRANCO. G. A., POOLE R. K., HOOD. R., FERNANDEZ MONTERO. L., OLIVEIRA FILHO. R. V., COOKE. R. F., POHLER. K. G. **Pregnancy loss in beef cattle: A meta-analysis.** Animal Reproduction Science 212 (2020) 106251.

RIBEIRO, E. S., & CARVALHO, M. R. (2018). **Impact and mechanisms of inflammatory diseases on embryonic development and fertility in cattle.** Animal Reproduction (AR), 14(3), 589-600.

RIBEIRO, E. S., G. GOMES, L. F. GRECO, R. L. A. CERRI, A. VIEIRA-NETO, P. L. J. MONTEIRO JR., F. S. LIMA, R. S. BISINOTTO, W. W. THATCHER, AND J. E. P. SANTOS. 2016. **Carryover effect of postpartum inflammatory diseases on developmental biology and fertility in lactating dairy cows.** J. Dairy Sci. 99:2201–2220. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10337>

RIBEIRO, E. S., LIMA, F. S., GRECO, L. F., BISINOTTO, R. S., MONTEIRO, A. P. A., FAVORETO, M., ... & SANTOS, J. E. P. (2013). **Prevalence of periparturient diseases and effects on fertility of seasonally calving grazing dairy cows supplemented with concentrates.** Journal of dairy science, 96(9), 5682-5697.

RICHARDSON B, HILL S, STEVENSON J, DJIRA J, PERRY G. **Meta-analysis of the effect of estrus expression before fixed-time AI on conception rates in beef cattle.** J Anim Sci. 2014;92:701.

SA FILHO OG, MENEGHETTI M, PERES RFG, LAMB GC, VASCONCELOS JLM. **Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for Bos indicus cows II: strategies and factors affecting fertility.** Theriogenology 2009;72:210e8. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.02.008>

SALONEN, M.; HIRVONEN, J.; PYORALA, S.; SANKARI, S.; SANDHOLM, M., 1996: **Quantitative determination of bovine serum haptoglobin in experimentally induced *Escherichia coli* mastitis.** Research in Veterinary Science 60, 88–91.

SANTOS, J. E. P., R. S. BISINOTTO, E. S. RIBEIRO, F. S. LIMA, L. F. GRECO, C. R. STAPLES, AND W. W. THATCHER. 2010. **Applying nutrition and physiology to improve reproduction in dairy cattle.** Soc. Reprod. Fertil. Suppl. 67:385–403. <https://doi.org/10.7313/upo9781907284991.030> .

SANTOS, J., THATCHER, W., CHEBEL, R., CERRI, R., AND GALVAO, K., 2004. **The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs.** Anim. Reprod. Sci. 82, 513-535.

SILVA E, STERRY R, KOLB D, MATHIALAGAN N, MCGRATH M, BALLAM J, FRICKE P. **Accuracy of a pregnancy-associated glycoprotein ELISA to determine pregnancy status of lactating dairy cows twenty-seven days after timed artificial insemination.** J Dairy Sci. 2007;90(10):4612-22. <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2007-0276>. [PMid:17881682](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17881682/).

SMITH D., POLIAKIWSKI B., POLANCO O.J., SINGLETON S., DALMASO G.M., MUNTARI M., OLIVEIRA R.F., POLHER K.G. 2023. **Decisive points for pregnancy losses in beef cattle.** Reproduction, Fertility and Development. 35. DOI:/10.1071/RD22206.

SORDILLO LM. 2016. Nutritional strategies to optimize dairy cattle immunity. J Dairy Sci, 99:4967-4982.

SOUSA N, AYAD A, BECKERS J, GAJEWSKI Z. **Pregnancy-associated glycoproteins (PAG) as pregnancy markers in the ruminants.** J Physiol Pharmacol. 2006;57(Suppl. 8):153-71. PMid:17242480

THOMPSON I, CERRI R, KIM I, GREEN J, SANTOS J, THATCHER W. **Effects of resynchronization programs on pregnancy per artificial insemination, progesterone, and**

pregnancy-associated glycoproteins in plasma of lactating dairy cows. J Dairy Sci. 2010;93(9):4006-18. <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2009-2941>. PMID:20723675.

VASCONCELOS J.L., CARVALHO R., PERES R.F., RODRIGUES A.D., JUNIOR I.C., MENEGHETTI M., AONO F.H., COSTA W.M., LOPES C.N., COOKE R.F., POHLER K.G. **Reproductive programs for beef cattle: incorporating management and reproductive techniques for better fertility.** Anim Reprod 2017;14:547-57. <https://doi.org/10.21451/1984-3143-AR998>.

VASCONCELOS JLM, SARTORI R, OLIVEIRA HN, GUENTHER JG, WILTBANK MC. **Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate.** Theriogenology 2001;56:307e14. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(01\)00565-9](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(01)00565-9).

VASCONCELOS, J. L. M., CARVALHO, R., PERES, R. F., RODRIGUES, A. D., JUNIOR, I. C., MENEGHETTI, M., POHLER, K. G. (2018). **Reproductive programs for beef cattle: incorporating management and reproductive techniques for better fertility.** *Animal Reproduction (AR)*, 14(3), 547-557.

VIEIRA-NETO, A., F. S. LIMA, J. E. P. SANTOS, R. D. MINGOTI, G. S. VASCONCELLOS, C. A. RISCO, AND K. N. GALVÃO. 2016. **Vulvovaginal laceration as a risk factor for uterine disease in postpartum dairy cows.** J. Dairy Sci. 99:4629–4637. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-10872>.

VONNAHME KA (2018) **How the maternal environment impacts fetal and placental development: implications for livestock production.** Animal Reproduction 9(4), 789–797. Available at <https://www.animalreproduction.org/article/5b5a6053f7783717068b46ca>

WALLACE RM, POHLER KG, SMITH MF, GREEN JA. **Placental PAGs: gene origins, expression patterns, and use as markers of pregnancy.** Reproduction. 2015;149(3):R115-26. <http://dx.doi.org/10.1530/REP-14-0485>. PMID:25661256.

WILTBANK, M. C., BAEZ, G. M., GARCIA-GUERRA, A., TOLEDO, M. Z., MONTEIRO, P. L., MELO, L. F., OCHOA, J.C., SANTOS, J. E., AND SARTORI, R., 2016. **Pivotal**

periods for pregnancy loss during the first trimester of gestation in lactating dairy cows.
Theriogenology 86, 239-253.

WOODING F, WATHES DC. **Binucleate cell migration in the bovine placentome.** J
Reprod Fertil. 1980;59(2):425-30. <http://dx.doi.org/10.1530/jrf.0.0590425>. PMID:7431300.

CAPÍTULO 2

“Characterizing pregnancy losses in *Bos indicus* beef cows receiving a fixed-timed artificial insemination protocol.”

1. INTRODUÇÃO

A reprodução é o principal fator que regula a produtividade nos sistemas da pecuária de cria e a perda gestacional é reconhecida como um grande desafio reprodutivo nessas operações pecuárias (Diskin et al., 2016). Uma meta-análise recente de Reese et al. (2020) indicou que a maioria das perdas gestacionais em bovinos de corte são resultantes da mortalidade embrionária precoce (D8 – D27), seguida por mortalidade embrionária tardia (D28 – D45), mais mortalidade fetal precoce (D-45 – D100). A maioria dos estudos compilados por Reese et al. (2020) avaliaram a mortalidade embrionária precoce, enquanto estudos limitados avaliaram as perdas gestacionais durante todo o período de gestação. Portanto, pesquisas adicionais são necessárias para caracterizar as perdas de gestação em fêmeas de corte (Reese et al., 2020), particularmente em novilhas *Bos indicus* precoces que foram inseminadas ainda com um ano de idade. Estudos recentes relataram elevadas perdas gestacionais nesta categoria animal (Santo et al., 2022; Catussi et al., 2023), mas sem comparação com outras paridades no mesmo desenho experimental.

A perda gestacional é causada principalmente por condições uterinas abaixo do ideal e pela competência embrionária, e tais condições são reguladas por fatores genéticos e não genéticos (Hansen et al., 2020; Pohler et al., 2020). Estresse térmico e condições inflamatórias são exemplos de fatores não genéticos que podem causar perda de gestação em bovinos leiteiros (Ribeiro et al., 2017). A relação entre fatores não genéticos e perdas gestacionais em bovinos de corte ainda querer investigações (Hansen, 2020; Ribeiro et al. 2017).

A haptoglobina é uma proteína de fase aguda amplamente utilizada como marcador de inflamação em bovinos (Horadagoda et al., 1999; Cooke et al., 2013), e as concentrações séricas de haptoglobina foram negativamente associadas às taxas de prenhez para inseminação artificial em tempo fixo (IATF) em vacas de corte lactantes influenciadas por *Bos indicus* (Cooke, 2021; 2017). Nenhuma pesquisa, entretanto, avaliou se as concentrações séricas de haptoglobina impactam nas perdas gestacionais em fêmeas de corte. Portanto, este experimento foi desenhado para avaliar esta hipótese e caracterizar perdas gestacionais em novilhas precoces *B. indicus*, vacas primíparas e vacas multíparas a partir do 30º dia de gestação até o parto.

2. MATERIAIS E METODOS

Este experimento foi conduzido em quatro fazendas comerciais de cria, localizadas nos estados de Goiás, São Paulo e Tocantins. Todos os procedimentos experimentais foram previamente revisados e aprovados pelo Comitê de Ética e Uso Animal da Universidade Estadual Paulista - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (nº 268/2022). As fêmeas foram alocadas em lotes de acordo com a paridade, em pastagem de *Brachiaria spp.*, seguindo os procedimentos nutricionais, reprodutivos e sanitários existentes em cada fazenda, incluindo vacinação contra patógenos que causam perdas gestacionais: herpesvírus bovino-1, vírus da diarreia viral bovina e *Leptospira spp.* (Aono, 2013).

2.1. Animais e manejo reprodutivo

Um total de 4.926 fêmeas Nelore (*Bos indicus*) foram utilizadas para este experimento, sendo 1.802 novilhas nulíparas que foram expostas na primeira estação de monta após desmame e inseminadas ainda com um ano (13 meses $\pm$ 1 - Novilhas precoces), 1.356 novilhas nulíparas que foram expostas na segunda estação de monta após desmame e inseminadas até os 24 meses de idade (21 meses $\pm$ 3 - Novilhas convencionais), 887 primíparas lactantes e 881 multíparas lactantes.

Todas as fêmeas foram designados para um protocolo de sincronização de IATF (Meneghetti et al., 2009; Sá Filho et al., 2009), dia -11 a 0 que incluía 2 mg de benzoato de estradiol (Gonadiol; Zoetis, São Paulo, SP, Brasil) + dispositivo de liberação interna controlada de progesterona (CIDR; Zoetis, São Paulo, SP, Brasil) no dia -11, 12,5 mg de dinoprost trometamina (Lutalyse; Zoetis) no dia -4, remoção de CIDR + 0,6 mg de cipionato de estradiol (ECP; Zoetis) + eCG (300 UI vacas e 200 Novilhas UI; Novormon, Zoetis) no dia -2, seguida de IATF no dia 0, foi utilizado sêmen de 17 touros Nelore. Para efeitos deste experimento, foram analisados apenas os resultados da primeira IA da estação reprodutiva.

2.2. Diagnóstico de Gestação

O diagnóstico de gestação da IATF foi realizado por ultrassonografia transretal (transdutor de 7,5 MHz; Mindray DP-10, Mindray Medical International Limited; Shenzhen, China) nos dias D30, D60 e D150 após a IATF. Todas as fêmeas foram acompanhadas até o parto, e todos os nascimentos foram registrados.

A perda de gestação foi calculada com base nos diagnósticos de gestação (30, 60 e 150 dias após a IATF) e nas taxas reais de parto. Onde obtivemos 4 períodos de perdas:

- Perda 1: perdas entre 30 e 60 dias de gestação;
- Perda 2: perdas entre 60 e 150 dias de gestação;
- Perdas 3: perdas entre 150 dias de gestação e parto;
- Perdas Totais: perda entre 30 dias de gestação e parto.

2.3 Escore de Condição Corporal

O ECC (escala de 1-9) foi avaliado segundo Wagner et al. (1988) no momento da IATF e durante o diagnóstico de gestação 30 dias após a IATF.

2.4 Detecção de estro

Todos os animais receberam no d-2 um adesivo de detecção de estro (EstroTECT; Rockway Inc., Spring Valley, WI, EUA) e a expressão de estro foi avaliada no momento da IATF, D0. O estro foi definido como a remoção de > 50% da camada de fricção do adesivo (Rodrigues et al., 2018).

2.5 Amostras de sangue

Amostras de sangue foram coletadas de todas as fêmeas diagnosticadas como prenhes no D30, da veia ou artéria coccígea em tubos comerciais de coleta de sangue (Vacutainer, 10 mL; Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, EUA). As amostras de sangue foram colocadas imediatamente em gelo após a coleta, armazenadas por 24 horas a 4°C, centrifugadas a 1500 × g em temperatura ambiente por 15 minutos para coleta de soro e, posteriormente, armazenadas a -20°C.

As concentrações séricas de PAG foi quantificada usando o método in-house sandwich ELISA estabelecido por Green et al. (2005) e modificado usando um anticorpo policlonal (Ab 63) conforme descrito anteriormente por Reese et al. (2018; 2019). Cada ensaio foi realizado

com duplicatas de cada amostra, uma curva padrão, uma amostra de uma vaca prenhe com aproximadamente 60 dias de gestação e uma amostra de vacas não prenhes foram utilizadas como controles.

As concentrações de haptoglobina foi quantificada usando o método de colorimétrico baseado na atividade da peroxidase como descrito por Cooke e Arthington (2013), cada ensaio foi realizado com duplicatas de cada amostra e uma curva padrão foi utilizada como controle.

O CV's intra e inter-ensaio <10%, tanto para ambas as amostragens.

2.6 Análise estatística

Todos os dados foram analisados, utilizando a fêmea como unidade experimental, e aproximação de Satterthwaite para determinar o denominador GL, para os testes de efeitos fixos. Os dados quantitativos foram analisados com o procedimento MIXED do SAS (SAS Inst., Inc., Cary, NC, EUA), os dados binários analisados com o procedimento GLIMMIX do SAS (SAS Inst., Inc) com distribuição binomial e função de ligação logit, e os resultados são relatados como médias dos quadrados mínimas. As declarações do modelo continham, os efeitos fixos do resultado reprodutivo (diagnóstico de gestação e perda de gestação; negativo ou positivo), paridade (novilhas precoces, novilhas convencionais, vacas primíparas e vacas múltíparas) e a interação resultante. Esses modelos usaram animal (resultado reprodutivo × paridade × fazenda), touro (fazenda) e fazenda como variáveis aleatórias.

Os diagnósticos de gestação (D30, D60, D150 e parto) e as perdas gestacionais (perdas do dia D30 ao D60, do dia D60 ao D150, do dia D150 ao parto) longo do experimento foram comparadas por meio de um modelo contendo o efeito fixo de período, tendo animal (resultado reprodutivo × paridade × fazenda), touro (fazenda) e fazenda como variáveis aleatórias. Os resultados reprodutivos e as concentrações séricas de PAG de acordo com os touros agrupados por perdas gestacionais do dia 30 ao parto (baixa ou alta) foram comparados usando modelos contendo os efeitos fixos do grupo de touros, paridade e interação com o animal (resultado reprodutivo × paridade × fazenda) e fazenda como variáveis aleatórias.

A probabilidade de perda gestacional também foi avaliada de acordo com as concentrações séricas de haptoglobina e PAG no D30. O procedimento GLM do SAS foi inicialmente utilizado para determinar se essas variáveis afetavam a perda gestacional de forma linear, quadrática ou cúbica. O procedimento LOGISTIC foi utilizado para gerar o modelo de regressão, determinar os valores de intercepto e inclinação de acordo com

estimativas de máxima verossimilhança de cada efeito significativo de ordem contínua, e a probabilidade de prenhez foi determinada usando a seguinte equação: $\text{Probabilidade} = (e^{\text{equação logística}}) / (1 + e^{\text{equação logística}})$. Curvas logísticas foram construídas de acordo com os valores mínimos e máximos detectados para cada variável. A significância estatística foi fixada em $P \leq 0,05$ e as tendências foram determinadas se $0,05 > P \leq 0,10$. Os resultados da ANOVA foram relatados de acordo com os principais efeitos fixos quando a interação resultado reprodutivo x paridade não foi significativa, ou por paridade dentro do resultado reprodutivo quando a interação foi significativa.

3. RESULTADOS

A taxa de prenhez ao longo do período experimental esta demonstrada na Figura 1 e diminuiu ($P < 0,01$) gradativamente até o momento do parto. As perdas gestacionais em cada período avaliado também estão descritas na Figura 1, sendo as maiores ($P < 0,01$) do 60° ao 150° dia de gestação. As perdas gestacionais do 150° dia de gestação até o parto foram maiores ($P = 0,04$) em comparação com os dias 30 a 60 de gestação, e a perda gestacional total após o 30° dia de gestação foi de 22,1% (479 perdas gestacionais em 2.164 gestações).

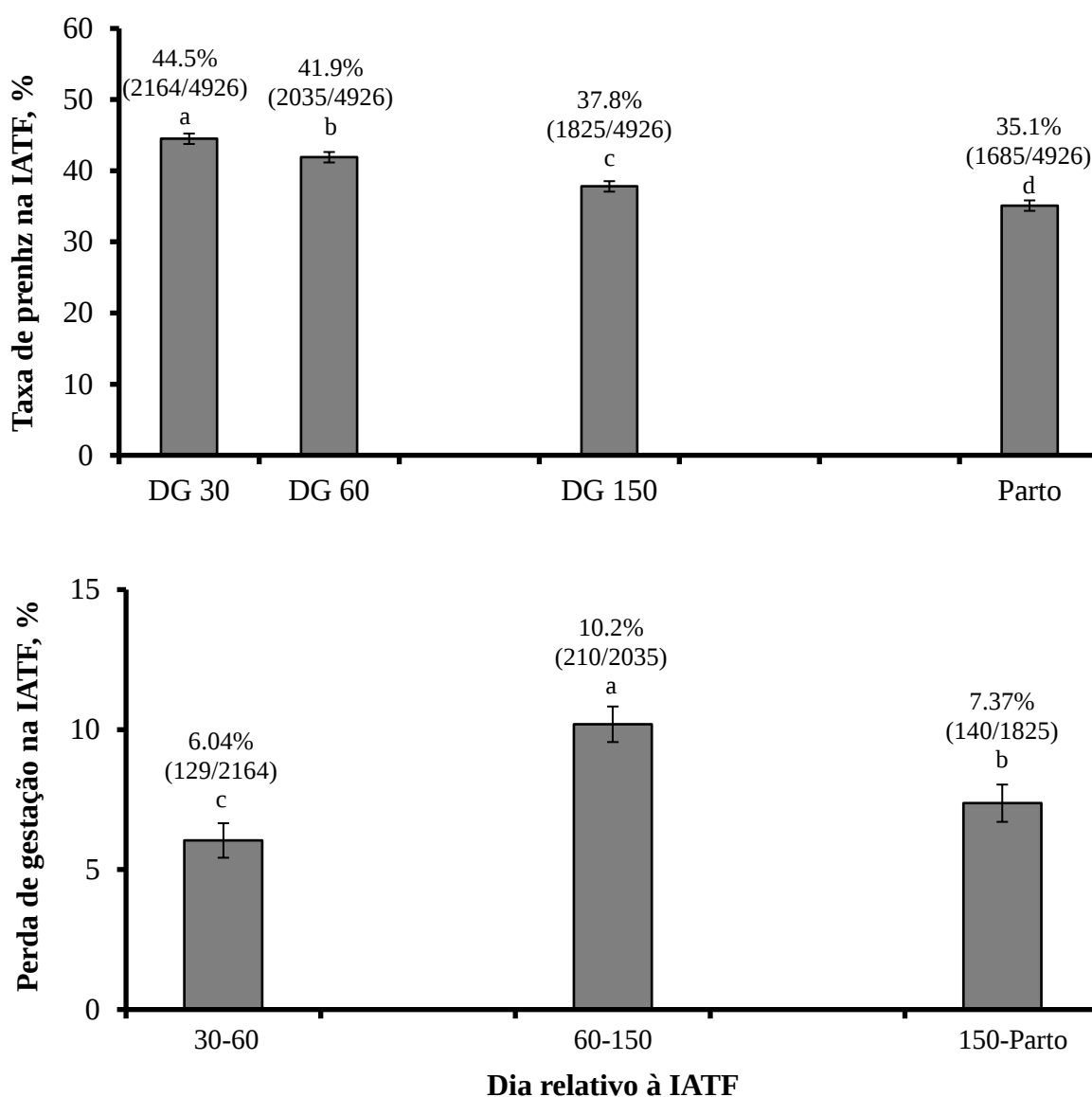


Figura 1. Taxa de prenhez e perdas de gestação em vacas de corte *Bos indicus* submetidas a um protocolo inseminação artificial em tempo fixo (IATF). Os valores entre parênteses representam vacas com diagnóstico positivo divididas pelo total de vacas com diagnóstico. Dentro do gráfico, valores com sobrescritos diferentes (a, b,c,d) diferem ($P \leq 0,05$).

A Tabela 1 mostra a comparação das vacas de acordo com o diagnóstico de gestação no D30 e status de parto. A expressão de estro durante o protocolo de IATF e ECC no D30 foram maiores ($P < 0,01$) em vacas diagnosticadas como prenhes e que pariram em comparação com vacas com diagnóstico negativo (interação diagnóstico de gestação $\times$ paridade; $P \geq 0,37$). Foi detectada interação diagnóstico de prenhez $\times$ paridade ($P < 0,01$) para ECC na IATF, já que diferenças de ECC foram observadas apenas ($P < 0,01$) em novilhas precoces e vacas primíparas. No entanto, a mudança do ECC da IATF para 30 dias depois tendeu ($P = 0,09$) a ser maior em vacas diagnosticadas como prenhes, e foi maior ($P = 0,03$) em vacas que pariram (interações do diagnóstico de prenhez $\times$ paridade; $P \geq 0,25$).

Tabela 1: Expressão do estro e escore de condição corporal (ECC) em vacas de corte *Bos indicus* de acordo com o sucesso da prenhez à inseminação artificial em tempo fixo (IATF).

Item	Negativas	Positivas	SEM	P-Value
Diagnostico de gestação D30	<i>n</i> = 2762	<i>n</i> = 2164	-	-
Expressão de estro na IATF, %	50,6 (936/1805)	65,4 (1138/1674)	1,7	< 0,01
ECC na IATF				
Novilhas Precoces	5,30	5,41	0,02	< 0,01
Novilhas Convencionais	5,30	5,31	0,03	0,76
Vacas Primíparas	5,17	5,32	0,03	< 0,01
Vacas Multíparas	5,16	5,15	0,03	0,95
ECC D30	5,43	5,51	0,02	< 0,01
Mudança de ECC (IATF para DG30)	0,188	0,213	0,016	0,09
Parto	<i>n</i> = 3241	<i>n</i> = 1685	-	-
Expressão de estro na IATF, %	52,7 (1177/2146)	65,3 (897/1333)	1,7	< 0,01
ECC na IATF				
Novilhas Precoces	5,30	5,45	0,03	< 0,01
Novilhas Convencionais	5,30	5,31	0,03	0,76
Vacas Primíparas	5,19	5,32	0,03	< 0,01
Vacas Multíparas	5,15	5,16	0,03	0,89
ECC D30	5,44	5,53	0,02	< 0,01
Mudança de ECC (IATF para DG30)	0,188	0,225	0,016	0,03

Na Tabela 2 mostra as respostas do escore de condição corporal (ECC), respostas reprodutivas e fisiológicas de acordo com a paridade. A expressão de estro durante o protocolo de IATF e ECC foi maior ($P \leq 0,02$) nas novilhas convencionais e precoces em comparação com as demais paridades, e foi menor ($P \leq 0,03$) nas vacas primíparas. A taxa de prenhez na IATF foi maior ($P < 0,01$) para vacas multíparas durante todo o período

experimental em comparação com as demais paridades, além disso não diferiu ($P \geq 0,20$) entre novilhas convencionais e vacas primíparas, enquanto novilhas precoces tiveram os menores valores ($P < 0,01$) para taxa de prenhez até o parto. As concentrações séricas de PAG não diferiram ($P = 0,37$) entre vacas primíparas e múltiparas diagnosticadas como prenhes no D30, mas foram maiores ($P \leq 0,05$) em ambas as paridades em comparação com os grupos de novilhas, e também maiores ($P < 0,01$) em novilhas convencionais em comparação com novilhas precoces. Não foram observadas diferenças ($P = 0,15$) nas concentrações séricas de haptoglobina no D30 entre as paridades. A perda de gestação do D30 ao D60 dia de gestação não diferiu ($P = 0,26$) entre as paridades, mas a perda de gestação do D30 de gestação até o parto foi maior ($P < 0,01$) para grupos de novilhas em comparação com vacas paridas. Diferenças adicionais de paridade ($P \leq 0,05$) foram observadas para perdas de gestação durante o período experimental, conforme descrito na Tabela 2, incluindo maior ($P \leq 0,04$) perda de gestação do D150 de gestação até o parto para novilhas precoces em comparação com todos os outros grupos de paridade.

Tabela 2. Escore de condição corporal (ECC), respostas reprodutivas e fisiológicas de acordo com a paridade em vacas de corte *Bos indicus* submetidas a um protocolo de sincronização de estro + inseminação artificial em tempo fixo (IATF).

Item	Novilhas Precoces <i>n</i> = 1802	Novilhas Convencionais <i>n</i> = 1356	Vacas Primíparas <i>n</i> = 887	Vacas Múltiparas <i>n</i> = 881	SEM	<i>P</i> - Value
ECC					-	-
Na IATF (D0)	5,28 ^b	5,34 ^a	5,23 ^c	5,17 ^d	0,02	< 0,01
Dia 30	5,60 ^b	5,67 ^a	5,20 ^d	5,46 ^c	0,02	< 0,01
Expressão cio, %	73,5 ^a (356/439)	74,1 ^a (984/1344)	31,8 ^c (286/848)	52,5 ^b (448/848)	1,8	< 0,01
Taxa Prenhez, %						
DG 30	32,8 ^c (642/1802)	46,6 ^b (645/1356)	43,8 ^b (391/887)	54,9 ^a (486/881)	1,5	< 0,01
DG 60	31,5 ^c (595/1802)	43,2 ^b (606/1356)	41,1 ^b (368/887)	52,1 ^a (466/881)	1,8	< 0,01
DG 150	27,6 ^c (527/1802)	36,4 ^b (522/1356)	36,8 ^b (329/887)	49,6 ^a (447/881)	1,8	< 0,01
Parto	23,4 ^c (465/1802)	34,2 ^b (478/1356)	36,6 ^b (320/887)	47,7 ^a (422/881)	1,5	< 0,01
PAG, ng/mL	6,73 ^c	9,45 ^b	10,2 ^a	10,5 ^a	0,31	< 0,01
Haptoglobina, mg/mL	0,773	0,650	0,503	0,674	0,077	0,15
Perda de gestação, %						
D30 - D60	6,73 (47/642)	5,63 (39/645)	5,19 (23/391)	3,69 (20/486)	1,2	0,26
D60 - D150	11,2 ^{ab} (68/595)	14,6 ^a (84/606)	9,03 ^b (39/368)	4,0 ^c (19/466)	1,5	< 0,01
D150 – Parto	13,3 ^a (62/527)	8,98 ^b (44/522)	2,55 ^c (9/329)	5,54 ^c (25/447)	1,5	< 0,01
Total (D30 - Parto)	28,4 ^a (177/642)	27,1 ^a (167/645)	16,4 ^b (71/391)	13,0 ^b (64/486)	2,2	< 0,01

A Tabela 3 relata a expressão de cio, as concentrações séricas de haptoglobina e as concentrações séricas de PAG de acordo com as perdas gestacionais. Não foram detectadas interações perda gestacional x paridade ($P \geq 0,17$) para essas variáveis; portanto, os resultados são não relatados entre paridades. A expressão de estro durante o protocolo de IATF e a concentração sérica de haptoglobina no dia 30 após a IATF não diferiram ($P \geq 0,32$) entre vacas que mantiveram ou perderam a gestação durante todo o período experimental. As concentrações séricas de PAG no dia 30 após a IATF foram menores ($P \leq 0,03$) nas vacas que perderam a gestação do 30º ao 60º dia de gestação, bem como naquelas que perderam a gestação do 30º dia até o parto. Não foram observadas diferenças nas concentrações séricas de PAG no dia 30 após a IATF ($P \geq 0,23$) de acordo com a perda de gestação do dia 60 ao 150 de gestação e do dia 150 ao parto. Assim, a probabilidade de perda de gestação do 30º ao 60º dia de gestação e do 30º dia até o parto diminuiu linearmente ($P < 0,01$) à medida que a concentração sérica de PAG no 30º dia após a IATF aumentou (Figura 2), e esses resultados foram observados entre as paridades (Figura 3). A probabilidade de perda de gestação do 60º ao 150º dia de gestação ou do 150º dia até o parto não foi afetada ($P \geq 0,42$) pela concentração sérica de PAG. A probabilidade de perda gestacional ao longo do período experimental também não foi impactada ($P \geq 0,33$) pela concentração sérica de haptoglobina no dia 30 após a IATF.

Tabela 3. Expressão de cio e concentração sérica de haptoglobina e glicoproteínas associadas à gestação (PAG) de acordo com a perda gestacional em vacas de corte *Bos indicus*.

Item	Negativa	Positiva	SEM	P-Value
Perdas entre 30-60 dias após IATF	<i>n</i> = 2035	<i>n</i> = 129	-	-
Expressão de cio na IATF, %	65,9 (1077/1580)	64,1 (61/94)	3,1	0,71
Haptoglobina (no dia 30 após IATF), mg/mL	0,646	0,683	0,086	0,79
PAGs (no dia 30 após IATF), ng/mL	9,39	5,63	0,38	< 0,01
Perdas entre 60-150 dias após IATF	<i>n</i> = 1825	<i>n</i> = 210	-	-
Expressão de cio na IATF, %	66,2 (980/1438)	67,7 (97/142)	4,3	0,84
Haptoglobina (no dia 30 após IATF), mg/mL	0,648	0,734	0,078	0,48
PAGs (no dia 30 após IATF), ng/mL	9,38	9,60	0,35	0,65
Perdas entre 150 dias – parto	<i>n</i> = 1685	<i>n</i> = 140	-	-
Expressão de cio na IATF, %	66,1 (897/1333)	71,4 (83/105)	3,3	0,32
Haptoglobina (no dia 30 após IATF), mg/mL	0,646	0,730	0,010	0,61
PAGs (no dia 30 após IATF), ng/mL	9,20	9,98	0,43	0,23
Perdas totais (day 30 to calving)	<i>n</i> = 1685	<i>n</i> = 479	-	-
Expressão de cio na IATF, %	65,6 (897/1333)	66,4 (241/341)	2,1	0,77
Haptoglobina (no dia 30 após IATF), mg/mL	0,644	0,688	0,057	0,58
PAGs (no dia 30 após IATF), ng/mL	9,32	8,59	0,27	0,03

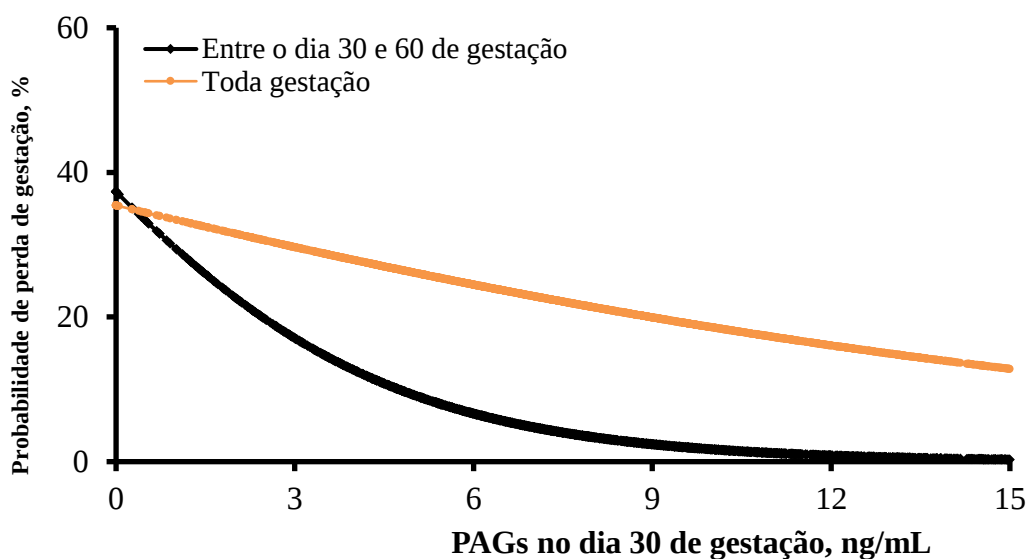


Figura 2. Probabilidade de perda de gestação, do 30º ao 60º dia de gestação e do 30º dia de gestação até o parto, em vacas de corte Bos indicus de acordo com as concentrações séricas de glicoproteínas associadas à gestação (PAGs) no 30º dia de gestação. Houve efeito linear ($P < 0,01$) para ambas as variáveis.

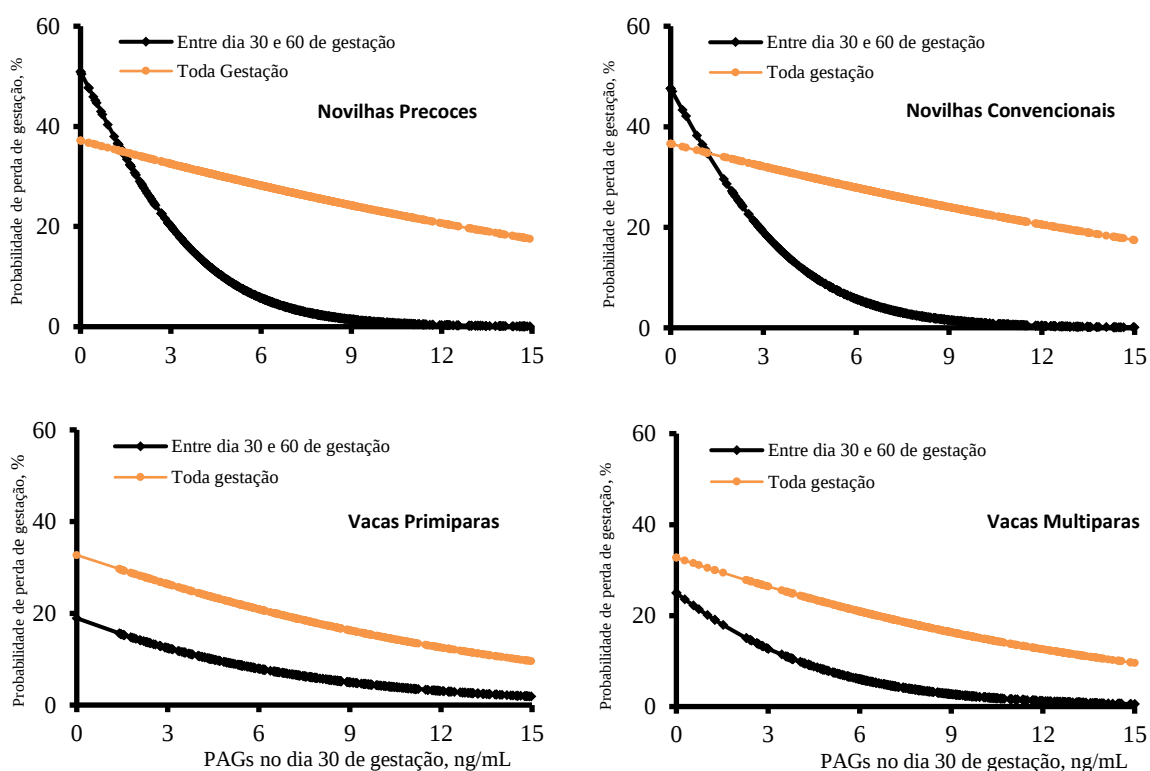


Figura 3. Probabilidade de perda de gestação, do 30º ao 60º dia de gestação e do 30º dia de gestação até o parto, em vacas de corte Bos indicus de acordo com as concentrações séricas de glicoproteínas associadas à gestação (PAGs) no 30º dia de gestação e paridade. Houve efeito linear ($P \leq 0,03$) para ambas as variáveis em todas as paridades.

A Tabela 4 compara os resultados reprodutivos e as concentrações séricas de PAG em 4 touros com o maior número de inseminações em todas as fazendas e paridades, e agrupados de acordo com o total de perdas gestacionais após o 30º dia de gestação (2 touros/grupo). As perdas totais de gestação diferiram entre os grupos ($P = 0,03$), conforme esperado, mas não foram observadas diferenças nas taxas de prenhez no 30º dia após a IATF, na taxa de partos e nas perdas de prenhez durante períodos individuais da gestação. No entanto, as concentrações séricas de PAG no dia 30 após a IATF foram maiores ($P = 0,01$) em vacas prenhes de touros classificados com baixas perdas totais de gestação.

Tabela 4. Concentração sérica de glicoproteínas associadas à gestação (PAG) e resultados reprodutivos em vacas de corte *Bos indicus* submetidas a um protocolo de sincronização de estro + inseminação artificial em tempo fixo (IATF). Os resultados são relatados de acordo com 4 touros com > 200 e agrupados de acordo com o total de perdas gestacionais (2 touros por grupo).

Item	Baixa perda de gestação	Alta perda de gestação	SEM	P-Value
Vacas prenhas 30 dias após IATF, %	50,3 (406/802)	52,4 (309/590)	2,8	0,44
PAG (no dia 30 após IATF), ng/mL	11,2	9,77	2,02	0,01
Perda de gestação, %				
Entre os dias 30-60	5,17 (21/406)	7,76 (24/309)	1,29	0,15
Entre os dias 60-150	6,49 (25/385)	9,12 (26/285)	1,46	0,20
Entre os dias 150 – Parto	6,11 (22/360)	8,10 (21/259)	1,46	0,33
Total (dia 30 ao parto)	16,7 (68/406)	23,0 (71/309)	2,11	0,03
Parto, %	41,6 (338/802)	41,2 (238/590)	4,2	0,87

4. DISCUSSÃO

As taxas gerais de prenhez no dia 30 após a IATF relatadas na Figura 1 são típicas de fêmeas *B. indicus* criados em ambientes tropicais e usando protocolos de sincronização de estro baseados em estradiol (Vasconcelos et al., 2017). As taxas de prenhez diminuíram com o avanço do experimento devido às perdas de prenhez conforme o esperado (Figura 1), e resultou em uma taxa de parto de 35%. Entre as paridades, a maioria das perdas gestacionais ocorreu devido à mortalidade fetal entre o dia 60 e o 150º dia de gestação, seguida pela mortalidade fetal entre o dia 150 de gestação até o parto. A perda gestacional do dia 30 ao 60 de gestação, compreendendo mortalidade embrionária tardia (dia 30 a 45) e fetal precoce (dia 45 a 60) foi a mais baixa e com valores semelhantes aos relatados por Reese et al. (2020). Esses autores relataram que as perdas gestacionais como mortalidade embrionária tardia + mortalidade fetal precoce foram de aproximadamente 5% em fêmeas de *B. indicus*, enquanto a mortalidade embrionária precoce foi a principal fonte de perdas gestacionais (~50%). O experimento atual não avaliou a mortalidade embrionária precoce, que está bem estabelecida nos últimos anos (Ealy et al., 2020), mas demonstra a importância da mortalidade fetal em animais *B. indicus*. Reese et al. (2020) observou que a mortalidade fetal em bovinos de corte é mínima, causada principalmente por doenças infecciosas, e por esta razão havia poucas pesquisas disponíveis para serem incluídas em sua meta-análise. Este experimento indica o contrário, já que a perda de gestação devido à mortalidade fetal foi de 17,2% (350 perdas em 2.035 vacas prenhes no dia 60 após a IATF) em rebanhos *B. indicus* que foram totalmente vacinados contra doenças reprodutivas infecciosas (Aono et al., 2013).

As diferenças no ECC e na expressão de estro em vacas de acordo com o estado de gestação 30 dias após IATF ou parto (Tabela 1) foram avaliadas para comprovar a importância dessas variáveis para o desempenho reprodutivo de vacas *B. indicus*. Entre as paridades, as vacas diagnosticadas como prenhes e aquelas que pariram tiveram maior incidência de expressão de estro, conforme relatado por outros (Rodrigues et al., 2018; Pohler et al., 2016). O ECC geral no momento da IATF dos bovinos utilizados neste experimento estava acima de 5,0, que é o limite para reservas adequadas de nutrientes corporais em fêmeas de corte (Richards et al., 1986). Assim, diferenças no ECC na IATF em vacas diagnosticadas ou que pariram foram observadas apenas para novilhas precoces e vacas primíparas, que são as paridades com maiores desafios nutricionais (NASEM, 2016). Por sua vez, a mudança do ECC na IATF e o ECC no dia 30 após a IATF foram maiores para vacas com resultados positivos de gestação em todos os partos, como relatado anteriormente em animais *B. indicus*.

por nosso grupo de pesquisa (Cooke et al., 2021; Sales et al., 2023). Deve-se ter cuidado ao interpretar a relevância biológica dessa diferença de ECC, pois grandes amostras podem levar a erros estatísticos do tipo I.

As diferenças no ECC e na expressão do estro durante o protocolo de IATF entre as paridades (Tabela 2) podem ser atribuídas aos desafios nutricionais pós-parto que as vacas paridas experimentam quando comparadas com as novilhas e principalmente com as vacas primíparas (Rodrigues et al., 2018; NASEM, 2016). O mesmo cuidado descrito acima em relação a relevância biológica em grandes amostras deve ser considerado para as diferenças no ECC entre as paridades. As taxas de prenhez na IATF foram sempre maiores para vacas multíparas em comparação com vacas primíparas e novilhas (Tabela 2), corroborando os resultados de campo relatados pelo grupo GERAR (Vasconcelos et al., 2017). Em seu relatório de 2021 compilando dados de mais de 1 milhão de fêmeas Nelore, as taxas de prenhez 30 dias após a IATF foram de aproximadamente 45% para novilhas e vacas primíparas, e de aproximadamente 53% para vacas multíparas. (GERAR, 2021 - https://www.zoetis.com.br/especies/bovinos/gerar/pdf/corte/2021/zoetis_caderno_relatorio_gerar_corte_2021.pdf). Esses resultados podem estar relacionados ao anestro induzido nutricionalmente prolongado em vacas primíparas e ao atraso na maturação reprodutiva em novilhas *B. indicus*, que foi ainda mais pronunciado em novilhas precoces (Cooke et al., 2020). As perdas gestacionais por mortalidade fetal (após o 60º dia de gestação) também diferiram de acordo com a paridade, sendo maiores nos grupos das novilhas em comparação com vacas paridas. As perdas totais de gestação (dia 30 de gestação até o parto) foram semelhantes entre novilhas convencionais e precoces, e foram quase o dobro em comparação com vacas primíparas e multíparas. As concentrações séricas de PAG apoiam estes resultados, uma vez que ambos os grupos de novilhas tiveram menos concentrações de PAG no dia 30 de gestação em comparação com vacas paridas. A PAG circulante é usada como marcador da função placentária em bovinos (Wallace et al., 2015), sugerindo que o desenvolvimento e a função inadequada da placenta contribuíram para o aumento das perdas gestacionais observadas em novilhas nulíparas *B. indicus* (Davenport et al., 2023). As concentrações séricas de PAG no dia 30 de gestação foram ainda menores em novilhas precoces, dada a idade mais jovem e a imaturidade sexual em comparação com as novilhas convencionais, e corroboram o desempenho reprodutivo inferior de novilhas precoce entre todas as paridades (Pohler et al., 2020). As concentrações séricas de haptoglobina não diferiram entre as paridades, indicando que as consequências inflamatórias do parto nas vacas paridas não

persistiram até o dia 30 após a IATF (Cooke et al., 2009; Arfuso et al., 2023), e as diferenças nas perdas de gestação dentre as paridades não foram associadas a condições inflamatórias e nem doenças (Ribeiro et al., 2017).

A expressão do estro durante o protocolo de IATF tem sido associada à diminuição das perdas de gestação em vacas leiteiras (Galvao et al., 2004; Pereira et al., 2016), mas tal relação permanece obscura em bovinos de corte, particularmente em fêmeas de *B. indicus* em ambientes tropicais (Reese et al., 2020). A expressão do estro durante o protocolo de IATF foi semelhante nas vacas que mantiveram ou perderam a gestação ao longo deste experimento (Tabela 3). Além disso, novilhas precoces e convencionais expressaram mais estro durante o protocolo de IATF, mas tiveram maior incidência de perdas de prenhez, apoiando a necessidade de mais pesquisas nesta área, incluindo o refinamento dos protocolos de IATF para novilhas (Reese et al., 2020; Franco et al., 2018). A concentração sérica de haptoglobina no dia 30 após a IATF também não diferiu de acordo com a perda de prenhez (Tabela 3), nem impactou a probabilidade de as vacas perderem a prenhez ao longo do período experimental. Apesar dos efeitos negativos dos processos inflamatórios sobre a fertilidade e os fatores de estabelecimento da prenhez em vacas pós-parto (Ribeiro et al., 2017; Cooke et al., 2009; Cooke et al., 2017), a inflamação sistêmica no dia 30 após a IATF não foi suficiente para impactar as perdas prenhes subsequentes neste experimento.

As concentrações séricas de PAG no dia 30 de gestação demonstrou que as PAG predizem perdas gestacionais durante os 30 dias subsequentes (Reese et al., 2020; Gatea et al., 2018), mas esta relação com perdas gestacionais que ocorrem após o dia 60 de gestação não é clara (Lopez et al., 2007). Assim, as vacas que sofreram perda de gestação entre os dias 30 e 60 de gestação neste experimento tiveram menor concentração sérica de PAG no dia 30 em comparação com as fêmeas que mantiveram a gestação (Tabela 3). Tais resultados foram observados entre as paridades e confirmados pela diminuição da probabilidade de perda da gravidez a partir do 30º e 60º dia de gestação, de acordo com as concentrações séricas de PAG (Figuras 2 e 3). Por outro lado, as concentrações séricas de PAG no dia 30 não diferiram de acordo com as perdas gestacionais após o dia 60 de gestação, nem afetaram a probabilidade de perdas gestacionais durante esses períodos. Ao comparar as vacas de acordo com as perdas totais de gestação após o 30º dia de gestação, as concentrações séricas de PAG também foram maiores nas vacas que mantiveram a gestação (Tabela 3) e foi observada uma associação linear negativa com a probabilidade de perda de gestação (Figuras 2 e 3). Estes últimos

resultados, no entanto, foram motivados principalmente pela relação das concentrações séricas de PAG com as perdas gestacionais do 30º ao 60º dia de gestação.

A comparação dos touros de acordo com as perdas gestacionais desde o 30º dia de gestação até o parto é apresentada na Tabela 4 para explorar melhor a contribuição paterna para o desenvolvimento da gestação em vacas de corte. Conforme relatado anteriormente pelo nosso grupo de pesquisa (Pohler et al., 2016), touros com maior incidência de mortalidade embrionária tardia produziram gestações com menores concentrações maternas de PAG. Este experimento sugere que tal relação pode persistir durante o período fetal, uma vez que as concentrações séricas de PAG no dia 30 de gestação foram menores em vacas inseminadas por touros que resultaram maiores perdas gestacionais. No entanto, este experimento não foi projetado especificamente para testar os efeitos dos touros, o que foi considerado uma variável aleatória, uma vez que foram utilizados múltiplos touros de acordo com o manejo de cada fazenda. Quatro touros com o maior número de inseminações usadas entre paridades e fazendas foram selecionados para esta comparação, o que apoia o uso das PAGs maternas para melhorar a identificação e seleção de touros que produzam baixas perdas gestacionais (Pohler et al., 2020; Franco et al., 2018).

5. CONCLUSÃO

Este experimento fornece novas informações sobre perdas gestacionais em bovinos de corte *Bos indicus*, que totalizaram 22,1% de perda do 30º dia de gestação até o parto e a maioria (17,2%) ocorreu como mortalidade fetal após o 60º dia de gestação. Novilhas nulíparas criadas em programas precoces ou convencionais experimentaram a maior incidência de perdas de prenhez entre as paridades, enquanto novilhas precoces também tiveram taxas de prenhez e parto inferiores em comparação com novilhas convencionais e vacas paridas. Esses resultados estão associados ao atraso na maturação sexual de fêmeas de *B. indicus*, particularmente em novilhas nulíparas inseminadas com um ano de idade. Contrariamente à nossa hipótese, a inflamação sistêmica durante o início da gestação não contribuiu para o fracasso da gestação, uma vez que as concentrações séricas de haptoglobina no dia 30 da gestação não foram associadas a perdas subsequentes da gestação. No entanto, este experimento também corrobora as concentrações séricas de PAG no dia 30 de gestação como preditor de perda de gestação durante os 30 dias subsequentes e como marcador para identificar touros que produzem baixas perdas de gestação em rebanhos de corte *Bos indicus*.

6. IMPLICAÇÕES

O estudo atual apresenta contribuições para pesquisadores quanto para pecuaristas na área da reprodução animal. Isto se deve ao fato de que o estudo apresentou resultados significativos sobre as perdas gestacionais em fêmeas da raça *Bos indicus* submetidas à IATF. Além disso, é importante ressaltar que esse tópico possui grandes impactos econômicos no sistema da pecuária de corte. Ao compreendermos a magnitude desse impacto e considerarmos os fatores que o influenciam, surgem oportunidades para ajustes operacionais que podem aprimorar os resultados no que diz respeito à manutenção da gestação, resultando, consequentemente, em uma taxa de parição mais elevada. Isso, por sua vez, tem implicações positivas significativas no âmbito econômico do sistema de produção de carne.

REFERÊNCIAS

AONO, F., COOKE, R.F., ALFIERI, A., VASCONCELOS, J.L.M., 2013. **Effects of vaccination against reproductive diseases on reproductive performance of beef cows submitted to fixed-timed AI in Brazilian cow-calf operations.** Theriogenology 79, 242–248.

ARFUSO F., MINUTI A., LIOTTA L., GIANNETTO C., TREVISI E., PICCIONE G., LOPREIATO V.. **Stress and inflammatory response of cows and their calves during peripartum and early neonatal period.** Theriogenology 2023;196:157-66.

CARVALHO RS, COOKE RF, CAPPELLOZZA BI, PERES RFG, POHLER KG, VASCONCELOS JLM. **Influence of body condition score and its change after parturition on pregnancy rates to fixed-timed artificial insemination in *Bos indicus* beef cows.** Anim Reprod Sci 2022;243:107028. <https://doi.org/10.1016/j.animreprosci.2022.107028>.

CATUSSI B.L., DE MELO C., DA SILVA L.G., DE ABREU L.A., KOURY FILHO W., LOBO R.B., D'OCCHIO M.J., BARUSELLI P.S.. **Influence of nutrition and genetic selection for puberty on the reproductive response of Nelore heifers submitted to fixed-time AI and oocyte recovery with in vitro fertilization.** Livest Sci 2023;274:105263. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2023.105263>.

COOKE R.F., ARTHINGTON J.D., ARAUJO D.B., LAMB G.C.. **Effects of acclimation to human interaction on performance, temperament, physiological responses, and pregnancy rates of Brahman-crossbred cows.** J Anim Sci 2009;87:4125–32. <https://doi.org/10.2527/jas.2009-2021>.

COOKE R.F., ARTHINGTON J.D.. **Concentrations of haptoglobin in bovine plasma determined by ELISA or a colorimetric method based on peroxidase activity.** Anim Physiol Anim Nutr 2013;97:531-6. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2012.01298.x>.

COOKE R.F., CARDOSO R.C., CERRI R.L., LAMB G.C., POHLER K.G., RILEY D.G., VASCONCELOS J.L.. **Cattle adapted to tropical and subtropical environments: genetic**

and reproductive considerations. J Anim Sci 2020;98: skaa015.
<https://doi.org/10.1093/jas/skaa015>

COOKE R.F., LAMB G.C., VASCONCELOS J.L.M., POHLER K.G.. **Effects of body condition score at initiation of the breeding season on reproductive performance and overall productivity of Bos taurus and B. indicus beef cows.** Anim Reprod Sci 2021;232:106820. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2021.106820>

COOKE R.F., SCHUBACH K.M., MARQUES R.S., PERES R.F.G., SILVA L.G.T., CARVALHO R.S., CIPRIANO R.S., BOHNERT D.W., PIRES A.V., VASCONCELOS J.L.M.. **Effects of temperament on physiological, productive, and reproductive responses in beef cows.** J Anim Sci 2017;95:1-8. <https://doi.org/10.2527/jas2016.1098>.

COOKE, R. F., & ARTHINGTON, J. D. (2013). **Concentrations of haptoglobin in bovine plasma determined by ELISA or a colorimetric method based on peroxidase activity.** Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 97(3), 531-536.

DAVENPORT K.M., ORTEGA M.S., JOHNSON G.A., SEO H., SPENCER T.E.. **Implantation and placentation in ruminants.** Animal 2023;17:100796. <https://doi.org/10.1016/j.animal.2023.100796>

DISKIN M., WATERS S., PARR M., KENNY, D.. **Pregnancy losses in cattle: potential for improvement.** Reprod Fertil Dev 2016;28:83–93. <https://doi.org/10.1071/RD15366>

EALY A.D.. **Pregnancy losses in livestock: an overview of the physiology and endocrinology symposium for the 2020 ASAS-CSAS-WSASAS Virtual Meeting.** J Anim Sci 2020;98:skaa277. <https://doi.org/10.1093/jas/skaa277>.

FRANCO G.A., PERES R.F., MARTINS C., REESE S.T., VASCONCELOS J.L.M., POHLER K.G.. **Sire contribution to pregnancy loss and pregnancy-associated glycoprotein production in Nelore cows.** J Anim Sci 2018;96:632-40. <https://doi.org/10.1093/jas/sky015>

GALVAO K.N., SANTOS J.E., JUCHEM S.O., CERRI R.L., COSCIONI A.C., VILLASENOR M.. **Effect of addition of a progesterone intravaginal insert to a timed insemination protocol using estradiol cypionate on ovulation rate, pregnancy rate, and late embryonic loss in lactating dairy cows.** J Anim Sci 2004;82:3508-17. <https://doi.org/10.2527/2004.82123508x>

GATEA A.O., SMITH M.F., POHLER K.G., EGEN T., PEREIRA M.H., VASCONSELOS J.L., LAWRENCE J.C., GREEN J.A.. **The ability to predict pregnancy loss in cattle with ELISAs that detect pregnancy associated glycoproteins is antibody dependent.** Theriogenology 2018;108:269-76. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.12.021>.

GREEN, J. A., T. E. PARKS, M. P. AVALLE, B. P. TELUGU, A. L. MCLAIN, A. J. PETERSON, W. MCMILLAN, N. MATHIALAGAN, R. R. HOOK, S. XIE, ET AL. 2005. **The establishment of an ELISA for the detection of pregnancy-associated glycoproteins (PAGs) in the serum of pregnant cows and heifers.** Theriogenology 63:1481–1503. doi:10.1016/j.theriogenology.2004.07.011

HANSEN P.J.. **The incompletely fulfilled promise of embryo transfer in cattle - why aren't pregnancy rates greater and what can we do about it?** J Anim Sci 2020;98:skaa288. <https://doi.org/10.1093/jas/skaa288>

HORADAGODA N.U., KNOX K.M.G., GIBBS H.A., REID S.W.J., HORADAGODA A., EDWARDS S.E.R., ECKERSALL P.D.. **Acute phase proteins in cattle: discrimination between acute and chronic inflammation.** Vet J 1999;144:437-41. <https://doi.org/10.1136/vr.144.16.437>

LOPEZ-GATIUS F., GARBAYO J.M., SANTOLARIA P., YANIZ J., AYAD A., DE SOUSA N.M., BECKERS J.F.. **Milk production correlates negatively with plasma levels of pregnancy-associated glycoprotein (PAG) during the early fetal period in high producing dairy cows with live fetuses.** Domest Anim Endocrinol 2007;32:29-42. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2005.12.007>

MENEGHETTI M, SÁ FILHO OG, PERES RFG, LAMB GC, VASCONCELOS JLM. 2009. **Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for B. indicus cows I: Basis for development of protocols.** Theriogenology, 72:179-189, 2009.

NATIONAL ACADEMIES OF SCIENCES, ENGINEERING, AND MEDICINE (NASEM). **Nutrient requirements of beef cattle. (8th ed.). Animal Nutrition Series.** National Academy Press, Washington, DC, USA. <https://doi.org/10.17226/19014>.

PEREIRA M.H.C., RODRIGUES A.D., CARVALHO R.J., WILTBANK M.C., VASCONCELOS J.L.M.. **Increasing length of an estradiol and progesterone timed artificial insemination protocol decreases pregnancy losses in lactating dairy cows.** J Dairy Sci 2014;97:1454-64. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7287>

PEREIRA M.H.C., WILTBANK M.C., VASCONCELOS J.L.M. **Expression of estrus improves fertility and decreases pregnancy losses in lactating dairy cows that receive artificial insemination or embryo transfer.** J Dairy Sci 2016;99:2237-47. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9903>.

POHLER K.G., PERES R.F., GREEN J.A., GRAFF H., MARTINS T., VASCONCELOS J.L., SMITH M.F.. **Use of bovine pregnancy-associated glycoproteins to predict late embryonic mortality in postpartum Nelore beef cows.** Theriogenology 2016;85:1652-9. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.01.026>.

POHLER K.G., REESE S.T., FRANCO G.A., OLIVEIRA FILHO R.V., PAIVA R., FERNANDEZ L., MELO G.D., VASCONCELOS J.L., COOKE R.F., POOLE R.K.. **New approaches to diagnose and target reproductive failure in cattle.** Anim Reprod 2020;17:e20200057. <https://doi.org/10.1590/1984-3143-AR2020-0057>.

REESE S.T., FRANCO G.A., POOLE R.K., HOOD R., MONTERO L.F., OLIVEIRA FILHO R.V., COOKE R.F., POHLER, K.G.. **Pregnancy loss in beef cattle: A meta-analysis.** Anim Reprod Sci 2020;212: 106251. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.106251>.

REESE, S. T., M. H. C. PEREIRA, J. L. EDWARDS, J. L. M. VASCONCELOS, AND K. G. POHLER. 2018. **Pregnancy diagnosis in cattle using pregnancy associated glycoprotein concentration in circulation at day 24 of gestation.** *Theriogenology*. 106:178–185. doi:10.1016/j.theriogenology.2017.10.020

REESE, S. T., T. W. GEARY, G. A. FRANCO, M. E. WEHRMAN, P. J. HANSEN, T. E. SPENCER, AND K. G. POHLER. 2016. **Pregnancy associated glycoproteins (PAGs) in high vs subfertility heifers.** Society for the Study of Reproduction Annual Meeting, San Diego, CA.

RIBEIRO E.S., CARVALHO M.R.. **Impact and mechanisms of inflammatory diseases on embryonic development and fertility in cattle.** *Anim Reprod* 2017;14:589-600. <https://doi.org/10.21451/1984-3143-AR1002>.

RICHARDS M.W., SPITZER J.C., WARNER M.B.. **Effect of varying levels of postpartum nutrition and body condition at calving on subsequent reproductive performance in beef cattle.** *J Anim Sci* 1986;62:300-6. <https://doi.org/10.2527/jas1986.622300x>

RODRIGUES, A., COOKE, R., CIPRIANO, R., SILVA, L., CERRI, R., CRUPPE, L., MENEGHETTI, M., POHLER, K., AND VASCONCELOS, J., 2018. **Impacts of estrus expression and intensity during a timed-AI protocol on variables associated with fertility and pregnancy success in Bos indicus-influenced beef cows.** *J. Anim. Sci.* 96, 236-249.

SALES A., CAPPELLOZZA B.I., VILELA E., JÚNIOR I.C., SÁ FILHO O.G., VASCONCELOS J.L.. **Effects of estradiol cypionate dosage and body condition on reproductive performance of Nelore cattle synchronized for timed-artificial insemination.** *Theriogenology* 2023;210:207-13. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2023.07.032>

SANTO B.S.E., CATUSSI B.L.C., DE ABREU L.A., REBEIS L.M., BARUSELLI P.S.. **Factors that affect pregnancy rate and pregnancy loss in young Nelore heifers synchronized for TAI.** *Anim Reprod* 2022;19:E22064. <http://dx.doi.org/10.1590/1984-3143-AR20220064>.

SÁ FILHO OG, MENEGHETTI M, PERES RFG, LAMB GC, VASCONCELOS JLM. **Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cattle: II. Strategies and factors affecting fertility.** Theriogenology (2009), doi:10.1016/j.theriogenology.2009.02.008.

VASCONCELOS J.L., CARVALHO R., PERES R.F., RODRIGUES A.D., JUNIOR I.C., MENEGHETTI M., AONO F.H., COSTA W.M., LOPES C.N., COOKE R.F., POHLER K.G. **Reproductive programs for beef cattle: incorporating management and reproductive techniques for better fertility.** Anim Reprod 2017;14:547-57. <https://doi.org/10.21451/1984-3143-AR998>.

WAGNER, J. J., K. S. LUSBY, J. W. OLTJEN, J. RAKESTRAW, R. P. WETTEMANN, AND L. E. WALTERS. 1988. **Carcass composition in mature Hereford cows: Estimation and effect on daily metabolizable energy requirement during winter.** J. Anim. Sci. 66:603–612.

WALLACE R.M., POHLER K.G., SMITH M.F., GREEN J.A.. **Placental PAGs: gene origins, expression patterns, and use as markers of pregnancy.** Reproduction 2015;149:R115-26. <https://doi.org/10.1530/REP-14-0485>