

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

EFEITO DO DISPOSITIVO DE PROGESTERONA ADICIONAL DURANTE
PROTOCOLO DE IATF E TETF À BASE DE E2/P4 NA FERTILIDADE DE VACAS
EM LACTAÇÃO COM BAIXA P4

CARLOS PATRÍCIO SANCHES JUNIOR

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

BOTUCATU – SP

Dezembro - 2013

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

EFEITO DO DISPOSITIVO DE PROGESTERONA ADICIONAL DURANTE
PROTOCOLO DE IATF E TETF À BASE DE E2/P4 NA FERTILIDADE DE VACAS
EM LACTAÇÃO COM BAIXA P4

CARLOS PATRÍCIO SANCHES JUNIOR

Médico Veterinário

Orientador: Prof. Ass. José Luiz Moraes Vasconcelos

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

BOTUCATU – SP

Dezembro – 2013

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

S211e Sanches Junior, Carlos Patricio, 1983-
Efeito do dispositivo de progesterona adicional durante protocolo de IATF e TETF à base de E2/P4 na fertilidade de vacas em lactação com baixa P4 / Carlos Patricio Sanches Junior. - Botucatu : [s.n.], 2013
x, 58 f. : grafs., tabs.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2013
Orientador: José Luiz Moraes Vasconcelos
Inclui bibliografia

1. Progesterona. 2. Bovino leiteiro. 3. Bovino - Inseminação artificial. 4. Transferência de embriões. I. Vasconcelos, José Luiz Moraes II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. III. Título.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, **CARLOS PATRÍCIO SANCHES** e **SONIA MARIA MORETTO SANCHES**, pelo amor incondicional, incentivo, esforços infinitos e sábios conselhos.

As minhas irmãs **PATRÍCIA SANCHES** e **KARINA FERNANDA SANCHES**, pelos exemplos, por sempre me darem força de seguir em frente e me apoiarem em minhas decisões.

A toda minha família, que sempre torceu pelo meu sucesso, me incentivou e rezou por mim.

Muito Obrigado. Amo Vocês!

AGRADECIMENTOS

Ao meu bom Deus e Maria, por estarem sempre presente em minha caminhada, dando força, saúde e sabedoria para tomar as melhores decisões. Confortando-me nas horas difíceis e encorajando-me a seguir em frente.

Ao meu orientador Prof. Ass. Dr. José Luiz Moraes Vasconcelos, pela oportunidade de ter participado de seu grupo de pesquisa, pelos ensinamentos, dedicação, amadurecimento, confiança e cobranças.

A Universidade Estadual do Centro – Oeste (UNICENTRO) pela minha formação.

Aos meus amigos de pós-graduação pelo convívio, ensinamentos e momentos de distração: Augusto, Tiago Leiva, Tiago Guzella, Tiago Martins, Fernanda, Fernando, Everton, Marcos, Lucas, João Pedro, Henrique, Adnan e Rogério.

A empresa Pioneiros e muitos amigos importantes que lá fiz. Foram de extrema importância nessa fase de minha vida em Carambeí-PR, muito obrigado pelos ensinamentos, companheirismo e dedicação (Márcio, Flavio, Kiefer, Júlio, Gândara, Denilson, Paulo, Felipe Pitanga, Felipe Camacho, Tchesco, Tiago Mesquita, Renato, André, Lurdes, Lori, Joseli, Leila, Carol, Daiane, Pâmela, Jader, Pedro e Daniele).

Ao Marcos pela ajuda nas análises estatística e interpretação dos dados.

Aos membros da Conapec Jr., pelo companheirismo e disposição a sempre ajudarem.

Ao Tiago Guzella (Barrika) pela parceria incalculável, ajuda na condução dos experimentos, horas de apertos e viagens intermináveis, exemplo de pessoa.

Ao Médico Veterinário e amigo André Maciel Crespilho, pelos ensinamentos, incentivo e contato com grupos de pesquisa.

Ao Prof. Milo Wiltbank pela ajuda, incentivo e sugestões.

A Cinira Mazotti e Prof. Salete, pelas sugestões e correções ortográfica.

Aos funcionários da sessão de Pós-Graduação da UNESP – Botucatu: Seila e Aline; Departamento de produção Animal: Renato e José Luis Barbosa, pela disposição e paciência.

Aos membros da banca de qualificação, Prof. Dr. Mario Binelli e Prof. Dr. Pietro Sampaio Baruselli, pelas sugestões e críticas que contribuíram para melhoria da dissertação.

Aos membros da banca examinadora, Prof. Dr. Mario Binelli e Prof. Dra. Ricarda Maria dos Santos, pelas sugestões e críticas que contribuíram para melhoria da dissertação.

A empresa Zoetis pelo apoio durante a realização do projeto.

A todos os funcionários e proprietários das fazendas pela ajuda e compreensão da importância da realização dos experimentos. Sem vocês nada seria possível!

A Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela bolsa concedida.

A todos que de alguma forma contribuíram.

Muito Obrigado!

E mesmo que meus passos sejam falsos, mesmo que os meus caminhos sejam errados, mesmo que meu jeito de levar a vida incomoda, eu sei quem sou, e sei pelo que devo lutar. Se você acha que meu orgulho é grande, é porque nunca viu o tamanho da minha Fé!

Tião Carreiro

Sumário

LISTA DE ABREVIATURAS.....	vii
SUMÁRIO DE TABELAS	ix
SUMÁRIO DE FIGURAS	x
CAPÍTULO 1	1
CONSIDERAÇÕES INICIAIS	1
1. INTRODUÇÃO	2
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1. Condição anovulatória pós-parto	4
2.2. Importância da progesterona durante o desenvolvimento folicular.....	6
2.3. Progesterona próximo à ovulação	11
2.4. Progesterona após ovulação.....	13
3. REFERÊNCIAS.....	17
CAPÍTULO 2	30
RESUMO	31
ABSTRACT.....	33
1. Introdução.....	35
2. Material e Métodos	37
2.1. Animais, instalações e tratamentos.....	37
2.1.1. Experimento 1 (IATF)	38
2.1.2. Experimento 2 (TETF).....	38
2.2. Ultrassonografia.....	39
2.3. Colheita das amostras de sangue para dosagem de progesterona	39
2.4. Dados de produção leiteira.....	40
2.5. Análise Estatística.....	40
3. Resultados.....	41
3.1. Animais e efeitos do protocolo nas análises hormonais, diâmetro folicular e sincronização ...	41
3.2. Experimento 1 (IATF)	42
2.1. Experimento 2 (TETF).....	45
4. Discussão	46
5. Conclusão	48
6. Referências.....	49

CAPÍTULO 3	57
CONSIDERAÇÕES GERAIS E IMPLICAÇÕES	57

LISTA DE ABREVIATURAS

[P4]- concentração de progesterona

BE – Benzoato de Estradiol

BEN – Balanço Energético Negativo

BEP – Balanço Energético Positivo

CL – Corpo Lúteo

DEL – Dias em Lactação

DG – Diagnóstico de Gestação

E2 – Estrógeno

ECP – Cipionato de Estradiol.

FIV – Fertilização *In Vitro*

FSH – Hormônio folículo Estimulante

GnRH – Hormônio Liberador de Gonadotrofinas

IA – Inseminação Artificial

IATF: Inseminação Artificial em Tempo Fixo

IEP – Intervalo Entre Partos

IGF-1 – Fator de Crescimento Semelhante à Insulina 1

IM – Intramuscular

LH – Hormônio Luteinizante

P/IA – Prenhez por IA

P/TE – Prenhez por TE

P4 – Progesterona

PGF – Prostaglandina

TE – Transferência de Embrião

TETF – Transferência de Embrião em Tempo Fixo

US – Ultrassom

SUMÁRIO DE TABELAS

CAPÍTULO 2

Tabela 1.....	42
---------------	----

Efeito do tratamento na P/IA aos 32, 60 d e perda de gestação para vacas em lactação com P4 $\leq 1,0$ ng/mL no d-10 que receberam protocolos com 1 ou 2CIDR.

Tabela 2.....	44
---------------	----

Efeito do tratamento (1 vs. 2CIDR) entre as classes de folículos na P4 d7, P/IA aos 32, 60 d e perda de gestação em vacas sincronizadas.

Tabela 3.....	45
---------------	----

Efeito do tratamento na P/TE aos 32, 60 d e perda de gestação para vacas sincronizadas que receberam embrião, protocoladas com 1 ou 2 CIDR.

SUMÁRIO DE FIGURAS

CAPÍTULO 2

Figura 1.....	43
---------------	----

Interação ($P = 0,05$) entre o diâmetro do folículo ovulatório e o tratamento na P/IA aos 60 d [1CIDR ($n = 121$) vs. 2CIDR ($n = 125$)] em vacas sincronizadas.

Figura 2.....	45
---------------	----

Efeito da concentração de P4 no d7 por tratamento [1CIDR ($n = 133$; $P = 0,08$) vs. 2CIDR ($n = 126$; $P = 0,66$)] na P/IA aos 60 d em vacas sincronizadas.

CAPÍTULO 1

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1. INTRODUÇÃO

O Brasil possui cerca de 212.815.311 cabeças bovinas (IBGE Censo agropecuário, 2011), destacando-se como um dos maiores rebanhos mundiais (ANUALPEC, 2011). A bovinocultura leiteira conta com aproximadamente 23 milhões de vacas em lactação que produziram 32 bilhões de litros de leite, se destacando como o quarto maior produtor mundial de leite, atrás dos EUA, Índia e China (FAOSTAT, 2011). A baixa eficiência produtiva e reprodutiva (1.381 litros/vaca/ano - FAOSTAT, 2011) são fatores que impactam negativamente a eficiência dos sistemas de produção de leite. Estratégias devem ser adotadas para melhorar as deficiências produtivas e reprodutivas.

As biotécnicas reprodutivas disponíveis como a inseminação artificial (IA) e a transferência de embrião (TE) podem ser empregadas como ferramentas para aumentar a velocidade no ganho genético. Porém, vários são os fatores que reduzem a expressão de estro e a duração do mesmo, resultando em baixas taxas de detecção de cio, que muitas vezes é inferior a 50% (DEMETRIO et al., 2007; WASHBURN et al., 2002), diminuindo a utilização da inseminação artificial. De acordo com a associação brasileira de inseminação artificial (ASBIA), a comercialização de doses de sêmen no ano de 2012 cresceu apenas 0,05%, correspondendo a 4,9 milhões de doses no gado leiteiro, no entanto, apenas 10% das fêmeas em idade reprodutiva são inseminadas no Brasil (ASBIA, 2012). Uma das maneiras de impulsionar o aumento do uso da IA e, conseqüentemente, desenvolver o melhoramento genético nos rebanhos brasileiros, é a utilização de protocolos hormonais de sincronização da ovulação, os quais foram elaborados para sincronizar o desenvolvimento folicular, a regressão do corpo lúteo e o momento da ovulação, permitindo a realização de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) (PURSLEY et al., 1995) ou transferência de embrião em tempo fixo (TETF). Tais programas aumentam as taxas de inseminação, pois permitem a IA em vacas anovulares (representam cerca de 30% do rebanho; SANTOS et al., 2009; BISINOTTO et al., 2010a). A utilização de 2 CIDR em vacas sem corpo lúteo (CL) vêm sendo utilizado como estratégia para melhorar a fertilidade desses animais (DENICOL et al., 2012; BISINOTTO et al., 2013).

Vasconcelos et al. (1999) observaram que vacas que iniciaram o programa de sincronização da ovulação (Ovsynch) entre os dias 5 a 9 do ciclo estral, apresentaram maior progesterona (P4) sérica no momento da aplicação da prostaglandina (PGF) e maiores taxas de prenhez/IA (P/IA). Tais resultados sugerem que fases do ciclo estral com maiores concentrações de P4 durante o desenvolvimento folicular impactaram positivamente no sucesso reprodutivo de vacas leiteiras. Em contraposição, no gado de corte, maiores concentrações de P4 durante o desenvolvimento folicular em protocolos de sincronização da ovulação, foram associadas à diminuição no diâmetro do folículo ovulatório, o que está associado à redução na fertilidade (PERES et al., 2009).

Corroborando com esses dados, estudos evidenciaram melhora na P/IA (BISINOTTO et al., 2010a; DENICOL et al., 2012; BISINOTTO et al., 2013) e na qualidade do embrião (CERRI et al., 2011a; RIVERA et al., 2011; WILTBANK et al., 2011) quando a concentração de P4 foi aumentada durante o desenvolvimento folicular. Isto pode ser obtido através de utilização de dois dispositivos de P4 (RIVERA et al., 2011; DENICOL et al., 2012; BISINOTTO et al., 2013) ou iniciar protocolo de sincronização da ovulação na segunda onda folicular (BISINOTTO et al., 2010a; SOUZA et al., 2008). A utilização de um único dispositivo interno de liberação controlada de P4 (CIDR) em programas de IATF não tem melhorado consistentemente a fertilidade em vacas leiteiras que não apresentam CL no início do protocolo (BISINOTTO e SANTOS, 2011).

O uso da TETF pode ser uma estratégia para melhorar os índices reprodutivos, pois minimiza os efeitos negativos de fatores como estresse térmico, crescimento prolongado do folículo na qualidade do oócito e desenvolvimento embrionário inicial, permitindo que todas as vacas recebam um embrião de boa qualidade cerca de uma semana após a ovulação sincronizada (VASCONCELOS et al., 2006, 2011a,b; DEMÉTRIO et al., 2007). Demétrio et al. (2007), quando utilizaram embrião em comparação com IA, observaram melhor taxa de concepção, tanto no diagnóstico aos 28 dias (IA 37,9% vs. TE 59,4%) como aos 42 dias (IA 33,8% vs. TE 46,6%).

O objetivo deste estudo foi avaliar a utilização de dois dispositivos intravaginais de P4 (CIDR®, Zoetis) em vacas Holandesas em lactação sem CL e com P4 $\leq 1,0$ ng/mL

no início de um protocolo de sincronização da ovulação à base de E2/P4 na P/IA (experimento 1) e P/TE (experimento 2).

A hipótese para este estudo é que a utilização de 2CIDR durante um protocolo à base de E2/P4 em vacas em lactação sem CL e com $P4 \leq 1,0$ ng/mL no início do protocolo de sincronização da ovulação melhora a P/IA, mas não melhora a P/TE.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Condição anovulatória pós-parto

Toda vaca recém-parida passa por um período no qual ela se torna anovular, ou seja, deixa de apresentar ovulações em períodos regulares. Esse período geralmente ocorre no pós-parto imediato, mas, em algumas vacas, isso pode se estender durante os três primeiros meses de lactação e, até mesmo, ocorrer em fases mais avançadas da lactação, como no caso de vacas císticas. Vacas anovulares apresentam como característica a não exposição prévia a concentrações luteais de P4 antes da primeira IA pós-parto (SANTOS, 2010a). No início da lactação, muitos são os fatores que podem levar ao atraso da retomada da ovulação, entre eles a perda na condição de escore corporal (SANTOS et al., 2009), o balanço energético negativo (BEN) (BUTLER, 2003), a paridade, a estação de parição e o rebanho (SANTOS et al., 2009).

A ovulação de um folículo dominante no pós-parto está relacionada ao restabelecimento da pulsatilidade do hormônio luteinizante (LH), suficiente para o crescimento folicular pré-ovulatório e consequente produção de estradiol. Porém, BEN não só suprime a pulsatilidade de LH, como também reduz a capacidade de resposta do ovário ao LH (BEAM e BUTLER, 1999; BUTLER, 2001). Segundo Butler (2005), pelo menos um grande folículo se desenvolve em todas as vacas entre seis a oito dias após a parição, porém a primeira ovulação ocorre em aproximadamente 45% das vacas próximo aos 20 dias de lactação, sendo que o restante ou sofre atresia folicular ou se tornam císticas, atrasando a ovulação por um período adicional de três a quatro semanas.

Wiltbank et al. (2002) classificaram três padrões básicos de crescimento folicular em vacas anovulares. O primeiro são folículos com crescimento limitado, inferior ao tamanho que determina a dominância. Possivelmente, podem estar associados à inadequada pulsatilidade de LH, mais comum em vacas subnutridas que tiveram problemas de saúde no pós-parto ou que apresentam baixa condição corporal. O segundo padrão se refere a folículos que atingem um tamanho ovulatório, porém perdem sua capacidade de dominância e regridem, fato que provavelmente pode estar relacionado ao desacoplamento do eixo GH-IGF-1. O terceiro padrão são folículos grandes, identificados em rebanhos leiteiros como cisto folicular, que não ovulam. Possivelmente, isso ocorra devido à falha de “feed-back” positivo do estradiol na secreção de hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) e LH ou por refratariedade do hipotálamo ao estradiol.

Espera-se que menos de 20% das vacas estejam anovulatórias aos 60 dias pós-parto (SANTOS et al., 2008). Entretanto, a variação entre os números de vacas que não ovularam até o final do período voluntário de espera pode atingir até 45% em alguns rebanhos (WALSH et al., 2007; SANTOS et al., 2009). Esses animais apresentam uma menor probabilidade de prenhez após a primeira IA (CHEBEL et al., 2006; WALSH et al., 2007; BISINOTTO et al., 2010a) e redução de aproximadamente 10 unidades percentuais na prenhez/IA em relação a vacas cíclicas (SANTOS et al., 2009), e também apresentam maiores perdas embrionárias (SANTOS et al., 2004). Estudos demonstraram que quanto mais recente à parição as vacas são avaliadas, maior é a proporção de anovulares e, à medida que os dias avançam, essa incidência é minimizada (LOPEZ et al., 2005; CHEBEL et al., 2006).

Algumas estratégias têm sido utilizadas como terapia para vacas anovulares. O tratamento hormonal com GnRH em dias aleatórios do ciclo estral tem garantido ovulação de 42 a 64% dos animais (VASCONCELOS et al., 1999; BARUSELLI et al., 2003; PEREIRA et al., 2013a). O tratamento por três dias com dispositivo intravaginal de P4 foi eficaz para restabelecer o processo ovulatório em 100% das vacas anovulares tratadas (GÜMEN e WILTBANK, 2005), mas, em outros estudos, a utilização de CIDR por 7 dias induziu ciclicidade em apenas 50 a 55% das vacas anovulares (CHEBEL et al., 2006; CERRI et al., 2009b). No entanto, induzir ovulação apenas elimina o estado

anovulatório, mas não leva ao objetivo final, que é o de inseminar a vaca e torná-la gestante, sendo interessante a implantação de programas de sincronização da ovulação e IATF, que, além de tratar as vacas anovulares, permite que estas sejam inseminadas e tenham chance de se tornar gestantes (SANTOS, 2010a).

Ainda assim, quando vacas em lactação são sincronizadas aleatoriamente, parte delas não apresentam CL no início do programa, e esses animais têm menor fertilidade (CHEBEL et al., 2006; SANTOS et al., 2010b; BISINOTTO et al., 2010a; BISINOTTO et al., 2013; PEREIRA et al., 2013a). Uma estratégia que tem sido utilizada para minimizar esses efeitos é a utilização de métodos de pré-sincronização que induzam a ciclicidade antes do momento da vaca iniciar o programa IATF (MOREIRA et al., 2001; SOUZA et al., 2008), ou ainda utilização de CIDR durante o protocolo de IATF (SANTOS, 2010a). Santos (2010a), compilando dados de seis estudos que utilizaram suplementação de P4 com CIDR durante programas de IA em tempo fixo em vacas anovulares, relatou que apenas um dos estudos apresentou aumento estatístico na prenhez (STEVENSON et al., 2008), e, quando os dados de todos estudos foram compilados, a mudança geral em prenhez foi um aumento de 4,9 unidades percentuais [32,3% (201/623) vs. 27,4% (166/606)]. No entanto, trabalhos recentes demonstraram que a adição de dois CIDR durante o protocolo aumentou a P/IA em vacas sem CL [32% (n=206) vs. 22.3% (n=148), $P=0,02$; DENICOL et al., (2012)] e [43.7% (94/215) vs. 28.6% (67/234), $P<0,01$; BISINOTTO et al., (2013)].

2.2. Importância da progesterona durante o desenvolvimento folicular

Diminuição na fertilidade de vacas em lactação vem sendo observada ao longo do tempo, possivelmente devido ao aumento da produção média de leite (BUTLER 1998; LUCY, 2001; WILTBANK, 2006). Isso pode estar associado à maior metabolização dos hormônios esteroides em vacas de alta produção, visto que, quanto maior a produção de leite, menor a concentração de P4 (SANGSRITAVONG et al., 2002, VASCONCELOS et al., 2003). Sartori et al. (2004) demonstraram que vacas em lactação apresentam menor concentração de P4 que novilhas ($5,6\pm0,5$ vs $7,3\pm0,4$

ng/mL), apesar de vacas apresentarem folículos ovulatórios de maior diâmetro (16.8 ± 0.5 vs. 14.9 ± 0.2 mm) e maior volume de CL após a ovulação (11120 ± 678 vs. 7303 ± 308 mm³). Isso acontece provavelmente devido à maior ingestão alimentar, que eleva o aporte sanguíneo para o fígado e aumenta a taxa de metabolização da P4 (SANGSRITAVONG et al., 2002, VASCONCELOS et al., 2003). Santos (2006) demonstrou resultados semelhantes, observando que vacas secas recebendo 8 kg de concentrado apresentaram maior diâmetro de CL, porém menor concentração de P4 que vacas secas recebendo 2 kg de concentrado.

A diminuição nas concentrações de P4 afeta a liberação de LH. Vasconcelos et al. (2003) observaram redução na concentração de P4 após a ingestão de alimento, e aumento significativo no LH; além disso, observaram maior frequência de pulsos de LH em vacas lactantes que em vacas não lactantes. Cerri et al. (2011b) observaram uma tendência de aumento na concentração de LH para vacas com baixa P4 em comparação a vacas com alta P4 (0.93 vs. 0.79 ng/mL; $P = 0.10$) e constataram alterações no fluido folicular, como por exemplo, maior concentração de E2 e menor concentração de IGF-1 total em vacas com baixa P4. Esses efeitos podem desencadear alterações no desenvolvimento folicular e prejudicar a qualidade oocitária (WILTBANK et al., 2006), o que pode estar relacionado com sua maturação prematura, visto que maiores períodos de dominância do folicular sob baixa concentração de P4 induziram reativação precoce da meiose antes do pico de LH, o que normalmente deveria ocorrer após o pico desse hormônio (REVAH e BUTLER, 1996), e isso pode explicar, em parte, reduções nas taxas de P/IA observadas em alguns estudos (CERRI et al., 2009a; SANTOS et al. 2010b).

Maior concentração de P4 durante o desenvolvimento folicular está associada a melhor fertilidade em protocolos Ovsynch (SOUZA et al., 2008), Ovsynch curto (SANTOS et al., 2010b) e em protocolos à base de E2/P4 (PEREIRA et al., 2013a). Quando vacas em lactação são sincronizadas aleatoriamente sem pré-sincronização, parte delas não apresentam CL no início do programa, e esses animais têm menor fertilidade ao protocolo (CHEBEL et al., 2006; SANTOS et al., 2010b; BISINOTTO et al., 2010a; BISINOTTO et al., 2013; PEREIRA et al., 2013a). Estudos mostram que cerca de 18 a 41% das vacas não apresentam CL no início dos programas de IATF (SANTOS et al. 2009, PEREIRA et al. 2013a). Portanto, a menor concentração de P4

durante os protocolos pode estar associada não só à metabolização hormonal, mas também à condição anovulatória e à fase do ciclo estral em que se inicia o protocolo.

Tem sido demonstrado que a fase do ciclo estral em que as vacas iniciam os programas de sincronização da ovulação pode influenciar na fertilidade desses animais tanto em protocolos Ovsynch (VASCONCELOS et al., 1999), como em protocolos à base de E2/P4 (VASCONCELOS et al., 2012). Animais que ovulam ao primeiro GnRH são mais propensos a terem uma ovulação sincronizada ao segundo GnRH (VASCONCELOS et al., 1999; RUTIGLIANO et al., 2008). As melhores taxas de ovulação ao primeiro GnRH foram observadas em animais que receberam a aplicação entre os dias 5 a 9 do ciclo estral (VASCONCELOS et al., 1999). Vacas cíclicas que iniciam o Ovsynch em proestro, estro e metaestro, apresentam desempenho reprodutivo comprometido, semelhante ao de vacas anovulares, possivelmente devido ao fato de seus folículos ovulatórios, no momento da IATF, serem de primeira onda, que cresceram sob menor concentração de P4 (BISINOTTO et al., 2010 a).

Recentemente, Vasconcelos et al. (2012) realizaram dois experimentos com protocolos à base de E2/P4. No primeiro, os animais foram agrupados de acordo com o momento em que iniciaram o protocolo após observação de cio, semelhantemente à classificação estabelecida por Vasconcelos et al. (1999). No segundo, 593 vacas foram avaliadas quanto à presença de CL no início do protocolo (d0) e no momento da PGF2 α (d7), e foram classificadas como 0-0 (sem CL no d0 e d7), 0-1 (sem CL d0 e com CL d7), 1-0 (com CL d0 e sem CL d7) e 1-1 (com CL no d0 e d7). No primeiro estudo, a P/IA aos 30 dias foi maior ($P \leq 0,05$) para as vacas que iniciaram o protocolo de IATF entre os dias 5-9 após o estro [60% (n = 55)] em relação a vacas do grupo 1-4 d [38% (n = 54)], porém não houve diferença com as vacas que foram submetidas a IATF entre 10-16 d [49% (n = 90)] e 17-21 d após estro [41% (n = 21)]. Já aos 60 dias, vacas do grupo 5-9 d apresentaram maior P/IA [60% (n = 55)] que vacas nos demais grupos [1-4d (36%, n = 54); 10-16 d (44%, n = 90) e 17-21 d (41%, n = 21)]. No segundo experimento, Vacas 0-0 apresentaram menor taxa de P/IA aos 30 e 60 d [13% e 12% (n = 135)] que vacas 1-1 [26% e 23% (n = 170)], porém não houve diferença com os demais grupos 0-1 [19% e 19% (n = 87)] e 1-0 [20% e 16% (n = 201)]. Associando os resultados dos dois experimentos, os autores observaram que os melhores índices de P/IA obtidos ao iniciar o protocolo entre os dias 5-9 coincidiram com animais que

apresentavam CL nos dois momentos, sugerindo que animais cujos folículos ovulatórios se desenvolvem sob maior concentração de P4 durante o protocolo têm maior fertilidade.

Tratamentos para pré-sincronização têm sido desenvolvidos, possibilitando aumentar a proporção de animais que iniciam o Ovsynch com presença de corpo lúteo, reduzir a porcentagem de vacas anovulares no início do programa e aumentar a concentração de P4 durante o desenvolvimento folicular, resultando em melhor fertilidade após a IATF (MOREIRA et al., 2001; BELLO et al., 2006; CHEBEL et al., 2006; SOUZA et al. 2008).

Cunha et al. (2008) avaliaram a relação da concentração de P4 sobre a fertilidade durante um programa de IATF. As vacas ($n = 564$) foram aleatoriamente divididas entre o grupo com alta ou baixa concentração de P4 durante o protocolo Ovsynch. As vacas com menor concentração de P4 antes da IA tiveram menor ($P < 0,001$) P/IA aos 29 dias, quando comparadas com as vacas com alta P4 (37,1% vs. 51,0% respectivamente). Isso indica que aumentar a concentração de P4 durante o desenvolvimento folicular pode resultar em melhora substancial da fertilidade, sugerindo que a razão para a menor fertilidade durante a lactação pode, pelo menos em parte, ser explicada pelas concentrações reduzidas de P4.

Bisinotto et al. (2010a) realizaram dois estudos e demonstraram que há influência da concentração de P4 no desenvolvimento folicular e na fertilidade. No primeiro estudo, vacas foram avaliadas quanto à concentração de P4 sete dias antes do início do Ovsynch e no momento da primeira injeção de GnRH do protocolo. Vacas que apresentaram P4 menor que 1 ng/mL em ambas as amostras foram classificadas como anovulares, ou como cíclicas, quando ao menos uma das amostras foi maior que 1 ng/mL. As vacas cíclicas ainda foram subclassificadas como CHIGH ou CLOW ($P4 > 1,0$ ng/mL ou $P4 < 1,0$ ng/mL respectivamente no início do Ovsynch). Vacas CHIGH apresentaram maiores ($P < 0,01$) taxa de P/IA (43,0%) que vacas CLOW (31,3%) ou anovulares (29,7%). No segundo estudo, os autores iniciaram o Ovsynch em 3 ou 10 dias após pré-sincronização com duas $PGF2\alpha$, a fim de obter ovulação de um folículo dominante de 1ª ou 2ª onda respectivamente. Semelhante aos resultados do primeiro estudo, vacas que ovularam folículos de 2ª onda que cresceram sob maior concentração de P4 tiveram maior P/IA (41,7 vs. 30,4% aos 30d $P = 0,04$ e 40,7 vs.

27,7% aos 60d $P = 0,02$) em comparação às vacas que ovularam folículos de 1ª onda crescendo sob menor P4. Adicionalmente, a porcentagem de vacas que apresentaram ciclo curto foi maior ($P = 0,001$) em vacas CLOW (15,7) que em vacas anovulares (11,9%), e ambas apresentaram maior porcentagem de ciclo curto em relação às vacas CHIGH (7,1%).

A maior incidência de ciclos curtos também foi correlacionada a menores concentrações de P4 em outros estudos (CERRI et al., 2011b; BISINOTTO et al., 2013). Um estudo comparando vacas com CL (DIES) no início do protocolo de sincronização da ovulação com vacas sem CL suplementadas (2CIDR) ou não (CON) durante o protocolo, mostrou que vacas DIES e 2CIDR tiveram menor ($P = 0,02$) incidência (5,7 e 3,5% respectivamente) de ciclos curtos que vacas CON (11,1%) (BISINOTTO et al., 2013).

Em outro estudo foi observado que a incidência de ciclo curto tendeu ($P = 0,09$) a ser maior em vacas com baixa P4 (25%) quando comparadas às vacas com alta P4 durante o protocolo (0%), demonstrando, ainda, que o desafio com Ocitocina 16 dias após a segunda injeção de GnRH do Ovsynch aumentou o risco de luteólise prematura quando as concentrações de P4 foram reduzidas durante o protocolo, e que isso provavelmente esteja relacionado com a indução precoce da expressão de receptores de E2 no endométrio, o que antecipa a síntese de PGF (CERRI et al., 2011b).

Efeitos da concentração de P4 na qualidade embrionária foram evidenciados em alguns estudos. Cerri et al. (2011a), coletando um único embrião seis dias após a inseminação, quando folículos se desenvolveram sob alta ou baixa progesterona, observaram similar taxa de fertilização entre os grupos e tendência a perda na qualidade embrionária para o grupo baixa P4. RIVERA et al. (2011) demonstraram aumento significativo no percentual de embriões transferíveis quando doadoras superovuladas na primeira onda folicular receberam a adição de dois dispositivos de P4 em comparação ao grupo controle que não recebeu P4 (78,6% vs. 55,9%). Tal aumento foi semelhante à produção de embriões de animais superovulados na segunda onda folicular (88,5%) (RIVERA et al., 2011). Recentemente, Wiltbank et al. (2011) avaliaram a qualidade de embriões coletados 7 dias após IATF em vacas cuja os folículos se desenvolveram sob alta ou baixa concentração de P4, e os resultados mostraram uma maior porcentagem de embriões grau 1 e 2 recuperados das vacas com alta P4, quando comparado às vacas

com baixa P4 antes da IA (86,5 vs. 61,5%, $P < 0,02$). Esses estudos demonstram claramente a importância da alta concentração de P4 durante o desenvolvimento folicular na qualidade embrionária.

Sobretudo, estudos têm evidenciado melhora substancial na prenhez (BISINOTTO et al., 2010a, 2013; DENICOL et al., 2012) e na qualidade do embrião (RIVERA et al., 2011; WILTBANK et al., 2011) quando a concentração de P4 é aumentada durante o desenvolvimento folicular, seja pela utilização de dois CIDR (DENICOL et al., 2012; BISINOTTO et al., 2013), ou pela pré-sincronização (MOREIRA et al., 2001; BELLO et al., 2006; CHEBEL et al., 2006; SOUZA et al., 2008).

2.3. Progesterona próximo à ovulação

Concentrações circulantes de progesterona próximos ao momento da ovulação têm sido relatadas como importante fator a ser avaliado em protocolos de sincronização da ovulação. Estudos relataram que a luteólise inadequada pode resultar em um aumento na concentração de P4 próximo ao momento da ovulação, o que leva a uma redução da fertilidade durante programas de IATF (SOUZA et al., 2007; BRUSVEEN et al., 2009; MARTINS et al., 2011; PEREIRA et al., 2013b) e também de TETF (PEREIRA et al., 2013b). A regressão incompleta do CL 48h após a injeção de PGF levou a uma queda drástica na P/IA, quando a concentração de P4 foi superior a 0,4 ng/mL próximo ao momento do segundo GnRH do Ovsynch (SOUZA et al., 2007; BRUSVEEN et al., 2009).

Em muitos países, E2 e P4 vêm sendo utilizados em programas de sincronização da ovulação, aplicando-se a PGF, juntamente com o E2, no momento da retirada do dispositivo de progesterona (SOUZA et al., 2009). No entanto, parece provável que este período não seja o mais adequado para regressão do corpo lúteo após tratamento com PGF (MARTINS et al., 2011). Contudo, o relatório preliminar de um estudo não demonstrou efeito sobre a fertilidade de vacas leiteiras quando a PGF foi utilizada mais cedo em programas de IATF à base de E2/P4 (VERAS et al., 2010). Em contraste, o tratamento antecipado com PGF em um programa de IATF à base de E2/P4 para

bovinos de corte, resultou em melhoras significativas na fertilidade (MENEGETTI et al, 2009; PERES et al, 2009). Além disso, vacas com redução nas concentrações circulante de P4 no momento da retirada do dispositivo intravaginal de P4, apresentaram melhor fertilidade que vacas com alta concentração de progesterona no momento da remoção do dispositivo intravaginal de progesterona na IATF (DIAS et al, 2009; MENEGETTI et al, 2009; PERES et al, 2009).

Recentemente, nosso grupo realizou um estudo em vacas lactantes destinadas a IATF ou TETF seguindo protocolo de sincronização da ovulação à base de E2/P4, testando a aplicação de PGF em diferentes momentos: d8 (juntamente a aplicação de E2 e retirada do dispositivo intravaginal de P4) ou d7 (antecipação de 1 dia). No diagnóstico de gestação aos 28 d, o tratamento com PGF no d7 aumentou ($P = 0,004$) a fertilidade, demonstrando melhoras de 12,3% na P/IA ($n = 406$) e de 6,3% na P/TE ($n = 487$), correspondendo a uma melhora relativa de 59,7% ($12,3\%/20,6\%$) e 15,5% ($6,3\%/40,7\%$) na P/IA e TE respectivamente, quando comparado ao tratamento com PGF no d8. Aos 60 d, o tratamento com PGF no d7 aumentou ($P = 0,016$) a fertilidade em 10,8% na IATF e 4,4% na TETF quando comparado à aplicação de PGF no d8. Além disso, o tratamento com PGF 72 horas antes da IA resultou em uma maior proporção de vacas com concentração de $P4 \leq 0,09$ ng/mL no momento da IA, o que foi claramente associado com a melhora da fertilidade na IATF, porém isso foi menos evidente na TETF, não havendo redução na fertilidade mesmo quando concentrações de P4 próxima da ovulação chegaram a 0,21 ng/ml. (PEREIRA et al., 2013b).

Bridges et al, (2008), compararam o protocolo 7d Co-Synch + CIDR com o protocolo 5d Co-Synch + CIDR, inseminando os animais 60 e 72h após a injeção de PGF respectivamente. Os resultados demonstraram maior fertilidade nos animais submetidos ao protocolo 5d Co-Synch + CIDR (IA 72h), sugerindo que maior período de proestro (período entre a PGF e a IATF) está relacionado a maior fertilidade. Em outro estudo do mesmo grupo, os autores avaliaram o efeito do período de proestro na fertilidade através de um modelo experimental que visou manter o diâmetro folicular constante e duração do proestro variável. Todos os folículos $\geq 5,0$ mm foram aspirados 6,75 dias após o estro sincronizado e, em seguida as vacas foram distribuídas aleatoriamente para receberem PGF 4,5 ($n = 40$) ou 5,5 dias ($n = 38$), após a aspiração folicular (d0), determinando, respectivamente, um grupo de longa duração do proestro

(PL = 2,25) e outro de curta (PC = 1,25). No d 6,75, os dois grupos receberam uma administração de GnRH, sendo inseminados 12 horas após a aplicação. O diâmetro folicular foi similar entre os grupos (PC: 13,0 0,2 vs. PL: 12,6 0,2 mm). Houve maior incidência de ciclos estrais curtos no grupo PC (74% vs. 30%). Entre os animais com duração normal do ciclo, a taxa de concepção foi menor no tratamento PC (1/7 = 14,3%) em relação ao PL (19/26 = 73%) e as concentrações séricas de P4 pós IATF foram superiores no grupo PL (BRIDGES et al., 2010).

Os mecanismos fisiológicos que permitem explicar a redução na fertilidade pelo aumento na concentração de P4 próximo ao momento da ovulação ainda são pouco elucidados. Trabalhos “*in vitro*” mostraram que pode haver efeito deletério direto da P4 na fertilização e desenvolvimento embrionário inicial, visto que a taxa de recuperação de blastocistos foi menor quando se adicionou P4 durante o processo de fertilização *in vitro* (FIV) (SILVA e KNIGHT, 2000). Outra possível explicação talvez seja a ação da P4 no útero que pode alterar a contratilidade, o que provavelmente prejudica o transporte espermático e oocitário (HUNTER, 2005). Aumento na concentração de P4 também foi relacionado à menor espessura endometrial, indicando a existência de possíveis alterações no ambiente uterino, o que pode alterar o desenvolvimento embrionário (SOUZA et al., 2011).

Portanto fica clara a importância de se obter máxima eficiência na luteólise durante o protocolo, reduzindo a P4 a concentrações extremamente baixas perto da ovulação. Estratégias que visam aumentar o período de proestro (BRIDGES et al., 2008, 2010; MENEGHETTI et al., 2009; PERES et al., 2009; PEREIRA et al., 2013b), o que permite maior tempo para a regressão do corpo lúteo, ou a utilização de duas injeções de PGF durante os protocolos de sincronização da ovulação (BRIDGES et al., 2008; BRUSVEEN et al., 2009; SANTOS et al., 2010b) têm se mostrado eficientes, melhorando a regressão do CL e reduzindo a concentração de P4 próximo à ovulação, aumentando, assim, a fertilidade das vacas após a IATF.

2.4. Progesterona após ovulação

As concentrações de progesterona pós-inseminação representam importante papel na promoção de crescimento e sobrevivência do embrião, além de controlar

mudanças no o ambiente uterino (MANN e LAMMING, 2001; GREEN et al, 2005;. MANN et al, 2006), e tem sido demonstrado que animais confirmados positivos ao diagnóstico de gestação, apresentam maiores concentrações de progesterona do que animais não gestantes (JOHNSON, 1958; ROBINSON et al., 1989; STARBUCK et al., 2001). Baixas concentrações de P4 após inseminação podem impactar negativamente no desenvolvimento e sobrevivência do embrião (MANN e LAMMING, 2001; GREEN et al, 2005).

Elevação das concentrações de progesterona e melhor desenvolvimento do embrião favorecem uma melhor sinalização para o reconhecimento materno da gestação, tendo em vista a existência de uma forte correlação entre concentrações de progesterona e a secreção de interferon-tau (MANN e LAMMING, 2001), sendo o interferon-tau o principal sinalizador de reconhecimento materno em ruminantes. Atraso no aumento das concentrações de P4 após inseminação foi relacionado com menor desenvolvimento embrionário e menor produção de interferon-tau (MANN e LAMMING, 2001), sendo este, um dos principais responsáveis pelas perdas embrionárias em bovinos (MANN et al., 1999). Além disso, observou-se que conceptos maiores produzem mais interferon-tau (MANN e LAMMING, 2001; MANN et al., 2006), que poderia melhorar a prenhez.

Após o reconhecimento materno da gestação, a única fonte de nutrição antes da placentação é a secreção de histotrofo, o qual desempenha importante papel no desenvolvimento do embrião (GEISERT et al., 1988) e está correlacionado a altas concentrações de P4 (SPENCER e BAZER, 2002; SATTERFIELD et al., 2006).

Dada tamanha importância das concentrações de progesterona após a inseminação, diversos estudos foram realizados com a finalidade de aumentar o nível circulante desse hormônio, seja pelas injeções diárias de P4, adição de dispositivos intravaginais de P4, aumento no diâmetro do folículo ovulatório e consequentemente maior volume do CL e maior produção de P4, ou ainda, por meio da indução de um corpo lúteo acessório através de indutores de ovulação (GnRH ou hCG); no entanto, os resultados desses estudos têm sido inconsistentes em demonstrar que o aumento da P4 pós IA esta relacionado com maior prenhez (NASCIMENTO et al., 2013). Na década de 50, um pesquisador, utilizando injeções de progesterona (100 mg) nos dias 2, 3, 4 e 9 após inseminação de vacas holandesas, conseguiu aumentar as taxas de concepção à

primeira IA de 42% para 68% (JOHNSON,1958). Quando a suplementação com um dispositivo de P4 foi utilizado entre os dias 5 e 9 do ciclo, após a inseminação, embriões apresentaram maior comprimento quando recuperados no dia 16, porém quando a suplementação de P4 ocorreu entre os dias 12 e 16, nenhum aumento de embrião pode ser observado (MANN et al., 2006). Demétrio et al. (2007), em um modelo experimental utilizando inseminação artificial (IA) e transferência de embriões (TE), observaram que as concentrações de progesterona no dia 7 após ovulação foi associada a uma maior probabilidade de concepção aos 28 dias para o grupo IA, no entanto, progesterona no dia 14, não influenciou a probabilidade de concepção na IA e na TE, sugerindo que o efeito positivo das concentrações de P4 ocorre nos primeiros dias de desenvolvimento embrionário.

Em um estudo, Clemente et al. (2009) suplementaram receptoras de embriões com dispositivo intravaginal de P4 entre os dias 3 a 6 após o estro, e no d7 as vacas receberam um embriões no estágio de blastocisto produzido “*in vitro*”. Concentrações de progesterona foram elevadas entre os dias 3 a 6, e não após esse intervalo, demonstrando que o aumento da P4 ocorreu antes da transferência de embrião. No d14, maior quantidade de embriões foi recuperada no grupo tratado que no grupo controle, e os embriões apresentaram maior área, quando comparados aos embriões coletados de vacas não suplementadas. De acordo com os dados, os autores concluem que alterações no ambiente uterino foram responsáveis pelo alongamento do concepto, independentemente da presença do concepto durante a suplementação.

Em gado de corte, o tratamento com eCG tem sido uma estratégia amplamente utilizada afim de conseguir um folículo dominante maior que resulte em um corpo lúteo maior e, consequentemente, maiores concentrações de progesterona (BARUSELLI et al., 2003; PERES et al., 2009; SÁ FILHO et al., 2009). Peres et al. (2009) verificaram que o diâmetro do folículo no momento da IATF e a administração de eCG em novilhas Nelore foram positivamente correlacionada com aumento da concentração de P4 sete dias após a ovulação (0 UI: $2,77 \pm 0,11$ ng/ml; 200 UI: $3,81 \pm 0,11$ ng/ml e 300 UI: $4,87 \pm 0,11$ ng/ml; $p < 0,05$) com subsequente aumento na taxa de concepção. Baruselli et al. (2004) e Sá Filho et al. (2010) observaram efeitos similares após tratamento com eCG.

Embora alguns pesquisadores tenham tido sucesso em demonstrar melhoras quando a suplementação de progesterona foi utilizada no desenvolvimento inicial do concepto, outros não conseguiram demonstrar os mesmo resultados positivos (MANN e LAMMING, 1999; LAMB et al., 2010; WILTBANK et al., 2012). Uma maior compreensão dos efeitos das concentrações de progesterona pós-ovulatórias é necessária, pois, segundo Mann e Lamming, (1999) a melhora depende muito da fertilidade do rebanho em questão e também do dia da suplementação. Fatores como, duração de exposição a P4 e modo de administração podem contribuir para variabilidade na resposta após tratamento com progesterona exógena.

A importância da P4 após ovulação é claramente associada a efeitos no desenvolvimento embrionário inicial e reconhecimento materno da gestação, entretanto efeito na melhora da fertilidade não tem sido constatado a campo em experimentos que visam suplementar P4 em vacas de alta produção (NASCIMENTO et al., 2013).

No capítulo 2 é apresentado o trabalho: “Efeito do dispositivo de progesterona adicional durante protocolo de IATF e TETF à base de E2/P4 na fertilidade de vacas em lactação com baixa P4”

Pretende-se publicar no Journal of Dairy Science.

3. REFERÊNCIAS

ANUALPEC 2011: Anuário estatístico da pecuária de corte. São Paulo: FNP Consultoria & Comércio, 2011.

ASBIA, em <http://www.asbia.org.br/novo/upload/mercado/index2012.pdf>

BARUSELLI, P.S.; E.L. REIS, N.A.T. CARVALHO, J.B.P. CARVALHO. eCG increase ovulation rate and plasmatic progesterone concentration in Nelore (*Bos indicus*) heifers treated with progesterone releasing device. In: International Congress on Animal Reproduction, 2004.

BARUSELLI, P.S.; M.O. MARQUES, L.F. NASSER, E.L. REIS, AND G.A. BO. Effect of eCG on pregnancy rates of lactating zebu beef cows treated with CIDR-b devices for timed artificial insemination. *Theriogenology* 59:214. 2003 (Abstr.).

BEAM, S.W.; AND W.R. BUTLER. Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cows. *Journal Reproduction and Fertility* 54(Suppl):411-424. 1999.

BELLO, N.M.; J.P. STEIBEL, AND J.R. PURSLEY. Optimizing ovulation to first GnRH improved outcomes to each hormonal injection of Ovsynch in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 89:3413-3424. 2006.

BISINOTTO, R.S.; E.S. RIBEIRO, F.S. LIMA, N. MARTINEZ, L.F GRECO, L.F.S.P. BARBOSA, P.P. BUENO, L.F.S. SCAGION, W.W. THATCHER, AND J.E.P. SANTOS. Targeted progesterone supplementation improves fertility in lacting dairy cows without a corpus luteum at the initiation of the timed artificial insemination protocol. *Journal of Dairy Science*. 96:1-12. 2013.

BISINOTTO, R. S.; AND J. E. P. SANTOS. The use of endocrine treatments to improve pregnancy rates in cattle. *Journal of Reproduction and Fertility*. 24:258–266. 2011.

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

BISINOTTO, R. S.; E. S. RIBEIRO, L. T. MARTINS, R. S. MARSOLA, L. G. GRECO, M. G. FAVORETO, C. A. RISCO, W. W. THATCHER, AND J. E. P. SANTOS. Effect of interval between induction of ovulation and artificial insemination (AI) and supplemental progesterone for resynchronization on fertility of dairy cows subjected to a 5-d timed AI program. *Journal of Dairy Science*. 93:5798–5808. 2010b.

BRIDGES, G. A.; M.L MUSSARD, C.R BURKE, M.L DAY. Influence of the length of proestrus on fertility and endocrine function in female cattle. *Journal of Reproduction and Fertility*., v. 12 117, p. 208 - 215, 2010.

BRIDGES, G. A.; L.A HELSER, D.E GRUM, M.L MUSSARD, C.L GASSER, DAY, M.L. Decreasing the interval between GnRH and PGF2a from 7 to 5 days and lengthening proestrus increases timed-AI pregnancy rates in beef cows. *Theriogenology*, v. 69, p. 843 – 851, 2008.

BRUSVEEN, D.J.; A.H. SOUZA, M.C. WILTBANK. Effects of additional prostaglandin F-2 alpha and estradiol-17 beta during Ovsynch in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 92:1412-1422. 2009.

BUTLER W.R. Inhibition of ovulation in the postpartum cow and the lactating sow. *Livest.Prod.Sci.*98,5–12. 2005.

BUTLER, W.R. Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows. *Livest Production Science*. v.83, p.211-218, 2003.

BUTLER, W.R. REVIEW: Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. *Journal of Reproduction and Fertility*. 81, 2533–2539, 1998.

BUTLER, W.R., Nutritional effects on resumption of ovarian cyclicity and conception rate in postpartum dairy cows. *Anim. Sci. Occas. Publ.* 26 (1), 133–145, 2001.

CERRI R.L.A.; R.C CHEBEL, F. RIVERA, C.D NARCISO, R.A OLIVEIRA, M. AMSTALDEN, G.M BAEZ-SANDOVAL, L.J OLIVEIRA, W.W THATCHER, J.E.P SANTOS. Concentration of progesterone during the development of the ovulatory follicle. II. Ovarian and uterine responses. *Journal of Dairy Science*, 94:3352-3365. 2011a.

CERRI R.L.A, R.C.; CHEBEL, F. RIVERA, C.D NARCISO, R.A OLIVEIRA, W.W THATCHER, J.E.P SANTOS. Concentration of progesterone during the development of the ovulatory follicle. I. Ovarian and embryonic responses. *Journal of Dairy Science*, 94:3342-3351. 2011b.

CERRI, R. L.; H. M. RUTIGLIANO, R. C. CHEBEL, AND J. E. P. SANTOS. Period of dominance of the ovulatory follicle influences embryo quality in lactating dairy cows. *Reproduction* 137:813–823. 2009a.

CERRI, R.L.A.; H.M. RUTIGLIANO, R.G.S. BRUNO, AND J.E.P. SANTOS. Progesterone concentration, follicular development and induction of cyclicity in dairy cows receiving intravaginal progesterone inserts. *Animal Reproduction Science*. 110:56-70. 2009b.

CHEBEL, R. C.; J. E. P. SANTOS, R. L. A. CERRI, H. M. RUTIGLIANO, AND R. G. S. BRUNO. Reproduction in dairy cows following progesterone insert

presynchronization and esynchronization protocols. *Journal of Dairy Science*. 89: 4205-4219. 2006.

CLEMENTE, M.; D.E. LA FUENTE, J., FAIR, T., AL NAIB, A., GUTIERREZ-ADAN, A., ROCHE, J. F., RIZOS, D., AND LONERGAN, P. Progesterone and conceptus elongation in cattle: a direct effect on the embryo or an indirect effect via the endometrium? *Reproduction* 138, 507–517. doi:10.1530/REP-09-0152. 2009.

CUNHA A.P.,; J.N. GUENTHER, M.J. MARONEY, J.O. GIORDANO, A.B. NASCIMENTO, H. BAS S,H. AYRES , M.C, WILTBANK. Effects of high vs. low progesterone concentrations during Ovsynch on double ovulation rate and pregnancies per AI in high producing dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 91(suppl 1):246. (abstract). 2008.

DEMÉTRIO, D.G.B.; R.M. SANTOS, C.G. DEMETRIO, J.L.M VASCONCELOS. Factors affecting conception rates following artificial insemination or embryo transfer in lactating Holstein cows. *Journal of Animal Science*, v. 90, p. 5073 – 5082, 2007.

DENICOL, A. C.; G. LOPES JR. L.G.D. MENDONCA, F.A. RIVERA, F. GUAGNINI, R.V. PEREZ, J.R. LIMA, R.G. BRUNO, J.E.P. SANTOS, AND R.C. CHEBEL. Low progesterone concentration during the development of the first follicular wave reduces pregnancy per insemination of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 95:1794–1806. 2012.

DIAS, C. C.; F. S WECHSLER,. M. L. DAY, J. L. M VASCONCELOS, Progesterone concentrations, exogenous eCG and timing of prostaglandin F2a treatment affect fertility in postpubertal Nelore heifers. *Theriogenology*, v. 72, p. 378 – 385, 2009.

FAOSTAT, disponível em :<<http://faostat3.fao.org/home/index.html> # DOWNLOAD> Acessado em 14/05/13.

FRICKE PM, AND WILTBANK, M.C. Effect of milk production on the incidence of double ovulation in dairy cows. *Theriogenology*, 52:1133-1143, 1999.

GEISERT, R.D., M.T. ZAVY, B.G. BIGGERS, J.E. GARRET, R.P. WETTEMANN. Characterization of the uterine environment during early conceptus expansion in the bovine. *Animal Reproduction Science* 16: 11-25, 1988.

GREEN, M.P.; M.G. HUNTER, G.E. MANN, Relationships between maternal hormone secretion and embryo development on day 5 of pregnancy in dairy cows. *Animal Reproduction Science* 88: , 179–189 2005.

GÜMEN, A.; M.C. WILTBANK.. Length of progesterone exposure needed to resolve large follicle anovular condition in dairy cows. *Theriogenology* 63: 202-218, 2005.

HUNTER R.H.F. The Fallopian tubes in domestic mammals: how vital is their physiological activity? *Reprod Nutr Dev*, 45:281-290, 2005.

IBGE: ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Producao_da_Pecuaria_Municipal/2011/ppm2011.pdf

JOHNSON, K.R. Effect of 17 alpha-hydroxy progesterone 17-n-caproate on the reproductive performance of cattle. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 71:577, 1958.

KERBLER, T.L. et al. Relationship between maternal plasma progesterone concentration and interferon-tau synthesis by the conceptus in cattle. *Theriogenology*, v.47, n.3, p.703-714, 1997.

KINSEL, M. L.; W. E. MARSH, P. L. RUEGG, AND W. G. ETHERINGTON. Risk factors for twinning in dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 81:989–993.1998.

LAMB, G. C., C. R. DAHLEN, J. E. LASON, G. MARQUEZINI, AND J. S. STEVENSON. Control of the estrous cycle to improve fertility for fixed-time artificial insemination in beef cattle: a review. *J. Anim. Sci.* 88(E-Suppl.):E181-E192. 2010.

LOPEZ, H.; D.Z. CARAVIELLO, L.D. SATTER, P.M. FRICKE, AND M.C. WILTBANK, Relationship between level of milk production and multiple ovulations in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science.* 88:2783-2793. 2005.

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

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

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

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

MARTINS J.P.N., R.K. POLICELLI, L.M. NEUDER, W. RAPHAEL, J.R. PURSLEY. Effects of cloprostenol sodium at final prostaglandin F-2 alpha of Ovsynch on complete luteolysis and pregnancy per artificial insemination in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science.* 94:2815-2824. 2011a.

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

MOREIRA, F.; C. ORLANDI, C. A. RISCO, R. MATTOS, F. LOPES, AND W. W. THATCHER. Effects of presynchronization and bovine somatotropin on pregnancy rates to a timed artificial insemination protocol in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 84:1646–1659. 2001.

NASCIMENTO A. B, A.H. SOUZA, R. SARTORI, M.C WILTBANK. Progesterone Production and Metabolism and Its Role Before, during and after Artificial Insemination Influencing the Fertility of High Producing Dairy Cows. *Acta Scientiae Veterinariae*, 41: 1130. 2013.

PEREIRA M.H.C., A.D.P. RODRIGUES, T. MARTINS, W.V.C. OLIVEIRA, SILVEIRA, P.S.A, M.C. WILTBANK, J.L.M. VASCONCELOS. Timed Artificial Insemination Programs During Summer in Lactating Dairy Cows: Comparison of the 5-d Cosynch protocol with an Estrogen/Progesterone-based protocol. (Submetido ao *Journal of Dairy Science*) 2013a.

PEREIRA M. H. C.; C. P. SANCHES, T. G. GUIDA, A. D. P. RODRIGUES, F. L. ARAGON, M. B. VERAS, P. T. BORGES, M. C. WILTBANK, AND J. L. M. VASCONCELOS. Timing of prostaglandin F_{2α} treatment in an estrogen-based protocol for timed artificial insemination or timed embryo transfer in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. May;96:2837-46. 2013b.

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

PURSLEY, J. R.; M.O. M.E.E, M.C. WILTBANK. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF_{2α} and GnRH. *Theriogenology*, Woburn, v. 44, n. 7, p. 915-923, Nov. 1995.

REVAH, I. AND W. R. BUTLER. Prolonged dominance of follicles and reduced viability of bovine oocytes. *Journal of Reproduction and Fertility*.106:39–47.1996.

RIVERA, F. A.; L. G. MENDONÇA, G. LOPES JR., J. E. P. SANTOS, R. V. PEREZ, M. AMSTALDEN, A. CORREA-CALDERÓN, AND R. C. CHEBEL. Reduced progesterone concentration during growth of the first follicular wave affects embryo quality but has no effect on. *Reproduction*, 141:333–342. 2011.

RUTIGLIANO, H.M., F.S. LIMA, R.L.A. CERRI, L.F. GRECO, J.M. VILLELA, V. MAGALHÃES, F.T. SILVESTRE, W.W. THATCHER, AND J.E.P. SANTOS. Effects of method of presynchronization and source of selenium on uterine health and reproduction in dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 91:3323–3336. 2008.

ROBINSON, N.A.; K.E. LESLIE, A.N.D, J.S. WALTON. Effect of treatment with progesterone on pregnancy rate and plasma concentrations of progesterone in Holstein cows. *Journal of Dairy Science*. 72:202. 1989.

SÁ FILHO, M. F.; J. R. S. TORRES-JÚNIOR, L. PENTEADO, L. U. GIMENES, R. M. FERREIRA, H. AYRES, L. A. CASTRO and PAULA; J. N. S. SALE, P. S. BARUSELLI. Equine chorionic gonadotropin improves the efficacy of a progestin-based fixed-time artificial insemination protocol in Nelore (*Bos indicus*) heifers. *Animal Reproduction Science*, v. 118, p. 182-187, 2010.

SANGSRITAVONG, S., D. K. COMBS, R. SARTORI, AND M. C. WILTBANK. High feed intake increases blood flow and metabolism of progesterone and estradiol-17 β in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. 85:2831–2842. 2002.

SANTOS, J.E.P. Vacas anovular (anestro/cisto/dinâmica folicular); fisiologia, fatores de risco, impacto e tratamento. In: XV Curso Novos Enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos. Anais... Uberlândia, 2010a.

SANTOS, J.E.P.; C.D. NARCISO, F. RIVERA, W.W. Thatcher, and R.C. Chebel. Effect of reducing the period of follicle dominance in a timed AI protocol on reproduction of dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 93, 2976–2988. 2010b.

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

SANTOS, J.E.P.; T.R. BILBY, W.W. THATCHER, C.R. STAPLES, AND F.T. SILVESTRE. Long chain fatty acids of diet as factors influencing reproduction in cattle. *Reproduction Domestic Animal*. 43 (Supp. 2):23-30. 2008.

SANTOS, R. M.; e J. L. M. VASCONCELOS. Ingestão de concentrado e concentração plasmática de progesterona em vacas da raça Holandesa. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.58, n.6, p.1162-1167, 2006.

SANTOS, J.E.P.; W.W. THATCHER, R.C. CHEBEL, R.L. CERRI, K.N. GALVÃO. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrous synchronization programs. *Animal Reproduction Science*, v.82/83, p.513-535, 2004.

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

SARTORI R.; G.J.M. ROSA, M.C WILTBANK. Ovarian structures and circulating steroids in heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in winter. *Journal of Dairy Science*. v.85, p.2813-2822, 2002a.

SARTORI R.; R SARTOR-BERGFELT R, MERTENS S.A, GUENTHER J.N, PARRISH J.J, WILTBANK M.C. Fertilization and early embryonic development in heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in winter. *Journal of Dairy Science*, v.85, p.2803-2812, 2002b.

SATTERFIELD, M. C., F. W. BAZER, AND T. E. SPENCER. Progesterone regulation of pre implantation conceptus growth and galectin 15 (LGALS15) in the ovine uterus. *Biol. Reprod.* 75:289-296. 2006.

SILVA C.C; PG KNIGHT. Effects of androgens, progesterone and their antagonists on the developmental competence of in vitro matured bovine oocytes. *Journal of Reproduction and Fertility*, 119:261-269. 2000.

SOUZA A.H.; E.P.B. SILVA, A.P. CUNHA, A. GUMEN, H. AYRES, D.J BRUSVEEN, J.N. GUENTHER, M.C. WILTBANK. Ultrasonographic evaluation of endometrial thickness near timed AI as a predictor of fertility in highproducing dairy cows. *Theriogenology*, 75:722-733. 2011.

SOUZA, A. H., S. VIECHNIESKI, F. A. LIMA, F. F. SILVA, R. ARAUJO, G. A. BO, M. C. WILTBANK, AND P. S. BARUSELLI. Effects of equine chorionic gonadotropin and type of ovulatory stimulus in a timed-AI protocol on reproductive responses in dairy cows. *Theriogenology* 72:10–21. 2009.

SOUZA, A. H.; H. AYRES, R.M. FERREIRA, M.C. WILTBANK. A new presynchronization system (Double-Ovsynch) increases fertility at first postpartum timed AI in lactating dairy cows. *Theriogenology* 70:208-215.2008.

SPENCER, T. E., AND F. W. BAZER. Biology of progesterone action during pregnancy recognition and maintenance of pregnancy. *Front. Biosci.* 7:d1879-d1898. 2002.

STARBUCK, G.R.; A.O. DARWASH, G.E. MANN, G.E. LAMMING. The detection and treatment of post insemination progesterone insufficiency in dairy cows. In: Fertility in the high yielding dairy cow, British Society for Animal Science Occasional Publication No 26 volume 2. pp. 447–450, 2001.

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

VASCONCELOS, J.L.M.; PEREIRA, M.H.C.; RODRIGUES, A.D.P.; CARVALHO E.; OLIVEIRA, W.V.C., ALBUQUERQUE, J.P. Fase do ciclo estras na fertilidade de vacas em lactação inseminadas com protocolos a base de E2/P4: 26ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira Tecnologia de Embriões (Resumo). 2012.

VASCONCELOS, J.L.M.; R.F. COOKE, D.T.G. JARDINA, F.L. ARAGON, M.B. 22 VERAS, S. SORIANO, N. SOBREIRA, A.B. SCARPA. Associations among milk production and rectal temperature on pregnancy maintenance in lactating recipient dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 2011a.

VASCONCELOS, J. L. M.; O. G. SA FILHO, P. L. T. JUSTOLIN, P. MORELLI, F. L. ARAGON, M. B. VERAS, AND S. SORIANO. Effects of postbreeding gonadotropin treatments on conception rates of lactating dairy cows subjected to timed artificial insemination or embryo transfer in a tropical environment. *Journal of Dairy Science*. 94:223–234. 2011b.

VASCONCELOS, J.L.M.; D.G.B. DEMETRIO, R.M.SANTOS, J.R. CHIARI, C.A. RODRIGUES, AND O.G. SA FILHO. Factors potentially affecting fertility of lactating dairy cow recipients. *Theriogenology* 65:192–200. 2006.

VASCONCELOS, J. L. M.; S. SANGSRITAVONG, S. J. TSAI, AND M. C. WILTBANK. Acute reduction in serum progesterone concentration after feed intake in dairy cows. *Theriogenology* 60:795–807. 2003.

VASCONCELOS, J. L. M.; R. SARTORI, H. N. OLIVEIRA, J. G. GUENTHER, AND M. C. WILTBANK. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and Pregnancy rate. *Theriogenology* 56: 307–314. 2001.

VASCONCELOS, J. L. M.; R. W. SILCOX, G. J. ROSA, J. R. PURSLEY, AND M. C. WILTBANK. Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows. *Theriogenology* 52:1067-1078. Wulster-Radcliffe, M. C., R. C. Seal. 1999.

WALSH, R.B.; D.F. KELTON, T.F. DUFFIELD, K.E. LESLIE, J.S. WALTON, AND S.J. LEBLANC. Prevalence and risk factors for postpartum anovulatory condition in dairy cows. *Journal Of Dairy Science*. 90: 315-324. 2007.

WASHBURN, S.P.; W.J. SILVIA, C.H. BROWN, B.T. MCDANIEL, A.J. MCALLISTER. Trends in reproductive performance in southeastern Holstein and Jersey DHI herds. *Journal of Dairy Science*; 85:244-251. 2002.

WILTBANK, M.C.; S.M. SALIH, M.O. ATLI, W. LUO, C.L. BORMANN, J.S. OTTOBRE, C.M. VEZINA, V. MEHTA, F.J. DIAZ, S.J. TSAI, R. SARTORI. Comparison of endocrine and cellular mechanisms regulating the corpus luteum of primates and ruminants. *Animal Reproduction Science*, 9:242-259. 2012.

WILTBANK M.C., P.D. CARVALHO, A. KESKIN, K.S. HACKBART, M.A. MESCHIATTI, M.R. BASTOS, J.N. GUENTHER, A.B. NASCIMENTO, M.M. HERLIHY, M.C. AMUNDSON & A.H. SOUZA Effect of progesterone concentration during follicle development on subsequent ovulation, fertilization, and early embryo development in lactating dairy cows. *Biology of Reproduction*. 85: 685. 2011.

WILTBANK, M.C.; H. LOPEZ, R. SARTORI, S. SANGSRITAVONG, A. GUMEN. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. *Theriogenology*, v.65, p.17-29, 2006.

WILTBANK, M.C.; A. GTIMEN AND R. SARTORI Physiological Classification Of Anovulatory Conditions In Cattle. *Theriogenology* 57:21-52, 2002.

CAPÍTULO 2

**EFEITO DO DISPOSITIVO DE PROGESTERONA
ADICIONAL DURANTE PROTOCOLO DE IATF E TETF À
BASE DE E2/P4 NA FERTILIDADE DE VACAS EM
LACTAÇÃO COM BAIXA P4**

**Efeito do dispositivo de progesterona adicional durante protocolo de IATF e TETF
à base de E2/P4 na fertilidade de vacas em lactação com baixa P4**

RESUMO

Objetivou-se com este estudo avaliar a utilização de dois dispositivos intravaginais de P4 (CIDR®, Zoetis) em vacas Holandesas em lactação sem CL e com $P4 \leq 1,0$ ng/mL no início de um protocolo de sincronização da ovulação à base de E2/P4 para IATF (exp 1) ou TETF (exp 2) no sucesso da prenhez. Estes experimentos foram realizados em 9 fazendas, sendo 4 destinadas a IATF (n = 341) e 5, a TETF (n = 356). O protocolo utilizado nos experimentos foi: d-10 2mg IM BE (2,0mL de Estrogin, Farmavet, SP, Brasil) + CIDR (1,9g de P4, CIDR®, Zoetis, SP, Brasil); d-3 25mg IM Dinoprost Trometamina (5,0mL de Lutalyse®, Zoetis, SP, Brasil); d-2 remoção do CIDR + 1mg IM de Cipionato de Estradiol (0,5mL ECP®, Zoetis, SP, Brasil); d 0 IATF (exp1) ou d 7 TETF (exp 2). No d-10, os animais sem corpo lúteo à ultrassonografia (US) foram distribuídos aleatoriamente para receberem 1 CIDR (1CIDR) ou 2 CIDR (2CIDR). O diâmetro do folículo ovulatório [d0 (exp 1)] e presença de CL [d7 (exp 1 e 2)] foram avaliados por US. Amostras de sangue foram colhidas para dosagem de P4 nos dias -10, -3 e 7. Foram consideradas sincronizadas vacas com CL 7 dias após a IA (d7) ou com CL no momento da TE, consistente com a ovulação do folículo ovulatório; no exp 2, apenas vacas com CL (d7) que receberam embrião foram utilizadas. Diagnósticos de gestação foram realizados por US aos 32 e 60 d. Para avaliar as variáveis binomiais, foi utilizado o PROC GLIMMIX, e as contínuas, o PROC MIXED. Efeitos foram considerados significantes quando $P \leq 0,05$ e tendência quando $P > 0,05$ e $P \leq 0,10$. Não houve efeito do tratamento na taxa de sincronização [1CIDR = 74,1% (329/451) vs. 2CIDR = 71,1% (298/423)]. A concentração de P4 no d-10 não diferiu entre os tratamentos (1CIDR = $0,59 \pm 0,12$ ng/mL vs. 2CIDR = $0,68 \pm 0,12$ ng/mL). A concentração de P4 foi maior no tratamento 2CIDR ($2,14 \pm 0,23$ ng/mL) em relação ao 1CIDR ($1,71 \pm 0,23$ ng/mL) no d-3 (momento da PGF). Entretanto foi menor no tratamento 2CIDR ($2,21 \pm 0,16$ ng/mL) em comparação a 1CIDR ($2,49 \pm 0,13$ ng/mL) no d7. No exp 1, não houve diferença significativa no diâmetro do folículo ovulatório no d0 (1CIDR $15,5 \pm 0,27$ mm vs. 2CIDR $15,2 \pm 0,26$ mm). O tratamento 2CIDR

tendeu aumentar a P/IA aos 32 d [51,4% (70/133) vs. 42,3% (59/138)] e aumentou a P/IA aos 60 d [48,1% (64/133) vs. 37,7% (52/138)], não afetando a perda de gestação [8,6% (n = 6/70) vs. 11,9% (n = 7/59)] quando comparados ao tratamento 1CIDR em vacas sincronizadas. Foi observada interação entre diâmetro do folículo ovulatório e o tratamento na P/IA aos 60 d. Houve tendência da concentração de P4 no d7 influenciar na P/IA aos 60 d em vacas sincronizadas no tratamento 1CIDR, entretanto não houve efeito da concentração de P4 no d7 no tratamento 2CIDR. Na P/TE (exp 2) não houve efeito de tratamento aos 32 d [1CIDR = 29,3% (56/191) vs. 2CIDR = 32,1% (53/165)] ou 60 d [1CIDR = 24,4% (46/191) vs. 2CIDR = 25,8% (42/165)], e a perda de gestação não diferiu entre os tratamentos [1CIDR = 17,9% (10/56) vs. 2CIDR = 20,8% (11/53)]. A utilização de 2 dispositivos de P4 aumentou a concentração de P4 durante o desenvolvimento folicular e a fertilidade de vacas em lactação sem CL com P4 $\leq$ 1,0 ng/ml submetidas à IATF, mas não à TE, sugerindo que a melhora na fertilidade está relacionada a melhor qualidade do oócito e/ou embrião inicial.

Palavras Chave: P4, protocolo E2/P4, fertilidade, vacas leiteiras, reprodução.

**Effect of additional progesterone implant during an E2/P4 TAI and TET protocol
on fertility in lactating dairy cows with low P4**

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the use of two progesterone (P4) intravaginal devices (CIDR ®, Zoetis) in lactating Holstein cows without CL with $P4 \leq 1.0$ ng / mL at the start of a E2/P4 ovulation synchronization protocol for TAI (exp 1) or TET (exp 2) on pregnancy success. These experiments were conducted in 9 farms, 4 destined to TAI (n = 341) and 5 TET (n = 356). The protocol used in the experiments was: d-10 2 mg IM EB (2.0 mL Estrogin, Farmavet, SP, Brazil) + CIDR (1.9 g of P4, CIDR ®, Zoetis, SP, Brazil); d-3 25 mg dinoprost tromethamine IM (5.0 mL Lutalyse ®, Zoetis, SP, Brazil), d-2 CIDR removal + 1 mg estradiol cypionate IM (0.5 mL, ECP ®, Zoetis, SP, Brazil); TAI d0 (exp 1) or TET d7(exp 2). On d-10, animals without a corpus luteum detected by ultrasonography (US) were randomly divided into groups to receive 1 CIDR (1CIDR) or 2 CIDR (2CIDR). The ovulatory follicle diameter [d0 (exp 1)] and presence of CL [d7 (exp 1 and 2)] were evaluated by US. Blood samples were collected for P4 measurement on days -10, -3 and 7. Were considered synchronized cows when they had CL 7 days after AI (d7) or CL at the time of ET, consistent with ovulation of detected ovulatory follicle; In exp 2 only cows CL (d7) receiving embryo were used. Pregnancy diagnosis were performed using US on days 32 and 60. Was used to evaluate binomial variables PROC GLIMMIX and PROC MIXED for continuous. Effects were considered significant when $P \leq 0.05$ and tendency when $P > 0.05$ and $P \leq 0.10$. There was no effect of treatment on synchronization rate [1CIDR = 74.1% (329/451) vs. 2CIDR = 71.1% (298/423)]. P4 concentration on d-10 did not differ between treatments (1CIDR = 0.59 ± 0.12 ng/mL vs. 2CIDR = 0.68 ± 0.12 ng/mL). P4 concentration was higher for 2CIDR treatment (2.14 ± 0.31 ng / mL) compared to 1CIDR (1.71 ± 0.28 ng / mL) at d-3 (PGF moment). However P4 levels were smaller for 2CIDR treatment (2.21 ± 0.14 ng/mL) compared to 1CIDR (2.49 ± 0.13 ng/mL) on d7. Exp 1 - There was no significant difference in the diameter of the ovulatory follicle at d0 (1CIDR 15.5 ± 0.27 mm vs. 2CIDR 15.2 ± 0.26 mm). The treatment 2CIDR tended to increase P/AI to 32 d [51.4% (70/133) vs. 42.3% (59/138)], increased P/AI to

60 d [48.1% (64/133) vs. 37.7% (52/138)], and did not affect pregnancy loss [8.6% (n=6/70) vs. 11.9% (n=7/59)] when compared to treatment 1CIDR in synchronized cows. An interaction between ovulatory follicle diameter and treatment in P/AI to 60 d was observed. Tendency of P4 concentration on d7 on P/AI to 60 d in cows synchronized 1CIDR treatment was observed, however there was no effect of P4 concentration on d7 2CIDR treatment. No treatment effect was observed on P/ET (exp 2) on 32 d [1CIDR = 29.3% (56/191) vs. 2CIDR = 32.1% (53/165)] or 60 d [1CIDR = 24.4% (46/191) vs. 2CIDR = 25.8% (42/165)], and pregnancy loss did not differ between treatments [1CIDR = 17.9% (10/56) vs. 2CIDR = 20.8% (11/53)]. The use of two P4 devices increased P4 levels during follicular development and the fertility of dairy cows without CL with $P4 \leq 1.0$ ng/mL submitted to TAI but not in TET, the results of these studies suggest that fertility improvement is related to better oocyte and/or early embryo quality.

Keywords: P4, E2/P4 protocol, fertility, dairy cows, reproduction.

1. Introdução

Melhoria na prenhez por inseminação artificial (P/IA) em protocolos de IATF tem sido associada com concentrações elevadas de P4 no momento da aplicação de PGF (BISINOTTO et al. 2010a, 2013; SOUZA et al 2008). Vacas leiteiras apresentam baixas concentrações de hormônios esteroides (SARTORI et al., 2004, 2002; SANTOS, 2006), o que pode ocorrer devido ao aumento do fluxo sanguíneo, e consequentemente, maior metabolização hepática (VASCONCELOS et al., 2003; SANGSRITAVONG et al., 2002), fase do ciclo estral (VASCONCELOS et al., 1999) ou condição anovulatória (BISINOTTO et al., 2010a).

O número de vacas que não ovulam até o final do período voluntário de espera pode atingir até 45% em alguns rebanhos (WALSH et al., 2007; SANTOS et al., 2009). Esses animais apresentam menor probabilidade de prenhez após a primeira IA (WALSH et al., 2007; CHEBEL et al., 2006; BISINOTTO et al., 2010a) e redução de aproximadamente 10 unidades percentuais na prenhez/IA em relação a vacas cíclicas (SANTOS et al., 2009). Programas de sincronização da ovulação permitem que vacas anovulares mesmo apresentando fertilidade reduzida, sejam inseminadas e se tornem gestantes (SANTOS, 2010a). Vacas anovulares ou ciclando que apresentam P4 <1,0 ng/ml ao início de programas de sincronização da ovulação apresentam menor índice de P/IA 25,1% e 28,1% respectivamente, quando comparadas a vacas que iniciam o programa com P4 $\geq$ 1,0 ng/ml 36,9% aos 53 dias de gestação (BISINOTTO et al., 2010a).

Maior concentração de P4 durante o desenvolvimento folicular está associada a melhor fertilidade em vacas submetidas a protocolos Ovsynch (SOUZA et al., 2008), Ovsynch curto (SANTOS et al., 2010b) e protocolos à base de E2/P4 (PEREIRA et al., 2013a). Estudos têm evidenciado melhora substancial na P/IA (BISINOTTO et al., 2010a; DENICOL et al., 2012; BISINOTTO et al., 2013) e na qualidade do embrião (RIVERA et al., 2011, CERRI et al., 2011a) quando as concentrações de P4 são maiores durante o desenvolvimento folicular, sejam elas aumentadas pela utilização de dois dispositivos de P4 (CIDR) (DENICOL et al., 2012; BISINOTTO et al., 2013) ou pela

pré-sincronização (SOUZA et al., 2008; MOREIRA et al., 2001) e início do protocolo de sincronização da ovulação em fase de diestro (BISINOTTO et al., 2010a).

Em protocolo Co-synch (d-8 GnRH, d -3 e d-2 PGF, d0 GnRH + IATF), a utilização de 2 dispositivos de P4 em vacas sem CL resultou em fertilidade similar à de vacas no diestro (CON 28,6%, 2CIDR 43,7%, DIESTRO 47,3%) (BISINOTTO et al., 2013). Denicol et al. (2012), utilizando 2 dispositivos de P4 em animais de primeira onda folicular, alcançaram índices de P/IA semelhantes (32%) a animais de segunda onda folicular (38,9%) e maiores ($P=0,02$) que de primeira onda folicular sem suplementação de progesterona (22,3%). Efeitos positivos na qualidade embrionária também foram observados em estudos quando dois dispositivos de P4 foram utilizados em animais que iniciaram a superovulação com FSH na primeira onda folicular, aumentando a porcentagem de embriões transferíveis (78,6%) em relação a animais de primeira onda folicular sem suplementação (55,9%) e semelhante aos de segunda onda folicular (88,5%) ($P = 0,01$) (RIVERA et al., 2011). Quando um único embrião proveniente de ovulação simples foi coletado de vacas que tiveram alta ou baixa P4 durante o desenvolvimento folicular, observou-se tendência de melhora na qualidade do embrião do grupo alta P4 (CERRI et al., 2011a).

Em protocolos à base de GnRH (Ovsynch/Co-synch) a adição de apenas um dispositivo de P4 têm sido insuficiente em melhorar a fertilidade de animais sem CL ao início do programa (BISINOTTO et al., 2010b). Em protocolos comumente utilizados no Brasil à base de E2/P4 que não induzem ovulação e sim atresia folicular e a emergência de uma nova onda, se torna importante aumentar a P4 nos animais sem CL ao início do programa. Uma estratégia a ser utilizada, seria a inserção de dois dispositivos de P4 durante o desenvolvimento folicular, visto que, nesse protocolo, já foi relatado que animais com CL no momento da PGF apresentam melhor fertilidade que animais sem CL (PEREIRA et al., 2013a,b).

Outra ferramenta que tem possibilitado o melhor entendimento da fisiologia de protocolos de sincronização da ovulação é a transferência de embrião em tempo fixo (TETF). A técnica permite que sejam utilizados somente embriões de boa qualidade, que já passaram pelo período mais crítico de desenvolvimento (EALY et al., 1993), minimizando dessa forma, possíveis desafios como o estresse térmico, a baixa

qualidade oocitária, falha na ovulação e desenvolvimento embrionário inicial (VASCONCELOS et al., 2011b). A utilização de TETF permitira determinar se o efeito da adição de mais um dispositivo de P4 esta atuando na qualidade do oócito e/ou embrião. Dessa forma, o presente estudo tem por objetivo avaliar a utilização de dois dispositivos intravaginais de P4 (CIDR®, Zoetis) em vacas Holandesas em lactação sem CL e com $P4 \leq 1,0$ ng/mL no início de um protocolo de sincronização da ovulação à base de E2/P4 na P/IA (experimento 1) e P/TE (experimento 2).

A hipótese para este estudo é que a utilização de 2CIDR durante um protocolo à base de E2/P4 em vacas em lactação sem CL e com $P4 \leq 1,0$ ng/mL no início do protocolo de sincronização da ovulação aumenta a P/IA, mas não aumenta a P/TE.

2. Material e Métodos

2.1. Animais, instalações e tratamentos

Estes experimentos foram conduzidos em nove fazendas leiteiras comerciais em Minas Gerais (n = 4) e Paraná (n = 5), Brasil, de junho de 2011 a maio de 2012. Todos os procedimentos com animais seguiram as recomendações do *Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Agricultural Research and Teaching* (FASS, 1999). Durante o período experimental, as vacas foram alojadas em galpões free-stall, com acesso a piquetes. Durante todo o experimento, as vacas foram ordenhadas três vezes ao dia. Todos os procedimentos, incluindo injeções, ultrassonografia ovariana, diagnóstico de gestação, colheita de sangue, e IATF ou TETF, foram realizados enquanto as vacas foram contidas em canzil na linha de alimentação. As vacas foram alimentadas à vontade, com uma dieta à base de silagem de milho, grama Bermuda (*Cynodon dactylon*) (MG), pré-secado de Aveia ou Azevém (PR), concentrado à base de milho, farelo de soja, minerais e vitaminas, que foi equilibrado para atender ou exceder as exigências nutricionais de vacas em lactação (NRC, 2001).

2.1.1. Experimento 1 (IATF)

Foram avaliadas 1221 vacas e destas foram utilizadas neste experimento 341 vacas holandesas em lactação (27,9%; 341/1221) sem CL e com $P4 \leq 1,0$ ng/mL no d-10. Em cada fazenda, as vacas foram divididas aleatoriamente para receber um dos dois tratamentos: (1CIDR) inserção de CIDR (1,9 g de P4, CIDR®, Zoetis, SP, Brasil) e 2,0 mg IM de BE (2,0 mL de Estrogin, Farmavet, SP, Brasil), sete dias depois (d-3) 25 mg de IM de dinoprost trometamina (5,0 mL de Lutalyse®, Zoetis, SP, Brasil), 24 h depois (d-2), o CIDR foi removido, e as vacas receberam 1,0 mg IM de cipionato de estradiol (0,5 mL, ECP®, Zoetis, SP, Brasil); 48 h após a remoção do CIDR (d0) foi realizada a IATF. O tratamento (2CIDR) utilizou o mesmo protocolo do grupo 1CIDR, porém utilizando 2CIDR.

Todas as vacas foram inseminadas na manhã programada para IATF por técnicos experientes (n = 16), utilizando sêmen comercial descongelado de 32 touros diferentes. As vacas foram pintadas diariamente, com giz marcador na base da cauda, após a retirada do CIDR. Foram consideradas em estro quando detectadas visualmente em estro ou quando o giz foi completamente removido.

Considerou-se que houve sincronização quando as vacas apresentaram CL 7 dias após a IA (d7). O sucesso na P/IA foi calculado dividindo-se o número de vacas gestantes aos 32 d ou 60 d após a IATF pelo número de vacas que receberam a IATF. O sucesso na P/IA de vacas sincronizadas foi calculado dividindo-se o número de vacas gestantes aos 32 d ou 60 d após a IATF pelo número de vacas que receberam a IATF e apresentaram CL no dia 7. Perda da gestação foi calculada dividindo-se o número de vacas que perderam a gestação entre os 32 e 60 d pelo número de vacas gestantes aos 32 d.

2.1.2. Experimento 2 (TETF)

Foram avaliadas 1263 vacas e destas 535 vacas não apresentavam corpo lúteo e tinham $P4 \leq 1,0$ ng/mL no d-10. Foram inovuladas no d7 356 vacas (66,5%; 356/535). Os tratamentos foram semelhantes aos do experimento 1 e a TETF foi realizada no (d7) após a confirmação da presença de CL. As vacas receberam um embrião no corno

uterino ipsilateral ao ovário contendo o CL, transferido por um veterinário experiente. Os embriões utilizados neste estudo (frescos) foram produzidos “in-vitro”, sendo classificados de acordo com as orientações da International Embryo Transfer Society para classificação de embriões (WRIGHT, 1998). Embriões consistiram de blastocisto inicial [8% (28/356)], blastocisto [28% (100/356)] ou blastocisto expandido [64% (228/356)] de excelente qualidade (grau 1).

O sucesso na P/TE foi calculado dividindo-se o número de vacas gestantes aos 25 d ou 53 d depois da TE pelo número de vacas que receberam TE. A perda da gestação foi calculada dividindo-se o número de vacas que perderam sua gestação entre os 25 e 53 d pelo número de vacas gestantes no diagnóstico 25 d.

2.2. Ultrassonografia

Os ovários foram examinados por ultrassonografia (US, Aloka SSD-500 com transdutor linear-array de 7,5 MHz, Aloka, Tokyo, Japan) para determinar vacas sem CL no d-10, diâmetro folicular no d0 e a presença de CL no d7. Os diagnósticos de gestação foram realizados por ultrassonografia aos 32 e 60 d após inseminação artificial (experimento 1) e aos 25 e 53 d após inovulação do embrião (experimento 2).

2.3. Colheita das amostras de sangue para dosagem de progesterona

As amostras de sangue foram colhidas da veia ou artéria coccígea, utilizando tubos com vácuo e sem anticoagulante, nos dias d-10, d-3, e d7 do protocolo. Após a colheita, o tubo de sangue foi disposto na posição vertical, mantido em caixa térmica com gelo até ser levado para o refrigerador a 4 °C, onde permaneceu por 12 a 24h. As amostras foram centrifugadas a 1800 x g por 10 minutos à temperatura ambiente, para separação do soro, o qual foi envasado em tubos eppendorf e armazenado a -20 °C até a realização das dosagens. As dosagens de progesterona foram realizadas no Laboratório de Endocrinologia da Faculdade de Medicina Veterinária da UNESP – Araçatuba. As concentrações de progesterona séricas foram determinadas nas amostras de soro com o Kit de radioimunoensaio em fase sólida (Coat-a-count® - Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA, EUA). Aliquotas de 100µl de soro ou de diluições da

curva padrão foram incubadas por três horas em temperatura ambiente (15 a 28°C) com 1 mL de P4 radio marcada [I-125] em tubos com anticorpo contra P4 aderido à parede. Após a incubação, foi removido todo o líquido dos tubos, e cada tubo foi contado por um minuto em contador gama. As amostras foram processadas em 20 ensaios. A sensibilidade média dos ensaios foi de 0,01 ng/ml. O coeficiente de variação (CV) intra-ensaio foi de 4,45 e inter-ensaio foi 9,64.

2.4. Dados de produção leiteira

A produção de leite foi medida diariamente entre d-10 e d-3 do protocolo de sincronização da ovulação, e a produção média diária obtida neste intervalo foi utilizada na análise.

2.5. Análise Estatística

Os protocolos foram realizados apenas em vacas sem CL. Após a análise de P4, apenas vacas com $P4 \leq 1,0$ ng/mL foram mantidas nas análises. As variáveis binomiais (detecção de estro, sincronização da ovulação, P/AI aos 32 e 60 d, e as perdas de gestação entre os 32 e 60 d) foram analisadas usando os procedimentos GLIMMIX do SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA), com fazendas como efeito aleatório, e outras variáveis foram incluídas no modelo como tratamento, paridade e sua interação, e DEL, ECC e a produção de leite como covariáveis. As variáveis contínuas concentrações de P4 no início do protocolo, no momento do tratamento com PGF, no d7 e o diâmetro folicular no d0 foram analisadas utilizando os procedimentos MIXED do SAS, e as variáveis incluídas nos modelos foram efeitos do tratamento, paridade e a sua interação, e DEL, ECC, produção de leite como covariáveis. O procedimento GLM do SAS foi utilizado para determinar os efeitos das variáveis contínuas concentrações de P4 no início do protocolo, no momento do tratamento com PGF e no d7 e o diâmetro folicular no d0 na P/AI. Utilizou-se o PROC LOGISTIC do SAS para gerar os valores de intercept e slope, permitindo a construção do gráfico segundo a equação: Probabilidade = $(e^{\text{equação logística}})/(1 + e^{\text{equação logística}})$.

Aproximação Satterthwaite foi utilizada para determinar os graus de liberdade do denominador para os testes de efeitos fixos com a instrução aleatória contendo o efeito do grupo. Covariáveis que foram consideradas não significativas ($P > 0,10$) foram removidas do modelo estatístico. Os resultados são expressos como médias ajustadas $\pm$ SEM para variáveis contínuas. Em todas as análises, foi considerado significativo quando $P \leq 0,05$, e tendência quando $P > 0,05$ e $P \leq 0,10$. One-tailed test foi utilizado para a variável P/IA devido à hipótese ser de que a utilização de 2CIDR aumentaria a fertilidade em relação ao tratamento com 1CIDR.

3. Resultados

3.1. Animais e efeitos do protocolo nas análises hormonais, diâmetro folicular e sincronização

Não foi detectada diferença entre tratamentos para dias em lactação (1CIDR = $166 \pm 7,42$ vs. 2CIDR = $155 \pm 7,78$), números de lactação (1CIDR = $2,08 \pm 0,08$ vs. 2CIDR = $1,99 \pm 0,08$), escore de condição corporal (1CIDR = $2,81 \pm 0,04$ vs. 2CIDR = $2,71 \pm 0,05$), ordem de partos [Primíparas: 1CIDR = 53% (193/363) vs. 2CIDR = 51% (172/334); Multíparas: 1CIDR = 47% (170/363) vs. 2CIDR = 49% (162/334)] e produção de leite (1CIDR $27 \pm 0,53$ vs. 2CIDR = $29 \pm 0,56$ kg/leite/d). A concentração de P4 no d-10 não diferiu entre os tratamentos (1CIDR = $0,59 \pm 0,12$ ng/mL vs. 2CIDR = $0,68 \pm 0,12$ ng/mL). Vacas no tratamento 2CIDR apresentaram maior ($P = 0,02$) concentração de P4 no momento da aplicação de PGF (d-3) ($2,14 \pm 0,23$ ng/mL) em relação a vacas do tratamento 1CIDR ($1,71 \pm 0,23$ ng/mL). Vacas que receberam o tratamento 1CIDR apresentaram maior ($P = 0,03$) concentração de P4 no d7 ($2,26 \pm 0,12$ ng/mL) em relação ao tratamento 2CIDR ($2,02 \pm 0,15$ ng/mL), e também foi maior ($P = < 0,01$), quando apenas vacas sincronizadas (CL d7) foram avaliadas (1CIDR = $2,49 \pm 0,16$ ng/mL vs. 2CIDR = $2,21 \pm 0,16$ ng/mL). Tratamento não influenciou ($P = 0,41$) a taxa de sincronização [1CIDR = 74,1% (329/451) vs. 2CIDR = 71,1% (298/423)]. Não houve diferença ($P = 0,37$) no diâmetro do folículo ovulatório (1CIDR $15,5 \pm 0,27$ mm vs. 2CIDR $15,2 \pm 0,26$ mm) nos animais submetidos a IATF (Exp 1). O tratamento 1CIDR apresentou maior ($P = 0,05$) proporção de vacas em cio [67,9%

(87/138)] em relação ao tratamento 2CIDR [56,1% (69/133)]. Não houve efeito ($P = 0,27$) do tratamento na taxa de dupla ovulação [1CIDR = 16,4% (21/138) vs. 2CIDR 21,9% (27/133)].

3.2. Experimento 1 (IATF)

Houve tendência do tratamento 2CIDR aumentar a P/IA aos 32 d ($P = 0,08$) e 60 d ($P = 0,07$) quando todas as vacas foram avaliadas. Não houve efeito ($P = 0,27$) do tratamento na perda de gestação. Em vacas sincronizadas houve tendência ($P = 0,06$) do tratamento 2CIDR aumentar a P/IA aos 32 d, e aos 60 d o tratamento 2CIDR aumentou a P/IA ($P = 0,05$). Não houve efeito ($P = 0,27$) do tratamento na perda de gestação. (tabela 1)

Tabela 1. Efeito do tratamento na P/IA aos 32, 60 d e perda de gestação para vacas em lactação com $P4 \leq 1,0$ ng/mL no d-10 que receberam protocolos com 1 ou 2CIDR

Item*	Protocolo		Valor de P =
	1CIDR	2CIDR	
P/IA (todas as vacas)			
32d	35,7 (61/172)	43,1 (72/169)	0,08
60d	31,5 (54/172)	39,2 (66/169)	0,07
Perda de gestação	11,5 (7/61)	8,3 (6/72)	0,27
P/IA ¹ (vacas sincronizadas)			
32d	42,3 (59/138)	51,4 (70/133)	0,06
60d	37,7 (52/138)	48,1 (64/133)	0,05
Perda de gestação	11,9 (7/59)	8,6 (6/70)	0,27

* Média dos quadrados mínimos (no./no.)

¹ Vacas sincronizadas – CL no d7

Foi detectada interação entre tratamento e diâmetro do folículo ovulatório na P/IA aos 60 d ($P = 0,05$) em vacas sincronizadas (Figura 01).

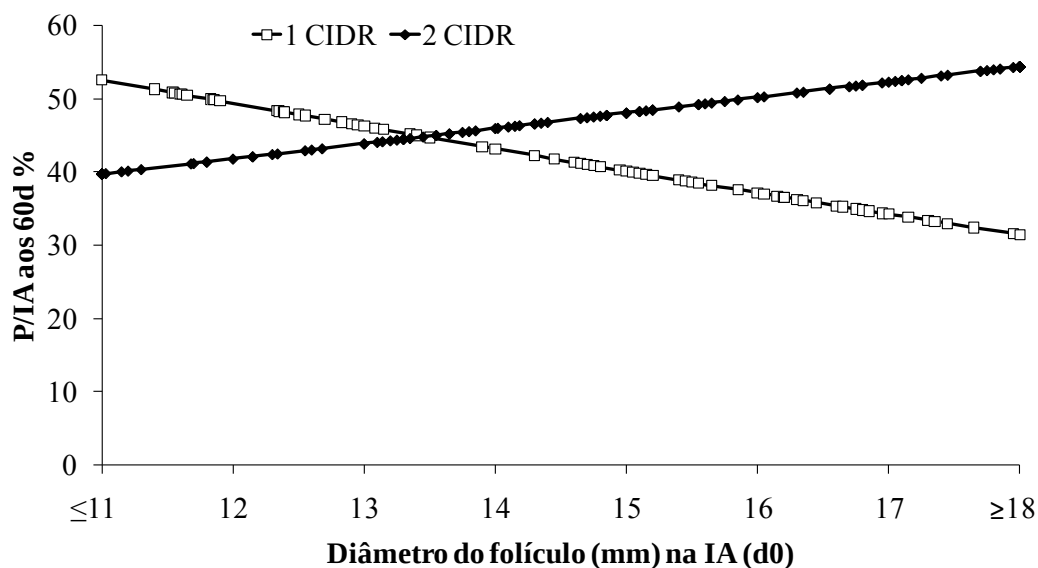


Figura 1. Interação ($P = 0,05$) entre o diâmetro do folículo ovulatório e o tratamento na P/IA aos 60 d [1CIDR ($n = 121$) vs. 2CIDR ($n = 125$)] em vacas sincronizadas

Os tratamentos não diferiram ($P = 0,45$) na distribuição do diâmetro do folículo ovulatório entre as classes (<14 mm vs. ≥ 14 mm), porém foi observada maior ($P = < 0,01$) proporção de animais com folículos ovulatórios ≥ 14 mm (<14 mm = 34% vs. ≥ 14 mm = 66%). Em folículos <14 mm a concentração de P4 (d7) não diferiu ($P = 0,48$) entre os tratamentos (1CIDR = $2,50 \pm 0,19$ ng/mL vs. 2CIDR $2,34 \pm 0,15$ ng/mL), entretanto, em folículos ≥ 14 mm, o tratamento 1CIDR apresentou maior ($P < 0,01$) concentração de P4 (d7) ($3,03 \pm 0,22$ ng/mL) em relação ao 2CIDR ($2,56 \pm 0,23$ ng/mL). Em folículos <14 mm, não houve efeito ($P = 0,61$) de tratamento na P/IA aos 60 d [1CIDR = 50% (19/38) vs. 2CIDR = 44% (20/45)], entretanto, em folículos ≥ 14 mm, houve efeito ($P = 0,05$) de tratamento na P/IA aos 60 d [1CIDR = 35% (29/83) vs. 2CIDR = 50% (40/80)]. Não houve efeito de tratamento entre as classes de folículos na perda de gestação (1CIDR = <14 mm 5,3% [2/38] vs. ≥ 14 mm 6,0% [5/83], $P = 0,87$; 2CIDR = <14 mm 6,6% [3/45] vs. ≥ 14 mm 3,7% [3/80], $P = 0,46$). (tabela 2)

Tabela 2. Efeito do tratamento (1 vs. 2CIDR) entre as classes de folículos na P4 d7, P/IA aos 32, 60 d e perda de gestação em vacas sincronizadas

Item*	Protocolo		Pval
	<14	≥14	
P4 d7 ¹			
1CIDR	2,50	3,03	0,02
2CIDR	2,34	2,56	0,26
Valor P	0,48	<0,01	
P/IA 32d ¹			
1CIDR	55 (21/38)	41 (34/83)	0,14
2CIDR	51 (23/45)	54 (43/80)	0,78
Valor P	0,70	0,10	
P/IA 60d ¹			
1CIDR	50 (19/38)	35 (29/83)	0,12
2CIDR	44 (20/45)	50 (40/80)	0,55
Valor P	0,61	0,05	
Perda Gest.			
1CIDR	5,3 (2/38)	6,0 (5/83)	0,87
2CIDR	6,6 (3/45)	3,7 (3/80)	0,46
Valor P	0,78	0,50	

Vacas Sincronizadas¹ = Presença de CL no D7

Foi detectada tendência ($P = 0,08$) da concentração de P4 no d7 influenciar na P/IA aos 60 d em vacas sincronizadas com o tratamento 1CIDR, entretanto no tratamento 2CIDR não houve efeito ($P = 0,66$) da concentração de P4 no d7 na P/IA aos 60 d (Figura 2).

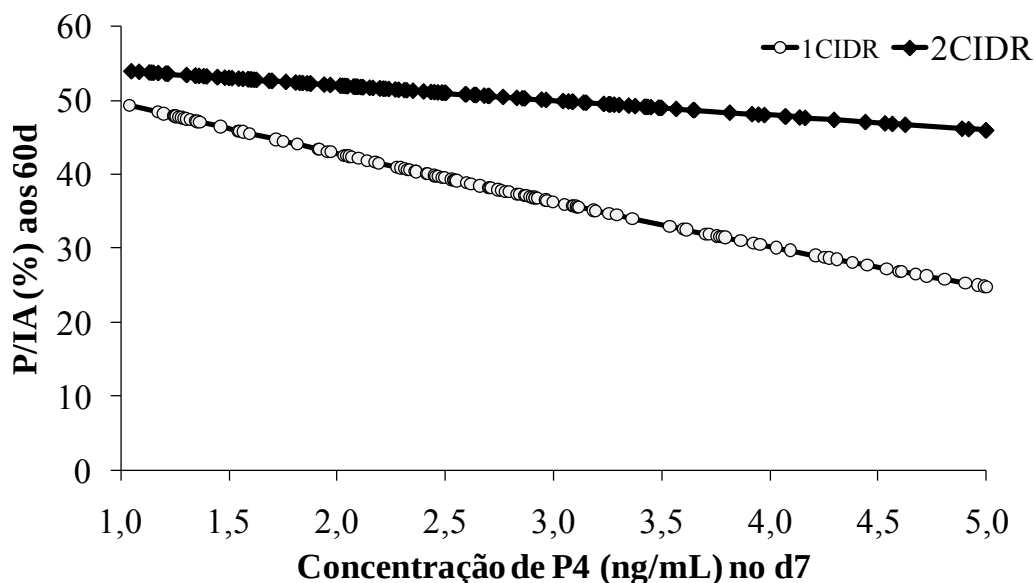


Figura 2. Efeito da concentração de P4 no d7 por tratamento [1CIDR (n = 133; P = 0,08) vs. 2CIDR (n = 126; P = 0,66)] na P/IA aos 60 d em vacas sincronizadas

2.1. Experimento 2 (TETF)

Não houve efeito do tratamento na P/TE aos 32 d (P = 0,28), aos 60 d (P = 0,39) ou na perda de gestação (P = 0,35). (tabela 3)

Tabela 3. Efeito do tratamento na P/TE aos 32, 60 d e perda de gestação para vacas sincronizadas que receberam embrião, protocoladas com 1 ou 2 CIDR.

Protocolo			
Item*	1CIDR	2CIDR	Valor P
P/TE ¹ (vacas sincronizadas)			
32 d	29,3 (56/191)	32,1 (53/165)	0,28
60d	24,4 (46/191)	25,8 (42/165)	0,39
Perda de gestação	17,9 (10/56)	20,8 (11/53)	0,35

* Média dos quadrados mínimos (no./no.)

¹ Vacas sincronizadas - CL no d7

Não houve efeito da concentração de P4 no d7 na P/TE aos 60 d em vacas que receberam embrião nos tratamentos 1CIDR (n = 71; P=0,69) e 2CIDR (n = 74; P=0,11).

4. Discussão

Neste estudo foi avaliado o efeito da utilização de 2 dispositivos intravaginais de P4 na fertilidade de vacas em lactação submetidas à protocolos de IATF e TETF que utilizam E2 e P4 para sincronizar a ovulação. Apenas vacas com P4 ($\leq 1,0$ ng/mL) foram utilizadas. Como esperado, a utilização de 2 dispositivos intravaginais de P4 aumentou a concentração de P4 no momento da PGF. Em protocolos à base de E2/P4, foi relatado menor fertilidade em vacas sem CL no momento da PGF [P/IA 60 d sem CL = 16,7% (56/335) vs. CL = 24,1% (62/257), $P = 0,02$] (PEREIRA et al., 2013a), sugerindo que em animais sem CL, mesmo recebendo um dispositivo intravaginal de P4 não apresentam fertilidade similar a vacas com CL. Em protocolos Ovsynch Stevenson et al. (2008) observaram melhor P/IA quando utilizaram dispositivo de P4 em vacas anovulares [24,1% (28/116) vs. 32,3% (50/155)], porém Stevenson et al. (2006) [33,5% (30/88) vs. 30,3% (29/96)] e Chebel et al. (2010) [31,4 (70/223) vs. 27,2% (60/221)] não observaram diferença na P/IA em vacas anovulares quando utilizaram ou não dispositivos de P4, respectivamente. Resultados inconsistentes na fertilidade de vacas anovulares sincronizadas com implantes de P4 também foram observados por Bisinotto e Santos, (2011). O que possivelmente explique esses resultados é que a utilização de apenas um dispositivo de P4 em vacas em lactação aumenta a concentração de P4 em aproximadamente 0,78 a 1,0 ng/mL (CERRI et al., 2009; LIMA et al., 2009; PEREIRA et al., 2013a), porém vacas no diestro apresentam P4 entre 4,0 a 5,8 ng/mL (SARTORI et al., 2004). Como vacas em diestro apresentam melhores taxas de P/IA em protocolos de IATF (VASCONCELOS et al., 1999; BISINOTTO et al., 2010a), a utilização de apenas um implante de P4, provavelmente não aumenta a concentração de P4 suficientemente para se obter melhores índices de fertilidade.

No presente estudo, não houve efeito do tratamento na taxa de sincronização, entretanto o tratamento com 2CIDR aumentou a P/IA aos 60 d em vacas sincronizadas (tab 01). Na TE não houve efeito do tratamento na P/TE aos 32 e 60 d (tab 03). A adição de 2 dispositivos de P4 foi avaliada em estudos anteriores (BISINOTTO et al., 2013) utilizando protocolo co-synch em vacas sem CL (d-8 GnRH, d -3 e d-2 PGF, d0 GnRH + IATF), onde observaram fertilidade similar a vacas no diestro [CON 28,6% (67/234), 2CIDR 43,7% (94/215), Diestro 47,3% (445/941)]. Estudos demonstraram

que a concentração de P4 durante o desenvolvimento folicular pode influenciar na qualidade do embrião. Cerri et al. (2011a), coletando um único embrião 6 dias após a inseminação, quando folículos se desenvolveram sob alta ou baixa P4, observaram similar taxa de fertilização entre os grupos e tendência de menor qualidade embrionária para o grupo baixa P4. Wiltbank et al. (2011) observaram maior proporção ($P = 0,02$) de embriões graus 1 e 2 em vacas com alta P4 (86,2%) do que em vacas com baixa P4 (61,5%) quando submetidas a IATF. Rivera et al. (2011) demonstraram aumento significativo (78,6% vs. 55,9%) no percentual de embriões transferíveis quando doadoras superovuladas com FSH na primeira onda folicular receberam a adição de 2 dispositivos de P4 em comparação ao grupo controle. Os resultados obtidos no presente estudo demonstram a importância da concentração da P4 durante o desenvolvimento folicular em protocolo a base de E2/P4 e sugere que o maior efeito pode estar relacionado à melhor qualidade do oócito e/ou embrião inicial, pois não foi observado efeito da utilização de 2CIDR na fertilidade das receptoras de embrião, possivelmente por receberem apenas embriões de excelente qualidade.

O tratamento com 2CIDR resultou em menor concentração de P4 no d7. A maior concentração de P4 no d7 está associada à melhor fertilidade em vacas inseminadas em tempo fixo (DIAS et al., 2009; PEREIRA, et al., 2013 a,b). Neste estudo, houve tendência de vacas com maior concentração de P4 no d7 apresentar menor P/IA aos 60 d no tratamento 1CIDR, entretanto não houve efeito da concentração de P4 na P/IA no tratamento 2CIDR. Cunha et al. (2008) observaram que vacas com alta P4 durante o desenvolvimento folicular, apresentaram maior fertilidade e menor concentração de P4 após IA que vacas com baixa P4 durante o desenvolvimento folicular. Vasconcelos et al. (1999) observaram que vacas que apresentaram menor folículo ovulatório apresentaram melhor fertilidade que vacas com folículos ovulatórios maiores em protocolos Ovsynch. Resultados inconsistentes entre estudos são observados em relação a P4 no d7 na fertilidade (WILTBANK, 2012). Diferentes tratamentos antes da IATF podem estar relacionados com alterações nas concentrações de P4 no d7, sugerindo que o efeito da P4 antes da IATF possa ter maior efeito que a P4 após a IATF.

Neste estudo houve interação entre diâmetro do folículo e tratamento na fertilidade (fig 01). Vacas com folículos de maior diâmetro (≥ 14 mm) apresentaram maior P/IA quando receberam 2CIDR, mesmo apresentando menor concentração de P4 no d7.

Alguns estudos demonstraram correlações positivas entre o diâmetro do folículo ovulatório e P/IA (PERRY et al., 2005, 2007; DIAS et al., 2009 e PERES et al., 2009). Neste trabalho o efeito do folículo na P/IA não depende apenas do diâmetro no momento da IA, mas também do que ocorreu durante o desenvolvimento folicular. Pereira et al. (2013a), comparando protocolos à base de GnRH vs. E2, demonstram que em protocolos à base de GnRH os folículos de maior diâmetro têm melhor P/IA (linear), enquanto que em protocolos à base de E2, folículos <11mm ou >17mm têm menor P/IA. Em estudos anteriores, utilizando apenas 1CIDR em protocolos de IATF à base de E2/P4 (PEREIRA et al., 2013 a,b), folículos de maior diâmetro apresentaram menores taxas de P/IA. A menor concentração de P4 no d-3 em vacas que receberam apenas 1CIDR pode ter resultado em maior pulsatilidade de LH (INSKEEP, 2004), prejudicando a fertilidade neste grupo. Maiores frequência de pulsos de LH têm sido associadas à maturação prematura do oócito (REVAH e BUTLER, 1996; INSKEEP, 2004). Normalmente a maturação do oócito é induzida pelo pico de LH, mas o processo de maturação deve ser mediado através das células da granulosa, uma vez que os oócitos não possuem receptores para LH (EPPIG, 1991). Como observado em outros estudos, vacas que desenvolveram o folículo ovulatório sob maiores concentrações de P4 apresentaram embriões de melhor qualidade tanto em protocolos de superovulação (RIVERA et al., 2011), como em protocolos de IATF (WILTBank et al., 2011; CERRI et al., 2011a).

Folículos ovulatórios ≥ 14 mm correspondem a 66% dos animais no presente estudo (experimento 1), e nestes o tratamento 2CIDR teve maior P/IA em relação ao tratamento 1CIDR.

5. Conclusão

Utilização de 2 dispositivos de P4 aumentou a concentração de P4 durante o desenvolvimento folicular e a fertilidade de vacas em lactação sem CL e com P4 ≤ 1 ng/mL submetidas à IATF, mas não à TE, sugerindo que a melhora na fertilidade está relacionada a melhor qualidade do oócito e/ou embrião inicial.

6. Referências

BARUSELLI, P.S.; E.L. REIS, N.A.T. CARVALHO, J.B.P. CARVALHO. eCG increase ovulation rate and plasmatic progesterone concentration in Nelore (*Bos indicus*) heifers treated with progesterone releasing device. In: *International Congress on Animal Reproduction*, 2004.

BARUSELLI, P.S.; M.O. MARQUES, L.F. NASSER, E.L. REIS, AND G.A. BO. Effect of eCG on pregnancy rates of lactating zebu beef cows treated with CIDR-b devices for timed artificial insemination. *Theriogenology* 59:214. (Abstract). 2003.

BISINOTTO, R.S.; E.S. RIBEIRO, F.S. LIMA, N. MARTINEZ, L.F. GRECO, L.F.S.P. BARBOSA, P.P. BUENO, L.F.S. SCAGION, W.W. THATCHER, AND J.E.P. SANTOS. Targeted progesterone supplementation improves fertility in lactating dairy cows without a corpus luteum at the initiation of the timed artificial insemination protocol. *Journal of Dairy Science*.96:1-12. 2013.

BISINOTTO, R. S.; AND J. E. P. SANTOS. The use of endocrine treatments to improve pregnancy rates in cattle. *Journal of Reproduction and Fertility*. 24:258–266. 2011.

BISINOTTO, R. S.; E. S. RIBEIRO, L. T. MARTINS, R. S. MARSOLA, L. G. GRECO, M. G. FAVORETO, C. A. RISCO, W. W. THATCHER, AND J. E. P. BISINOTTO, R.S.; R.C. CHEBEL, J.E.P. SANTOS. Follicular wave of the ovulatory follicle and not cyclic status influences fertility of dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 93:3578-3587. 2010a.

BISINOTTO, R. S.; E. S. RIBEIRO, L. T. MARTINS, R. S. MARSOLA, L. G. GRECO, M. G. FAVORETO, C. A. RISCO, W. W. THATCHER, AND J. E. P. SANTOS. Effect of interval between induction of ovulation and artificial insemination (AI) and supplemental progesterone for resynchronization on fertility of dairy cows subjected to a 5-d timed AI program. *Journal of Dairy Science*. 93:5798–5808. 2010b.

BLEACH, E. C. L., R. G. GLENCROSS, AND P. G. KNIGHT. Association between ovarian follicle development and pregnancy rates in dairy cows undergoing spontaneous oestrous cycle. *Reproduction* 127:621–629. 2004.

CERRI R.L.A., R.C CHEBEL, F. RIVERA, C.D NARCISO, R.A OLIVEIRA, M. AMSTALDEN, G.M BAEZ-SANDOVAL, L.J OLIVEIRA, W.W THATCHER, J.E.P SANTOS. Concentration of progesterone during the development of the ovulatory follicle. II. Ovarian and uterine responses. *Journal of Dairy Science*, 94:3352-3365. 2011a.

CERRI R.L.A, R.C.; CHEBEL, F. RIVERA, C.D NARCISO, R.A OLIVEIRA, W.W THATCHER, J.E.P SANTOS. Concentration of progesterone during the development of the ovulatory follicle. I. Ovarian and embryonic responses. *Journal of Dairy Science*, 94:3342-3351. 2011b.

CERRI, R. L.; H. M. RUTIGLIANO, R. C. CHEBEL, AND J. E. P. SANTOS. Period of dominance of the ovulatory follicle influences embryo quality in lactating dairy cows. *Reproduction* 137:813–823. 2009a.

CERRI, R.L.A.; H.M. RUTIGLIANO, R.G.S. BRUNO, AND J.E.P. SANTOS. Progesterone concentration, follicular development and induction of cyclicity in dairy cows receiving intravaginal progesterone inserts. *Animal Reproduction Science*. 110:56-70. 2009b.

CERRI, R. L., J. E. SANTOS, S. O. JUCHEM, K. N. GALVAO, AND R. C.CHEBEL. Timed artificial insemination with estradiol cypionate or insemination at estrus in high-producing dairy cows. *Journal of Dairy Science* 87:3704–3715. 2004.

CHEBEL, R. C.; M. J. AL-HASSAN , P. M. FRICKE , J. E. P. SANTOS , J. R. LIMA, C. A. MARTEL , J. S. STEVENSON , R. GARCIA AND R. L. AX. Supplementation of progesterone via controlled internal drug release inserts during ovulation

synchronization protocols in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 93 :922–931, 2010.

CHEBEL, R. C.; J. E. P. SANTOS, R. L. A. CERRI, H. M. RUTIGLIANO, AND R. G. S. BRUNO. Reproduction in dairy cows following progesterone insert presynchronization and esynchronization protocols. *Journal of Dairy Science*. 89: 4205-4219. 2006.

CUNHA A.P.,; J.N. GUENTHER, M.J. MARONEY, J.O. GIORDANO, A.B. NASCIMENTO, H. BAS S,H. AYRES , M.C, WILTBANK. Effects of high vs. low progesterone concentrations during Ovsynch on double ovulation rate and pregnancies per AI in high producing dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 91(suppl 1):246. (abstract). 2008.

DEMÉTRIO, D.G.B.; R.M. SANTOS, C.G. DEMETRIO, J.L.M VASCONCELOS. Factors affecting conception rates following artificial insemination or embryo transfer in lactating Holstein cows. *Journal of Animal Science*, v. 90, p. 5073 – 5082, 2007.

DENICOL, A. C.; G. LOPES JR. L.G.D. MENDONCA, F.A. RIVERA, F. GUAGNINI, R.V. PEREZ, J.R. LIMA, R.G. BRUNO, J.E.P. SANTOS, AND R.C. CHEBEL. Low progesterone concentration during the development of the first follicular wave reduces pregnancy per insemination of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 95:1794–1806. 2012.

DIAS, C. C.; F. S WECHSLER,. M. L DAY, J. L. M. VASCONCELOS, Progesterone concentrations, exogenous eCG and timing of prostaglandin F2a treatment affect fertility in postpubertal Nelore heifers. *Theriogenology*, v.72, p.378 – 385, 2009.

EPPIG JJ, Intercommunication between mammalian oocytes and companion somatic cells *BioEssays*. v.13, p.569-574, 1991.

FASS.; (Federation of Animal Science Societies). Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Agricultural Research and Teaching. 1st rev. ed. FASS, Savoy, IL. 1999.

INSKEEP, E. K. Preovulatory, postovulatory, and postmaternal recognition effects of concentrations of progesterone on embryonic survival in the cow. *Journal of Dairy Science*. 82 (E-Suppl.) E24–E39. 2004.

LIMA, J. R., F. A. RIVERA, C. D. NARCISO, R. OLIVEIRA, R. C. CHEBEL AND J. E. P. SANTOS. Effect of increasing amounts of supplemental progesterone in a timed artificial insemination protocol on fertility of lactating dairy cows. . *Journal of Dairy Science*. 92:5436–5446. 2009.

LONERGAN, P. Influence of progesterone on oocyte quality and embryo development in cows. *Theriogenology* 76:1594–1601. 2011.

NRC. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. National Academy Press, Washington, DC. 2001.

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

PEREIRA, M.H.C., A.D.P. RODRIGUES, T. MARTINS, W.V.C. OLIVEIRA, SILVEIRA, P.S.A, M.C. WILTBANK, J.L.M. VASCONCELOS. Timed Artificial Insemination Programs During Summer in Lactating Dairy Cows: Comparison of the 5-d Cosynch protocol with an Estrogen/Progesterone-based protocol. (Submetido ao *Journal of Dairy Science*). 2013a.

PEREIRA, M. H. C.; C. P. SANCHES, T. G. GUIDA, A. D. P. RODRIGUES, F. L. ARAGON, M. B. VERAS, P. T. BORGES, M. C. WILTBANK, AND J. L. M.

VASCONCELOS Timing of prostaglandin F2 α treatment in an estrogen-based protocol for timed artificial insemination or timed embryo transfer in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. May;96:2837-46. 2013b.

PERRY, G. A.; SMITH, M. F.; ROBERTS, A. J.; MacNEIL, M. D.; GEARY, T. W. Relationship between size of the ovulatory follicle and pregnancy success in beef heifer. *J.Anim.Sci*, v.85, p. 684 - 689, 2007.

PERRY, G. A.; SMITH, M. F.; LUCY, M. C.; GREEN, A. J.; PARKS, T. E.; MacNEIL, M.D.; ROBERTS, A. J.; GEARY, T. W. Relationship between follicle size pregnancy success. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 102, p. 5268-5273, 2005.

PURSLEY, J. R., M. R. KOSOROK, AND M. C. WILTBANK. Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. . *Journal of Dairy Science*. 80:301–306. 1997a.

PURSLEY, J. R., M. C. WILTBANK, J. S. STEVENSON, J. S. OTTOBRE, H. A. GARVERICK, AND L. L. ANDERSON. Pregnancy rates per artificial insemination for cows and heifers inseminated at a synchronized ovulation or synchronized estrus. . *Journal of Dairy Science*. 80:295-300. 1997b.

REVAH, I A.N.D. W. R. BUTLER. Prolonged dominance of follicles and reduced viability of bovine oocytes. *Journal of Reproduction and Fertility*. 106:39–47. 1996.

RIVERA, F. A.; L. G. MENDONÇA, G. LOPES JR., J. E. P. SANTOS, R. V. PEREZ, M. AMSTALDEN, A. CORREA-CALDERÓN, AND R. C. CHEBEL. Reduced progesterone concentration during growth of the first follicular wave affects embryo quality but has no effect on. *Reproduction*, 141:333–342. 2011.

RUTIGLIANO, H.M., F.S. LIMA, R.L.A. CERRI, L.F. GRECO, J.M. VILLELA, V. MAGALHÃES, F.T. SILVESTRE, W.W. THATCHER, AND J.E.P. SANTOS.

EFFECTS of method of presynchronization and source of selenium on uterine health and reproduction in dairy cows. . *Journal of Dairy Science*. 91:3323–3336. 2008.

SÁ FILHO, O.G.; MENEGHETTI, M.; PERES, R. F. G.; LAMB, G. C.; VASCONCELOS, J. L. M. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cattle: II. Strategies and factors affecting fertility. *Theriogenology*, v.72, p. 210-218, 2009.

SANGSRITAVONG, S., D. K. COMBS, R. SARTORI, AND M. C. WILTBANK. High feed intake increases blood flow and metabolism of progesterone and estradiol- 17β in dairy cattle. . *Journal of Dairy Science*. 85:2831–2842. 2002.

SANTOS, J.E.P. Vacas anovular (anestro/cisto/dinâmica folicular); fisiologia, fatores de risco, impacto e tratamento. In: XV Curso Novos Enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos. Anais... Uberlândia, 2010a.

SANTOS, J.E.P.; C.D. NARCISO, F. RIVERA, W.W. THATCHER, AND R.C. CHEBEL. Effect of reducing the period of follicle dominance in a timed AI protocol on reproduction of dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 93, 2976–2988. 2010b.

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

SANTOS, R. M.; e J. L. M. VASCONCELOS. Ingestão de concentrado e concentração plasmática de progesterona em vacas da raça Holandesa. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.58, n.6, p.1162-1167, 2006.

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

SOUZA, A. H., S. VIECHNIESKI, F. A. LIMA, F. F. SILVA, R. ARAUJO, G. A. BO, M. C. WILTBANK, AND P. S. BARUSELLI. Effects of equine chorionic gonadotropin and type of ovulatory stimulus in a timed-AI protocol on reproductive responses in dairy cows. *Theriogenology* 72:10–21. 2009.

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

TOWNSON, D. H., P. C. TSANG, W. R. BUTLER, M. FRAJBLAT, L. C. GRIEL JR., C. J. JOHNSON, R. A. MILVAE, G. M. NIKSIC, AND J. L. PATE. Relationship of fertility to ovarian follicular waves before breeding in dairy cows. . *Journal of Dairy Science*. 80:1053–1058. 2002.

VASCONCELOS, J.L.M.; R.F. COOKE, D.T.G. JARDINA, F.L. ARAGON, M.B. 22 VERAS, S. SORIANO, N. SOBREIRA, A.B. SCARPA. Associations among milk production and rectal temperature on pregnancy maintenance in lactating recipient dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 2011a.

VASCONCELOS, J. L. M.; O. G. SA FILHO, P. L. T. JUSTOLIN, P. MORELLI, F. L. ARAGON, M. B. VERAS, AND S. SORIANO. Effects of postbreeding gonadotropin treatments on conception rates of lactating dairy cows subjected to timed artificial insemination or embryo transfer in a tropical environment. *Journal of Dairy Science*. 94:223–234. 2011b.

VASCONCELOS, J.L.M.; D.G.B. DEMETRIO, R.M.SANTOS, J.R. CHIARI, C.A. RODRIGUES, AND O.G. SA FILHO. Factors potentially affecting fertility of lactating dairy cow recipients. *Theriogenology* 65:192–200. 2006.

VASCONCELOS, J. L. M.; S. SANGSRITAVONG, S. J. TSAI, AND M. C. WILTBANK. Acute reduction in serum progesterone concentration after feed intake in dairy cows. *Theriogenology* 60:795–807. 2003.

VASCONCELOS, J. L. M.; R. W. SILCOX, G. J. ROSA, J. R. PURSLEY, AND M. C. WILTBANK. Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows. *Theriogenology* 52:1067-1078. Wulster-Radcliffe, M. C., R. C. Seal. 1999.

Wildman, E. E., G. M. Jones, P. E. Wagner, R. L. Boman, H. F. Troutt Jr., and T. N. Lesch. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. *Journal of Dairy Science* 65:495–501. 1982.

WILTBANK, M.C.; S.M. SALIH, M.O. ATLI, W. LUO, C.L. BORMANN, J.S. OTTOBRE, C.M. VEZINA, V. MEHTA, F.J. DIAZ, S.J. TSAI, R. SARTORI. Comparison of endocrine and cellular mechanisms regulating the corpus luteum of primates and ruminants. *Animal Reproduction Science*, 9:242-259. 2012.

WILTBANK M.C., P.D.CARVALHO, A. KESKIN, K.S. HACKBART, M.A. MESCHIATTI, M.R. BASTOS, J.N. GUENTHER, A.B. NASCIMENTO, M.M. HERLIHY, M.C. AMUNDSON & A.H. SOUZA. Effect of progesterone concentration during follicle development on subsequent ovulation, fertilization, and early embryo development in lactating dairy cows. *Biology of Reproduction*. 85: 685. 2011.

WRIGHT, J. M. Photographic illustrations of embryo developmental stage and quality scores. Pages 161–170 in Manual of the International Embryo Transfer Society. 3rd ed. D. A. Stringfellow and S. M. Seidel, ed. International Embryo Transfer Society (IETS), Savoy, IL. 1998.

CAPÍTULO 3

CONSIDERAÇÕES GERAIS E IMPLICAÇÕES

Considerações Gerais e Implicações

Protocolos hormonais para IATF ou TETF são estratégias que podem melhorar os índices reprodutivos nos rebanhos, pois além de aumentar as taxas de serviço, podem também melhorar a concepção. Suplementação de progesterona em vacas sem CL e com baixa P4 no início dos protocolos à base de E2/P4 aumentou a fertilidade a IATF. Portanto essa é uma estratégia que deve ser utilizada em vacas sem presença de corpo lúteo no início do protocolo de IATF.