

UFRRJ
INSTITUTO DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA
VETERINÁRIA

TESE

Estratégias para Aumentar a Eficiência Reprodutiva em
Fêmeas Bovinas Submetidas à IATF

Samuel Rodrigues Bonamichi do Couto

2022



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**ESTRATÉGIAS PARA AUMENTAR A EFICIÊNCIA
REPRODUTIVA EM FÊMEAS BOVINAS
SUBMETIDAS À IATF**

SAMUEL RODRIGUES BONAMICHI DO COUTO

Sob a orientação do Professor
Marco Roberto Bourg de Mello

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências** no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Ciências Clínicas.

Seropédica, RJ
Maio de 2022

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

C 725e Couto, Samuel Rodrigues Bonamichi, 1988-
ESTRATÉGIAS PARA AUMENTAR A EFICIÊNCIA REPRODUTIVA
EM FÊMEAS BOVINAS SUBMETIDAS À IATF / Samuel Rodrigues
Bonamichi Couto. - Seropédica, 2022.
75 f.

Orientador: Marco Roberto Bourg de Mello.
Tese(Doutorado). -- Universidade Federal Rural do Rio
de Janeiro, PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA
VETERINÁRIA, 2022.

1. bovinos. 2. estresse. 3. fluxo sanguíneo. 4.
progesterona. 5. fertilidade. I. Roberto Bourg de
Mello, Marco, 1971-, orient. II Universidade Federal
Rural do Rio de Janeiro. PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
MEDICINA VETERINÁRIA III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

SAMUEL RODRIGUES BONAMICHI DO COUTO

Tese submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de **Doutor**, no Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Patologia e Ciências Clínicas

TESE APROVADA EM 27/05/2022

Conforme deliberação número 001/2020 da PROPPG, de 30/06/2020, tendo em vista a implementação de trabalho remoto e durante a vigência do período de suspensão das atividades acadêmicas presenciais, em virtude das medidas adotadas para reduzir a propagação da pandemia de Covid-19, nas versões finais das teses e dissertações as assinaturas originais dos membros da banca examinadora poderão ser substituídas por documento(s) com assinaturas eletrônicas. Estas devem ser feitas na própria folha de assinaturas, através do SIPAC.

Dr. MARCO ROBERTO BOURG DE MELLO, UFRRJ
(Orientador / Presidente da Banca)

Dra. VERA LUCIA TEIXEIRA DE JESUS, UFRRJ

Dr. JULIO CESAR FERRAZ JACOB, UFRRJ

Dr. FELIPE ZANDONADI BRANDÃO, UFF

Dr. MARCELO SIMÃO DA ROSA, IFSULDEMINAS

Dr. ÂNGELO JOSÉ BURLA DIAS, UENF



Emitido em 01/06/2022

ATA N° 2468/2022 - PPGMV (12.28.01.00.00.00.51)

(N° do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)

(Assinado digitalmente em 15/06/2022 22:59)

JULIO CESAR FERRAZ JACOB
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DeptRAA (12.28.01.00.00.00.64)
Matrícula: 2202309

(Assinado digitalmente em 15/06/2022 15:50)

MARCO ROBERTO BOURG DE MELLO
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DeptRAA (12.28.01.00.00.00.64)
Matrícula: 1548043

(Assinado digitalmente em 15/06/2022 21:23)

VERA LUCIA TEIXEIRA DE JESUS
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DeptRAA (12.28.01.00.00.00.64)
Matrícula: 1201559

(Assinado digitalmente em 16/06/2022 09:24)

FELIPE ZANDONADI BRANDÃO
ASSINANTE EXTERNO
CPF: 069.372.617-21

(Assinado digitalmente em 15/06/2022 15:51)

MARCELO SIMÃO DA ROSA
ASSINANTE EXTERNO
CPF: 997.749.337-53

(Assinado digitalmente em 21/06/2022 15:07)

ANGELO JOSÉ BURLA DIAS
ASSINANTE EXTERNO
CPF: 641.157.986-53

Para verificar a autenticidade deste documento entre em <https://sipac.ufrrj.br/documentos/> informando seu número:
2468, ano: **2022**, tipo: **ATA**, data de emissão: **15/06/2022** e o código de verificação: **23bd6c2046**

“Por mais inteligente que alguém possa vir a ser, se não for humilde, o seu melhor se perde na arrogância. A humildade ainda é a parte mais significativa e bela da sabedoria. Conhecimento não significa sabedoria pois um ajuda você a ganhar a vida e outro a construir uma vida”.

Autor Desconhecido

À Deus pela oportunidade de estar aqui aprendendo e evoluindo, por tudo que ele proporciona em minha vida. A todos espíritos de luz de sua seara que estão sempre nos protegendo intuindo e nos guiando nessa jornada.

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Deus pela minha vida e por me permitir trilhar esse caminho, sempre com força, fé e humildade.

À minha família pelo apoio, sempre me auxiliando e me aconselhando a trilhar o melhor caminho.

À minha namora Pamella, pela cumplicidade e suporte nessa caminhada.

Ao meu orientador Marco Mello pela paciência, amizade e ensinamentos cruciais para minha formação acadêmica e pessoal.

Aos amigos Yuri Barbosa, Rodolfo Miranda, pelo auxílio na execução do experimento.

À fazenda São Joao, ao seu Ademar Galvão e sua filha Claudia que abriram as portas para que esse projeto fosse possível.

À fazenda São Clemente pelo auxílio.

Aos Funcionários da Fazenda São João, Cleber e Henrique pelo auxílio e ensinamentos nos manejos.

A todos professores, funcionários, pós-graduandos e estagiários do Setor de Reprodução Animal da UFRRJ por todos esses anos de convivência e ensinamentos.

Ao Programa de pós-graduação em Medicina Veterinária pela oportunidade de realizar o doutorado e a CAPES e à FAPERJ pela bolsa que viabilizou esses anos de estudo.

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

RESUMO GERAL

COUTO, Samuel Rodrigues Bonamichi. **Estratégias para aumentar a eficiência reprodutiva em fêmeas bovinas submetidas à IATF**. 2022. 63p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária, Ciências Clínicas). Instituto de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2022.

O presente estudo foi dividido em dois capítulos, sendo que o primeiro teve como objetivo correlacionar diferentes estratégias de suplementação de progesterona (P4) em fêmeas da raça Nelore com diferentes temperamentos e a concentração de cortisol. Adicionalmente, foi avaliado o efeito destas estratégias e do temperamento animal sobre a taxa de concepção. O segundo capítulo teve por objetivo avaliar a eficiência de diferentes estratégias para elevar a concentração da P4 circulante em fêmeas da raça Nelore sobre a funcionalidade do corpo lúteo (CL), taxa de concepção e sobre a perda gestacional. Para os dois experimentos, 939 vacas foram submetidas à sincronização da ovulação e inseminadas em tempo fixo (IATF). Após a IATF, os animais foram distribuídos em três grupos: P4LA (n=305) 150mg de progestágeno injetável de longa ação, 7 dias após a IATF; GnRH (n=306), 10µg de acetato de busarelina, 7 dias após IATF; Grupo Controle (n=328) sem aplicação de hormônio. Avaliações ultrassonográficas em modo B (folículo pré-ovulatório - FPO) foram realizadas no dia da IA e as avaliações Doppler colorido (CL) foram realizadas no dia da inseminação, 7 e 16 dias após. Amostras de sangue foram coletadas no dia da IATF assim como no 7º e 16º dias após, para dosagem de cortisol e P4, respectivamente. No primeiro capítulo, no momento da inseminação, os animais foram pontuados em escore de acordo com o comportamento apresentado, por meio desta avaliação eles foram classificados em animais de temperamento excitável (EXC) ou adequado (ADQ). Animais classificados como excitáveis tiveram maiores concentrações de cortisol e apresentaram menores volumes de FPO e CL sete dias após a IATF. Não foi observada diferença entre as variáveis intensidade e número de pixels do CL além das concentrações de P4, sete dias após a inseminação. Entre os animais EXC, os grupos GnRH e P4LA apresentaram maiores concentrações de P4. Houve uma tendência de menor concentração de P4 nos animais EXC quando comparados com ADQ no grupo controle (p=0,06). Os animais do grupo controle classificados como EXC apresentaram menor perfusão vascular comparado ao ADQ (p=0,04). Entre os animais ADQ, os grupos GnRH e P4LA apresentaram menor perfusão vascular comparado ao controle (p=0,04). Entre os animais EXC, foi observada maior taxa de concepção para os grupos GnRH e P4LA comparado ao controle (p=0,01). No grupo controle, a taxa de concepção dos animais ADQ foi maior comparado com animais EXC (p=0,05). No experimento 2, não foi observada diferença significativa entre os tratamentos nas variáveis volume, intensidade e número de pixels do CL, assim como em relação a concentração de P4, 7 dias após a ovulação. A perfusão vascular do CL 16 dias após a ovulação foi menor nos grupos P4LA e GnRH (P<0,01). As concentrações plasmáticas de P4, 16 dias após a ovulação, foram maiores nos grupos P4LA e GnRH em relação ao grupo controle (P=0,04). Foi observada diferença na taxa de concepção (P=0,003) e uma tendência na perda gestacional (P=0,07) em função dos tratamentos. Conclui-se que que utilização de GnRH ou P4 sete dias após a ovulação afeta a vascularização do CL aumenta as concentrações plasmáticas de P4 dezesseis dias após a ovulação e melhora as taxas de concepção em animais excitáveis, sendo uma alternativa viável a fim de minimizar o impacto negativo do estresse e melhorar os índices reprodutivos.

Palavras chave: bovinos, estresse, fluxo sanguíneo, progesterona, fertilidade.

GENERAL ABSTRACT

COUTO, Samuel Rodrigues Bonamichi. **Strategies to increase the reproductive efficiency of Nelore submitted to TAI.** 2022. 63p Thesis (Doctorate in Veterinary Medicine, Clinical Sciences). Instituto de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2022.

The present study was divided into two chapters, the first of which aimed to correlate different progesterone (P4) supplementation strategies in Nelore females with temperament and cortisol concentration. Additionally, the effect of these strategies and animal temperament on conception rate was evaluated. The second chapter aimed to evaluate the efficiency of different strategies to increase the concentration of circulating P4 in Nelores females on the functionality of the corpus luteum (CL), conception rate and on pregnancy loss. For the two experiments, 939 cows were submitted to ovulation synchronization and inseminated at a fixed time (TAI). After the TAI, the animals were divided into three groups: P4LA (n=305) 150mg of long-acting injectable progestagen, 7 days after the TAI; GnRH (n=306), 10µg buserelin acetate, 7 days after FTAI; Control Group (n=328) without hormone application. B-mode ultrasound assessments (preovulatory follicle - PFO) were performed on the day of AI and color Doppler (CL) assessments were performed on the day of insemination, 7 and 16 days later. Blood samples were collected on the day of the TAI as well as on the 7th and 16th days after, for cortisol and P4 measurements, respectively. In the first chapter, at the time of insemination, the animals were scored according to the behavior presented, through this evaluation they were classified as excitable (EXC) or suitable (ADQ) animals. Animals classified as excitable had higher concentrations of cortisol and lower volumes of OPF and CL, seven days after TAI. No significant difference was observed between the variables intensity and number of CL pixels in addition to P4 concentrations, seven days after insemination. Among EXC animals, the GnRH and P4LA groups showed higher concentrations of P4. There was a trend towards lower P4 concentration in EXC animals when compared with ADQ in the control group (p=0.06). Control group animals classified as EXC had lower vascular perfusion compared to ADQ (p=0.04). Among ADQ animals, the GnRH and P4LA groups showed lower vascular perfusion compared to the control (p=0.04). Among the EXC animals, a higher conception rate was observed for the GnRH and P4LA groups compared to the control (p=0.01). In the control group, the conception rate of ADQ animals was higher compared to EXC animals (p=0.05). In experiment 2, no significant difference was observed between treatments in the variables volume, intensity and number of CL pixels, as well as in relation to P4 concentration, 7 days after ovulation. CL vascular perfusion 16 days after ovulation was lower in the P4LA and GnRH groups (P<0.01). Plasma concentrations of P4, 16 days after ovulation, were higher in the P4LA and GnRH groups compared to the control group (P=0.04). There was a significant difference in the conception rate (P=0.003) and a trend in pregnancy loss (P=0.07) as a function of the treatments. It is concluded that the use of GnRH or P4 seven days after ovulation affects the vascularization of the CL, increases plasma concentrations of P4 sixteen days after ovulation and improves conception rates in excitable animals, being a viable alternative in order to minimize the negative impact of stress and improve reproductive indices.

Key words: cattle, stress, blood flow, progesterone, fertility.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO GERAL	1
2.	REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1	Bem-Estar Animal e Reatividade.....	3
2.2	Estresse e Reprodução.....	4
2.3	Importância da Progesterona	6
2.4	Suplementação Exógena de Progesterona	7
2.5	Indução de Corpo Lúteo Acessório.....	9
2.6	Perda Gestacional.....	11
3.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	15
4.	CAPÍTULO I MITIGAÇÃO DA BAIXA TAXA DE CONCEPÇÃO DE VACAS NELORE EXITÁVEIS PELA ADMINISTRAÇÃO DE GnRH OU P4	28
4.1.	Introdução	30
4.2.	Material e Métodos.....	31
4.2.1	Local, período e animais.....	31
4.2.2	Sincronização da ovulação e IATF	31
4.2.3	Delineamento experimental	31
4.2.4	Avaliação ultrassonográfica do folículo pré-ovulatório e do corpo lúteo	32
4.2.5	Avaliação da reatividade	32
4.2.6	Dosagem de cortisol e progesterona.....	33
4.2.7	Diagnóstico de gestação e perda gestacional.....	33
4.2.8	Análise estatística.....	34
4.3	Resultados.....	34
4.4	Discussão	38
4.5	Conclusão	41
4.6	Referências Bibliográficas.....	41
5.	CAPÍTULO II EFEITO DO INCREMENTO DE PROGESTERONA PLASMÁTICA SOBRE MORFOLOGIA E FUNÇÃO LUTEAIS E SOBRE A PERDA GESTACIONAL EM VACAS NELORES	47
5.1	Introdução	49
5.2	Material e Métodos.....	50
5.2.1	Local, período e animais.....	50
5.2.2	Sincronização da ovulação e IATF	50
5.2.3	Tratamentos experimentais	50
5.2.4	Avaliação ultrassonográfica do CL.....	50
5.2.5	Dosagem de progesterona sérica.....	51
5.2.6	Diagnóstico de gestação e da perda gestacional	51

5.2.7 Análise estatística.....	52
5.3 Resultados.....	52
5.4 Discussão	54
5.5 Conclusão	57
5.6 Referências	57
6. CONCLUSÕES GERAIS	63

1. INTRODUÇÃO GERAL

O crescimento da população mundial gera significativo aumento no consumo por alimentos de origem animal, com isso, o setor deve apresentar crescimento nos próximos anos, assim, é esperado que a produção de carne no Brasil continue crescendo rápido na próxima década (FAO, 2019).

Nesse cenário, o Brasil possui grande relevância possuindo o segundo maior rebanho bovino do mundo e dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2019), indicam que em 2018 o país possuía 215,3 milhões de cabeças. Ainda com relação aos animais abatidos, em 2018, foram 44,23 milhões de cabeças em todo o país, produzindo 10,26 milhões de toneladas de carcaça. O produto interno bruto (PIB) da pecuária de corte em 2018 somou 597,22 bilhões de reais obtendo um crescimento de 8,3% comparado com 2017, representando 8,7% do PIB brasileiro (ABIEC, 2019).

Na bovinocultura, o desempenho reprodutivo é um dos principais fatores que influenciam na eficiência dos sistemas de produção. Portanto, alternativas que visem melhorar a eficiência reprodutiva contribuem para melhorar o sistema pecuário brasileiro. Dentre essas alternativas, a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) vem sendo bastante utilizada. Em 2018, no Brasil, foram realizados 13,3 milhões de protocolos de IATF, sendo que 86% das inseminações realizadas no país foram via IATF (ASBIA, 2019).

Vários estudos vêm sendo conduzidos com o objetivo de melhorar a utilização das biotécnicas em programas reprodutivos em gado de corte, buscando aumentar a eficiência e a fertilidade de matrizes submetidas à IATF (DISKIN et al., 2003; MACEDO et al., 2011; VASCONCELOS et al., 2014). As perdas gestacionais estão entre as maiores causas da baixa eficiência reprodutiva em bovinos, causando grande impacto na lucratividade e na produtividade da bovinocultura. Com isso, várias estratégias têm sido investigadas a fim de diminuir essas perdas e aumentar a eficiência reprodutiva dos rebanhos (BELTMAN et al., 2009; JUNIOR et al., 2017; COUTO et al., 2019).

Em bovinos, um dos fatores causadores de infertilidade tem sido atribuído ao funcionamento inadequado do corpo lúteo (CL), sendo esta situação caracterizada por uma baixa concentração periférica de progesterona (P4). Uma deficiência na secreção desse hormônio esteróide por parte do CL poderia contribuir para perdas gestacionais.

A P4 está relacionada ao estabelecimento e manutenção da gestação e possui efeito positivo com a possibilidade de sobrevivência embrionária. Nesse contexto, estratégias para aumentar a concentração plasmática de progesterona após a IATF trariam benefícios no desenvolvimento embrionário diminuindo a perda gestacional.

Atualmente, cada vez mais o conceito de bem-estar animal é divulgado entre os consumidores, fazendo com que a cadeia produtiva se atente para técnicas que melhorem o bem-estar, aperfeiçoando o manejo e diminuindo o estresse. A reprodução é um dos processos biológicos mais susceptíveis aos efeitos do comprometimento do bem-estar animal. Os efeitos adversos causados pelo estresse nos animais podem afetar o desenvolvimento embrionário, influenciando negativamente a reprodução. No entanto, existe uma grande dificuldade em identificar o quanto esse estresse afeta o desenvolvimento embrionário, pois esse efeito é sutil, causando, de forma geral, problemas de subfertilidade ou de infertilidade em situações graves.

Assim, o conhecimento das respostas fisiológicas em relação a estratégias de incremento de P4 plasmática e ao estresse se faz necessário, sendo importante conhecer as adversidades que afetam as perdas gestacionais em bovinos, para que se possa aperfeiçoar as práticas de suplementação hormonais e de manejo, a fim de melhorar os resultados reprodutivos. Com isso, será possível demonstrar ao produtor a importância de um manejo adequado visando o bem-

estar animal e a importância do incremento de P4 plasmática como ferramenta para minimizar o impacto da perda gestacional e agregar eficiência aos sistemas de produção em bovinos.

Assim sendo, o presente estudo foi estruturado em dois capítulos, o primeiro capítulo, é um experimento com objetivo de correlacionar diferentes estratégias de suplementação de progesterona em fêmeas da raça Nelore submetidas a IATF com a reatividade e concentração de cortisol e sua influência na taxa de concepção. A hipótese é de que estratégias de aumento da concentração plasmática de progesterona aumentem as taxas de prenhez em vacas excitáveis minimizando a influência do estresse na eficiência reprodutiva. O segundo capítulo teve por objetivo avaliar a eficiência de diferentes estratégias para elevar a concentração da P4 circulante em fêmeas da raça Nelore submetidas à IATF sobre a funcionalidade do corpo lúteo (perfusão vascular e volume) e sobre perda gestacional. A hipótese desse capítulo é que o aumento das concentrações de progesterona plasmática não altera a funcionalidade do corpo lúteo e ainda melhora a taxa de concepção e diminui a perda gestacional.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Bem-Estar Animal e Reatividade

O conceito “bem-estar animal” pode sofrer influência de várias culturas e visões diferentes, dessa maneira surgiu na população preocupações éticas sobre a qualidade de vida dos animais, particularmente aqueles que estão envolvidos na agropecuária (DUNCAN, 2005).

Segundo Broom (1986), o bem-estar animal é definido como o estado do animal, frente as suas tentativas em se adaptar ao ambiente que se encontra. Já Oliveira et al. (2008) definem bem-estar animal como o estado de harmonia entre o animal e o ambiente em que vive, caracterizado por condições físicas e fisiológicas ótimas e alta qualidade dos animais.

Ao formular uma definição para o conceito bem-estar animal, Lynch (2010) afirma que esse termo não pode ser simplesmente explicado por uma definição. Sendo as cinco 'liberdades' formulada pelo Conselho de Bem-Estar dos Animais de Fazenda do Reino Unido uma diretriz ao construir uma definição para o termo. As cinco liberdades de grande importância para os animais são: liberdade fisiológica livre de fome e sede; liberdade ambiental livre de desconforto; liberdade sanitária livre de dor, ferimento e doença; liberdade comportamental livre para expressar comportamentos normais e liberdade psicológica livre de medo e angústia (ANDRADE et al., 2008).

Com base no exposto, nos últimos anos surgiram definições mais objetivas sobre a relação de bem-estar animal e estresse aplicado à produção animal. Arantes (2013) apontou que o estresse consiste basicamente nos desafios à homeostase que colocam em risco a produtividade dos rebanhos, causando impacto econômico. Outros autores definiram como a ruptura da homeostase dos organismos, existe uma resposta fisiológica ou comportamental contra o estímulo nocivo ou condição adversa do meio ambiente (MAZIERO et al., 2012); ou como a incapacidade de um animal em lidar com o seu ambiente, revelando o fracasso em alcançar seu potencial genético (DOBSON e SMITH, 2000).

Diferentes formas para avaliação de bem-estar animal vêm sendo discutidas na literatura nas últimas décadas, podendo ser divididas em 3 grupos, 1- indicadores de produção, 2- indicadores fisiológicos e 3- indicadores comportamentais (CAMBRIDGE E-LERNING INSTITUTE, 2006). Dentre as várias formas de avaliação de bem-estar, o estresse é o principal indicador (ENCARNAÇÃO, 1997).

A percepção do estresse frente a um estímulo interno ou externo por um animal resulta em um ajuste anormal ou grave em sua fisiologia (LYNCH, 2010; BURDICK et al., 2011). O estressor, portanto, representa uma ameaça e interrompe a homeostase (JAMILAH et al., 2019). Segundo GEBREGEZIABHEAR (2015), os animais de produção estão o tempo todo expostos aos fatores estressores, como doenças, transporte, temperamento, manejo, calor e frio. Durante o manejo reprodutivo, procedimento comuns, como palpação retal e inseminação podem ser agentes estressores importantes, causando medo e estresse psicológico (GRANDIN, 1997; MACEDO et al., 2012; ETIM et al., 2013).

A reatividade é a reação do animal frente ao manejo e não caracteriza o temperamento em si (PARANHOS DA COSTA et al., 2002), já o temperamento é o conjunto de traços psicofisiológicos estáveis de um animal (BURROW e CORBET, 2000). Animais mais reativos aumentam o custo de mão de obra e da produção, assim como o tempo para realização dos manejos (MAFFEI, 2009).

A reatividade é uma característica identificável pelo homem e diferentes sistemas de pontuação já foram desenvolvidos (MAFFEI et al., 2006). As técnicas atuais incluem escore de brete, velocidade de fuga e escore de saída (BASZCZAK et al., 2006).

Existem vários métodos para medir reatividade e temperamento em bovinos. A reatividade é frequentemente avaliada durante o manejo medindo o grau de perturbação do animal quando este é submetido a contenção. Entre os mais estudados estão os escores de reatividade (ER), o escore de saída (ES), o escore composto (EC) e a velocidade de saída (VS). Os escores de reatividade são escalas numéricas de acordo com características de temperamento e classes de comportamento, são variáveis nos trabalhos encontrados na literatura, de forma geral, os níveis vão de dócil a agressivo (ARGÔLO et al., 2010; SOARES et al., 2011). Podem ser encontradas variações nas escalas que vão de 3 a 10 níveis de reatividade (PARANHOS DA COSTA, 2002)

Outro método de avaliação do temperamento é a velocidade de saída da contenção, sendo caracterizado pela rapidez com que o animal sai da balança ou tronco de contenção direto para um espaço aberto, ou para umas das divisões do curral e que leva em consideração o tempo com que os animais levam para percorrer uma distância pré-determinada, sendo que menores tempos e maiores escores de tipo de marcha foram associados com maior reatividade (BURROW et al., 1988; CURLEY Jr. et al., 2006; SILVEIRA et al., 2008; FRIEDRICH et al., 2015).

Vetters et al. (2013) compararam dois métodos para avaliação da reatividade em gado de corte. Os autores utilizaram como parâmetros a velocidade de saída, empregando leitores infravermelhos para medir a velocidade do animal (em m/s) e a observação do escore de saída realizada por dois avaliadores, os quais avaliavam se o animal andava, trotava ou corria. Os autores concluíram que as duas formas de medida foram eficientes para avaliar a reatividade, podendo ser utilizadas como forma de avaliação, dependendo do manejo e característica da propriedade.

2.2 Estresse e Reprodução

O estresse é responsável por várias manifestações que afetam a eficiência reprodutiva ocasionando perda gestacional. Em situações onde há alguma ameaça ou desconforto causados pelos chamados agentes estressores, o animal pode responder emocionalmente, manifestando alterações comportamentais e fisiológicas denominadas genericamente de estresse (COSTA-E-SILVA et al., 2010). Este pode ser de natureza mecânica (traumatismos cirúrgicos ou não), física (calor, frio, som), química (drogas), biológica (agentes infecciosos), psíquica (medo) ou ainda por estado de nutrição (fome) (COOKE e BOHNERT, 2011).

Protocolos de IATF requerem manejos contínuos, expondo as fêmeas a agentes estressores como aplicações de hormônios e utilização de dispositivos intravaginais onde as fêmeas mais reativas podem apresentar índices reprodutivos prejudicados (COOKE et al., 2011; KASIMANICKAM et al., 2014).

A ação do estresse na reprodução ocorre de maneira complexa e envolve a liberação de vários hormônios. Quando o animal é exposto a um agente estressor, o Sistema Nervoso Simpático (SNS) é ativado (CUNNINGHAM, 2004), liberando adrenalina, noradrenalina e cortisol (MATTERI et al., 2000; STRAIN, 2006; PUGH et al., 2011; SANTOS et al., 2013) pela ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (BREEN et al., 2005). O hipotálamo secreta o hormônio liberador de corticotropina (CRH), que atua na hipófise estimulando a secreção de adrenocorticotropina (ACTH) que promove a liberação de catecolaminas e cortisol na adrenal (MATTERI et al., 2000; FERIN, 2006).

Alguns estudos demonstraram que o estresse pode afetar a dinâmica folicular e também a atividade do corpo lúteo, alterando a liberação do hormônio luteinizante (LH) (DOBSON e SMITH, 2000; BREEN et al., 2005; MARINHO et al., 2015). Segundo Vasconcelos et al.

(2014), picos de LH insuficientes promovem ovulação de folículos menores sendo esses associados a corpos lúteos menores e menor concentração de progesterona (Figura 1).

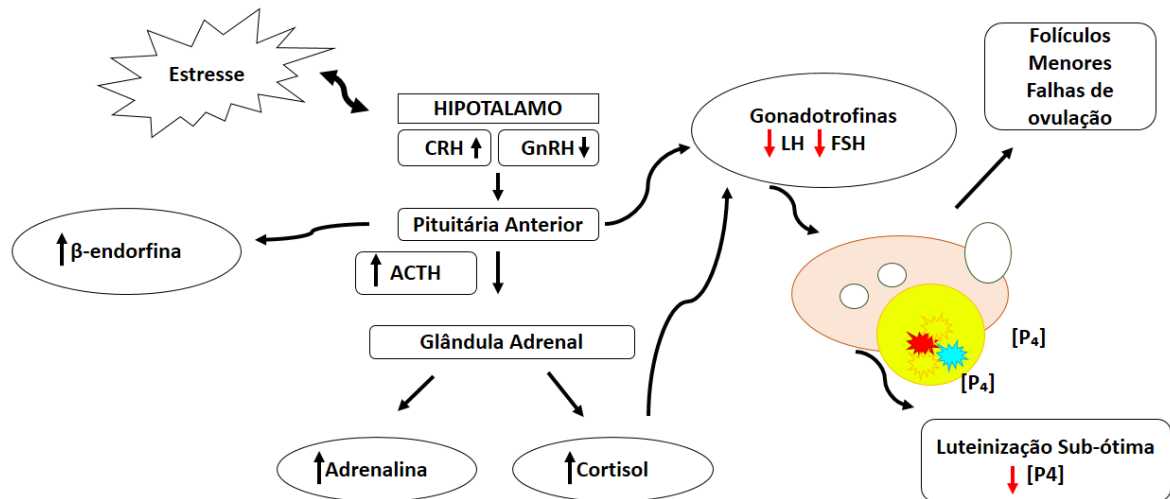


Figura 1. Efeito do estresse sobre a função reprodutiva (Adaptado de Santos et. al., 2013)

A elevação da concentração sanguínea de cortisol é um dos principais efeitos do estresse (SAPOLSKY et al., 2000). O cortisol age aumentando a energia para o metabolismo celular, e ainda, altas concentrações podem reduzir a frequência dos pulsos de LH, atraso ou bloqueio das ondas pré-ovulatórias de estradiol e diminuição da secreção do hormônio folículo estimulante (FSH), pela diminuição da secreção de hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) (SILVA et al., 2010). Assim, uma onda deficitária de LH é gerada, sendo incapaz de causar a ovulação/luteinização, conseqüentemente o folículo persiste podendo provocar uma síndrome ovariana cística ou ainda ocasionar problemas à fecundação e/ou à qualidade embrionária (DEBUS et al., 2002; COOKE e BOHNERT, 2011; COOKE et al., 2017).

Além disso, as concentrações plasmáticas de progesterona podem diminuir de acordo com o estresse, temperamento e o estado metabólico do animal (ROCHA et al., 2012), principalmente pelas pequenas células luteais, resultado de uma luteinização sub-ótima das células do corpo lúteo (WOLFENSON et al., 2002).

Segundo Cooke (2014), o temperamento do animal afeta as concentrações circulantes de cortisol sanguíneo, sendo que animais mais excitáveis apresentam maiores concentrações de cortisol. Existindo uma relação entre as concentrações de cortisol e a intensidade de estresse aos quais os animais estão sujeitos (ALEJANDRO et al., 2014).

Em experimento realizado com novilhas de corte avaliando a relação do temperamento com concentrações de cortisol e a taxa de concepção, foram observados, no início do protocolo hormonal, maiores concentrações de cortisol para animais considerados “excitáveis”, que foi associado à morte embrionária devido a alterações na produção de progesterona pelo corpo lúteo (KASIMANICKAM et al., 2014).

Macedo et al. (2011) demonstraram que fêmeas da raça Nelore doadoras de embriões que receberam um manejo de curral mais aversivo responderam com maior concentração sanguínea de cortisol, apresentando menor taxa de viabilidade embrionária.

Segundo Cooke et al. (2011), o temperamento das fêmeas afetou negativamente a taxa de gestação, sendo que esta taxa, nos animais de temperamento mais reativo, foi reduzida em 17% quando comparada aos animais de temperamento classificado como adequado, avaliando novilhas da raça Nelores submetidas a protocolo de IATF.

Jimenez Filho (2012) em estudo de eficiência reprodutiva com vacas da raça Nelore submetidas à IATF observou uma taxa de concepção de 54% para os animais classificados como calmos, contra 51% para os classificados como reativos. Em estudo semelhante, Rueda et al. (2015) observaram taxa de prenhez de 60% para vacas mais calmas, enquanto nas mais reativas, essa taxa diminuiu para 47%. Em outro estudo, Mello et al. (2017) também encontraram diferença quando correlacionaram reatividade e concepção, onde animais considerados calmos tiveram 58,10% de concepção e reativos 54,52% (P=0,02).

Cruz et al. (2017), avaliando velocidade de saída do tronco, observaram diferença nas taxas de prenhez das vacas que deixaram o brete andando, marchando ou correndo (respectivamente, 66,4%; 62,7% e 57,9%).

Segundo Cooke et al. (2017), a probabilidade de gestação após a primeira IA é reduzida linearmente quando as concentrações de cortisol aumentam em vacas consideradas exitáveis.

A relação existente entre temperamento e reprodução está relacionada ao estresse. Esta alteração no balanço hormonal que é provocada nestas situações estressantes pode afetar a fertilização, o desenvolvimento embrionário, o desenvolvimento fetal e reduzir a atividade sexual do animal (SHEHAB-EL-DEEN et al., 2010; COOKE et al., 2011).

As correlações entre estresse, temperamento e eficiência reprodutiva requerem mais análises, sendo necessárias pesquisas a fim de verificar os impactos do temperamento reativo na eficiência reprodutiva e na produção em bovinos, para que sejam possíveis ajustes com o propósito de aperfeiçoar os resultados produtivos e as biotecnicas reprodutivas (COOKE e BOHNERT, 2011; VASCONCELOS et al. 2014; PINAFFI et al., 2015).

2.3 Importância da Progesterona

As substâncias capazes de manter a gestação e promover a modificação do endométrio proliferativo em secretório são classificadas como gestágenos (AMADO e FLÓREZ, 2003). Dentre essas substâncias, a progesterona possui grande relevância. A progesterona é um hormônio esteroide derivado do colesterol (HAFEZ & HAFEZ, 2004; WILTBANK et al., 2014), sintetizado no corpo lúteo pelas pequenas células luteais e principalmente pelas grandes células luteais (RIGIOLIO et al., 2013).

Segundo Leonhardt e Edwards (2002), a P4 está relacionada com o processo de ovulação e de manutenção da gestação. Atuando na modulação do crescimento folicular e exercendo várias funções no crescimento das glândulas endometriais e lobuloalveolar da glândula mamária. A P4 atua na regulação de secreção de gonadotrofinas, no bloqueio da expressão do estro e ovulação por ação hipotalâmica, ainda tem influência na atividade secretora do oviduto e nas glândulas endometriais para o desenvolvimento do zigoto antes da sua implantação, atua também na inibição da contração uterina e na manutenção da gestação (SWENSON e REECE, 1996; CLEMENTE et al., 2009; MENEGHETTI et al., 2009; YAN et al., 2016; BINELLI et al., 2017; DE GRAAF e GRIMARD, 2018).

Os receptores de progesterona são expressos durante a fase lútea possuindo uma regulação direta pela concentração de P4 (SPENCER e BAZER, 2004b)

Segundo Wiltbank et al. (2014), a concentração de P4 é regulada pelo desenvolvimento do CL após a onda pulsátil de LH, mais precisamente pelo número de células da granulosa que passam por processo de luteinização tornando-se grandes células luteais, que passam a produzir progesterona.

Em bovinos, as concentrações plasmáticas de progesterona possuem variações durante o ciclo estral, sendo que no estro, as concentrações estão abaixo de 1ng/ml e no 10º dia do ciclo essas concentrações variam de entre 2 e 3 ng/mL para vacas de raças zebuínas (ADEYEMO e HEATH, 1980) e 16 ng/mL em vacas da raça Holandesa (BADINGA et al., 1994).

Segundo BAZER et al. (2011), acredita-se que a P4 induz alterações na expressão gênica e na secreção e formação do trofoblasto, provavelmente afetando o desenvolvimento do conceito. Um aumento da concentração de P4 durante o metaestro e no começo do diestro foi relacionada com estabelecimento da gestação após transferência de embrião (KENYON et al., 2013). Outros autores sugerem que a concentração de P4 tem efeito indireto com a sobrevivência e desenvolvimento embrionário, pela modulação positiva na produção de interferon- τ , relacionado ao reconhecimento da gestação e inibição da secreção de prostaglandina e luteólise (CLEMENTE et al., 2009; LONERGAN et al., 2016b)

Desta maneira, fêmeas com redução nas concentrações de P4 no início do diestro poderiam ter taxa de prenhez prejudicada pela interferência no desenvolvimento fetal e reconhecimento da gestação, sendo a P4 implicada no processo por estimular a expressão de alguns genes que favorecem o desenvolvimento do embrião e a produção do IFN- τ no momento mais apropriado (BINELLI et al., 2017)

Ainda que haja indícios de que o aumento da concentração de P4 tenha efeito positivo no desenvolvimento do embrião e nos resultados de fertilidade, o resultado de estudos que objetivaram aumentar as concentrações plasmáticas de P4 ainda são inconclusivos e conflitantes (LONERGAN, 2011).

Várias estratégias anti-luteolíticas vem sendo estudadas com o intuito de aumentar a qualidade embrionária e a eficiência reprodutiva em bovinos. Dentre as estratégias empregadas estão a formação de corpo lúteo acessório, pela aplicação de hormônios como Gonadotrofina Coriônica Humana (hCG) ou GnRH, ou ainda a suplementando de P4 de maneira exógena via dispositivos de liberação lenta, via oral ou ainda utilização de progesterona injetável de longa ação (LARSON et al., 2007; NASCIMENTO et al., 2013; LOIOLA et al., 2014; PUGLIESI et al., 2015; JUNIOR et al., 2017).

2.4 Suplementação Exógena de Progesterona

A compreensão atual sobre o papel da progesterona durante o estágio inicial da gestação e no desenvolvimento embrionário levou a uma série de estudos sobre a suplementação de P4 após a inseminação. Segundo Thatcher et al. (1994), existe uma relação direta entre a capacidade de secreção de P4 pelo corpo lúteo com o crescimento embrionário e o estabelecimento da gestação.

Posto isto, concentrações altas de P4 durante a fase inicial do diestro em bovinos são fundamentais, pois auxiliam nas secreções endometriais, favorecendo o desenvolvimento embrionário e a produção de interferon- τ , relacionado ao reconhecimento da gestação e inibição da secreção de prostaglandina e da luteólise (MANN e LAMMING, 2001; CLEMENTE et al., 2009; FORDE et al., 2011; BAZER et al., 2011).

A capacidade de produzir interferon- τ em quantidades suficientes depende de estímulos uterinos, sendo que a P4 está envolvida no processo por estimular a expressão de alguns genes que favorecem o desenvolvimento embrionário (BINELLI et al., 2017). Desta forma, fêmeas

com baixas concentrações de P4 no início do diestro poderiam ter taxas de prenhez mais baixas, por conta da ingerência, no desenvolvimento embrionário e no reconhecimento da gestação.

A suplementação exógena de P4 é uma alternativa com o intuito de aumentar as concentrações plasmáticas de progesterona. Essa suplementação pode ser realizada por meio de: uso de dispositivo intravaginal de P4; administração de doses injetáveis diárias de P4; administração de P4 injetável de longa ação; e fornecimento de progestágenos na alimentação como a utilização de acetado de melengestrol (MGA) (CORRÊA et al., 2008; PUGLIESI et al., 2016; YAN et al., 2016; JUNIOR et al., 2017; GARCIA-ISPIERTO e LÓPEZ-GATIUS, 2017).

Em estudo metanalítico, WILTBANK et al. (2014) observaram que a suplementação de P4 durante o diestro, entre os dias 3 e 7 do ciclo estral, aumentou significativamente o tamanho do concepto nos dias 13 e 16 (CARTER et al., 2008; CLEMENTE et al., 2009; LONERGAN et al., 2016b).

Ababneh et al. (2007) avaliaram o efeito da suplementação de P4 (dispositivo vaginal) em diferentes momentos do ciclo estral de vacas da raça holandesas e observaram melhor taxa de concepção, entre os dias 2 e 7, comparado a vacas tratadas entre os dias 7 e 16. Em vacas da raça Nelore, Sala et al. (2014) testaram a reintrodução de dispositivo intravaginal de P4 do 5º ao 21º dia após a IATF, e não observaram diferença na taxa de concepção comparando os grupos controle e tratado (32,7%, 42,3%; $p=0,65$).

Em outro estudo foi observada melhor taxa de concepção com suplementação de P4 (CIDR®) entre os dias 5 e 19 comparado ao controle, quando avaliaram os efeitos da administração de P4 pós-inseminação em vacas Holandesas (controle= 25%, CIDR= 56%) (MEHNI et al., 2012).

Junior et al. (2017) utilizaram acetado de melengestrol (MGA) junto ao sal mineral, 2,28 g/dia, iniciando 5 ou 13 dias após a IATF, em 99 vacas da raça Nelore. A taxa de concepção no grupo controle foi de 18% ($n=55$), e no grupo tratado com MGA a taxa de concepção foi de 48,7% ($p<0,05$). Nesse mesmo estudo, os autores não encontraram diferença na perda gestacional entre 30 e 80 dias.

Em um estudo realizado com P4 injetável de longa ação (Sincrogest® LA, Ourofino, Cravinhos/SP), foi demonstrado que uma dose de 150mg no terceiro dia após a IATF foi uma estratégia viável para melhorar a taxa de concepção, no entanto, foi observada uma antecipação da luteólise em alguns animais (PUGLIESI et al., 2014). Segundo O'hara et al. (2016), esse mesmo efeito foi observado em animais suplementados por meio de dispositivo intravaginal 3 dias após a IA.

Estratégias de aumento de progesterona pós IA vem sendo estudadas com o intuito de aumentar a concepção e também diminuir as perdas gestacionais. Couto et al. (2019) avaliaram o efeito da aplicação de P4 injetável de longa ação (150mg de Sincrogest® LA, Ourofino, Cravinhos/SP) 5 e 11 dias após a IATF em fêmeas da raça Nelore, onde os animais tratados 5 dias após a IATF, apresentaram melhor taxa de concepção quando comparado ao grupo controle, não havendo diferença entre a grupo tratado 11 dias após a IATF com o controle, e ainda menor perda gestacional comparado com animais não suplementados.

Segundo Mann e Lamming (1999), o aumento nas taxas de concepção ocorre apenas quando a P4 é suplementada na primeira semana após a inseminação e não tem efeito quando a P4 exógena é suplementada na segunda e terceira semana após a inseminação.

Alguns estudos têm demonstrado que a suplementação de P4 exógena injetável de longa ação após a IA tem resultado em aumento nas taxas de concepção (PUGLIESI et al., 2015). Lima et al. (2009) encontraram concentração média de progesterona de 2,87 ng/mL, utilizando doses de 450 e 750 mg de P4 injetável em vacas de leite. Já Whisnant e Burns (2002) observaram que as concentrações de P4 mantiveram-se elevadas por 12-13 dias, chegando a um pico de concentração de até 5 ng/mL.

Wiltbank et al. (2014) realizaram uma análise retrospectiva de 30 artigos sobre suplementação de P4 após a inseminação artificial, sendo que somente seis artigos apresentaram diferença na taxa de prenhez. Entretanto, experimentos mais recentes desenvolvidos com base na suplementação de P4 após a IA apresentaram resultados satisfatórios (PUGLIESI et al., 2016; GARCIA-ISPIERTO e LÓPEZ-GATIUS, 2017; COUTO et al., 2019).

Em síntese, de acordo com a literatura disponível, no presente momento é possível constatar que a progesterona possui um papel importante após a concepção e que estratégias que visem o aumento da concentração plasmática parecem ter efeito positivo na taxa de prenhez e na perda gestacional. Entretanto, muitos artigos sugerem a necessidade de mais estudos a fim de esclarecer a inconsistência nos resultados, principalmente com relação à ciclicidade, categoria animal e influência do estresse nesses resultados (CLEMENTE et al., 2009; WILTBANK et al., 2014; PUGLIESI et al., 2016; YAN et al., 2016; WILTBANK et al., 2016; GARCIA-ISPIERTO e LÓPEZ-GATIUS, 2017; COUTO et al., 2019).

2.5 Indução de Corpo Lúteo Acessório

Dentre os fatores que influenciam o ambiente uterino, a progesterona possui efeitos positivos na sobrevivência embrionária, principalmente no início da gestação (MANN e LAMMING, 1999). Nesse sentido, estratégias que promovam aumento da concentração sérica de progesterona no início da gestação poderiam trazer efeito benéfico ao ambiente uterino e impactar a eficiência de rebanhos de corte em um programa de IATF.

Para contornar possíveis deficiências na função do corpo lúteo, é possível suplementar com progesterona ou administrar agentes luteotróficos após a ovulação (BINELLI et al., 2014).

Segundo Bech-Sabat et al. (2009), vacas normalmente produzem um único CL após a ovulação, mas existem maneiras de induzir a formação de um corpo lúteo acessório com objetivo de aumentar as concentrações de P4. A administração de GnRH, de agonistas de GnRH ou hCG em momentos específicos após a IA podem induzir a formação de um CL acessório (BELTRAN e VASCONCELOS, 2008).

A utilização desses hormônios e a consequente formação de CL acessório aumenta a concentração plasmática de P4 e reduz a produção de estradiol produzindo um efeito positivo no desenvolvimento embrionário (THATCHER et al., 2003). Segundo Besbaci et al. (2020), os estudos sobre o assunto falharam em fornecer um consenso sobre os benefícios de tais tratamentos, uma vez que alguns relatam efeito benéfico da utilização de GnRH ou hCG com relação à prenhez enquanto outros não mostraram os mesmos resultados (WILLARD et al., 2003; HOWARD et al., 2006; SZENCI et al., 2006; DAHLEN et al., 2010).

Estudos anteriores mostraram que a administração de GnRH, um agonista de GnRH ou hCG após a IA, na presença de folículo dominante na primeira ou segunda ondas foliculares, pode induzir a formação de CL acessório, aumentar a P4 e reduzir a produção de estrogênio (STEVENSON et al., 2007). Segundo Araújo et al. (2009), a ovulação de um folículo de primeira onda após a IA pode alterar a dinâmica folicular no momento da luteólise, prolongando o tempo para luteólise e permitindo mais tempo para o alongamento do embrião.

Vacas com corpo lúteo acessório apresentaram 0,32 vezes menos chance de perder a gestação do que vacas com somente um corpo lúteo (GARCIA-ISPIERTO et al., 2006). Segundo Lopez-Gatius et al. (2006), vacas que receberam GnRH no dia da IA e 12 dias após, tiveram 3,7 mais chances de apresentar CL acessório do que vacas que não receberam dose alguma.

Em outro estudo, Schmitt et al. (1996) observaram que a aplicação de GnRH cinco dias após o estro promoveu indução de CL acessório e aumento da concentração de progesterona, corroborando com Beltran e Vasconcelos (2008) que observaram que as concentrações séricas

de P4 aumentaram do 7º para o 12º dia com injeção de GnRH aplicada no dia 5 pós-IA, em relação aos animais não tratados.

A administração de GnRH, cinco dias após a IA, em vacas de leite, aumentou a concentração de P4 no 13º dia após a IA, no entanto, as taxas de gestação não foram diferentes entre o grupo GnRH e o controle (HOWARD et al., 2006). Ataman et al. (2011) avaliaram o emprego de GnRH (injeção de 20µg de buserelina) 12 dias após a IA e seu efeito na concentração de P4 e na taxa de gestação em vacas de leite. Vacas gestantes que receberam o GnRH tiveram as concentrações de P4 maiores entre os dias 18 e 21 em relação as vacas prenhes que receberam solução salina. Apesar da diferença observada nas concentrações de P4 entre os dias 18 e 21, as taxas de gestação entre os dias 21 e 45 não foram diferentes.

Em outro estudo, Pinto et al. (2015), avaliando indução de corpo lúteo acessório e concepção em receptoras de embriões, observaram que 51% dos animais tratados apresentavam corpos lúteos acessórios enquanto o controle 23,5% (P=0,04). O grupo GnRH obteve 38% de concepção enquanto o controle apresentou 24%, havendo diferença (P<0,05).

Stevenson et al. (2007) observaram uma correlação positiva entre o número de folículos ≥ 5 mm no momento do tratamento (entre 4 e 9 dias pós-IA) com GnRH ou hCG e o número de CLs induzidos.

Em um estudo metanalítico envolvendo 52 artigos sobre indução de corpo lúteo acessório e o efeito na prenhez, foi observado que os tratamentos com GnRH e hCG melhoram a prenhez em vacas com baixa fertilidade (muito baixa <30% e baixa de 30,1 a 45%). Por outro lado, o tratamento de vacas com muito boa fertilidade (> 60,1%) não resultaram em qualquer benefício (BESBACI et al., 2020). Ainda esse estudo relata que o tratamento com uma dose média ou alta (≥ 10 µg) de buserelina foi associada a maior taxa de concepção comparada com doses baixas de buserelina.

Stojanov et al. (2020), avaliando a aplicação de GnRH 5 dias após a IA, observaram um aumento na porcentagem de vacas com mais de dois CLs no dia 14 no grupo tratado com GnRH comparado com o grupo controle (82% vs. 0%). Além disso, vacas do grupo GnRH que apresentavam CL acessório tiveram concentrações de P4 mais altas no dia 14 ($5,87 \pm 2,04$ ng / mL) em comparação ao controle ($4,21 \pm 1,22$ ng / mL) e as vacas GnRH que não apresentaram corpo lúteo acessório (apenas 1 CL no dia 14 - $3,21 \pm 1,12$ ng / mL). No dia 21, ainda a taxa de concepção foi maior no grupo GnRH em comparação com controle (65% vs. 48,3%, p <0,05).

Outro estudo realizado com o objetivo de avaliar a utilização de GnRH e hCG 7 dias após a IA, demonstrou que a formação de corpo lúteo acessório foi de 50% no grupo GnRH (acetato de lacerilina) e 80% no grupo hCG, havendo diferença na taxa de concepção, sendo que os grupos GnRH e hCG tiveram maior concepção em relação ao grupo controle (AKHTAR et al., 2018).

Segundo Stevenson et al. (2007), existe uma relação linear e positiva entre o número de folículos ≥ 5 mm no momento do tratamento (entre 4 e 9 dias pós IA) com GnRH ou hCG e o número de CLs induzidos, sendo que os animais com 1 ou 2 folículos ≥ 5 mm tiveram menos CLs induzidos do que os que apresentavam 4 ou mais folículos desse mesmo tamanho. Em vacas de corte o efeito do hCG é similar ao efeito em vacas de leite, sendo este hormônio capaz de induzir a ovulação quando usado 7 dias após a IATF. Com isso, foi observado que o número de CLs acessórios foi maior com o hCG quando comparado ao uso de salina (grupo controle). Adicionalmente, no dia 33, a proporção de vacas prenhes que apresentavam CLs acessórios foi maior no grupo hCG do que no grupo controle (DAHLEN et al., 2010)

Por outro lado, Vasconcelos et al. (2011) demonstraram que a concentração de P4 foi maior no grupo tratado, mas tal efeito não foi observado na taxa de concepção de fêmeas tratadas com GnRH em relação ao grupo controle.

Em outro estudo avaliando a administração de buserelina (análogo do GnRH), observou-se um aumento no número de corpos lúteos acessórios, no entanto esse fato não foi

capaz de aumentar as concentrações plasmáticas de P4 e a taxa de concepção (PINTO et al., 2015).

Em suma, a utilização de GnRH como alternativa para incrementar os índices reprodutivos são bem estudados, mas os resultados ainda são controversos (MANN et al., 2003; NOGUEIRA et al., 2004; McNEIL et al., 2006; STARBUCK et al., 2006; DEMÊTRIO et al., 2007; BARTOLOME et al., 2012). É possível observar que os dados ainda são inconsistentes sobre o fato da indução do corpo lúteo acessório ser efetiva em aumentar as taxas de prenhez.

As diferenças dos resultados relatados na literatura são consequências de muitas metodologias adotadas, como exemplo o momento da aplicação e o análogo do GnRH utilizado (BINELLI et al., 2001; MACHADO, 2008; BESBACI et al., 2020; STOJANOV et al., 2020).

2.6 Perda Gestacional

Perda embrionária e morte fetal são as causas mais importantes das perdas reprodutivas em bovinos e tem um impacto substancial na rentabilidade da produção. A maioria das perdas embrionárias ocorre nos primeiros dias após a fertilização e durante a implantação (GORDON, 2017). Embora mais atenção seja dada às perdas causadas por agentes infecciosos, as causas não infecciosas representam 70% ou mais dos casos de morte embrionária (VANROOSE et al., 2000). As perdas gestacionais não ocorrem de maneira aleatória, possuindo vários fatores predisponentes (RIBEIRO et al., 2016).

Fatores estressores como transporte, injúrias mecânicas, isolamento, dor, mudanças na pressão sanguínea entre outros, afetam a função reprodutiva agindo no eixo hipotalâmico-hipofisário e, conseqüentemente, interferindo nos níveis de GnRH ou no ovário comprometendo a produção de progesterona (VANROOSE et al., 2000).

Segundo Ball (1997), um valor de 5% de perdas embrionárias tardias ou morte fetal pode ser esperado, porém quando esses excedem esse nível são provavelmente devido a causas específicas.

Definir os fatores associados às perdas embrionárias e/ ou fetais é de grande utilidade para superar tal problema, seja ajustando as condições ou aplicando abordagens terapêuticas em animais de maior risco (ABDALLA et al., 2017).

O prejuízo econômico resultante de cada perda gestacional em gado de leite foi estimado em aproximadamente US\$ 2.333, devido a um intervalo de partos prolongado, maior taxa de descarte, gastos com nutrição, mão de obra e medicamento, representando uma das principais formas de infertilidade (LEE e KIM, 2007). Em rebanhos de corte, a perda gestacional representa um dos fatores econômicos mais importantes porque implica em menor número de bezerras vendidos (SANTOS et al., 2004).

Apesar de mais mortes ocorrerem durante o parto ou ao redor deste do que entre uma semana de idade e o desmame, as perdas embrionárias superam as perinatais (GIVENS e MARLEY, 2008).

Por definição, o embrião é a parte do conceito que dará origem ao neonato, sendo que a fase embrionária se inicia na fertilização e termina com a completa organogênese, no 42º dia da gestação em bovinos. Já o feto é definido como a parte do conceito que dará origem ao neonato vivo, sendo que a fase fetal começa com a conclusão da organogênese e termina no segundo estágio do parto (GIVENS e MARLEY, 2008).

Segundo Santos et al. (2004), de maneira geral, a perda embrionária precoce é caracterizada por uma perda gestacional antes do 24º dia de gestação, já a perda tardia ocorre entre o 24º e o 42º dia. Por fim, segundo os mesmos autores, a perda fetal ocorre após os 42 dias de gestação.

Perdas gestacionais podem ocorrer em diferentes estágios e por uma variedade de causas (WILTBANK et al., 2016). Em geral, as taxas de fertilização de vacas são próximas a 90%, enquanto as taxas de parto apresentam-se entre 40 e 55% (DISKIN e MORRIS, 2008). Isso implica em uma taxa de mortalidade embrionária e/ou fetal entre 40-56% quando se exclui as falhas de fertilização, sendo que a maioria das perdas ocorre durante a fase embrionária (INSKEEP e DAILEY, 2005).

Em vacas saudáveis, 25% ou mais dos embriões que passam do oviduto para o útero falham em continuar o desenvolvimento. Geralmente isso ocorre nas primeiras três semanas (GORDON, 2017).

Wiltbank et al. (2016) descrevem quatro períodos principais de ocorrência de perda durante o primeiro trimestre gestacional em vacas de leite. No primeiro período, as perdas variam entre 20 a 50% e ocorrem durante a primeira semana após a inseminação ou cobertura por falhas na fertilização ou morte precoce, devido as condições ambientais e hormonais. O segundo período crítico seria entre os dias 8 e 27 de gestação, quando ocorre o alongamento embrionário e o clássico reconhecimento materno, com perdas médias de 30%. O terceiro período seria durante o segundo mês de gestação, entre os dias 28 e 60, com perdas em torno de 12% devido a atrasos no desenvolvimento do córion-alantóide, placentomas ou do próprio embrião. E finalmente, o quarto período durante o terceiro mês de gestação cujas perdas reduzem para 2%.

Novo et al. (2020) observaram uma taxa geral de perda gestacional de 12,3% entre os dias 28 e 110 da gestação em vacas leiteiras. Em contrapartida, um estudo metanalítico sobre perdas gestacionais em gado de corte mostrou que a mortalidade embrionária tardia (28 a 42 dias) ou fetal precoce (42 a 60 dias) foi em média de 5,8%, sendo menor do que as encontradas em gado de leite, e teve um impacto negativo na eficiência reprodutiva. Adicionalmente, os mesmos autores relatam que as falhas reprodutivas após o primeiro mês, em gado de corte, ocorrem em cerca de 6% das vacas sendo afetado principalmente por fatores de manejo e ambiente (REESE et al., 2020)

O reconhecimento materno da gestação representa um passo crucial para o sucesso no estabelecimento da gestação. O fenômeno através do qual o CL periódico do ciclo é transformado em CL gravídico é chamado de reconhecimento materno da gestação (LADIM-ALVARENGA, 2006).

Nos bovinos, em média de 3 a 4 dias após a fertilização, o embrião chega ao útero, que deve apresentar condições para recebê-lo. A partir de 6 a 7 dias, este embrião começa sua diferenciação, evidenciada pela formação de uma massa celular interna e da blastocèle, uma cavidade interna. Essa massa celular é rodeada pelas células do trofoblasto que demarca os limites externos do blastocisto, nome dado ao embrião neste estágio, ficando em contato com as secreções (GONZÁLEZ, 2006).

As células mononucleares do trofoblasto são as responsáveis pela produção do interferon tau. O efeito antiluteolítico do interferon tau resulta da inibição da expressão dos receptores endometriais de ocitocina, impossibilitando a liberação de prostaglandina 2α (PGF 2α) após a ligação da ocitocina a esses receptores nas células uterinas (DEMMERS et al., 2001).

A manutenção do CL na gestação depende da sinalização do embrião pela produção de interferon- tau e das alterações nos padrões secretórios de prostaglandina pelo útero materno (WILTBANK et al., 2016). O interferon tau é secretado pelo trofoblasto entre o dia 10 até os dias 21-25 (SPENCER e BAZER, 2004a).

Alguns estudos relataram que a proporção de perdas embrionárias provavelmente está relacionada com o processo de alongamento do embrião, durante o qual ocorre a secreção de interferon-tau para reconhecimento da gestação (BARNWELL et al., 2016; MORAES et al., 2018; RIBEIRO et al., 2018)

A secreção de progesterona é essencial tanto para iniciar quanto para manter a gestação em mamíferos (LANDIM-ALVARENGA, 2006). A progesterona regula a ovulação de um oócito saudável, mantém o útero quiescente e permite a o estabelecimento e sobrevivência do embrião e do feto. A regulação da ovulação é acompanhada pela regulação do desenvolvimento folicular via feed back negativo controlando a frequência de secreção do LH. Por sua vez, a secreção uterina de proglandinas F2 α e E2 regula a regressão luteal nos animais cíclicos ou prepara o útero para gestação nos animais gestantes, respectivamente (INSKEEP; DAILEY, 2013).

Dado que a maioria das perdas embrionárias ocorre precocemente durante a gestação, isso pode estar envolvido com vários componentes do desenvolvimento inicial, incluindo o foliculo, oócito, embrião e / ou interação concepto-uterina (LONERGAN et al., 2016a).

Folículos pré-ovulatórios persistentes apresentam tamanho maior e associados à um período de dominância prolongado e a concentrações de progesterona subluteais, com maior frequência de pulsos de LH (BRIDGES e FORTUNE, 2003). Esta situação induz ao reinício prematuro da meiose com consequentes mudanças bioquímicas e morfológicas no oócito (MIHM et al., 1994) que levam a morte embrionária no estágio de 16 células (AHMAD et al., 1995).

Anormalidades no foliculo pré-ovulatório podem prejudicar a produção de estrógeno e a funcionalidade das células da granulosa e da teca interna, prejudicando consequentemente a formação do CL e a sua capacidade de produzir progesterona (WATHES et al., 2003).

Vacas com folículos maiores e com curta fase folicular apresentam boa capacidade de produzir um CL de qualidade e concentrações adequadas de progesterona. Havendo evidências de que o atraso na ovulação (>30 horas após o cio) pode resultar em prejuízo para função luteal (FERREIRA, 2010). Estando a qualidade folicular associada a função luteal subsequente, e a vascularização representa um fator importante nesta qualidade e no estabelecimento da gestação (SIDDIQUI et al., 2009).

Varughese et al. (2017) afirmaram que a avaliação pela ultrassonografia Doppler do fluxo sanguíneo folicular no dia da inseminação artificial e do fluxo sanguíneo luteal na gestação precoce mostrou ser ótimo preditor de fertilidade em vacas de leite. Encontrando associações entre a quantidade de fluxo sanguíneo do foliculo, medida em pixels, e as possibilidades de complicações na gestação ou do animal não ficar gestante.

O foliculo ovariano é parte importante no controle do ciclo estral, comportamento de cio e na garantia da competência oocitária e sobrevivência embrionária subsequente, determinante também pós-ovulação na manutenção do corpo lúteo para síntese de progesterona em condições naturais (DISKIN et al., 2003).

O ambiente do oviduto ou útero também desempenha um papel crucial no fornecimento de um local propício para o desenvolvimento embrionário normal, levando ao reconhecimento materno da gestação (DISKIN e MORRIS, 2008).

Clemente et al. (2009) enfatizaram o importante papel da progesterona na primeira semana após a concepção, estabelecendo um ambiente uterino ideal para contribuir com alongamento do concepto ao redor do tempo de reconhecimento materno.

Uma comunicação deficiente entre o concepto e o endométrio leva a secreção de PGF 2 α , luteólise, cessação da gestação e reinício do ciclo estral (THATCHER et al., 2001). A progesterona é fundamental para o útero secretar nutrientes para manutenção do embrião durante a fase inicial (ROBINSON et al., 2001).

A progesterona inibe a sensibilidade da ocitocina para ligação aos seus receptores no útero diminuindo-a ou bloqueando o sistema de segundo mensageiro (GRAZZINI et al., 1998), embora o bloqueio da luteólise pela progesterona esteja relacionado principalmente ao melhor desenvolvimento do embrião e maior capacidade de secreção de interferon-tau por este (MANN e LAMMING, 2001). Maiores concentrações de progesterona nos dias 4 e 5 após o

acasalamento resultaram em maior quantidade de interferon-tau no dia 16, durante o reconhecimento materno (WATHES et al., 2003).

Outro fator que pode afetar a sobrevivência do conceito é o estresse, um dos principais “efeitos colaterais” do estresse sobre a reprodução é que as tarefas não essenciais podem ser adiadas, intervindo de maneira inibitória e podendo aumentar as taxas de infertilidade (DOBSON et al., 2001).

O estresse é responsável por várias manifestações, incluindo a subfertilidade. Alguns fatores são intangíveis embora sejam conhecidos, porém muitas vezes é impossível identificar precisamente as causas que contribuem na redução na fertilidade e, portanto, culpa-se o estresse (DOBSON e SMITH, 2000). O estresse calórico é outro fator que acarreta em perda gestacional, comprometendo a esteroidogênese. Este também compromete a funcionalidade e a fertilidade, interferindo na capacidade do oócito em se desenvolver até o estágio de blastocisto, devido a alterações nas membranas e nas propriedades bioquímicas deste (ZERON et al., 2001) reduzindo a qualidade oocitária (HANSEN, 2002). Esses efeitos são mais pronunciados nas vacas lactantes de alta produção devido à dificuldade de termoregulação destas (FERREIRA, 2010)

Estratégias de aumento de progesterona plasmática após a inseminação vem sendo estudadas a fim de diminuir as perdas gestacionais, podendo ser feita pela indução de um corpo lúteo acessório 5 a 7 dias após a IA ou pela utilização de progesterona exógena de longa ação (COUTO et al., 2019; NILES et al., 2019).

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABABNEH, M. M.; ALNIMER, M. A.; HUSEIN, M. Q. Effect of post insemination progesterone supplement on pregnancy rates of repeat breeder Friesian cows. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 20, n. 11, p. 1670-1676, 2007.
- ABDALLA, H.; ELGHAFGHUF, A.; ELSOHABY, I.; NASR, M. A. Maternal and non-maternal factors associated with late embryonic and early fetal losses in dairy cows. **Theriogenology**, v. 100, p. 16-23, 2017.
- ABIEC (Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes). Sumário 2019. Disponível em: <http://www.abiec.org.br/Sumario2019.aspx>. Acesso em: 03 mai. 2020.
- ADEYEMO, O.; HEATH, E. Plasma progesterone concentration in *Bos Taurus* and *Bos indicus* heifers. **Theriogenology**, v. 14, n. 6, p. 411-420, 1980.
- AHMAD, N.; SCHRICK, F. N.; BUTCHER, R. L.; INSKEEP, E. K., Effect of persistent follicles on early embryonic losses in beef cows. **Biology of Reproduction**, v. 52, n. 5, p. 1129-1135, 1995.
- AKHTAR, M. S., SALEEM, M., AHMAD, E., AHMAD, T., LASHARI, M. H., AYAZ, M. M., LODHI, L.A., AHMAD, I.; HUSSAIN, I. & AKHTAR, M. Effect of lecirelin acetate, hCG or progesterone administration on day 7 post-insemination on conception rate and progesterone concentration in cross-bred cattle. **Iraqi Journal of Veterinary Sciences**, v. 32, n. 2, p. 149-152, 2018.
- ALEJANDRO, C. I.; ABEL, V. M., JAIME, O. P.; PEDRO, S. A. Environmental Stress Effect on Animal Reproduction. **Open Journal of Animal Sciences**, v. 4, p. 79-84, 2014.
- AMADO, J. A.; FLÓREZ, J. Hormonas sexuales: estrógenos, gestágenos, andrógenos y anticonceptivos hormonales. **Farmacología Humana**. 4ª Ed. Barcelona: Masson, p. p887-912, 2003.
- ANDRADE, E.N.; SILVA, R.A.M.S.; ROÇA, R.O.; SILVA, L.A.C.; GONÇALVES, H.C.; PINHEIRO, R.S.B. Ocorrência de lesões em carcaças de bovinos de corte no Pantanal em função do transporte. **Ciência Rural**, v.38, n.7, p.1991-1996, 2008.
- ARANTES, A. O., AQUINO, B. R., URMAN, F. L., FRANCELINO, P. E., BARBOSA, T. C., & BERBER, R. C. A. Effects of stress condition in beef cattle. **Scientific Electronic Archives**, v. 3, p. 63-72, 2013.
- ARAUJO, R. R., GINTHER, O. J., FERREIRA, J. C., PALHÃO, M. M., BEG, M. A., & WILTBANK, M. C. Role of follicular estradiol-17beta in timing of luteolysis in heifers. **Biology of Reproduction**, v. 81, n. 2, p. 426-437, 2009.
- ARGÔLO, L.S.; BARROS, M.C.C.; MARQUES, J.A.; TEODORO, S.M.; PEREIRA, M.L.A. Comportamento e temperamento em ruminantes. **PUBVET**, v. 4, Art. 795, 2010.
- ASBIA (Associação Brasileira de Inseminação artificial). Index 2019. Disponível em: <http://www.asbia.org.br/certificados/index/>. Acesso em: 03 jun. 2020.
- ATAMAN, M. B., ERDEM, H., BÜLBÜL, B., ÜMÜTLÜ, S., & ÇOLAK, M. The effect of buserelin injection 12 days after insemination on selected reproductive characteristics in cows. **Acta Veterinaria Brno**, v. 80, n. 2, p. 171-177, 2011.

- BADINGA, L.; THATCHER, W. W.; WILCOX, C. J.; MORRIS, G.; ENTWISTLE, K.; WOLFENSOR, D. Effect of season on follicular dynamics and plasma concentrations of estradiol 17-beta, progesterone and luteinizing hormone in lactating Holstein cows. **Theriogenology**, v. 42, n. 8, p. 1263-1274, 1994.
- BALL, P. J. H. Late embryo and early fetal mortality in the cow. **Animal Breeding Abstracts (United Kingdom)**, v.65, p. 167-175, 1997.
- BARNWELL, C. V., FARIN, P. W., ASHWELL, C. M., FARMER, W. T., GALPHIN JR, S. P., & FARIN, C. E. Differences in mRNA populations of short and long bovine conceptuses on Day 15 of gestation. **Molecular Reproduction and Development**, v. 83, n. 5, p. 424-441, 2016.
- BARTOLOME, J. A., WALLACE, S. P., DE LA SOTA, R. L., THATCHER, W. W. The effect of administering equine chorionic gonadotropin (eCG) and human chorionic gonadotropin (hCG) post artificial insemination on fertility of lactating dairy cows. **Theriogenology**, v. 78, n. 5, p. 1110-1116, 2012.
- BASZCZAK, J.A.; GRANDIN, T.; GRUBER, S. L.; ENGLE, T. E.; PLATTER W. J.; LAUDERT S. B.; SCHROEDER, A. L.; TATUM J. D. Effects of ractopamine supplementation on behavior of British, Continental, and Brahman crossbred steers during routine handling. **Journal of Animal Science**, v. 84, n. 12, p. 3410-3414, 2006.
- BAZER, F. W., SPENCER, T. E., JOHNSON, G. A., & BURGHARDT, R. C. Uterine receptivity to implantation of blastocysts in mammals. **Frontiers in Bioscience (Scholar edition)**, v. 3, p. 745-767, 2011.
- BECH-SABAT, G., LÓPEZ-GATIUS, F., GARCÍA-ISPIERTO, I., SANTOLARIA, J. P., SERRANO, B., NOGAREDA, C., & YÁNIZ, J. Pregnancy patterns during the early fetal period in high producing dairy cows treated with GnRH or progesterone. **Theriogenology**, v. 71, n.6, p. 920-929, Apr. 2009
- BELTMAN, M. E., LONERGAN, P., DISKIN, M. G., ROCHE, J. F., & CROWE, M. A. Effect of progesterone supplementation in the first week post conception on embryo survival in beef heifers. **Theriogenology**, v. 71, n. 7, p. 1173-1179, 2009.
- BELTRAN, M. P.; VASCONCELOS, J. L. M. Conception rate in Holstein cows treated with GnRH or hCG on the fifth day post artificial insemination during summer. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 60, n. 3, p. 580-586, jun. 2008.
- BESBACI, M., ABDELLI, A., MINVIEL, J. J., BELABDI, I., KAIDI, R., & RABOISSON, D. Association of pregnancy per artificial insemination with gonadotropin-releasing hormone and human chorionic gonadotropin administered during the luteal phase after artificial insemination in dairy cows: A meta-analysis. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 2, p. 2006-2018, 2020.
- BINELLI, M.; THATCHER, W. W.; MATTOS, R.; BARUSELLI, P. S. Antiluteolytic strategies to improve fertility in cattle. **Theriogenology**, v. 52, p. 1451-1463, 2001.
- BINELLI, M.; SARTORI, R.; VASCONCELOS, J.L.M.; MONTEIRO JR, P. L. J.; PEREIRA, M. H.C.; RAMOS, R. S. Evolution in fixed-time: from synchronization of ovulation to improved fertility. **Reproduction in Domestic Ruminants**, v. 1, p. 493-506, 2014

BINELLI, M.; PUGLIESI, G.; BATISTA, E.D.O.S.; MARTINS, T.; LOPES, E.; SPONCHIADO, M.; GONELLA-DIAZA, A.; OLIVEIRA, M.; FRANÇA, M.R.; CARDOSO, B.O.; MELLO, B.P.; GOMES, N.S.; LATORRACA, L.; CUADROS, F.C. Programação da receptividade uterina e fertilidade em vacas de corte. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 41, n. 1, p. 121-129, 2017

BREEN, K. M., BILLINGS, H. J., WAGENMAKER, E. R., WESSINGER, E. W., & KARSCH, F. J. Endocrine basis for disruptive effects of cortisol on preovulatory events. **Endocrinology**, v. 146, n. 4, p. 2107-2115, 2005.

BRIDGES, P. J.; FORTUNE, J. E. Characteristics of developing prolonged dominant follicles in cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 25, n. 2, p. 199-214, 2003.

BROOM, D. M. Indicators of poor welfare. **British Veterinary Journal**, v. 142, n. 6, p. 524-526, 1986.

BURDICK, N. C., RANDEL, R. D., CARROLL, J. A., & WELSH, T. H. Interactions between temperament, stress, and immune function in cattle. **International Journal of Zoology**, v. 2011, 2011.

BURROW, H. W.; SEIFERT, G. W.; COBERT, N. J. A new technique for measuring temperament in cattle. **Proceedings of Australian Society of Animal Production**, v. 17, p. 154-157, 1988.

BURROW, H.M., CORBET, N.J. Genetic and environmental factors affecting temperament of zebu and zebu-derived beef cattle grazed at pasture in the tropics. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 51, n. 1, p. 155-162, 2000.

CAMBRIDGE E-LAERNING INTITUTE. Online certificate in animal welfare, 2006.

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

CLEMENTE, M.; DE LA FUENTE, J.; FAIR, T.; AL NAIB A.; GUTIERREZ-ADAN A.; ROCHE J. F.; RIZOS D.; LONERGAN P. Progesterone and conceptus elongation in cattle: a direct effect on the embryo or an indirect effect via the endometrium? **Reproduction**, v. 138, n. 3, p. 507-517, 2009.

COOKE, R.F.; BOHNERT, D.W.; MENEGHETTI, M.; LOSI, T.C.; VASCONCELOS, J.L.M. Effects of temperament on pregnancy rates to fixed-timed AI in *Bos indicus* beef cows. **Livestock Science**, v.142, n.1, p.108-113, dec. 2011.

COOKE, R. F.; BOHNERT, D. W. 2011. Bovine acute-phase response following corticotrophin-release hormone challenge. **Journal of Animal Science**, v. 89, p. 252-257, 2011.

COOKE, R. F.; SCHUBACH, K. M.; MARQUES, R. S.; PERES, R. F. G.; SILVA, L. G. T.; CARVALHO, S.; CIPRIANO, R. S.; BOHNERT, D. W.; PIRES, A. V.; VASCONCELOS, J. L. M. Effects of temperament on physiological, productive, and reproductive responses in *Bos indicus* beef cows. **Journal of Animal Science**, v. 95, p. 1-8, 2017.

COOKE, R. F. Temperament and acclimation to human handling influence growth, health, and reproductive responses in *Bos taurus* and *B. indicus* cattle. **Journal of Animal Science**, v. 92, p. 5325-5333, 2014.

CORRÊA, G. A.; RUMPF, R.; MUNDIM, T. C. D.; FRANCO, M. M.; DODE, M. A. N. Oxygen tension during in vitro culture of bovine embryos: effect in production and expression of genes related with oxidative stress. **Animal Reproduction Science**, v. 104, n. 2-4, p. 132-142, 2008.

COSTA-E-SILVA, E. V. C.; RUEDA, P. M.; CARNEIRO, R. C. P. B.; MACEDO, F.F.; ZUCCARI, C. E. Estratégias para avaliar bem-estar animal em animais em reprodução. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, v.13, n.1, p.20-28, 2010.

COUTO, S. R. B.; GUERSON, Y. B.; FERREIRA, J. E.; SILVA, O. R.; SILENCIATO, L. N.; BARBERO, R. P.; MELLO, M. R. B. Impact of supplementation with long-acting progesterone on gestational loss in Nelore females submitted to TAI. **Theriogenology**, v. 125, n., p. 168-172, 2019.

CRUZ, G. C., COLLI, M. H. A., LORENÇO-FILHO, D. B., DE MELO-NETO, O. A., REZENDE, R. G., JUNIOR, W. A. G., & BARUSELLI, P. S. Effect of chute exit velocity on pregnancy rate to FTAI of Nelore females. **Animal Reproduction**, v. 14, n. 3, p. 689, 2017.

CUNNINGHAM, J. G. **Tratado de Fisiologia Veterinária**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 596p.

CURLEY, K.O.; PASCHAL, J.C.; WELSH Jr., T.H.; RANDEL, R.D. Technical note: Exit velocity as a measure of cattle temperament is repeatable and associated with serum concentration of cortisol in Brahman bulls. **Journal of Animal Science**, v. 84, n. 11, p. 3100-3103, 2006.

DAHLEN, C. R., BIRD, S. L., MARTEL, C. A., OLSON, K. C., STEVENSON, J. S., & LAMB, G. C. Administration of human chorionic gonadotropin 7 days after fixed-time artificial insemination of suckled beef cows. **Journal of Animal Science**, v. 88, n. 7, p. 2337-2345, 2010.

DE GRAAFF, W.; GRIMARD, B. Progesterone-releasing devices for cattle estrus induction and synchronization: Device optimization to anticipate shorter treatment durations and new device developments. **Theriogenology**, v. 112, p. 34-43, 2018.

DEBUS N., BREEN K. M., BARRELL G. K., BILLINGS H. J., BROWN M., YOUNG E. A., KARSCH FJ. Does cortisol mediate endotoxin-induced inhibition of pulsatile luteinizing hormone and gonadotropin-releasing hormone secretion? **Endocrinology**, v.143, p.3748-3758, 2002.

DEMETRIO, D. G. SANTOS, R. M.; DEMETRIO, C. G.; VASCONCELOS, J. L. Factors affecting conception rates following artificial insemination or embryo transfer in lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n 11, p. 5073-5082, 2007.

DEMMERS, K. J.; DERECKA, K.; FLINT, A. Trophoblast interferon and pregnancy. **Reproduction**, v. 121, n. 1, p. 41-49, 2001.

DISKIN, M. G.; MORRIS, D. G. Embryonic and early foetal losses in cattle and other ruminants. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 43, n. s2, p. 260-267, 2008.

DISKIN; M. G.; MACKEY, D. R.; ROCHE, J. F.; SREENAN, J. M. Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 78, n. 3–4, p. 345–370, 2003.

DOBSON, H.; TEBBLE, J. E.; SMITH, R. F.; WARD, W. R. Is stress really all that important? **Theriogenology**, v. 55, n. 1, p. 65-73, 2001.

DOBSON, H.; SMITH, R. F. What is stress, and how does it affect reproduction? **Animal Reproduction Science**, v. 60, p. 743–752, 2000.

DUNCAN, I. J. H. Science-based assessment of animal welfare: farm animals. **Revue Scientifique et Technique-Office International des Epizooties**, v. 24, n. 2, p. 483, 2005.

ENCARNACAO, R. de O. **Estresse e Produção Animal**. 3ed. Campo Grande: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuaria-CPNPGC., 32p, 1997.

ETIM, N. N., WILLIAMS, M. E., EVANS, E. I., & OFFIONG, E. E. Physiological and behavioural responses of farm animals to stress: Implications to animal productivity. **American Journal of Advanced Agricultural Research**, v. 1, p. 53-61, 2013.

FAO. **OECD-FAO Agricultural Outlook 2018-2027 - Special focus: Middle East and North Africa**. Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2018. Disponível em: <http://www.agri-outlook.org/Agricultural-Outlook-2018.pdf>. Acesso em 23 de maio de 2020.

FERIN, M. Stress and the reproductive system. In: NEILL, J. D. **Knobil and Neill's Physiology of Reproduction**. 3.ed. v. 1. Pittsburgh: Elsevier, 2006.

FERREIRA, A. M. **Reprodução da fêmea bovina. Fisiologia aplicada a problemas mais comuns (Causas e tratamentos)**. 1. ed., Edição do Autor: Juiz de Fora, MG. 2010. 422p.

FORDE, N., BELTMAN, M. E., DUFFY, G. B., DUFFY, P., MEHTA, J. P., O'GAORA, P.; CROWE, M. A. Changes in the endometrial transcriptome during the bovine estrous cycle: effect of low circulating progesterone and consequences for conceptus elongation. **Biology of Reproduction**, v. 84, n. 2, p. 266-278, 2011.

FRIEDRICH, J.; BRAND, B.; SCHWERIN, M. Genetics of cattle temperament and its impact on livestock production and breeding-a review. **Archiv Fuer Tierzucht**, v. 58, n. 1, p. 13, 2015.

GARCIA-ISPIERTO, I.; LÓPEZ-GATIUS, F. Progesterone supplementation in the early luteal phase after artificial insemination improves conception rates in high-producing dairy cows. **Theriogenology**, v. 90, p. 20-24, 2017.

GARCIA-ISPIERTO, I., LÓPEZ-GATIUS, F., SANTOLARIA, P., YÁNIZ, J. L., NOGAREDA, C., LÓPEZ-BÉJAR, M., & DE RENSIS, F. Relationship between heat stress during the peri- implantation period and early fetal loss in dairy cattle. **Theriogenology**, v. 65, n.4, p. 799-807, Mar. 2006.

GEBREGEZIABHEAR, E.; AMEHA, N. The Effect of Stress on Productivity of Animals: A Review, **Journal of Biology, Agriculture and Healthcare**, v. 5, n. 3, p. 165-172, 2015

GIVENS, M. D.; MARLEY, M. S. D. Infectious causes of embryonic and fetal mortality. **Theriogenology**, v. 70, n. 3, p. 270-285, 2008.

GONZÁLEZ, F. H. D. Características dos hormônios In: GONZÁLEZ, F. H. D. Introdução a Endocrinologia Reprodutiva Veterinária, UFRGS- Porto Alegre, 2006, 86p.

- GORDON, I (Ed.). **Reproductive technologies in farm animals**. CABI, 2017.
- GRANDIN, T. Assessment of stress during handling and transport. **Journal of Animal Science**, v.75, p.249-257, 1997.
- GRAZZINI, E.; GUILLON, G.; MOUILLAC, B.; ZINGG, H. H. Inhibition of oxytocin receptor function by direct binding of progesterone. **Nature**, v. 392, n. 6675, p. 509, 1998.
- HAFEZ, B.; HAFEZ, E. S. E. Ciclos reprodutivos. In: **Reprodução Animal**. 7. Ed. Barueri, SP: Manole, 2004. Cap. 5. p. 69-82.
- HANSEN, P. J. Embryonic mortality in cattle from the embryo's perspective. **Journal of Animal Science**, v. 80, n. E-Suppl_2, p. E33-E44, 2002.
- HOWARD, J. M.; MANZO, R.; DALTON, J. C.; FRAGO, F.; AHMADZADEH, A. Conception rates and serum progesterone concentration in dairy cattle administered gonadotropin releasing hormone 5 days after artificial insemination. **Animal Reproduction Science**, v. 95, p. 224-233, 2006.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística Rebanho bovino tem leve alta em 2019, após dois anos seguidos de quedas Disponível em: genciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-noticias/2012-agencia-de-noticias/noticias/29164-rebanho-bovino-tem-leve-alta-em-2019-apos-dois-anos-seguidos-de-quedas Acesso em: 20 dez. 2020.
- INSKEEP, E. K.; DAILEY, R. A. Embryonic death in cattle. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 21, n. 2, p. 437-461, 2005.
- INSKEEP, E. K.; DAILEY, R. A. The Physiology of Pregnancy Loss; Female Factors. **Proceedings...** Applied Reproductive Strategies in Beef Cattle. Faculty of Reproductive Physiology, West Virginia University, Morgantown, Staunton, VA. October 15-16, 2013.
- JAMILAH, I. M., DARSONO, A., FATHURRAHMAN, I., & SONIA, M. Animal Welfare As Stress Management to Improve Beef Cattle Reproduction. **KnE Life Sciences**, p. 200–215-200–215, 2019.
- JIMENEZ FILHO, D. L., TITTO, E. A. L., TITTO, C. G., CALVIELLO, R. F., & LEME, T. M. D. C. Reatividade em vacas da raça Nelore submetidas a protocolo de inseminação artificial em tempo fixo. **Revista de Etologia**, v. 11, p. 185, 2012.
- JUNIOR, W. C., COOKE, R. F., PEREIRA, M. H. C., & VASCONCELOS, J. L. M. Effects of melengestrol acetate supplementation after fixed-timed artificial insemination on pregnancy rates of *Bos indicus* beef cows. **Livestock Science**, v 206, p 71-75, 2017.
- KASIMANICKAM, R.; SCHROEDER, S.; ASSAY, M.; KASIMANICKAM, V.; MOORE, D. A.; GAY, J. M.; WHITTIER, W. D. Influence of temperament score and handling facility on stress, reproductive hormone concentrations, and fixed time AI pregnancy rates in beef heifers. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 49, n. 5, p. 775-782, 2014.
- KENYON, A. G., MENDONÇA, L. G. D., LOPES, G., LIMA, J. R., SANTOS, J. E. P., & CHEBEL, R. C.. Minimal progesterone concentration required for embryo survival after embryo transfer in lactating Holstein cows. **Animal Reproduction Science**, v. 136, n. 4, p. 223-230, 2013.
- LANDIM-ALVARENGA, F. Patologias da gestação. **Obstetrícia Veterinária**, v. 1, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. p. 130-158, 2006.

- LARSON, S. F.; BUTLER, W. R.; CURRIE, W. B. Pregnancy rates in lactating dairy cattle following supplementation of progesterone after artificial insemination. **Animal Reproduction Science**, v. 102, p. 172-179, 2007.
- LEE, J.; KIM, I. Pregnancy loss in dairy cows: the contributing factors, the effects on reproductive performance and the economic impact. **Journal of veterinary science**, v. 8, n. 3, p. 283-288, 2007.
- LEONHARDT, S. A.; EDWARDS, D. P. Mechanism of action of progesterone antagonists. **Experimental Biology and Medicine**, v. 227, p. 969-980, 2002.
- LIMA, J. R., RIVERA, F. A., NARCISO, C. D., OLIVEIRA, R., CHEBEL, R. C., & SANTOS, J. E. P. Effect of increasing amounts of supplemental progesterone in a timed artificial insemination protocol on fertility of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 11, p. 5436-5446, 2009.
- LOIOLA, M. V. G.; PEREIRA, D. F. C.; VASCONCELOS, L. V.; CHALHOUB, M.; FERRAZ, P. A.; RODRIGUES, A. S.; BITTENCOURT, R. F.; JESUS, E. O.; RIBEIRO FILHO, A. L. Taxa de gestação de receptoras de embriões bovinos tratadas com um análogo de GnRH no momento da ovulação. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 15, n. 3, p. 782-789, 2014.
- LONERGAN, P.; FAIR, T.; FORDE, N.; RIZOS, D. Embryo development in dairy cattle. **Theriogenology**, v. 86, n. 1, p. 270-277, 2016a
- LONERGAN, P.; FORDE, N.; SPENCER, T. Role of progesterone in embryo development in cattle. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 28, n. 2, p. 66-74, 2016b.
- LONERGAN, P. Influence of progesterone on oocyte quality and embryo development in cows. **Theriogenology**, v. 76, n. 9, p. 1594-1601, 2011.
- LOPEZ-GATIUS, F., F., SANTOLARIA, P., MARTINO, A., DELÉTANG, F., & DE RENSIS, F. The effects of GnRH treatment at the time of AI and 12 days later on reproductive performance of high producing dairy cows during the warm season in northeastern Spain. **Theriogenology**, v. 65, n.4, p. 820-830, 2006.
- LYNCH, Eilish Mairéad. **Characterisation of physiological and immune-related biomarkers of weaning stress in beef cattle**. 2010. Doctoral dissertation. National University of Ireland Maynooth. 2010.
- MACEDO, G.G, ZÚCCARI, C.E.S.N., ABREU, U.G.P., NEGRÃO, J.A., COSTA E SILVA, E.V. Human-animal interaction, stress, and embryo production in *Bos indicus* embryo donors under tropical conditions. **Tropical Animal Health and Production**, v.43, p.1175-1182, 2011.
- MACEDO, G. G., ZÚCCARI, C. E. S. N., & COSTA E SILVA, E. V. Effects of stress on reproductive performance of female bovine. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 36, n. 1, p. 10-17, 2012.
- MACHADO, R.; BERGAMASCHI, M. A. C. M.; BARBOSA, R. T.; OLIVEIRA, C. A.; BINELLI, M. Ovarian function in Nelore (*Bos taurus indicus*) cows after post-ovulation hormonal treatments. **Theriogenology**, v. 69, p. 798-804, 2008.
- MAFFEI, W. E. Reatividade Animal. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.38, p. 81-92, 2009.

MAFFEI, W.E.; BERGMANN, J.A.G.; PINOTTI, M. Reatividade em ambiente de contenção móvel: uma nova metodologia para avaliar o temperamento bovino. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.6, 2006.

MANN, G. E.; LAMMING, G. E. The influence of progesterone during early pregnancy in cattle. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 34, n.3-4, p. 269– 274, 1999.

MANN, G. E.; LAMMING, G. E. Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. **Reproduction**, v. 121, n. 1, p. 175-180, 2001.

MANN, G. E.; GREEN, M. P.; SINCLAIR, K. D.; DEMMERS, K. J.; FRAY, M. D.; GUTIERREZ, C. G.; GARNSWORTHY, P. C.; WEBB, R. Effects of circulating progesterone and insulin on early embryo development in beef heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 79, p.71 – 79, 2003.

MARINHO, A. L. M., DOS SANTOS, R., SOCOLOSKI, S. N. G., GOMES, S. C., CASTRO, B. G. Ovarian cysts in domestic animals: etiopathogenesis and treatments. **Scientific Electronic Archives**, v. 9, n. 2, p. 108-113, 2015

MATTERI, R.L.; CARROLL, J.A.; DYER, C.J. Neuroendocrine Responses to Stress. In: MOBERG, G.P., MENCH, J.A. **The Biology of Animal Stress: basic principles and implications for animal welfare**. Wallingford: CABI International, p.43-76, 2000.

MAZIERO, R. R. D., MARTIN, I., MATTOS, M. C. C., & FERREIRA, J. C. P. Avaliação das concentrações plasmáticas de cortisol e progesterona em vacas nelore (*Bos taurus indicus*) submetidas a manejo diário ou manejo semanal. **Veterinária e Zootecnia**, v. 19, n. 3, p. 366-372, 2012.

MCNEIL, R. E.; DISKIN, M. G.; SREENAN, J. M.; MORRIS, D. G. Associations between milk progesterone on different days and with embryo survival during the early luteal phase in dairy cows. **Theriogenology**, v. 65, p. 1435-1441, 2006.

MEHNI, S. B.; SHABANKAREH, H. K.; KAZEMI-BONCHENARI, M.; EGHBALI, M. The comparison of treating Holstein dairy cows with progesterone, CIDR and GnRH after insemination on serum progesterone and pregnancy rates. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 47, n. 1, p. 131-134, 2012.

MELLO, B. P., MATURANA FILHO, M., LEMES, K. M., SANTIN, T., GONÇALVES, R. L., MADUREIRA, E. H., & MEMBRIVE, C. M. B. Nelore bovine female temperament and its implications in pregnancy rates in FTAI programs. **Animal Reproduction**, v. 14, n. 3, p. 721, 2017.

MENEGHETTI, M.; SÁ FILHO, O. G.; PERES, R. F. G.; LAMB, G. C.; VASCONCELOS, J. L. M. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows I: basis for development of protocols. **Theriogenology**, v. 72, n. 2, p. 179-189, 2009.

MIHM, M.; BAGUISI, A.; BOLAND, M. P.; ROCHE, J. F. Association between the duration of dominance of the ovulatory follicle and pregnancy rate in beef heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 102, n. 1, p. 123-130, 1994.

MORAES, J. G., BEHURA, S. K., GEARY, T. W., HANSEN, P. J., NEIBERGS, H. L., & SPENCER, T. E. Uterine influences on conceptus development in fertility-classified animals. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 115, n. 8, p. E1749-E1758, 2018.

- NASCIMENTO, A. B.; BENDER, R. W.; SOUZA, A. H.; AYRES, H.; ARAUJO, R. R.; GUENTHER, J. N.; SARTORI, R.; WILTBANK, M.C. Effect of treatment with human chorionic gonadotropin on day 5 after timed artificial insemination on fertility of lactating dairy cows. **Journal Dairy Science**, v. 96, p. 2873-288, 2013.
- NILES, A.; FRICKE, H.; CARVALHO, P.; WILTBANK, M.; HERNANDEZ, L.; FRICKE, P. Effect of treatment with human chorionic gonadotropin 7 days after artificial insemination or at the time of embryo transfer on reproductive outcomes in nulliparous Holstein heifers. **Journal of Dairy Science**, v 102. n.3, p. 2593-2606, 2019.
- NOGUEIRA, M. F. G.; MELO, D. S.; CARVALHO, L. M.; FUCK, E. J.; TRINCA, L. A.; BARROS, C. M. Do high progesterone concentrations decrease pregnancy rates in embryo transfer recipients synchronized with PGF2 α and eCG. **Theriogenology**, v. 61, p. 1283 – 1290, 2004.
- NOVO, A. F., FARGAS, O., LOSTE, J. M., SEBASTIAN, F., PEREZ-VILLALOBOS, N., PESANTEZ-PACHECO, J. L., ASTIZ, S. Pregnancy Loss (28–110 Days of Pregnancy) in Holstein Cows: A Retrospective Study. **Animals**, v. 10, n. 6, p. 925, 2020.
- O'HARA, L. O.; FORDE, N.; CARTER, F.; RIZOS, D.; MAILLO, V.; EALY, A. D.; KELLY, A. K.; RODRIGUEZ, P.; ISAKA, N.; EVANS, A. C. O.; LONERGAN, P. Paradoxical effect of supplementary progesterone between day 3 and 7 on corpus luteum function and conceptus development in cattle. **Reproduction Fertility Development**, v. 26, n.2, p.328–336, 2013.
- OLIVEIRA, C. B. D.; BORTOLI, E. C. D.; BARCELLOS, J. O. J.. Diferenciação por qualidade da carne bovina: a ótica do bem-estar animal. **Ciência Rural**, v. 38, n. 7, p. 2092-2096, 2008.
- PARANHOS DA COSTA, M.J.R.; COSTA E SILVA, E.V.; CHIQUITELLI NETO, M. E; ROSA, M.S. Contribuição dos estudos de comportamento de bovinos para implementação de programas de qualidade de carne. 20º Encontro Anual de Etologia. Sociedade Brasileira de Etologia, Natal, **Anais**, Natal p. 71-89, 2002
- PINAFFI, F. L. V.; SANTOS, E. S.; SILVA, M. G.; MATURANA FILHO, M.; MADUREIRA, E. H.; SILVA, L. A. Follicle and corpus luteum size and vascularity as predictors of fertility at the time of artificial insemination and embryo transfer in beef cattle. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 35, n. 5, p. 470-476, 2015.
- PINTO, T. L. C., NOGUEIRA, M. B. R., SALES, J. N. D. S., CARVALHO, R. R. D., CUSHMAN, R. A., SOUZA, J. C. D. PINTO, Factors affecting pregnancy rates after ovum pick up-derived embryo transfer in lactating Holstein recipients under tropical conditions. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 39, n. 5, p. 498-505, 2015.
- PUGH, K.A.; STOOKEY, J.M.; BUCHANAN, F.C. An evaluation of corticotropin-releasing hormone and leptin SNPs relative to cattle behaviour. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 91, p. 567-572, 2011.
- PUGLIESI, G.; SANTOS, F. B.; LOPES, E.; NOGUEIRA, É.; MAIO, J. R. G.; BINELLI, M. Fertility response in suckled beef cows supplemented with long-acting progesterone after timed artificial insemination. **Reproduction Fertility and Development**, v. 27, n. 1, p. 93-270, 2015.

PUGLIESI, G.; SANTOS, F. B.; LOPES, E.; NOGUEIRA, É.; MAIO, J. R. G.; BINELLI, M. Improved fertility in suckled beef cows ovulating large follicles or supplemented with long-acting progesterone after timed-AI. **Theriogenology**, v. 85, n. 7, p. 1239-1248, 2016.

PUGLIESI, G.; OLIVERIA, M.L.; SCOLARI, S.C.; LOPES, E.; PINAFFI, F.V.; MIAGAWA, B.T.; PAIVA, Y.N.; MAIO, J.R.G.; NOGUEIRA, G.P.; BINELLI, M. Corpus luteum development and function after supplementation of long-acting progesterone during the early luteal phase in beef cattle. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 49, n. 1, p. 85-91, 2014.

REESE, S. T., FRANCO, G. A., POOLE, R. K., HOOD, R., MONTERO, L. F., OLIVEIRA FILHO, R. V., POHLER, K. G. Pregnancy loss in beef cattle: A meta-analysis. **Animal Reproduction Science**, v. 212, p. 106-251, 2020.

RIBEIRO, E. S.; GOMES, G.; GRECO, L. F.; CERRI, R. L. A.; VIEIRA-NETO, A.; MONTEIRO, P. L. J.; MONTEIRO JR., F.S.; LIMA, R. S.; BISONOTO, W. W.; SANTOS, J. E. P. Carryover effect of postpartum inflammatory diseases on developmental biology and fertility in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 3, p. 2201-2220, 2016.

RIBEIRO, E. S., WARMLING SPRICIGO, J. F., ROMULO CARVALHO, M., AND TICIANI, E. Physiological and cellular requirements for successful elongation of the preimplantation conceptus and the implications for fertility in lactating dairy cows. **Animal Reproduction (AR)**, v. 15, n. Supplement 1, p. 765-783, 2018.

RIGOGGIO, N. N.; FÁTIMA, L. A.; HANASSAKA, J. Y.; PINTO, G. L.; MACHADO, A. S. D.; GIMENES, L. U.; BARUSELLI, P. S.; RENNÓ, F. P.; MOURA, C. E. B.; WATANABE, I. S.; PAPA, P. C. Equine chorionic gonadotropin alters luteal cell morphologic features related to progesterone synthesis. **Theriogenology**, v. 79, n. 4, p. 673-679, 2013.

ROBINSON, R. W.; MANN, G. E.; LAMMING, G. E.; WATHES, D. C. Expression of oxytocin, oestrogen and progesterone receptors in uterine biopsy samples throughout the oestrous cycle and early pregnancy in cows. **Reproduction**, v. 122, n. 6, p. 965-979, 2001.

ROCHA, D. R., SALLES, M. G. F., MOURA, A. A. A., & ARAÚJO, A. A. Impacto do estresse térmico na reprodução da fêmea bovina. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 36, p.18-24, 2012.

RUEDA, P. M., SANT'ANNA, A. C., VALENTE, T. S., & DA COSTA, M. J. P. Impact of the temperament of Nellore cows on the quality of handling and pregnancy rates in fixed-time artificial insemination. **Livestock Science**, v. 177, p. 189-195, 2015.

SALA, P.C.; ROSA, V.; OTUTUMI, L.K.; BOSCARATO, A.G.; LEA, L.S. Suplementação de progesterona para aumentar os índices de gestação em vacas de corte submetidas à inseminação artificial em tempo fixo. **Enciclopédia Biosfera**, v.10, n.19; p. 1715, 2014.

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

SANTOS, K. J. G., DOS SANTOS, A. P. D. P., DA COSTA, M. A., DA SILVA, L. S., DA COSTA FERRO, D. A., DIB, R. T. Efeito do estresse sobre os processos reprodutivos em fêmeas bovinas. **PUBVET**, v. 7, p. 1568-1574, 2013.

SAPOLSKY RM, ROMERO ML, MUNCK AU. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. **Endocrinology**, v.89, p.21-55. 2000.

SCHMITT, E.J.P., BARROS, C.M., FIELDS, P.A., FIELDS, M.J., DIAZ, T., KLUGE, J.M., THATCHER, W.W.:. A cellular and endocrine characterization of the original and induced corpus luteum after administration of a gonadotropin-releasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin on day five of the estrous cycle. **Journal of Animal Science** 74, 1915-1929, 1996.

SHEHAB-EL-DEEN, M. A. M. M., FADEL, M. S., VAN SOOM, A., SALEH, S. Y., MAES, D., LEROY, J. L. Circadian rhythm of metabolic changes associated with summer heat stress in high-producing dairy cattle. **Tropical Animal Health and Production**, v. 42, p. 1119-1125, 2010.

SIDDIQUI, M. A. R.; ALMAMUN, M.; GINTHER, O. J. Blood flow in the wall of the preovulatory follicle and its relationship to pregnancy establishment in heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 113, n. 1, p. 287-292, 2009.

SILVA, E. V. C.; KATAYAMA, K. A.; MACEDO, G. G.; RUEDA, P. M.; ABREU, U. G. P.; ZÚCCARI, C. E. S. N. Efeito do manejo e de variáveis bioclimáticas sobre a taxa de gestação em vacas receptoras de embriões. **Ciência Animal Brasileira**, v.11, n.2, p.280-291, 2010.

SILVEIRA, I.D.B.; FISCHER, V.; WIEGAND, M.M. Temperamento de bovinos de corte: métodos de medida em diferentes sistemas produtivos. **Archivos de Zootecnia**, v. 57, p. 321-332, 2008.

SOARES, D.R.; CYRILLO, J.N.S.G.; PARANHOS DA COSTA, M.J.R.; SANT'ANNA, A.C.; VALENTE, T.S.; RUEDA, P.M.; SCHWARTZKOPF-GENSWEIN, K.S. [2010]. Relações do ganho de peso com o temperamento de bovinos. In: VIII Congresso Brasileiro das Raças Zebuínas - EXPOGENÉTICA, 2011, Uberaba, MG. **Anais: VIII Congresso Brasileiro das Raças Zebuínas - EXPOGENÉTICA**, 2011.

SPENCER, T. E.; BAZER, F. W. Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 2, n. 1, p. 49, 2004a.

SPENCER, T. E.; BAZER, F. W. Uterine and placental factors regulating conceptus growth in domestic animals¹². **Journal of Animal Science**, v. 82, n. 13_suppl, p. E4-E13, 2004b.

STARBUCK, G. R.; GUTIERREZ, C. G.; PETERS, A. R.; MANN, G. E. Timing of follicular phase events and the postovulatory progesterone rise following synchronization of oestrus in cows. **The Veterinary Journal**, v. 172, p. 103-108, 2006.

STEVENSON, J. S., PORTALUPPI, M. A., TENHOUSE, D. E., LLOYD, A., EBORN, D. R., KACUBA, S., & DEJARNETTE, J. M. Interventions after artificial insemination: conception rates, pregnancy survival, and ovarian responses to gonadotropin-releasing hormone, human chorionic gonadotropin, and progesterone. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 1, p. 331-340, 2007.

STOJANOV, B., ATANASOV, B., GRIZELJ, J., VINCE, S., NIKOLOVSKI, M., KJOSEVSKI, M., DOVENSKI, T., ADAMO. N., ILIEVSKA. K., SAMARDZIJA, M. Induction and Formation of Accessory Corpus Luteum after Artificial Insemination (AI) Might Increase Pregnancy Rate per AI in Heat Stressed Dairy Cows. **Macedonian Veterinary Review**, v. 43, n. 1, p. 37-43, 2020.

STRAIN, G. M. Sistema nervoso vegetativo. In: DUKES, H.H. **Fisiologia dos Animais Domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p.858-870.

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

SZENCI, O.; TAKÁCS, E., SULON, J. *et al.* Evaluation of GnRH treatment 12 days after AI in the reproductive performance of dairy cows. **Theriogenology**, v. 66, p. 1811-1815, 2006.

THATCHER, W. W.; GUZELOGLU, A.; MATTOS, R.; BINELLI, M.; HANSEN, T. R.; PRU, J. K. Uterine-conceptus interactions and reproductive failure in cattle. **Theriogenology**, v. 56, n. 9, p. 1435-1450, 2001.

THATCHER, W. W., GUZELOGLU, A., MEIKLE, A., KAMIMURA, S., BILBY, T., KOWALSKI, A. A., SANTOS, J. E. P. Regulation of embryo survival in cattle. **Reproduction**, v. 61, p. 253-66, 2003.

THATCHER, W. W., STAPLES, C. R., DANET-DESNOYERS, G., OLDICK, B., SCHMITT, E. P. Embryo health and mortality in sheep and cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 72, p. 16-30, 1994.

VANROOSE, G.; DE KRUIF, A.; VAN SOOM, A. Embryonic mortality and embryo-pathogen interactions. **Animal Reproduction Science**, v. 60, p. 131-143, 2000.

VARUGHESE, E. E.; BRAR, P. S.; GHUMAN, S. S. Vascularization to preovulatory follicle and corpus luteum-a valuable predictor of fertility in dairy cows. **Theriogenology**, v. 103, p. 59-68, 2017.

VASCONCELOS, J. L. M.; JARDINA, D. T. G.; SÁ FILHO, O. G.; ARAGON, F. L.; VERAS, M. B. Comparison of progesterone-based protocols with gonadotropinreleasing hormone or estradiol benzoate for timed artificial insemination or embryo transfer in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v. 75, n. 6, p. 1153-1160, 2011.

VASCONCELOS, J. L. M.; SÁ FILHO, O. G.; COOKE, R. F. Impacts of reproductive technologies on beef production in South America. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 752, p.161-180, 2014.

VETTERS, M.D.D.; AHOLA, J.K.; ENGLE, T.E.; AHOLA, J.K.; GRANDIN, T. Comparison of flight speed and exit score as measurements of temperament in beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 91, p. 374-81, 2013.

WATHES, D. C.; TAYLOR, V. J.; CHENG, Z.; MANN, G. E. Follicle growth, corpus luteum function and their effects on embryo development in postpartum dairy cows. **Reproduction Supplement**, v. 61, p. 219-237, 2003.

WHISNANT, C. S.; BURNS, P. J. Evaluation of steroid microspheres for control of estrus in cows and induction of puberty in heifers. **Theriogenology**, New York, v. 58, n. 6, p. 1229-1235, 2002.

WILLARD, S., GANDY, S., BOWERS, S., GRAVES, K., ELIAS, A., WHISNANT, C. The effects of GnRH administration postinsemination on serum concentrations of progesterone and pregnancy rates in dairy cattle exposed to mild summer heat stress. **Theriogenology**, v. 59, n. 8, p. 1799-1810, 2003.

WILTBANK, M. C.; BAEZ, G. M.; GARCIA-GUERRA, A.; TOLEDO, M. Z.; MONTEIRO, P. L.; OCHOA, J. C.; SANTOS, J. E.P.; SARTORI, R. Pivotal periods for pregnancy loss during the first trimester of gestation in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v. 86, n. 1, p. 239-253, 2016.

WILTBANK, M. C.; SOUZA, A.H.; CARVALHO, P.D.; CUNHA, A.P.; GIORDANO, J.O.; FRICKE, P.M.; BAEZ, G.M.; DISKIN, M.G. Physiological and practical effects of progesterone on reproduction in dairy cattle. **Animal**, v. 8, n. s1, p. 70-81, 2014.

WOLFENSON, D.; SONEGO, H.; BLOCH, A.; SHAHAM-ALBALANCY, A.; KAIM, Y.; MEIDAN, R. Seasonal differences in progesterone production by luteinized bovine thecal and granulosa cells. **Domestic Animal Endocrinology**, v.22, n.2, p.81-90, apr. 2002.

YAN, L.; ROBINSON, R.; SHI, Z.; MANN, G. Efficacy of progesterone supplementation during early pregnancy in cows: A meta-analysis. **Theriogenology**, v. 85, n. 8, p. 1390-1398, 2016.

ZERON, Y.; OCHERETNY, A.; KEDAR, O.; BOROCHOV, A.; SKLAN, D.; ARAV, A. Seasonal changes in bovine fertility: relation to developmental competence of oocytes, membrane properties and fatty acid composition of follicles. **Reproduction**, v. 121, n. 3, p. 447-454, 2001.

4. CAPÍTULO I

MITIGAÇÃO DA BAIXA TAXA DE CONCEPÇÃO DE VACAS DA RAÇA NELORE EXCITÁVEIS PELA ADMINISTRAÇÃO DE GnRH OU P4

RESUMO

Este estudo teve como objetivo determinar o efeito do temperamento do animal sobre os parâmetros reprodutivos de animais da raça Nelore. Além disso, foram investigados dois métodos para aumentar as concentrações plasmáticas de progesterona (P4) em animais excitáveis para aumentar a taxa de prenhez (P/IA) e reduzir a perda da gestação. No total, 939 vacas foram submetidas à inseminação artificial em tempo fixo (IATF) e divididas em três grupos: (P4LA; n = 305) animais que receberam 150 mg de progesterona injetável de longa ação 7 dias após a IATF; (GnRH; n = 306), animais que receberam 10 µg de acetato de buserelina no dia 7 após IATF e grupo controle (GC; n = 328) sem tratamento hormonal. As avaliações ultrassonográficas do folículo pré-ovulatório (Modo B) foram realizadas no dia da inseminação e do corpo lúteo (Color Doppler) 7 e 16 dias após a IATF. Amostras de sangue foram obtidas no dia da inseminação e após 7 e 16 dias para dosagem de cortisol e progesterona, respectivamente. No momento da inseminação, foram realizadas avaliações subjetivas do temperamento, sendo os animais classificados como excitáveis (EXC) ou adequados (ADQ). O procedimento SAS GLIMMIX foi usado para comparar a taxa de concepção e perda gestacional dentro de cada temperamento para os três grupos experimentais. As variáveis contínuas foram analisadas utilizando o procedimento SAS PROC MIXED. A concentração de cortisol foi maior e os volumes de FL e CL no momento da inseminação e 7 dias após a IA, respectivamente, foram menores nos animais EXC do que nos ADQ. Não foi observada diferença entre o número de pixels, intensidade de CL e concentração plasmática de P4, 7 dias após IATF. Entretanto, 16 dias após a inseminação, entre os animais classificados como EXC, foram observadas maiores concentrações de P4 nos grupos GnRH e P4LA comparados ao controle. A concentração de P4 foi menor nos animais classificados como EXC comparados ADQ no grupo controle (P = 0,06), enquanto a taxa de fluxo sanguíneo do CL foi menor nos animais EXC comparados aos animais ADQ (P = 0,04). Entre os animais ADQ, os grupos GnRH e P4LA apresentaram menor perfusão vascular comparado ao controle (P = 0,04). Entre os animais EXC, uma maior taxa de prenhez foi observada nos grupos GnRH e P4LA comparado ao grupo controle (P = 0,01). No grupo controle, a taxa de prenhez dos animais ADQ foi maior que a dos animais EXC (P = 0,05). Não foram observadas diferenças entre as perdas gestacionais quando os tratamentos ou temperamentos foram comparados. Em conclusão, o uso de GnRH ou P4LA, 7 dias após a inseminação, melhora as taxas de prenhez em animais excitáveis e é uma alternativa viável para minimizar o impacto negativo do estresse e melhorar a eficiência reprodutiva em bovinos de corte.

Palavras-chave: estresse, fertilidade, progesterona, gado de corte, temperamento.

MITIGATION OF LOW PREGNANCY RATE IN EXCITABLE NELLORE COWS BY ADMINISTRATION OF GNRH OR P4

ABSTRACT

This research aimed to determine the effect of temperament on reproductive parameters including cortisol and progesterone (P4) in Nellore cows. Additionally, two methods for increasing plasma progesterone (P4) levels in excitable animals to enhance pregnancy rate (P/AI) and reduce pregnancy loss were investigated. In total, 939 cows were subjected to timed artificial insemination (TAI) and divided into three groups: (P4LA; n = 305) 150 mg of injectable long-acting progestogen 7 days after TAI; (GnRH; n = 306), 10 µg of buserelin acetate on day 7 after TAI; control group (CG; n = 328) without hormonal treatment. Ultrasound evaluations of the preovulatory follicle (Mode B) were performed on the day of insemination and of the corpus luteum (Color Doppler) 7 and 16 days after TAI. Blood samples were obtained on the day of insemination and after 7 and 16 days to measure cortisol and progesterone, respectively. At the time of insemination, subjective temperament evaluations were performed with the animals being classified as excitable (EXC) or adequate (ADQ). The SAS GLIMMIX procedure was used to compare the pregnancy rate (P/AI) and gestational loss within each temperament for the three experimental groups. Continuous variables were analyzed utilizing SAS PROC MIXED procedure. Cortisol concentration was higher and FL and CL volumes at the time of insemination and 7 days after AI, respectively, were lower in EXC animals than in ADQ. No significant difference was observed between the number of pixels, CL intensity, and plasma concentration of P4, 7 days after TAI. However, 16 days post-insemination, among the animals classified as EXC, higher concentrations of P4 were observed in the GnRH and P4LA groups than in the control. P4 concentration was lower in animals classified as EXC than in ADQ within the control group ($P = 0.06$), while rate of blood flow from the CL was lower in EXC animals than in ADQ animals ($P = 0.04$). Among the ADQ animals, the GnRH and P4LA groups showed a lower flow rate than that observed in the control ($P = 0.04$). Among EXC animals, a higher pregnancy rate was observed in the GnRH and P4LA groups than in the control group ($P = 0.01$). In the control group, the pregnancy rate (P/AI) of the ADQ animals was higher than that of the EXC animals ($P = 0.05$). No statistically significant differences were observed between gestational losses when the treatments or temperaments were compared. In conclusion, the use of GnRH or P4LA, 7 days after insemination, improves pregnancy rates in excitable animals and is a viable alternative to minimize the negative impact of stress and improve reproductive efficiency in beef cattle.

Key-words: stress, fertility, progesterone, beef cattle, temperament.

4.1. Introdução

O estresse é responsável por várias manifestações que afetam a eficiência reprodutiva em situações de ameaça ou desconforto causados por agentes estressores, que podem ser de natureza mecânica (traumatismos cirúrgicos ou não), física (calor, frio, som), química (drogas), biológica (agentes infecciosos), de natureza psíquica (medo) ou ainda por desnutrição [1]. O animal responde manifestando alterações comportamentais e fisiológicas denominadas genericamente de estresse [2].

Protocolos de Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) requerem manejos contínuos, expondo os animais a agentes estressores como aplicações de hormônios e utilização de dispositivos intravaginais onde as fêmeas mais reativas podem apresentar prejuízo nos índices reprodutivos [3,4].

A atuação do estresse na reprodução ocorre de maneira complexa, havendo interferência na liberação de vários hormônios. Quando o animal é exposto a um agente estressor, o Sistema Nervoso Simpático (SNS) é ativado [5], liberando adrenalina, noradrenalina e cortisol [6–9] pela ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal [10]. O estresse interfere na liberação do hormônio luteinizante (LH) [10–12], podendo afetar a dinâmica folicular, a atividade do corpo lúteo, e ainda ocasionar problemas na fecundação e/ou causar perda embrionária [3,13–15]. Ainda que estudos tenham sido conduzidos com propósito de estudar o efeito do estresse sob uma perspectiva endócrina, os efeitos do estresse na vascularização de estruturas ovarianas não foram esclarecidos. A vascularização do corpo lúteo desempenha um papel decisivo na funcionalidade e produção de progesterona [16]. Acredita-se que a vascularização do corpo lúteo também possa sofrer alterações em consequência ao estresse.

Adicionalmente, as concentrações plasmáticas de progesterona podem diminuir de acordo com o estresse, temperamento e o estado metabólico do animal [17,18].

Segundo Cooke [19], o temperamento do animal afeta as concentrações de cortisol sanguíneo, sendo que animais mais excitáveis apresentam maiores concentrações de cortisol, e existe relação entre as concentrações de cortisol e a intensidade de estresse aos quais os animais estão sujeitos [20].

Em experimento realizado com novilhas de corte, avaliando a relação do temperamento com concentrações de cortisol e com a taxa de concepção, foram relatados, no início do protocolo hormonal, maiores concentrações de cortisol para animais considerados “excitáveis”, e essa maior concentração de cortisol foi associada à morte embrionária causada por alterações na produção de progesterona pelo corpo lúteo [20].

A progesterona é um hormônio essencial para manutenção da gestação, e sua redução pode levar a diminuição da fertilidade. Diversos estudos foram desenvolvidos para identificar tratamentos hormonais que possam aumentar as concentrações de P4, seja feita por meio de uso de dispositivo intravaginal de P4; pela administração de P4 injetável de longa ação ou ainda pela indução de corpo lúteo acessório [21–24]. O uso de estratégias de suplementação de P4 após a IATF tem produzido resultados satisfatórios com aumento na taxa de concepção [25–29] e diminuição da perda embrionária [26,29,30].

Desta forma, estratégias de elevação da concentração plasmática de progesterona podem ser uma alternativa interessante a fim de minimizar os impactos do estresse nos parâmetros reprodutivos de vacas submetidas à IATF. A nossa hipótese é que o estresse apresenta efeitos sistêmicos que podem interferir no fluxo sanguíneo ovariano com menor perfusão vascular do corpo lúteo e diminuição das concentrações plasmáticas de P4 e que o incremento das concentrações de P4, por aplicação de progesterona injetável de longa ação ou pela aplicação de GnRH, aumenta a taxa de concepção em vacas da raça Nelores reativas, minimizando o impacto do estresse na eficiência reprodutiva. Posto isso o objetivo do presente estudo foi

avaliar a eficácia de duas estratégias empregadas para incremento de progesterona plasmática (P4) sobre a taxa de concepção e a perda gestacional de vacas da raça Nelore submetidas à IATF de acordo com seu temperamento excitável (EXC) ou adequado (ADQ). Ainda avaliar o efeito do temperamento excitável (EXC) ou adequado (ADQ) sobre os seguintes parâmetros reprodutivos: concentrações de cortisol e de P4; volume do folículo pré-ovulatório (FPO); volume e a perfusão vascular do CL; taxa de ovulação.

4.2. Material e Métodos

4.2.1 Local, período e animais

O presente experimento foi realizado em duas fazendas localizadas no interior do estado de São Paulo, na região Sudeste do Brasil, tendo sido aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/IV/UFRRJ, – processo no 9170310818 (ID 001055).

Foram utilizadas 939 vacas da raça Nelore, com escore de condição corporal médio de $2,93 \pm 0,66$ (escala de 1 a 5, considerado o um caquético e o cinco obeso), livres de doenças que afetam a reprodução (Brucelose, tuberculose, campilobacteriose, triconomose, IBR e BVD). Os animais eram criados em sistema extensivo, em lotes de 90 animais em média, mantidos em pastagens com predominância de *Urochloa* spp (*U. decumbens*), com acesso a bebedouros e recebendo mistura mineral *ad libitum*. Foram utilizadas fêmeas com um período pós-parto mínimo de 40 dias e máximo de 80 dias.

O manejo dos animais era realizado de maneira tranquila e segura, sendo as fêmeas conduzidas ao curral por dois profissionais treinados, onde aguardavam até o momento de serem conduzidas ao tronco de contenção para serem realizadas as seguintes atividades: avaliação do comportamento, aplicação de hormônios para sincronização do estro, ultrassonografia transretal ou coleta de sangue. As avaliações foram concentradas em um período da manhã e duração de no máximo 4 horas, para que não houvesse diferença no tempo de espera no curral, todos animais foram submetidos ao mesmo manejo.

4.2.2 Sincronização da ovulação e IATF

Os animais foram previamente submetidos à triagem ginecológica antes da realização da sincronização da ovulação, sendo descartados do experimento animais gestantes ou com anomalias no trato reprodutivo. Em dia aleatório do ciclo estral (início do tratamento), foi inserido dispositivo intravaginal contendo 0,5 g de progesterona (Primer®, Tecnopec, São Paulo, Brasil) associado à aplicação de 2,0 mg de benzoato de estradiol (Sincrodiol®, Ouro Fino Saúde Animal), por via intramuscular. O dispositivo foi mantido por oito dias e, na sua retirada, foram aplicados 500 µg de cloprostenol (Sincrocio®, Ouro Fino Saúde Animal, São Paulo, Brasil), 400UI de gonadotrofina coriônica equina (Folligon®, MSD Saúde Animal, São Paulo, Brasil), 1,0 mg de cipionato de estradiol (SincroCP®, Ouro Fino Saúde Animal, São Paulo, Brasil), todos por via intramuscular. Dois dias após a retirada do dispositivo foi realizada a Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF), sendo esse considerado D=0.

4.2.3 Delineamento experimental

Após a IATF, os animais foram distribuídos em três grupos: Grupo P4LA (n=305) no qual as fêmeas foram suplementadas com 150mg de progestágeno injetável de longa ação

(Sincrogest LA®, Ourofino, Cravinhos/SP), i.m, em dose única, 7 dias após a IATF; Grupo GnRH (n=306), no qual as fêmeas foram suplementadas com 10µg de acetato de busirelina (Sincroforte®, Ourofino, Cravinhos/SP), i.m, no sétimo dia após IATF; Grupo Controle (n=328) no qual os animais não receberam nenhum tipo de suplementação de progestágeno, porém tiveram o mesmo manejo dos demais grupos (Figura 1). A distribuição dos animais nos tratamentos ocorreu antes da suplementação de P4, distribuindo a mesma proporção de animais cíclicos (presença de corpo lúteo) e acíclicos (anestro) em cada grupo.

4.2.4 Avaliação ultrassonográfica do folículo pré-ovulatório e do corpo lúteo

Duzentas e treze vacas foram submetidas à avaliação ultrassonográfica do FPO (Modo B), no dia da inseminação (D=0), e do CL (Modo B e Doppler Colorido), no sétimo (D7) e no décimo sexto dia após a IA (D=16). Estas avaliações foram realizadas sempre pelo mesmo operador, por via transretal com auxílio de um Ultrassom Doppler Mindray, modelo Z5VET, equipado com transdutor linear 75L50EAV e emissão de onda de 5,0/7,5 Mhz padronizando o ganho total em 70%. As imagens dos folículos e corpos lúteos foram realizadas em modo B para determinação das posições e mensuração de seu diâmetro e de eventuais cavidades luteais presentes. O volume (V) do FPO e do CL foi estimado utilizando a seguinte equação disponível no manual do aparelho de ultrassom: $V \text{ (cm}^3\text{)} = \pi / 6 \times D1 \text{ (cm)} \times D2 \text{ (cm)} \times D3 \text{ (cm)}$, em que D1, D2, D3 são o comprimento de três eixos do objeto de destino. Se um CL continha uma cavidade, o volume da cavidade era determinado e subtraído do volume CL calculado, exceto em CLs com luteinização incompleta.

Na avaliação da perfusão vascular do CL, as configurações foram padronizadas, sendo a frequência do transdutor fixada em 6,6 MHz, a frequência de repetição de pulso em 1 KHz; e a posição de foco em 1 [30]. As imagens foram posteriormente editadas e submetidas à análise do programa Image J a fim de quantificar o número de pixels coloridos e ainda a sua intensidade [31]. As imagens realizadas com a função Doppler foram armazenadas em formato AVI em disco magnético para análise posterior. Os vídeos foram analisados selecionando três imagens com maior diâmetro e fluxo sanguíneo com a finalidade de se obter uma média das variáveis. Em seguida, a média das três imagens foi editada e submetida à análise pelo software Image J (Image J 1.45s, EUA) no sentido de quantificar o número de pixel coloridos existente. Os pixels foram mensurados de acordo com a intensidade através do código numérico de cada cor multiplicado pelo número de pixels da cor correspondente, uma vez que as cores mais claras possuem maior código numérico e estão associadas a uma maior intensidade.

4.2.5 Avaliação da reatividade

A reatividade de cada vaca foi avaliada fazendo uso de dois métodos que não alterassem a rotina da fazenda, por meio de observações visuais durante os seis primeiros segundos de permanência do animal no brete, sendo avaliada por um mesmo técnico antes da inseminação (D=0).

O primeiro método, denominado score composto de reatividade, foi adaptado de Cooke [18] e baseado em uma escala crescente de quatro scores, sendo: 1 = Pouco ou nenhum deslocamento do animal, permanecendo na mesma posição a maior parte do tempo, encostado na parte da frente ou de trás do brete, movimentos ocasionais e relaxados da cauda; 2 = Animal geralmente calmo, mas não permanece na mesma posição por muito tempo, movimentos de cauda ocasionais e vigorosos; 3 = Deslocamento frequente, movimentos contínuos e vigorosos, movimentos frequentes e vigorosos da cauda; 4= Deslocamento contínuo, movimentos vigorosos e abruptos, tentativa e/ou sucesso em se virar ou deitar, ocorrência de saltos, forçar a

grade de saída com a cabeça tentando se livrar da guilhotina, movimentos frequentes e vigorosos da cauda.

Outro método utilizado foi a avaliação de escore de saída do brete [31]. Onde, escore 1 = animal não sai do brete, precisa ser tocado, 2 = animal sai andando, 3 = animal sai trotando e 4 = animal sai correndo ou pulando.

O escore de temperamento final atribuído a cada vaca foi adaptado pela metodologia proposta por Cooke et al. [14], onde o escore final foi determinado calculando a média da pontuação dos escores de saída de tronco e escore de brete. Seguidamente, de acordo com a média obtida, os animais foram classificados como temperamento adequado (ADQ = pontuação ≤ 2) temperamento excitável (EXC = pontuação do temperamento > 2).

4.2.6 Dosagem de cortisol e progesterona

Para dosagem de cortisol e progesterona foram coletadas amostras de sangue de 20% dos animais envolvidos no experimento. As amostras para análise de cortisol foram coletadas no D=0, pouco antes da inseminação artificial e para análise de P4, no D7 e D16. Todas as amostras foram coletadas por punção da veia coccígea em tubo de vácuo de 10 mL sem anticoagulantes (Vacuette®, Greiner bio-one Ltda, São Paulo, Brasil). As amostras de sangue foram centrifugadas por 15 min a 480 G e mantidas em refrigeração a -20° C até a posterior análise. As concentrações séricas de cortisol e de P4 foram determinadas pela técnica de radioimunoensaio em fase sólida, utilizando kits comerciais (ImmuChem, MP Biomedicals, Santa Ana, Califórnia, EUA). Os coeficientes intra-ensaio foram 10% e 11%, respectivamente para o cortisol e P4. Todos os dados estavam dentro do ponto máximo e mínimo da curva.

4.2.7 Diagnóstico de gestação e perda gestacional

O diagnóstico de gestação (DG) e a perda gestacional (PG) foram realizadas pela ultrassonografia transretal (Mindray D2200 vet). O DG foi realizado 30 dias após a inseminação e a PG 60 dias após a inseminação, sendo a confirmação da prenhez baseada na visualização da vesícula embrionária com a presença de embrião viável (presença de batimento cardíaco).

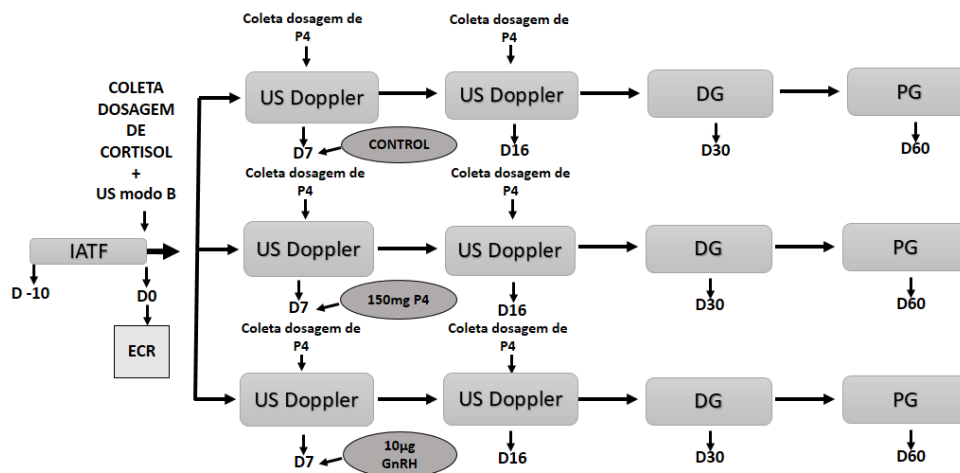


Figura 1. Representação esquemática do desenho experimental: (IATF) inseminação artificial em tempo fixo; (ECR) escora composta de reatividade; (CONTR) controle; (P4) progesterona; (GnRH) hormônio liberador de gonadotrofina; (US) ultrassonografia; (DG) diagnóstico de gestação.

4.2.8 Análise estatística

As variáveis taxa de concepção, perda gestacional e reatividade em função dos tratamentos foram comparadas pelo procedimento GLIMMIX do SAS (Versão 9.4; SAS Institute). Foram testados os efeitos das variáveis: reatividade, ciclicidade, ECC, fazenda, inseminador, touro e interações. Quando não detectados efeitos significativos, a variável foi removida do modelo com base no critério da estatística de Wald quando $P > 0,20$. Para análise, além dos tratamentos (CONTR, GnRH e P4LA), taxa de concepção a reatividade foi incluída no modelo. As variáveis contínuas como volume, pixel e intensidade do CL, assim como concentrações de cortisol e de P4 foram testadas de acordo com sua homogeneidade e normalidade e analisadas pelo procedimento PROC MIXED do SAS, sendo utilizadas somente as vacas ovuladas.

Diferenças significativas foram consideradas para $P < 0,05$, enquanto as diferenças entre $P > 0,05$ e $P < 0,07$ foram consideradas como tendência. Os dados são apresentados como médias \pm erro padrão e como porcentagens para resultados contínuos e binários, respectivamente.

4.3 Resultados

A Tabela 1 apresenta as concentrações plasmáticas de cortisol e progesterona, além das taxas de ovulação e parâmetros ultrassonográficos relacionados ao FPO e CL, sete dias após a IATF.

Tabela 1. Concentração de cortisol e de progesterona e parâmetros ultrassonográficos do folículo pré-ovulatório e do corpo lúteo de vacas Nelores de temperamento adequado ou excitável, 7 dias após a IATF.

		Temperamento		Valor P	
		Excitável	Adequado		
Todas	Cortisol (ng/mL)	N	43	115	<0.01
		Média (SEM)	24.7 (3.1)	13.5 (1.3)	
	Ovulação		92.6% (50/54)	90.6% (144/159)	0.65
Somentes vacas ovuladas	Cortisol (ng/ml)	N	40	106	<0.01
		Média (SEM)	23.3 (2.8)	13.8 (1.3)	
	FPO vol (cm ³)	N	40	100	0.03
		Média (SEM)	1.2 (0.1)	1.5 (0.1)	
	CLVol (cm ³)	N	50	144	0.02
		Média (SEM)	3.8 (0.3)	4.5 (0.2)	
	Pixel	N	50	144	0.65
		Média (SEM)	2271 (144.2)	2332 (85.6)	
Intensidade**	N	50	144	0.57	
	Média (SEM)	283239 (21329)	267428 (9727)		
P4_d7(ng/ml)	N	46	117	0.59	
	Média (SEM)	1.9 (0.1)	2.2 (0.2)		

VOL= Volume; FPO= Folículo pré-ovulatório, CL= Corpo Lúteo, d7= sete dias após IATF; P4= progesterona. Letras sobrescritas iguais representam valores estatisticamente iguais. ** Intensidade é um valor numérico obtido a partir do código numérico de cada cor multiplicado pelo número de pixels dessa cor, sem unidade de medida específica.

Considerando todas as vacas analisadas, não houve diferença entre as taxas de ovulação entre animais de temperamento adequado e excitável. No entanto, foi observada diferença nas concentrações plasmáticas de cortisol, onde os animais classificados como excitáveis apresentaram concentrações de cortisol maiores quando comparados aos animais adequados, tanto considerando todos os animais como levando em consideração somente os animais ovulados.

Houve diferença no volume do FPO assim como do CL, sete dias após a IATF, onde os animais classificados como excitáveis apresentaram menores volumes de FPO e CL. Entre os animais de temperamento adequado ou excitável, sete dias após IATF, não foi observada diferença entre as variáveis número de pixels, intensidade do CL além das concentrações plasmáticas de P4.

Tabela 2: Concentração de progesterona (ng/mL) e parâmetros ultrassonográficos do corpo lúteo de vacas da raça Nelores de temperamento adequado ou excitável, 16 dias após IATF.

Parâmetros				
Volume CL D16 (cm³)				
	CONTR	GNRH	P4LA	P
ADQ	4.22 (0.21)	4.65 (0.27) A	4.28 (0.23)	0.4092
EXC	4.03 (0.25)	3.59 (0.46) B	4.40 (0.47)	0.1276
P	0.8047	0.0251	0.9257	
Concentração P4 D 16 (ng/ml)				
	CONTR	GNRH	P4LA	P
ADQ	3.21 (0.33)	3.67 (0.42)	3.23 (0.50) a	0.1346
EXC	2.26 (0.64) a	3.36 (0.41) b	4.04 (0.49) b	0.0168
P	0.0634	0.5016	0.0184	
CL pixel D16				
	CONTR	GNRH	P4LA	P
ADQ	2732.5 (168.7) a	2000.23 (104.3) b	1803.44 (94.5) b	<.0001
EXC	2228.3 (228.4) A	2022.97 (149.7)	1939.98 (183.3)	0.3649
P	0.0452	0.8355	0.5858	
CL intensidade D16				
	CONTR	GNRH	P4LA	P
ADQ	312849.8 (19010.6) a	245053.7 (13742.7) b	218578.4 (11627.1) b	0.004
EXC	263240.4 (24534.4)	248400.2 (17261.1)	238847 (23341.2)	0.4946
P	0.1054	0.7804	0.5048	

CL= Corpo Lúteo, d7= sete dias após IATF; P4= progesterona. CONTR= Controle; ADQ= Adequado; EXC= excitável. Letras sobrescritas iguais representam valores estatisticamente iguais. ** Intensidade é um valor numérico obtido a partir do código numérico de cada cor multiplicado pelo número de pixels dessa cor, sem unidade de medida específica.

Com relação ao volume do CL, dezesseis dias após a IATF, não foi observada diferença quando comparados os tratamentos dentro dos grupos EXC ou ADQ (Tabela 2). Quando comparados animais EXC com ADQ, dentro de cada tratamento, foi observado uma diminuição do volume do CL dos animais classificados como EXC comparado com os ADQ somente dentro do grupo GnRH (p=0,02).

Não houve diferença entre os tratamentos quando comparadas as concentrações de P4 dentre dos animais classificados como ADQ (p=0,13). Contudo, entre os animais classificados como EXC, os grupos GnRH e P4LA apresentaram as maiores concentrações de P4 comparados aos animais do grupo controle (p=0,01). Não foi observada diferença nas concentrações de P4 entre animais ADQ e EXC no grupo GnRH (p=0,83). No grupo P4LA, as concentrações de P4 dos animais EXC foram maiores que os classificados como ADQ (p=0,01). Houve uma

tendência de menor concentração de P4 nos animais classificados como EXC quando comparados com ADQ no grupo controle (p=0,06).

Não houve diferença no número de pixels entre ADQ e EXC nos grupos GnRH e P4LA. Já no grupo controle, os animais classificados como EXC apresentaram menor número de pixels comparado ao ADQ (p=0,04). Comparando os tratamentos dentro do grupo de animais EXC, não houve diferença no número de pixels (p=0,36). Animais classificados como ADQ dos grupos GnRH e P4LA apresentaram menor número de pixel comparados aos animais ADQ do grupo Controle (p<0,01).

Não houve diferença na intensidade do CL entre animais ADQ e EXC em função dos tratamentos, também não foi observada influência dos tratamentos na intensidade do CL em animais EXC. Entretanto, entre os animais ADQ, os grupos GnRH e P4LA apresentaram menor intensidade comparado ao grupo controle (p=0,04).

Não houve diferença na intensidade do CL entre animais ADQ e EXC em função dos tratamentos, também não foi observada influência dos tratamentos na intensidade do CL em animais EXC. Entretanto, entre os animais ADQ, os grupos GnRH e P4LA apresentaram menor intensidade comparado ao grupo controle (p=0,04).

A tabela 3 apresenta as taxas de concepção e de perdas gestacionais de animais EXT e ADQ em função dos tratamentos. Nos animais classificados como ADQ, não houve diferença nas taxas de concepção entre os tratamentos (p=0,95). Entretanto, para os animais EXC, foi observada maior taxa de concepção para o grupo P4LA comparado ao controle (p=0,01), mas não foi observada diferença na taxa de concepção do grupo GnRH quando comparado ao controle e P4LA. Não foi observada diferença nas taxas de concepção entre animais ADQ e EXC dentro dos grupos GnRH e P4LA (p=0,99 e p=0,96, respectivamente). Por outro lado, no grupo controle, a taxa de concepção dos animais classificados como ADQ tendeu (p=0,056) a ser maior do que a dos animais EXC (52.45% vs 34.52%). Com relação à perda gestacional, não foi observado efeito dos tratamentos em animais ADQ e EXT (p=0,7).

Tabela 3: Taxa de concepção e perda gestacional de vacas Nelores de temperamento adequado ou excitável.

Parâmetros				
Taxa de Concepção				
	CONTR	GNRH	P4LA	P
ADQ	52,45% (128/244)	56,33% (138/245)	56,02% (135/241)	0.95
EXC	34,52% (29/84) a	52,46% (32/61) ab	61,9% (39/63) b	0.01
P	0.05	0.99	0.96	
Perda Gestacional				
	CONTR	GNRH	P4LA	
ADQ	14.7% (19/129)	9.3% (13/139)	5.9% (8/135)	
EXC	17.2% (5/29)	12.5% (4/32)	12.8% (5/39)	
P				
(PL*Reatividade)				
0,7				

CONTR= Controle; ADQ= Adequado; EXC= excitável. Letras sobrescritas iguais representam valores estatisticamente iguais.

4.4 Discussão

A influência do temperamento na eficiência reprodutiva vem sendo investigada ao longo dos anos, sendo demonstrada uma forte relação entre temperamento e eficiência reprodutiva, onde vacas excitáveis apresentam menores desempenhos reprodutivos [1,32,33]. Entretanto, estudos que avaliem a relação do temperamento com funcionalidade luteal e ainda apontem estratégias para minimizar esse possível impacto negativo nos índices reprodutivos ainda são escassos.

No presente estudo, 22% (208/939) dos animais foram classificados com temperamento EXC e 78% (730/939) como ADQ. A menor proporção de animais EXC é relatada em outros estudos, mas existe inconstância entre as proporções de animais excitáveis dentro de um rebanho, onde a proporção de animais de temperamento excitável ou adequado pode ser influenciado por diversos fatores, como: categoria animal, manejo e raça [14,34,35].

Como esperado, foi observada diferença entre as concentrações de cortisol entre os animais de diferentes temperamentos, onde os animais classificados como EXC tiveram maiores concentrações de cortisol comparados aos ADQ ($p < 0,01$). Alguns estudos correlacionando estresse, temperamento e cortisol também mostraram maiores concentrações de cortisol plasmáticos em vacas de temperamento reativo comparado com vacas mais calmas [14,33,35–38].

De acordo com Yoshida e Nakao [39], as concentrações basais de cortisol em bovinos variam entre 5 e 10 ng/ml, sendo que as concentrações de cortisol encontradas no presente estudo foram superiores. Cooke [40] demonstrou uma relação positiva entre o nível de estresse, temperamento e produção de cortisol, relatando que o aumento do cortisol é uma das principais respostas de mamíferos submetidos ao estresse. O mesmo autor reporta que o estresse nos animais oriundos dos manejos é suficiente para promover maiores concentrações de cortisol, fato que está em conformidade com Maziero et al. [41] onde os manejos realizados no brete como, inseminação, palpação transretal e coleta sanguínea, foram capazes de desencadear o estresse nas vacas.

Alguns estudos demonstraram que os hormônios produzidos em resposta ao estresse, podem afetar a dinâmica folicular, a taxa de ovulação e a atividade do corpo lúteo, alterando a liberação do hormônio luteinizante (LH) [10–12]. Segundo Vasconcelos et al. [42], picos de LH insuficientes promovem ovulação de folículos menores, sendo esses associados a corpos lúteos menores e com menor capacidade de produzir progesterona. No presente estudo, não foi observada diferença nas taxas de ovulação, conforme observado por Mazieiro et al. [41] onde, apesar dos animais apresentarem altas concentrações de cortisol, a taxa de ovulação não foi afetada. Especula-se neste estudo que a utilização da eCG (Gonadotrofina Coriônica Equina) no protocolo de sincronização da ovulação pode ter influenciado no crescimento e maturação final do FPO e na taxa de ovulação, principalmente nos animais com maiores concentrações de cortisol. Estudos recentes relataram que a aplicação da eCG no momento da retirada do dispositivo de P4 pode ser usada como estratégia para obter maior crescimento folicular, melhorando as concentrações pré-ovulatórias de estradiol e consequentemente a função luteal [43, 44].

Os animais EXC apresentaram menor volume do folículo pré-ovulatório ($p=0,03$) e menor volume CL, setes dias após ovulação ($p=0,02$), mas não foi observada diferença entre animais EXC e ADQ em relação à perfusão vascular (pixel e intensidade) do CL sete dias após a ovulação. Alguns estudos também relataram que o temperamento afetou negativamente o tamanho dos folículos [4, 33] e do corpo lúteo [45, 46]. De acordo com Tarso et al. [47], a perfusão vascular dos folículos em bovinos está intimamente relacionada ao aumento do seu diâmetro. Apesar do presente estudo não ter avaliado a perfusão vascular do folículo pré-

ovulatório, acredita-se que o temperamento pode ter afetado negativamente a perfusão vascular do folículo e por consequência o seu tamanho, conforme descrito por Guerson et al. [48].

A perfusão vascular do CL sete dias após a ovulação (CL D7) não foi afetada pelo temperamento. Este achado contrasta com outros estudos onde foi observada relação positiva entre tamanho de FPO com tamanho e perfusão vascular do CL [49, 50]. As concentrações plasmáticas de P4 não diferiram entre animais ADQ e EXC (D7). Esse fato pode estar relacionado com a perfusão vascular CL D7 que também não diferiu. Segundo Herzog et al. [51], o fluxo sanguíneo do CL é um melhor indicador de concentrações de P4 e, consequentemente, de função luteal, quando comparado ao diâmetro do CL.

Ao comparar animais EXC e ADQ dentro de cada tratamento, foi observado que os animais excitáveis do grupo GnRH apresentaram menor volume de CL D16 comparado aos animais adequados no mesmo grupo. A perfusão vascular nos animais classificados com ADQ foi menor nos grupos suplementados (GnRH e P4LA), apesar disso, não houve diferença nas concentrações de P4 entre animais ADQ. De forma contrária, dentre os animais EXC, a suplementação não influenciou a perfusão vascular do CL, mas as concentrações plasmáticas de P4 D16 foram maiores nos grupos suplementados (GnRH e P4LA).

Nos parece que a compreensão da fisiologia com relação à perfusão vascular do CL e produção de progesterona ainda não é bem compreendida. Algumas pesquisas relatam correlações altas entre a perfusão vascular do CL e concentração plasmática de P4 [50] enquanto outros relatam correlações moderadas [51] ou ainda nenhuma correlação significativa [52].

Os tratamentos hormonais podem afetar de forma diferente a perfusão vascular do CL e a secreção de P4 [53], assim como o temperamento excitável pode afetar as concentrações plasmáticas de P4 como relatado em alguns estudos [4, 46], mas trabalhos relatando a influência do temperamento excitável na perfusão vascular de CL são escassos.

Avaliando os efeitos do GnRH ou tratamento com progesterona, 5 dias pós inseminação, sobre a progesterona plasmática e perfusão vascular do corpo lúteo em vacas leiteiras, Garcia-Isperto e López-Gatius [54] relataram que o tratamento no dia 5 pós-inseminação com progesterona (PRID) e GnRH (Gonadorelina) aumentou a concentração de progesterona durante a fase lútea do ciclo após IA somente no grupo GnRH. Além disso, o tratamento com progesterona causou diminuição do fluxo sanguíneo do corpo lúteo, mas não foi observado o mesmo efeito em relação ao grupo tratado com GnRH.

Em outro estudo avaliando o fluxo sanguíneo e a síntese de P4 em vacas que receberam hCG sete dias após a ovulação, Beindorff et al. [53] relataram que houve alteração transitória na perfusão vascular do CL em resposta a aplicação de hCG. Nos parece adequado a utilização da avaliação da perfusão vascular de CL para investigar o efeito de diferentes tratamentos hormonais na viabilidade lútea. No entanto, segundo Lüttgenau [16], as alterações nas concentrações plasmáticas de P4 podem não ter correlação direta com alterações de fluxo do CL.

Os animais EXC do grupo controle apresentaram menor fluxo sanguíneo ($p=0,04$) e uma tendência de menor concentração de P4 ($p=0,06$) comparados aos animais ADQ do mesmo tratamento. Tal fato pode ser explicado pelo efeito do estresse que aumenta os níveis de cortisol plasmático que inibe a liberação de GnRH, interferindo no pico de LH, que é crítico para a formação do corpo lúteo e produção suficiente de progesterona [4, 55].

De maneira semelhante, Vedovatto et al. [46] relataram que vacas excitáveis apresentaram menores concentrações plasmáticas de P4 nos dias 7 e 14. Ainda Kasimanickam et al., [4] trabalhando com novilhas de temperamento excitável, concluíram que esses animais apresentaram menor produção de P4 pelo corpo lúteo.

Com relação às concentrações plasmáticas de P4, foi observado efeito dos tratamentos em animais EXC mas não nos animais ADQ. Em tese, o efeito da utilização de GnRH e P4LA

nas concentrações plasmáticas de P4 pode ser influenciado por alterações endócrinas em resposta ao estresse. Vários estudos avaliaram o efeito da aplicação desses fármacos pós-ovulação nas concentrações plasmáticas de P4 [42, 56, 57], mas desconhecemos estudos delineados para avaliar se estresse e temperamento interferem nas concentrações de P4 plasmáticas de vacas suplementadas com GnRH ou P4LA.

De maneira semelhante, foi observado efeito dos tratamentos na concepção em animais EXC ($p=0,01$) mas não nos animais ADQ ($p=0,95$). Quando comparamos animais ADQ e EXC dentro de cada tratamento, foi observada uma tendência somente no grupo controle ($p=0,05$), onde animais EXC apresentaram uma tendência de menor taxa de concepção. No entanto, não foi observada diferença nas perdas gestacionais. A hipótese de que a suplementação de P4, por aplicação de progesterona injetável de longa ação ou indução de corpo lúteo acessório, aumenta a taxa de concepção em vacas da raça Nelores com temperamento reativo minimizando o impacto do estresse na eficiência reprodutiva foi confirmada.

Segundo Kasimanickam et al. [4], o manejo necessário para IATF com contenção diária pode induzir estresse significativo. Pesquisas recentes mostraram maiores taxas de concepção em vacas calmas [14, 58]. Do mesmo modo, Cooke et al. [3] e Melo et al. [33] constataram que o temperamento afetou negativamente no desempenho reprodutivo, reduzindo as taxas de concepção pós-IATF. A influência do temperamento no desempenho reprodutivo está associada ao aumento na concentração de cortisol sanguíneo em animais mais excitáveis [38], fato que foi observado no presente estudo.

Por outro lado, Vedovatto et al. [46] observaram que apesar de uma diminuição nas concentrações plasmáticas de P4 nos animais excitáveis, a taxa de concepção foi semelhante entre vacas calmas e excitáveis. Esse fato pode ser explicado pelo baixo número de animais avaliados e metodologia utilizada para avaliação do temperamento.

O estresse térmico também pode ser outro fator que influencia no sucesso das biotécnicas reprodutivas sobretudo em vacas de leite. Ele reduz a taxa de fertilização e a qualidade do embrião, enquanto aumenta a perda gestacional [59]. Alguns estudos utilizando estratégias de incremento de P4 plasmática, por dispositivo de liberação lenta de P4 ou aplicação de GnRH após IA, afim de melhorar as taxas de concepção em vacas leiteiras em estresse térmico, mostraram resultados satisfatórios [28, 60–62]). Por outro lado, Mendonça et al. [57] avaliaram o efeito da aplicação de GnRH no momento da IA e 5 dias após a IA em vacas leiteira sob estresse térmico e não observaram melhora na taxa de concepção e na perda gestacional, assim como as concentrações de P4 não foram afetadas pela terapia hormonal.

Ainda, García-Ispierto et al. [15] relataram maior perda gestacional para vacas de leite em estresse térmico e ainda, corpo luteo adicional como fator positivo para diminuição das perdas até 90 dias em vacas de leite sob estresse termico. Cooke et al. [14] relataram uma tendência de maior perda gestacional aos 45 dias para animais excitáveis comparado com adequado ($p=0,05$). Nos parece que há uma diferença na intensidade das alterações fisiológicas de vacas leiteiras em estresse térmico e vacas de corte com temperamento exitavel, podendo a suplementação de progesterona também agir de forma diferente nesses animais.

No presente estudo, a aplicação de GnRH ou P4LA melhorou a taxa de concepção em vacas excitáveis, mas não nas vacas calmas (ADQ). Segundo Bó et al. [63], a suplementação de P4 somente poderá beneficiar a fertilidade quando a concentração de progesterona na fêmea for limitada, fato que pode explicar o sucesso na suplementação em vacas excitáveis, mas não em vacas adequadas. Outros estudos avaliando a suplementação de progesterona relataram melhora nas taxas de concepção somente em primíparas [64–66], ainda, apenas em vacas com baixo escore de condição corporal e em vacas com patologias reprodutivas pós-parto [62].

Em suma, a aplicação de GnRH ou P4 injetável de longa ação, sete dias após a ovulação, foi capaz de melhorar a taxa de concepção em animais com temperamento excitável mas não teve influência nas perdas gestacionais. Ainda assim, as correlações entre estresse,

temperamento e eficiência reprodutiva ainda requerem mais análises para que sejam possíveis ajustes com o propósito de aperfeiçoar os resultados produtivos e as técnicas reprodutivas.

4.5 Conclusão

Nas condições do presente estudo, animais excitáveis apresentaram maiores concentrações de cortisol, menores folículos pré-ovulatórios e menores volumes de corpo lúteo sete dias após a ovulação. Ainda, animais excitáveis apresentam menor fluxo sanguíneo no corpo lúteo dezesseis dias após a ovulação. Nesse sentido, a utilização de GnRH ou P4LA sete dias após a ovulação é uma estratégia interessante pois aumentou as concentrações plasmáticas de progesterona dezesseis dias após a ovulação e melhorou as taxas de concepção em animais excitáveis, sendo uma alternativa viável a fim de minimizar o impacto negativo do estresse e melhorar os índices reprodutivos.

4.6 Referências Bibliográficas

- [1] Cooke RF, Bohnert D w. Bovine acute-phase response following corticotrophin-release hormone challenge. *J Anim Sci* 2011;89:252–257.
- [2] Costa-e-silva EV, Rueda PM, Carneiro RC, Barboza P, MACEDO GG, ZÚCCARI CE, et al. Estratégias para avaliar bem-estar animal em animais em reprodução. *Ciência Veterinária Nos Trópicos* 2010;13:20–8.
- [3] Cooke RF, Bohnert DW, Meneghetti M, Losi TC, Vasconcelos JLM. Effects of temperament on pregnancy rates to fixed-timed AI in *Bos indicus* beef cows. *Livest Sci* 2011;142:108–13. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2011.06.024>.
- [4] Kasimanickam R, Schroeder S, Assay M, Kasimanickam V, Moore DA, Gay JM, et al. Influence of temperament score and handling facility on stress, reproductive hormone concentrations, and fixed time AI pregnancy rates in beef heifers. *Reprod Domest Anim* 2014;49:775–82. <https://doi.org/10.1111/rda.12368>.
- [5] Cunningham JG, Klein BG. *Tratado de Fisiologia Veterinária*. 3rd ed. São Paulo: Ed. Guanabara Koogan; 2004.
- [6] Matteri RL, Carroll JA, Dyer CJ. “Neuroendocrine responses to stress.” In: MOBERG G., MENCH J., editors. *Biol. Anim. Stress*, Wallingford: CABI International; 2000, p. 43–76.
- [7] Pugh KA, Stookey JM, Buchanan FC. An evaluation of corticotropin-releasing hormone and leptin SNPs relative to cattle behaviour. *Can J Anim Sci* 2011;91:567–72. <https://doi.org/10.4141/cjas2011-046>.
- [8] Bristow DJ, Holmes DS. "Cortisol levels and anxiety-related behaviors in cattle. *Physiology & behavior* 2007; 90;4: 626-628.
- [9] Strain GM. Sistema nervoso vegetativo. In: DUKES H., editor. *Fisiol. dos animais domésticos*, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006, p. p.858-870.
- [10] Breen KM, Karsch FJ. Does Cortisol Inhibit Pulsatile Luteinizing Hormone Secretion at the Hypothalamic or Pituitary Level? *Endocrinology* 2004;145:692–8. <https://doi.org/10.1210/en.2003-1114>.
- [11] Dobson H, Smith RF. What is stress, and how does it affect reproduction? *Anim Reprod Sci* 2000;60:743–752,.

- [12] Marinho ALM, Santos R, Socoloski SNG, Gomes SC, Castro BG. tratamentos Ovarian cysts in domestic animals: etiopathogenesis and treatments . *Sci Electron Arch* 2016;2:108–13.
- [13] Debus N, Breen KM, Barrell GK, Billings HJ, Brown M, Young EA, et al. Does cortisol mediate endotoxin-induced inhibition of pulsatile luteinizing hormone and gonadotropin-releasing hormone secretion? *Endocrinology* 2002;143:3748–58. <https://doi.org/10.1210/en.2002-220291>.
- [14] Cooke RF, Schubach KM, Marques RS, Peres RFG, Silva LGT, Carvalho RS, et al. Effects of temperament on physiological, productive, and reproductive responses in beef cows. *J Anim Sci* 2017;95:1. <https://doi.org/10.2527/jas2016.1098>.
- [15] García-Ispuerto I, López-Gatius F, Santolaria P, Yániz JL, Nogareda C, López-Béjar M, et al. Relationship between heat stress during the peri-implantation period and early fetal loss in dairy cattle. *Theriogenology* 2006;65:799–807. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.06.011>.
- [16] Lüttgenau J, Bollwein H. Evaluation of bovine luteal blood flow by using color Doppler ultrasonography. *Reprod Biol* 2014;14:103–9. <https://doi.org/10.1016/j.repbio.2014.03.003>
- [17] Rocha DR, Salles MGF, Moura AAAN, Araújo AA. Heat stress impact on reproduction of bovine female. *Rev Bras Reprod Anim* 2012;36:18–24.
- [18] Wolfenson D, Sonogo HH, Bloch A, Shaham-Albalancy A, Kaim M, Folman Y, et al. Seasonal differences in progesterone production by luteinized bovine thecal and granulosa cells. *Domest Anim Endocrinol* 2002;22:81–90. [https://doi.org/10.1016/S0739-7240\(01\)00127-8](https://doi.org/10.1016/S0739-7240(01)00127-8).
- [19] Cooke RF. Temperament and acclimation to human handling influence growth, health, and reproductive responses in *Bos taurus* and *B. indicus* cattle. *J Anim Sci* 2014;92:5325–33.
- [20] Alejandro C-I, Abel V-M, Jaime OP, Pedro S-A. Environmental Stress Effect on Animal Reproduction. *Open J Anim Sci* 2014;04:79–84. <https://doi.org/10.4236/ojas.2014.42011>.
- [21] Pugliesi G, Santos FB, Lopes E, Nogueira, Maio JRG, Binelli M. Improved fertility in suckled beef cows ovulating large follicles or supplemented with long-acting progesterone after timed-AI. *Theriogenology* 2016;85:1239–48. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.12.006>.
- [22] Yan L, Robinson R, Shi Z, Mann G. Efficacy of progesterone supplementation during early pregnancy in cows: A meta-analysis. *Theriogenology* 2016;85:1390-1398.e1. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.12.027>.
- [23] Garcia-Ispuerto I, López-Gatius F. Progesterone supplementation in the early luteal phase after artificial insemination improves conception rates in high-producing dairy cows. *Theriogenology* 2017;90:20–4. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.11.006>.
- [24] Besbaci M, Abdelli A, Minviel JJ, Belabdi I, Kaidi R, Raboisson D. Association of pregnancy per artificial insemination with gonadotropin-releasing hormone and human chorionic gonadotropin administered during the luteal phase after artificial insemination in dairy cows: A meta-analysis. *J Dairy Sci* 2020;103:2006–18.

<https://doi.org/10.3168/jds.2019-16439>.

- [25] Mehni SB, Shabankareh HK, Kazemi-Bonchenari M, Eghbali M. The comparison of treating holstein dairy cows with progesterone, CIDR and GnRH after insemination on serum progesterone and pregnancy rates. *Reprod Domest Anim* 2012;47:131–4. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2011.01811.x>.
- [26] Junior WMC, Cooke RF, Pereira MHC, Vasconcelos JLM. Effects of melengestrol acetate supplementation after fixed-timed artificial insemination on pregnancy rates of *Bos indicus* beef cows. *Livest Sci* 2017;206:71–5. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2017.10.012>.
- [27] Akhtar MS, Saleem M, Ahmad E, Ahmad T, Lashari MH, Ayaz MM, et al. Effect of lecirelin acetate, hcg or progesterone administration on day 7 post-insemination on conception rate and progesterone concentration in cross-bred cattle. *Iraqi J Vet Sci* 2018;32:149–53. <https://doi.org/10.33899/ijvs.2019.153842>.
- [28] Stojanov B, Atanasov B, Grizelj J, Vince S, Nikolovski M, Kjosevski M, et al. Induction and Formation of Accessory Corpus Luteum after Artificial Insemination (AI) Might Increase Pregnancy Rate per AI in Heat Stressed Dairy Cows. *Maced Vet Rev* 2020;43:37–43. <https://doi.org/10.2478/macvetrev-2020-0012>.
- [29] Couto SRB, Guerson YB, Ferreira JE, Silva OR, Silenciato LN, Barbero RP, et al. Impact of supplementation with long-acting progesterone on gestational loss in Nelore females submitted to TAI. *Theriogenology* 2019;125:168–72. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.10.032>.
- [30] Beltman ME, Lonergan P, Diskin MG, Roche JF, Crowe MA. Effect of progesterone supplementation in the first week post conception on embryo survival in beef heifers. *Theriogenology* 2009;71:1173–9. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.12.014>.
- [31] Vettters MDD, Engle TE, Ahola JK, Grandin T. Comparison of flight speed and exit score as measurements of temperament in beef cattle. *J Anim Sci* 2013;91:374–81. <https://doi.org/10.2527/jas.2012-5122>.
- [32] Rueda PM, Sant’Anna AC, Valente TS, Paranhos da Costa MJR. Impact of the temperament of Nelore cows on the quality of handling and pregnancy rates in fixed-time artificial insemination. *Livest Sci* 2015;177:189–95. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2015.04.021>.
- [33] Mello BP, Maturana Filho M, Lemes KM, Gonçalves RL, Lollato JPM, Zanella AJ, et al. Importance of temperament in the pregnancy by timed insemination in bovine females *Bos taurus indicus*. *Livest Sci* 2020;240:1–6. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2020.104104>.
- [34] Matsunaga ME, Silva JAV, Toledo LM, Paranhos da Costa MJR, Eler JP, Ferraz JBS. Genetic Analysis of Temperament in Nelore Cattle 2002:14–7.
- [35] Cooke RF., Moriel P., Cappellozza BI., Miranda VFB., Batista LFD., Colombo EA., et al. Effects of temperament on growth, plasma cortisol concentrations and puberty attainment in Nelore beef heifers. *Animal* 2019;13:1208–13.
- [36] Curley KO, Neuendorff DA, Lewis AW, Cleere JJ, Welsh TH, Randel RD. Functional characteristics of the bovine hypothalamic-pituitary-adrenal axis vary with temperament. *Horm Behav* 2008;53:20–7. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2007.08.005>.

- [37] Cafe LM, Robinson DL, Ferguson DM, Geesink GH, Greenwood PL. Temperament and hypothalamic-pituitary-adrenal axis function are related and combine to affect growth, efficiency, carcass, and meat quality traits in Brahman steers. *Domest Anim Endocrinol* 2011;40:230–40. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2011.01.005>.
- [38] Cooke RF. Temperament and acclimation to human handling influence growth, health, and reproductive responses in *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle. *J Anim Sci* 2014;92:5325–33. <https://doi.org/10.2527/jas.2014-8017>.
- [39] Yoshida C, Nakao T. Response of plasma cortisol and progesterone after ACTH challenge in ovariectomized lactating dairy cows. *J Reprod Dev* 2005;51:99–107. <https://doi.org/10.1262/jrd.51.99>.
- [40] Cooke RF, Patterson DJ, Dahlke GR, Funston RN, Hall JB, Lamb GC, et al. Physiological and management advances enhancing adoption of applied reproductive management procedures in beef cattle. *J Anim Sci* 2016;94:560–1. <https://doi.org/10.2527/jam2016-1168>.
- [41] Maziero RRD, Martins AC, Mollo MR, Martin I, Bastos MR, Ferreira JCP, et al. Ovarian function in cows submitted to acute stress during proestrus. *Livest Sci* 2011;138:105–8. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2010.12.003>.
- [42] Vasconcelos JLM, de Sá Filho OG, Cooke RF. Impacts of Reproductive Technologies on Beef Production in South America. In: Lamb GC, DiLorenzo N, editors. *Curr. Futur. Reprod. Technol. World Food Prod.*, New York, NY: Springer New York; 2014, p. 161–80. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-8887-3_8.
- [43] Ferraz PA, Silva MAA, Carôso BSS, Araujo EAB, Bittencourt TCBSC, Chalhoub M, et al. Effect of eCG on the follicular dynamics and vascularization of crossbred cows with different circulating progesterone concentrations during synchronization of ovulation in an FTAI protocol. *Pesqui Vet Bras* 2019;39:324–31. <https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-5520>.
- [44] Núñez-Olivera R, Cuadro F, Bosolasco D, de Brun V, de la Mata J, Brochado C, et al. Effect of equine chorionic gonadotropin (eCG) administration and proestrus length on ovarian response, uterine functionality and pregnancy rate in beef heifers inseminated at a fixed-time. *Theriogenology* 2020;151:16–27. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.03.031>.
- [45] Vasconcelos JLM, Pereira MHC, Meneghetti M, Dias CC, Filho OGS, Peres RFG. Relationships between growth of the preovulatory follicle and gestation success in lactating dairy cows. *Anim Reprod* 2013;10:206–14.
- [46] Vedovatto M, Faria FJC, Costa DS, Cooke RF, Sanchez JMD, Moriel P, et al. Effects of temperament on body parameters, ovarian structures and inflammatory response in grazing Nellore cows following fixed-time artificial insemination. *J Vet Behav* 2021;44:50–4. <https://doi.org/10.1016/j.jveb.2021.03.005>.
- [47] De Tarso SGS, Apgar GA, Gastal MO, Gastal EL. Relationships between follicle and corpus luteum diameter, blood flow, and progesterone production in beef cows and heifers: Preliminary results. *Anim Reprod* 2016;13:81–92. <https://doi.org/10.21451/1984-3143-AR797>.
- [48] Guerson YB, Couto SR, Rita de Cássia, LM, Grillo GF, Jacob JC, Barbero RP, Mello

- MR. Vascular perfusion and the volume of the preovulatory follicle are affected by the temperament of Nellore cows. *Livestock Science* 2021;254: 104744.
- [49] Pinaffi FLV, Santos ÉS, da Silva MG, Filho MM, Madureira EH, Silva LA. Follicle and corpus luteum size and vascularity as predictors of fertility at the time of artificial insemination and embryo transfer in beef cattle. *Pesqui Vet Bras* 2015;35:470–6. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2015000500015>.
- [50] De Tarso SGS, Gastal GDA, Bashir ST, Gastal MO, Apgar GA, Gastal EL. Follicle vascularity coordinates corpus luteum blood flow and progesterone production. *Reprod Fertil Dev* 2017;29:448–57. <https://doi.org/10.1071/RD15223>.
- [51] Herzog K, Brockhan-Lüdemann M, Kaske M, Beindorff N, Paul V, Niemann H, et al. Luteal blood flow is a more appropriate indicator for luteal function during the bovine estrous cycle than luteal size. *Theriogenology* 2010;73:691–7. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.11.016>.
- [52] Lüttgenau J, Ulbrich SE, Beindorff N, Honnens A, Herzog K, Bollwein H. Plasma progesterone concentrations in the mid-luteal phase are dependent on luteal size, but independent of luteal blood flow and gene expression in lactating dairy cows. *Anim Reprod Sci* 2011;125:20–9. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2011.02.002>.
- [53] Beindorff N, Honnens A, Penno Y, Paul V, Bollwein H. Effects of human chorionic gonadotropin on luteal blood flow and progesterone secretion in cows and in vitro-microdialyzed corpora lutea. *Theriogenology* 2009;72:528–34. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.04.008>.
- [54] Garcia-Ispuerto I, López-Gatius F. Effects of GnRH or Progesterone Treatment on Day 5 Post-AI on Plasma Progesterone, Luteal Blood Flow and Leucocyte Counts During the Luteal Phase in Dairy Cows. *Reprod Domest Anim* 2012;47:224–9. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2011.01832.x>.
- [55] Cooke RF, Arthington JD, Austin BR, Yelich J V. Effects of acclimation to handling on performance, reproductive, and physiological responses of Brahman-crossbred heifers. *J Anim Sci* 2009;87:3403–12. <https://doi.org/10.2527/jas.2009-1910>.
- [56] Osman E. Progesterone concentrations and pregnancy rates of repeat breeder cows following postinsemination prid and GnRH treatments. *Turkish J Vet Anim Sci* 2012;36:283–8. <https://doi.org/10.3906/vet-1103-3>.
- [57] Mendonça LGD, Mantelo FM, Stevenson JS. Fertility of lactating dairy cows treated with gonadotropin-releasing hormone at AI, 5 days after AI, or both, during summer heat stress. *Theriogenology* 2017;91:9–16. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.11.032>.
- [58] Kasimanickam VR, Abdel Aziz RL, Williams HM, Kasimanickam RK. Predictors of beef calf temperament at weaning and its impact on temperament at breeding and reproductive performance. *Reprod Domest Anim* 2018;53:484–94. <https://doi.org/10.1111/rda.13135>.
- [59] Santos JEP, Thatcher WW, Chebel RC, Cerri RLA, Galvão KN. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. *Anim Reprod Sci* 2004;82–83:513–35. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.04.015>.
- [60] Willard S, Gandy S, Bowers S, Graves K, Elias A, Whisnant C. The effects of GnRH

- administration postinsemination on serum concentrations of progesterone and pregnancy rates in dairy cattle exposed to mild summer heat stress. *Theriogenology* 2003;59:1799–810. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(02\)01232-3](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(02)01232-3).
- [61] López-Gatius F, Santolaria P, Martino A, Delétang F, De Rensis F. The effects of GnRH treatment at the time of AI and 12 days later on reproductive performance of high producing dairy cows during the warm season in northeastern Spain. *Theriogenology* 2006;65:820–30. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.07.002>.
- [62] Friedman E, Roth Z, Voet H, Lavon Y, Wolfenson D. Progesterone supplementation postinsemination improves fertility of cooled dairy cows during the summer. *J Dairy Sci* 2012;95:3092–9. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-5017>.
- [63] Bó GA, Baruselli PS, Martínez MF. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. *Anim Reprod Sci* 2003;78:307–26. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(03\)00097-6](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(03)00097-6).
- [64] Nascimento AB, Bender RW, Souza AH, Ayres H, Araujo RR, Guenther JN, et al. Effect of treatment with human chorionic gonadotropin on day 5 after timed artificial insemination on fertility of lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 2013;96:2873–82. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5895>.
- [65] Santos JEP, Thatcher WW, Pool L, Overton MW. Effect of human chorionic gonadotropin on luteal function and reproductive performance of high-producing lactating Holstein dairy cows. *J Anim Sci* 2001;79:2881–94. <https://doi.org/10.2527/2001.79112881x>.
- [66] Urzúa E. CG, Gutiérrez A, Garza C, Corona G, Mapes, Hernández CJ. . Pregnancy success and luteal function of lactating Holstein cows after hCG on day 5 after insemination. *J Dairy Sci* 2009;92:443.

5. CAPÍTULO II

EFEITO DO INCREMENTO DE PROGESTERONA PLASMÁTICA SOBRE MORFOLOGIA E FUNÇÃO LUTEAIS E SOBRE A PERDA GESTACIONAL EM VACAS DA RAÇA NELORE

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar o impacto de diferentes estratégias para aumentar a progesterona (P4) plasmática sobre a morfologia e função luteais. Adicionalmente, foi avaliado o efeito do aumento da P4 sobre a taxa de concepção e a perda gestacional de vacas Nelores submetidas à Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF). Para tanto, 939 vacas foram distribuídas em três grupos: P4LA (n=305) animais receberam 150mg de progestágeno injetável de longa ação; GnRH (n=306) animais receberam 10µg de acetato de busserelina, ambos no sétimo dia após IATF; Grupo Controle (n=328) animais não receberam aplicação de hormônio. Avaliações ultrassonográficas em modo Doppler colorido foram realizadas sete e dezesseis dias após a IATF, e a progesterona foi dosada sete e dezesseis dias após IATF. As variáveis taxa de concepção e perda gestacional, em função dos tratamentos, foram comparadas pelo procedimento GLIMMIX do SAS. As variáveis contínuas como volume e perfusão vascular do CL e concentrações plasmáticas de P4 foram analisadas pelo procedimento PROC MIXED do SAS. Não foi observada diferença entre os tratamentos nas variáveis volume, pixel e intensidade do CL, assim como na concentração de progesterona plasmática, 7 dias após a ovulação. O fluxo do CL, 16 dias após a ovulação, foi menor nos grupos P4LA e GnRH ($P < 0.01$). As concentrações plasmáticas de P4 16 dias após a ovulação foram maiores nos grupos P4LA e GnRH em relação ao grupo controle ($P = 0.04$). Foi observada diferença na taxa de concepção ($P = 0.003$) e uma tendência na perda gestacional ($p = 0,07$) em função dos tratamentos. A suplementação de P4, 7 dias após a IATF, por aplicação de P4 injetável de longa ação ou GnRH, afetou a vascularização do CL e aumentou as concentrações plasmáticas de progesterona dezesseis dias após a ovulação, teve efeito nas taxas de concepção, mas não na perda gestacional.

Palavras-chave: Eficiência reprodutiva, corpo lúteo, progesterona.

EFFECT OF PLASMA PROGESTERONE INCREASE ON LUTEAL MORPHOLOGY AND FUNCTION AND ON GESTATIONAL LOSS IN NELORES COWS

ABSTRACT

The aim of the present study was to evaluate the impact of different strategies to increase plasma progesterone (P4) on luteal morphology and function. Additionally, the effect of increasing P4 on conception rate and gestational loss of Nelore cows submitted to Fixed-Time Artificial Insemination (TAI) was evaluated. For this purpose, 939 cows were divided into three groups: P4LA (n=305) - 150mg of long-acting injectable progesterone; GnRH (n=306) - 10µg of buserelin acetate, both on the seventh day after TAI; Control Group (n=328) – no hormone application. Color Doppler ultrasound evaluations were performed seven and sixteen days after TAI, and progesterone was measured seven and sixteen days after TAI. The variables conception rate and pregnancy loss, depending on the treatments, were compared using the SAS GLIMMIX procedure. Continuous variables such as CL vascular perfusion and volume and plasma P4 concentrations were analyzed using the SAS PROC MIXED procedure. There was no significant difference between treatments in the variables volume, pixel and intensity of the CL, as well as in the concentration of plasmatic progesterone, 7 days after ovulation. The CL flow 16 days after ovulation was lower in the P4LA and GnRH groups ($P < 0.01$). Plasma P4 concentrations 16 days after ovulation were higher in the P4LA and GnRH groups compared to the control group ($P = 0.04$). There was significant difference in conception rate ($P = 0.003$) and a trend in pregnancy loss ($p = 0.07$) depending on the treatments. P4 supplementation, 7 days after FTAI, by application of long-acting injectable P4 or GnRH, affected CL vascularization and increased plasma progesterone concentrations sixteen days after ovulation, had an effect on rates conception but not on pregnancy loss.

Key-words: Reproductive efficiency, corpus luteum, progesterone.

5.1 Introdução

Em bovinos, a sobrevivência embrionária é dependente de diversos fatores que influenciam o ambiente uterino. Dentre eles, a progesterona (P4) possui efeitos positivos principalmente no início da gestação, possibilitando a sobrevivência embrionária. Nesse sentido, estratégias que promovam aumento da concentração sérica de P4 no início da gestação, podem trazer efeito benéfico ao ambiente uterino impactando na eficiência de rebanhos de corte em programas de IATF. Thatcher (1994) reportou a existência de uma relação entre a capacidade de secreção de P4 pelo corpo lúteo com o crescimento embrionário e o estabelecimento da gestação.

Posto isto, concentrações altas de P4 durante a fase inicial do diestro em bovinos são fundamentais, pois auxiliam nas secreções endometriais, favorecendo o desenvolvimento embrionário e a produção de interferon- τ , o qual está diretamente relacionado ao reconhecimento da gestação e inibição da secreção de prostaglandina e luteólise (Bazer et al., 2011; Clemente et al., 2009; Forde et al., 2011; Mann and Lamming, 2001; O'Hara et al., 2014). Desta forma, estratégias que promovam aumento da concentração de P4 no diestro precoce podem aumentar as taxas de concepção e diminuir a perda gestacional (Couto et al., 2019; Pugliesi et al., 2016; Stojanov et al., 2020).

Estudos anteriores avaliaram o efeito da suplementação de P4 no diestro, seja por suplementação exógena ou pela utilização de agentes luteotróficos, e reportaram resultados satisfatórios com aumento na taxa de prenhez (Akhtar et al., 2018; Couto et al., 2019; Junior et al., 2017; Mehni et al., 2012; Stojanov et al., 2020) e diminuição da perda embrionária (Beltman et al., 2009; Couto et al., 2019; Junior et al., 2017).

A suplementação de P4 após a inseminação e seus possíveis efeitos na vascularização e função lútea ainda não foram investigados em bovinos. Estudos realizados em vacas de leite e de corte não mencionaram se a suplementação seria prejudicial à viabilidade do corpo lúteo (Couto et al., 2019; Souza et al., 2013; Stojanov et al., 2020), ou não observaram efeito da suplementação no tamanho e volume do CL (Beltman et al., 2009; Monteiro et al., 2015; Nascimento et al., 2013).

Por outro lado, alguns estudos relataram que a suplementação de P4, principalmente de longa ação, durante o diestro, afetou o desenvolvimento do corpo lúteo e/ou induziu a luteólise (Batista et al., 2019; O'Hara et al., 2014; Pugliesi et al., 2014).

A ultrassonografia Doppler surge como uma técnica importante que permite observar o fluxo sanguíneo de órgãos e estruturas reprodutivas, viabilizando o estudo da anatomia e função do trato genital. Levando em conta que ocorrem mudanças hemodinâmicas importantes no CL durante o ciclo estral (Acosta et al., 2002; Brännström et al., 1998), a ultrassonografia Doppler torna-se uma ferramenta útil para avaliar a função do CL (Matsui and Miyamoto, 2009).

Em síntese, é possível perceber que a P4 possui um papel importante após a concepção, e que estratégias que visem o aumento da concentração plasmática deste hormônio parecem ter efeito na taxa de prenhez e na perda gestacional. Entretanto, muitos estudos sugerem a necessidade de mais pesquisas a fim de esclarecer a inconsistência nos resultados, e ainda, se estratégias de suplementação de P4 no diestro podem afetar a funcionalidade e vascularização do CL.

A hipótese do presente estudo é de que o aumento de P4 após a IATF, seja por aplicação de progesterona injetável de longa ação ou pela aplicação de GnRH, não afeta o volume e a perfusão vascular do CL, e ainda promove incremento da taxa de prenhez e diminuição da perda gestacional em vacas da raça Nelore. Assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o impacto de diferentes estratégias para aumentar a progesterona (P4) plasmática sobre a morfologia e a função luteal. Adicionalmente, foi avaliado o efeito do aumento da P4 sobre a taxa de prenhez e a perda gestacional de vacas da raça Nelore submetidas à IATF.

5.2 Material e Métodos

5.2.1 Local, período e animais

O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/IV/UFRRJ, – processo nº 9170310818 (ID 001055) e realizado em duas fazendas comerciais no interior do estado de São Paulo, Brasil.

Antes do experimento, os animais foram submetidas ao exame ginecológico, para constatar possíveis alterações, selecionando somente animais saudáveis, livres de doenças que afetam a reprodução e ainda sem anomalias no trato reprodutivo (brucelose, tuberculose, campilobacteriose, triconomose, rinotraqueíte infecciosa bovina, diarreia viral bovina, infecção uterina, cérvix tortuosa ou fibrosada etc). Foram utilizadas 939 vacas da raça Nelore, com escore de condição corporal médio de $2,90 \pm 0,60$ (escala de 1 a 5, considerado o um caquético e o cinco obeso). Os animais foram mantidos em pastagens com predominância de *Urochloa* spp (*U. decumbens*), com acesso a bebedouros e recebendo mistura mineral *ad libitum*. Foram utilizadas fêmeas com um período pós-parto mínimo de 40 dias e máximo de 80 dias, sendo todos animais submetidos ao mesmo manejo.

5.2.2 Sincronização da ovulação e IATF

Os protocolos hormonais para realização da IATF iniciaram em dia aleatório do ciclo estral, sendo este dia considerado dia menos dez (D-10). Neste momento, foi inserido dispositivo intravaginal novo contendo 0,5 g de progesterona (Primer®, Tecnopec, São Paulo, Brasil) associado à aplicação de 2,0 mg de benzoato de estradiol (Sincrodiol®, Ouro Fino Saúde Animal), por via intramuscular. O dispositivo foi mantido por oito dias e, na sua retirada, foram aplicados 500 µg de cloprostenol (Sincrocio®, Ouro Fino Saúde Animal, São Paulo, Brasil) + 400UI de gonadotrofina coriônica equina (Folligon®, MSD Saúde Animal, São Paulo, Brasil) + 1,0 mg de cipionato de estradiol (SincroCP®, Ouro Fino Saúde Animal, São Paulo, Brasil), todos por via intramuscular. Dois dias após a retirada do dispositivo, foi realizada a Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) pelo mesmo inseminador, sendo esse considerado D=0.

5.2.3 Tratamentos experimentais

Após a IATF, os animais foram distribuídos em três grupos: Grupo P4LA (n=305) no qual as fêmeas foram suplementadas com 150mg de progestágeno injetável de longa ação (Sincrogest LA®, Ourofino, Cravinhos/SP), i.m, em dose única, 7 dias após a IATF; Grupo GnRH (n=306), no qual as fêmeas foram suplementadas com 10µg de acetato de busarelina (Sincroforte®, Ourofino, Cravinhos/SP), i.m, no sétimo dia após a IATF; Grupo Controle (n=328) no qual os animais não receberam nenhum tipo de suplementação hormonal, porém tiveram o mesmo manejo dos demais grupos (Figura 2). A distribuição dos animais nos tratamentos ocorreu antes da suplementação de P4, distribuindo a mesma proporção de animais cíclicos (presença de corpo lúteo) e acíclicos (anestro) em cada grupo.

5.2.4 Avaliação ultrassonográfica do CL

Para a avaliação ultrassonográfica, foram utilizados 213 animais. A avaliação ultrassonográfica do CL foi realizada em dois momentos: sete (D7) e dezesseis (D16) dias após

a IATF, sempre pelo mesmo técnico, por via transretal com auxílio de ultrassom Doppler Mindray, modelo Z5VET, equipado com transdutor linear 75L50EAV e emissão de onda de 5,0/7,5 Mhz padronizando o ganho total em 70%. As imagens dos corpos lúteos foram realizadas em modo B para determinação das posições e mensuração do seu diâmetro médio e de eventuais cavidades luteais presentes, calculado pela média das duas maiores medidas transversais, perpendiculares entre si, além de outra medida para cálculo do volume (V). Este foi estimado utilizando a seguinte equação disponível no manual do aparelho de ultrassom: $V \text{ (cm}^3\text{)} = \pi / 6 \times D1 \text{ (cm)} \times D2 \text{ (cm)} \times D3 \text{ (cm)}$, em que D1, D2, D3 são o comprimento de três eixos do objeto de destino. Se um CL continha uma cavidade, o volume da cavidade era determinado e subtraído do volume CL calculado, exceto em CLs com luteinização incompleta.

Na avaliação do fluxo colorido do CL, as configurações foram padronizadas, a frequência do transdutor foi fixada em 6,6 MHz, frequência de repetição de pulso:1 KHz; e posição de foco:1 (Siqueira et al., 2013).

Foi selecionada a imagem que apresentasse maior área de vascularização do CL, sendo posteriormente transferida para o Adobe Photoshop (CS4 version 11.0, Adobe Systems, San Jose, CA, USA) onde foram selecionados somente os pontos coloridos em tons de azul e vermelho. Posteriormente, com auxílio do programa Image J® (version 1.45s, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA), foi extraído o histograma com a contagem do número de pixels, sendo possível obter o número total de pixels coloridos e intensidade de cada CL (Ginther, 2007).

5.2.5 Dosagem de progesterona sérica

Para dosagem sérica de progesterona, foram coletadas amostras de sangue de 20% dos animais, no sétimo (D7) e no décimo sexto (D16) dia após a IATF. As coletas foram realizadas via punção da veia coccígea em tubo de vácuo (Vacuette®, Greiner bio-one Ltda, São Paulo, Brasil) de 10 mL sem aditivos. As amostras de sangue foram centrifugadas por 15 min a 480 G e mantidas em refrigeração a -20°C até a posterior análise. As concentrações séricas de P4 foram avaliadas pela técnica de radioimunoensaio em fase sólida, utilizando kits comerciais (ImmuChem, MP Biomedicals, Santa Ana, Califórnia, EUA). O coeficiente intra-ensaio foi de 11%. Todos os dados estavam dentro do ponto máximo e mínimo da curva.

5.2.6 Diagnóstico de gestação e da perda gestacional

Os diagnósticos de gestação (DG) e da perda gestacional (PG) foram realizados com auxílio da ultrassonografia transretal (Mindray D2200 vet). O DG foi realizado 30 dias após a inseminação, sendo a confirmação da prenhez baseada na visualização da vesícula embrionária com a presença de embrião viável (presença de batimento cardíaco). Já a PG foi avaliada 60 dias após a inseminação artificial (perda entre 30 e 60 dias de gestação), sendo a confirmação da perda quando não se observava um feto viável em um animal diagnosticado como gestante na avaliação anterior.

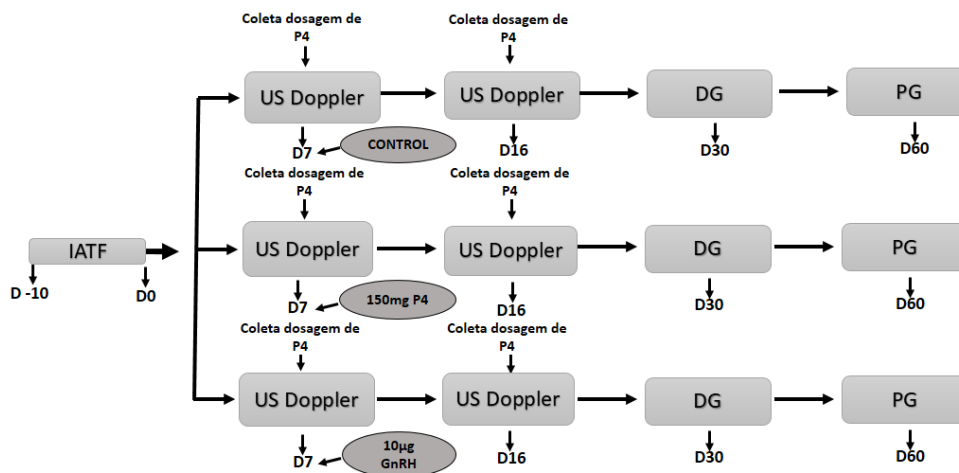


Figura 2. Representação esquemática do desenho experimental: (IATF) inseminação artificial em tempo fixo; (CONTR) controle; (P4) progesterona; (GnRH) hormônio liberador de gonadotrofina; (US) ultrassonografia; (DG) diagnóstico de gestação; (PG) perda gestacional.

5.2.7 Análise estatística

As variáveis: 1) taxa de prenhez e, 2) perda gestacional em função dos tratamentos foram comparadas pelo procedimento GLIMMIX do SAS (Versão 9.4; SAS Institute).

Foram incluídos no modelo os tratamentos (CONTR, GnRH e P4LA), ciclicidade, escore de condição corporal, fazenda, inseminador, touro e interações. Para o modelo final, as variáveis foram removidas, com base no critério da estatística de Wald quando $P > 0,20$. As variáveis incluídas no modelo final para análise de taxa de prenhez foram tratamento.

As variáveis contínuas: 1) volume; 2) número de pixel; 3) intensidade do CL e 4) concentrações de P4 foram testadas de acordo com sua homogeneidade e normalidade e analisadas pelo procedimento PROC MIXED do SAS, sendo consideradas somente as vacas ovuladas.

Diferenças significativas foram consideradas para $P < 0,05$, enquanto as diferenças entre $P > 0,05$ e $P > 0,07$ foram consideradas como tendência. Os dados foram apresentados como médias \pm erro padrão e como porcentagens para resultados contínuos e binários, respectivamente.

5.3 Resultados

Os resultados referentes ao volume e perfusão vascular do CL, à concentração de P4 (7 e 16 dias após a ovulação) em função dos tratamentos são apresentados na Tabela 1. Não foi observada diferença ($P \geq 0,28$) entre os tratamentos nas variáveis volume, número de pixels e intensidade do CL, assim como em relação à concentração de P4, 7 dias após a ovulação.

Com relação ao volume do CL, 16 dias após ovulação, não houve diferença entre os grupos tratados.

O número de pixels e a intensidade do CL, 16 dias após a ovulação, foi menor nos grupos P4LA e GnRH quando comparados ao grupo controle ($P < 0,01$). As concentrações plasmáticas

de P4, 16 dias após a ovulação, foram maiores nos grupos P4LA e GnRH em relação ao grupo controle (P = 0,04).

Tabela 1. Parâmetros ultrassonográficos de vacas Nelores relacionados à característica morfológica e funcionalidade do corpo lúteo e concentração plasmática de progesterona, 7 e 16 dias após ovulação, em função dos tratamentos (Controle, P4LA, GnRH).

	N	Controle 67	P4LA 61	GnRH 67	P
CL7 vol (cm3)		4.2 (0.2)	4.3 (0.2)	4.4 (0.2)	0.77
CL7_pix		2349 (115.4)	2432 (147.6)	2176 (112.3)	0.48
CL7_in		283314 (16494.5)	277089 (17678.9)	254350 (12726.1)	0.56
P4_d7 (ng/ml)		1.8 (0.2)	2.0 (0.1)	2.2 (0.2)	0.23
CL16 vol (cm3)		4.2 (0.2)	4.3 (0.2)	4.4 (0.2)	0.81
CL16_pix		2574a(138.2)	1839b (84.2)	2004b (88.7)	<0.01
CL16_in		297300a (15309.3)	223894b (10496.9)	245733b (11445.5)	<0.01
P4_d16 (ng/ml)		2.5b (0.2)	3.5a (0.4)	3.4a (0.4)	0.04

Control= Controle, P4LA= Progesterona de Longa Ação, GnRH= Hormônio Liberador de Gonadotrofina, CL= Corpo Lúteo, D7= dia 7 após a ovulação, D16= dia 16 após ovulação, VOL= Volume, Pix= Pixel, In= intensidade, P4= concentração de progesterona

A tabela 2 apresenta a taxa de prenhez e perda gestacional de fêmeas da raça Nelore em função dos tratamentos. Houve diferença na taxa de prenhez em função dos tratamentos (P = 0,003). Foi observada tendência de menor perda gestacional do grupo P4LA comparado ao controle (P = 0,07).

Tabela 2. Taxa de concepção e perda gestacional de vacas Nelores submetidas à IATF em função dos tratamentos com GnRH e P4 LA.

	Control	P4LA	GnRH	P
TC	47.8% ^a (157/328)	57.4% ^b (175/305)	55.5% ^b (170/306)	0.003
PG	15.2% ^a (24/157)	7.4% ^b (13/175)	10% ^b (17/170)	0.07

Control= Controle, P4LA= Progesterona de Longa Ação, GnRH= Hormônio Liberador de Gonadotrofina, TC= Taxa de Concepção, PG=Perda Gestacional.

5.4 Discussão

A hipótese de que o aumento na concentração de P4 após a IATF, por aplicação de P4 injetável de longa ação ou GnRH, não afeta o volume e a perfusão vascular do CL foi rejeitada. Os parâmetros de volume, funcionalidade do CL e concentração de P4 não diferiram entre os tratamentos, 7 dias após a ovulação. No dia 16 após a ovulação, não houve alteração no volume do CL em função dos tratamentos. No entanto, foi observada diferença com relação ao número de pixels e intensidade, onde os grupos P4LA e GnRH apresentaram menor perfusão vascular quando comparados ao grupo controle. Adicionalmente, os grupos P4LA e GnRH apresentaram maiores concentrações de P4 comparados ao grupo controle.

Miyamoto et al. (2009) sugeriram que a redução da capacidade do CL em produzir progesterona pode ser devida à diminuição do tamanho e do suprimento sanguíneo. A vascularização do CL permite inferir indiretamente sobre a sua funcionalidade e capacidade de produzir progesterona (Acosta e Miyamoto, 2004). O fluxo sanguíneo do corpo lúteo tem sido sugerido como sendo mais apropriado do que o tamanho para a avaliação da sua função (Herzog et al., 2010). Desta forma, a ultrassonografia Doppler permite aprofundar o estudo da vascularização e consequentemente da funcionalidade dos tecidos e órgãos reprodutivos (Pugliesi et al., 2017).

Garcia-Ispierto e López-Gatius (2012) avaliaram os efeitos do GnRH ou tratamento com progesterona durante 14 dias sobre a progesterona plasmática e fluxo sanguíneo do corpo lúteo em vacas leiteiras. Estes pesquisadores observaram que o tratamento com progesterona (PRID) e GnRH (Gonadorelina), cinco dias após a inseminação, aumentou a concentração de progesterona durante a fase lútea do ciclo após IA, somente no grupo GnRH. Eles ainda notaram que o tratamento com progesterona causou diminuição do fluxo sanguíneo do corpo lúteo, mas não foi observado o mesmo efeito em relação ao grupo tratado com GnRH.

Outros estudos relataram um efeito adverso ao tratamento com P4 exógena, observando um aumento na luteólise precoce (O'Hara et al., 2014; Pugliesi et al., 2014). Apesar dos grupos suplementados apresentarem menor perfusão vascular, tal aspecto não foi observado no presente estudo e essa diferença pode ser explicada pelo tipo de progesterona usada, dose e ainda pelo dia da aplicação. Pugliesi et al. (2014) observaram maior frequência de luteólise precoce em animais suplementados com 300mg de P4 injetável de longa ação 2 dias após a IA enquanto O'Hara et al. (2014) avaliaram animais tratados com dispositivo de progesterona, do dia 3 a 5 ou até 7 dias após ovulação.

No presente estudo a diminuição da perfusão vascular do CL foi observada nos grupos suplementados, mas por outro lado, as concentrações plasmáticas de P4 foram maiores. Tal discrepância pode ser explicada pelo dia da aplicação (7 dias após a ovulação) e análogo usado (Buserelina; P4LA). Entretanto, é possível que a redução da perfusão vascular esteja associada também a alterações na funcionalidade do tecido luteal. Estudar o processo necessário para o ótimo desenvolvimento da atividade secretória do CL é essencial para entender as causas da redução desta (Miyamoto et al., 2009).

O fluxo sanguíneo e a síntese de P4 foram examinados em vacas que receberam gonadotrofina coriônica humana (hCG) sete dias após a ovulação (Beindorff et al., 2009). Os parâmetros foram medidos 12, 24 e 48 horas após o tratamento. Observou-se que a perfusão vascular do CL foi apenas transitoriamente elevada uma hora após a injeção de hCG e a concentração de P4 mostrou um aumento de 48 horas após a aplicação. Esses resultados sugerem que os tratamentos hormonais afetam de forma diferente a perfusão vascular do CL e a secreção lútea.

A fisiologia com relação à perfusão vascular do CL e de sua regulação não é totalmente compreendida. Como o CL produz progesterona, uma das hipóteses sugeridas é que esse

hormônio pode ser responsável por manter uma baixa resistência vascular no CL (Ellinwood, 1978). Assim, a progesterona pode levar à vasodilatação dos vasos ovarianos (Ford, 1981).

De Tarso et al. (2017) observaram correlações altas entre o fluxo sanguíneo do corpo lúteo com a concentração plasmática de P4. Em contraste, outros estudos não observaram nenhuma correlação significativa (Lüttgenau et al., 2011) ou correlação positiva moderada (Herzog et al., 2010) entre perfusão vascular e P4 plasmático.

Estudos anteriores mostraram que a administração de GnRH, um agonista de GnRH ou hCG após a IA, na presença de folículo dominante na primeira ou segunda ondas foliculares, pode induzir a formação de CL acessório, e conseqüentemente aumentar a concentração de P4 (Stevenson et al., 2007). Assim como a utilização de uma fonte exógena de P4 após a ovulação aumenta as concentrações plasmáticas de progesterona (Lima et al., 2009; Thuemmel et al., 1992; Whisnant and Burns, 2002). Estudando o efeito da suplementação de P4 injetável de longa ação, Lima et al. (2009) encontraram concentração média de progesterona de 2,87 ng/mL, utilizando doses de 450 e 750 mg de P4 injetável em vacas de leite. Já Whisnant e Burns (2002) observaram que as concentrações de P4 mantiveram-se elevadas por 12-13 dias, chegando a um pico de concentração de até 5 ng/mL.

Embora os grupos P4LA e GnRH tenham apresentado menores fluxos sanguíneos, as concentrações plasmáticas de P4 foram maiores. A suplementação direta de P4 (P4LA) e formação de corpos lúteo acessórios podem explicar esse fato.

Dos animais avaliados e tratados com GnRH, 40,3% (27/68) apresentaram corpo lúteo acessório 16 dias após a ovulação. Akhtar et al. (2018), avaliando a utilização de GnRH e hCG 7 dias após a IA, relataram 50% de formação de CL acessório no grupo GnRH (acetato de lacerilina). Ainda em outro estudo avaliando indução de corpo lúteo acessório e prenhez em receptoras de embrião, foi observado que 51% dos animais tratados apresentavam corpos lúteos acessórios (Pinto et al., 2015). Tal diferença entre as porcentagens de formação de CL acessório pode ser explicada pelo tipo de análogo de GnRH utilizado.

A hipótese de que a suplementação de P4 após a IATF, por aplicação de P4 injetável de longa ação ou GnRH, promove melhora na taxa de prenhez e diminuição da perda gestacional em vacas da raça Nelore foi confirmada. No presente estudo, o aumento significativo nas concentrações plasmáticas de P4 nos grupos suplementados corroborou com maiores taxas de prenhez (Tabela 2).

Várias estratégias anti-luteolíticas vem sendo estudadas com o intuito de aumentar a qualidade embrionária e a eficiência reprodutiva. Dentre as estratégias empregadas estão a formação de corpo lúteo acessório, pela aplicação de hormônios como hCG ou GnRH, ou suplementando de P4 de maneira exógena via dispositivos de liberação lenta, via oral ou ainda utilização de progesterona injetável de longa ação (Junior et al., 2017; Larson et al., 2006; Nascimento et al., 2013; Pugliesi et al., 2015).

Ainda assim, apesar de alguns estudos apresentarem efeito benéfico do aumento das concentrações de P4 no desenvolvimento embrionário em bovinos, os resultados com relação à taxa de prenhez são inconsistentes (Lonergan, 2011).

Em uma meta-análise sobre utilização GnRH ou hCG na formação de corpo lúteo acessório e seu efeito na prenhez, Besbaci et al. (2020) concluíram que os estudos sobre o assunto falharam em fornecer um consenso sobre os benefícios de tais tratamentos, uma vez que alguns relatam efeito benéfico da utilização de GnRH ou hCG com relação à prenhez enquanto outros não mostram os mesmos resultados (Dahlen et al., 2010; Howard et al., 2006; Szenci et al., 2006; Willard et al., 2003). Wiltbank et al. (2014) realizaram uma meta-análise de 30 trabalhos sobre suplementação de P4 após a inseminação artificial, sendo que somente 6 trabalhos apresentaram diferença na taxa de prenhez ($P < 0,05$).

Segundo Binelli et al. (2017), a progesterona está envolvida no processo de expressão de alguns genes que favorecem o desenvolvimento embrionário. Desta forma, fêmeas com

baixas concentrações de P4 no início do diestro poderiam ter taxas de prenhez mais baixas por conta da ingerência no desenvolvimento embrionário e no reconhecimento materno da gestação.

Experimentos mais recentes desenvolvidos com base na suplementação de P4 após a IA apresentaram resultados satisfatórios com utilização de GnRH ou hCG (Akhtar et al., 2018; Stojanov et al., 2020) ou ainda com P4 de longa ação (Couto et al., 2019; Pugliesi et al., 2016).

De forma contrária, alguns estudos avaliando a influência de estratégias de incremento de P4 plasmática na fertilidade não mostraram melhores resultados nas taxas de prenhez, apesar das concentrações maiores de P4 nos grupos suplementados. A administração de GnRH, cinco dias após a IA, em vacas de leite, aumentou a concentração de P4 no 13º dia após a IA, no entanto, as taxas de prenhez não foram diferentes entre o grupo GnRH e o controle (Howard et al., 2006). Vasconcelos et al. (2014) demonstraram que a concentração de P4 foi maior no grupo tratado, mas tal efeito não foi observado na taxa de prenhez de fêmeas tratadas com GnRH em relação ao grupo controle.

Em outro estudo avaliando a administração de buserelina (análogo do GnRH), observou-se um aumento no número de corpos lúteos acessórios, no entanto esse fato não foi capaz de aumentar as concentrações plasmáticas de P4 e a taxa de prenhez (Pinto et al., 2015).

Estudos que avaliaram a suplementação de P4 por dispositivos intravaginais nas duas primeiras semanas após a inseminação artificial não observaram diferença significativa na perda gestacional (Arndt et al., 2009; Lima et al., 2009; Monteiro et al., 2015). Entretanto, com relação às perdas gestacionais, no presente estudo foi observada uma tendência de menor perda do grupo P4LA comparado ao controle ($P = 0,07$).

Ataman et al. (2011) utilizaram 20 µg de buserelina (GnRH) 12 dias após a IA e avaliaram os efeitos nas concentrações plasmáticas de P4 e nas perdas gestacionais. Estes autores observaram que as concentrações de P4 entre 18 e 21 dias foram maiores para o grupo suplementado, mas não houve impacto nas perdas gestacionais. Adicionalmente, alguns estudos utilizando acetado de melengestrol (MGA) (Junior et al., 2017), P4 de longa ação (Souza et al., 2013), hCG (González et al., 2017) ou dispositivo de progestágeno (Arndt et al., 2009) na primeira semana pós IA, mostraram um aumento na concentração plasmática de P4, porém a perda gestacional não foi afetada pelo tratamento.

Ainda, Bartolome et al. (2005) avaliaram a aplicação de GnRH 5 ou 15 dias após a IATF, não demonstrando efeito nas taxas de prenhez, entretanto, as perdas gestacionais entre 27 e 55 dias foram reduzidas nos grupos GnRH.

Outro estudo utilizando P4 de longa ação (150 mg) 5 ou 11 dias após a IATF constatou menor perda gestacional dos animais tratados comparado com animais não suplementados (Couto et al., 2019). García-Guerra et al. (2020) avaliaram o efeito da administração de 200 mg de GnRH no D5 após ovulação em novilhas receptoras de embriões e observaram que a indução de um CL acessório pelo tratamento com GnRH no D5 aumentou a P4 circulante e foi associada a uma redução na perda gestacional em receptoras de embriões produzidos *in vitro*. No entanto, não houve efeito do tratamento com GnRH na taxa de prenhez.

Tal discrepância entre os resultados com relação a diminuição das perdas gestacionais pode ser explicada pelos diferentes análogos de GnRH testados, e sobretudo pelo momento da suplementação e categoria animal.

Ainda que haja consenso no importante papel da progesterona na manutenção da prenhez, ainda existe discussões sobre se um aumento nas concentrações de P4 no diestro aumentará a fertilidade. Mesmo após algumas décadas de pesquisa, os resultados sobre o efeito do aumento de P4 na fertilidade ainda são conflitantes.

Besbaci et al. (2020) analisaram 52 artigos sobre indução de CL acessório, sendo observado que os tratamentos com GnRH ou hCG melhoram a prenhez somente em vacas com

baixa fertilidade (muito baixa <30% e baixa de 30,1 a 45%). Por outro lado, o tratamento de vacas com muito boa fertilidade (> 60,1%) não resultou em qualquer benefício.

Além disso, outros estudos que avaliaram o efeito da suplementação de P4 sobre as perdas gestacionais relataram maior perda em vacas em anestro comparadas com vacas leiteiras cíclicas (Santos et al., 2004; Sterry et al., 2006; Stevenson et al., 2007), apontando que a ciclicidade antes da inseminação poderia ter relevância na manutenção da gestação.

Ademais, outros fatores ainda podem estar envolvidos no sucesso do incremento das concentrações de P4 e melhora na fertilidade. Friedman et al. (2012) observaram que a suplementação de P4 aumentou a fertilidade apenas em vacas com baixo escore de condição corporal e em vacas com patologias reprodutivas pós-parto. Outros estudos avaliando efeito da suplementação de P4 relataram melhora somente em primíparas (Nascimento et al., 2013; Santos et al., 2001; Urzúa et al., 2009) e durante os meses de verão em gado de leite (Fischer-Tenhagen et al., 2010).

5.4 Conclusão

Nas condições do presente estudo, a suplementação de P4 no sétimo dia após a IATF, por aplicação de P4 injetável de longa ação ou GnRH, afetou a perfusão do CL e aumentou as concentrações plasmáticas de progesterona dezesseis dias após a ovulação, aumentando as taxas de prenhez em relação ao grupo controle.

5.5 Referências

- Acosta, T.J., Miyamoto, A., 2004. Vascular control of ovarian function: Ovulation, corpus luteum formation and regression. *Anim. Reprod. Sci.* 82–83, 127–140. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.04.022>
- Acosta, T.J., Yoshizawa, N., Ohtani, M., Miyamoto, A., 2002. Local changes in blood flow within the early and midcycle corpus luteum after prostaglandin F2 α injection in the cow. *Biol. Reprod.* 66, 651–658. <https://doi.org/10.1095/biolreprod66.3.651>
- Akhtar, M.S., Saleem, M., Ahmad, E., Ahmad, T., Lashari, M.H., Ayaz, M.M., Lodhi, L.A., Ahmad, I., Hussain, I., Akhtar, M., 2018. Effect of leirelin acetate, hcg or progesterone administration on day 7 post-insemination on conception rate and progesterone concentration in cross-bred cattle. *Iraqi J. Vet. Sci.* 32, 149–153. <https://doi.org/10.33899/ijvs.2019.153842>
- Arndt, W.J., Holle, A.J., Bauer, M.L., Kirsch, J.D., Schimek, D.E., Odde, K.G., Vonnahme, K.A., 2009. Effect of post-insemination progesterone supplementation on pregnancy rate in dairy cows. *Can. J. Vet. Res.* 73, 271–274.
- Ataman, M.B., Erdem, H., Bülbül, B., Ümütlü, S., Çolak, M., 2011. The effect of buserelin injection 12 days after insemination on selected reproductive characteristics in cows. *Acta Vet. Brno* 80, 171–177. <https://doi.org/10.2754/avb201180020171>
- Bartolome, J.A., Melendez, P., Kelbert, D., Swift, K., McHale, J., Hernandez, J., Silvestre, F., Risco, C.A., Arteché, A.C.M., Thatcher, W.W., Archbald, L.F., 2005. Strategic use of gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) to increase pregnancy rate and reduce pregnancy loss in lactating dairy cows subjected to synchronization of ovulation and timed insemination. *Theriogenology* 63, 1026–1037.

<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.05.020>

- Batista, E.O.S., Cardoso, B.O., Oliveira, M.L., Cuadros, F.D.C., Mello, B.P., Sponchiado, M., Monteiro, B.M., Pugliesi, G., Binelli, M., 2019. Supplemental progesterone induces temporal changes in luteal development and endometrial transcription in beef cattle. *Domest. Anim. Endocrinol.* 68, 126–134. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2019.02.001>
- Bazer, F.W., Spencer, T.E., Johnson, G.A., Burghardt, R.C., 2011. Uterine receptivity to implantation of blastocysts in mammals. *Front. Biosci.* 3, 745–767. <https://doi.org/10.1109/leoswt.2008.4444364>
- Beindorff, N., Honnens, A., Penno, Y., Paul, V., Bollwein, H., 2009. Effects of human chorionic gonadotropin on luteal blood flow and progesterone secretion in cows and in vitro-microdialyzed corpora lutea. *Theriogenology* 72, 528–534. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.04.008>
- Beltman, M.E., Lonergan, P., Diskin, M.G., Roche, J.F., Crowe, M.A., 2009. Effect of progesterone supplementation in the first week post conception on embryo survival in beef heifers. *Theriogenology* 71, 1173–1179. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.12.014>
- Besbaci, M., Abdelli, A., Minviel, J.J., Belabdi, I., Kaidi, R., Raboisson, D., 2020. Association of pregnancy per artificial insemination with gonadotropin-releasing hormone and human chorionic gonadotropin administered during the luteal phase after artificial insemination in dairy cows: A meta-analysis. *J. Dairy Sci.* 103, 2006–2018. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16439>
- Binelli, M., Pugliesi, G., Batista, E.D.O.S., Martins, T., Lopes, E., Sponchiado, M., Gonella-diaza, A., Oliveira, M., França, M.R., Cardoso, B.O., Mello, B.P., Gomes, N.S., Latorraca, L., Cuadros, F., 2017. Programação da receptividade uterina e fertilidade em vacas de corte. *Rev. Bras. Reprodução Anim.* 41, 121–129.
- Brännström, M., Zackrisson, U., Hagström, H.G., Josefsson, B., Hellberg, P., Granberg, S., Collins, W.P., Bourne, T., 1998. Preovulatory changes of blood flow in different regions of the human follicle. *Fertil. Steril.* 69, 435–442. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(97\)00544-x](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(97)00544-x)
- Clemente, M., De La Fuente, J., Fair, T., Al Naib, A., Gutierrez-Adan, A., Roche, J.F., Rizo, D., Lonergan, P., 2009. Progesterone and conceptus elongation in cattle: A direct effect on the embryo or an indirect effect via the endometrium? *Reproduction* 138, 507–517. <https://doi.org/10.1530/REP-09-0152>
- Couto, S.R.B., Guerson, Y.B., Ferreira, J.E., Silva, O.R., Silenciato, L.N., Barbero, R.P., Mello, M.R.B., 2019. Impact of supplementation with long-acting progesterone on gestational loss in Nelore females submitted to TAI. *Theriogenology* 125, 168–172. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.10.032>
- Dahlen, C.R., Bird, S.L., Martel, C.A., Olson, K.C., Stevenson, J.S., Lamb, G.C., 2010. Administration of human chorionic gonadotropin 7 days after fixed-time artificial insemination of suckled beef cows. *J. Anim. Sci.* 88, 2337–2345. <https://doi.org/10.2527/jas.2009-2596>
- De Tarso, S.G.S., Gastal, G.D.A., Bashir, S.T., Gastal, M.O., Apgar, G.A., Gastal, E.L., 2017.

- Follicle vascularity coordinates corpus luteum blood flow and progesterone production. *Reprod. Fertil. Dev.* 29, 448–457. <https://doi.org/10.1071/RD15223>
- Ellinwood WE, Nett TM, N.G., 1978. Ovarian vasculature: structure and function. *Vertebr. Ovary. Comp. Biol. Evol.* 583–614.
- Fischer-Tenhagen, C., Thiele, G., Heuwieser, W., Tenhagen, B.A., 2010. Efficacy of a treatment with hCG 4 days After AI to reduce pregnancy losses in lactating dairy cows after synchronized ovulation. *Reprod. Domest. Anim.* 45, 468–472. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01249.x>
- Ford, S.P.C.J.R., 1981. Blood flow to the corpus luteum-bearing ovary and ipsilateral uterine horn of cows during the oestrous cycle and early pregnancy. *Journals Reprod. Fertil.* 62, 555–562.
- Forde, N., Beltman, M.E., Duffy, G.B., Duffy, P., Mehta, J.P., Ó’Gaora, P., Roche, J.F., Lonergan, P., Crowe, M.A., 2011. Changes in the endometrial transcriptome during the bovine estrous cycle: Effect of low circulating progesterone and consequences for conceptus elongation. *Biol. Reprod.* 84, 266–278. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.110.085910>
- Friedman, E., Roth, Z., Voet, H., Lavon, Y., Wolfenson, D., 2012. Progesterone supplementation postinsemination improves fertility of cooled dairy cows during the summer. *J. Dairy Sci.* 95, 3092–3099. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-5017>
- García-Guerra, A., Sala, R. V., Carrenho-Sala, L., Baez, G.M., Motta, J.C.L., Fosado, M., Moreno, J.F., Wiltbank, M.C., 2020. Postovulatory treatment with GnRH on day 5 reduces pregnancy loss in recipients receiving an in vitro produced expanded blastocyst. *Theriogenology* 141, 202–210. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.05.010>
- Garcia-Ispierto, I., López-Gatius, F., 2012. Effects of GnRH or Progesterone Treatment on Day 5 Post-AI on Plasma Progesterone, Luteal Blood Flow and Leucocyte Counts During the Luteal Phase in Dairy Cows. *Reprod. Domest. Anim.* 47, 224–229. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2011.01832.x>
- Ginther, O., 2007. *Ultrasonic Imaging and Animal Reproduction: Color-Doppler Ultrasonography*, 1 ed. ed. WI: Equiservices Publishing, Cross Plains.
- González, E.U., Pérez, L.Á.V., Garza, A., Mapes, G., Gutiérrez, C.G., Hernández-Cerón, J., 2017. Pregnancy rate in dairy cows treated with human chorionic gonadotropin five days after insemination. *Austral J. Vet. Sci.* 49, 119–122. <https://doi.org/10.4067/S0719-81322017000200119>
- Herzog, K., Brockhan-Lüdemann, M., Kaske, M., Beindorff, N., Paul, V., Niemann, H., Bollwein, H., 2010. Luteal blood flow is a more appropriate indicator for luteal function during the bovine estrous cycle than luteal size. *Theriogenology* 73, 691–697. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.11.016>
- Howard, J.M., Manzo, R., Dalton, J.C., Frago, F., Ahmadzadeh, A., 2006. Conception rates and serum progesterone concentration in dairy cattle administered gonadotropin releasing hormone 5 days after artificial insemination. *Anim. Reprod. Sci.* 95, 224–233. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2005.10.010>
- Vasconcelos, J.L.M, As Filho, O. G., Cooke, R.F, 2014. Impacts of Reproductive Technologies on Beef Production in South America. *Adv. Exp. Med. Biol.* 752, 97–114.

https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-1-4614-8887-3_8

- Junior, W.M.C., Cooke, R.F., Pereira, M.H.C., Vasconcelos, J.L.M., 2017. Effects of melengestrol acetate supplementation after fixed-timed artificial insemination on pregnancy rates of *Bos indicus* beef cows. *Livest. Sci.* 206, 71–75. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2017.10.012>
- Larson, J.E., Lamb, G.C., Geary, T.W., Stevenson, J.S., Johnson, S.K., Day, M.L., Ansotegui, R.P., Kesler, D.J., DeJarnette, J.M., Landblom, D.G., 2006. Synchronization of estrus and artificial insemination in replacement beef heifers using gonadotropin-releasing hormone, prostaglandin F_{2α}, and progesterone. *J. Anim. Sci.* 84, 3000–3009. <https://doi.org/10.2527/jas.2006-220>
- Lima, J.R., Rivera, F.A., Narciso, C.D., Oliveira, R., Chebel, R.C., Santos, J.E.P., 2009. Effect of increasing amounts of supplemental progesterone in a timed artificial insemination protocol on fertility of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 92, 5436–5446. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2134>
- Lonergan, P., 2011. Influence of progesterone on oocyte quality and embryo development in cows. *Theriogenology* 76, 1594–1601. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.06.012>
- Lüttgenau, J., Ulbrich, S.E., Beindorff, N., Honnens, A., Herzog, K., Bollwein, H., 2011. Plasma progesterone concentrations in the mid-luteal phase are dependent on luteal size, but independent of luteal blood flow and gene expression in lactating dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 125, 20–29. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2011.02.002>
- Machado, R., Bergamaschi, M.A.C.M., Barbosa, R.T., de Oliveira, C.A., Binelli, M., 2008. Ovarian function in Nelore (*Bos taurus indicus*) cows after post-ovulation hormonal treatments. *Theriogenology* 69, 798–804. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.10.025>
- Mann, G.E., Lamming, G.E., 2001. Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. *Reproduction* 121, 175–180. <https://doi.org/10.1530/rep.0.1210175>
- Matsui, M., Miyamoto, A., 2009. Evaluation of ovarian blood flow by colour Doppler ultrasound: Practical use for reproductive management in the cow. *Vet. J.* 181, 232–240. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2008.02.027>
- Mehni, S.B., Shabankareh, H.K., Kazemi-Bonchenari, M., Eghbali, M., 2012. The comparison of treating holstein dairy cows with progesterone, CIDR and GnRH after insemination on serum progesterone and pregnancy rates. *Reprod. Domest. Anim.* 47, 131–134. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2011.01811.x>
- Miyamoto, A., Shirasuna, K., Sasahara, K., 2009. Local regulation of corpus luteum development and regression in the cow: Impact of angiogenic and vasoactive factors. *Domest. Anim. Endocrinol.* 37, 159–169. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2009.04.005>
- Monteiro, P.L.J., Nascimento, A.B., Pontes, G.C.S., Fernandes, G.O., Melo, L.F., Wiltbank, M.C., Sartori, R., 2015. Progesterone supplementation after ovulation: Effects on corpus luteum function and on fertility of dairy cows subjected to AI or ET. *Theriogenology* 84, 1215–1224. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.06.023>

- Nascimento, A.B., Bender, R.W., Souza, A.H., Ayres, H., Araujo, R.R., Guenther, J.N., Sartori, R., Wiltbank, M.C., 2013. Effect of treatment with human chorionic gonadotropin on day 5 after timed artificial insemination on fertility of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 96, 2873–2882. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5895>
- O'Hara, L., Forde, N., Carter, F., Rizos, D., Maillo, V., Ealy, A.D., Kelly, A.K., Rodriguez, P., Isaka, N., Evans, A.C.O., Lonergan, P., 2014. Paradoxical effect of supplementary progesterone between day 3 and day 7 on corpus luteum function and conceptus development in cattle. *Reprod. Fertil. Dev.* 26, 328–336. <https://doi.org/10.1071/RD12370>
- Osman, E., 2012. Progesterone concentrations and pregnancy rates of repeat breeder cows following postinsemination prid and GnRH treatments. *Turkish J. Vet. Anim. Sci.* 36, 283–288. <https://doi.org/10.3906/vet-1103-3>
- Pinto, T.L.C., Nogueira, M.B.R., Sales, J.N. de S., de Carvalho, R.R., Cushman, R.A., de Souza, J.C., 2015. Fatores afetando as taxas de gestação após a transferência de embriões derivados de aspiração folicular em receptoras Holstein lactantes sob condições tropicais. *Cienc. e Agrotecnologia* 39, 498–505. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542015000500008>
- Pugliesi, G., Oliveria, M.L., Scolari, S.C., Lopes, E., Pinaffi, F. V., Miagawa, B.T., Paiva, Y.N., Maio, J.R.G., Nogueira, G.P., Binelli, M., 2014. Corpus luteum development and function after supplementation of long-acting progesterone during the early luteal phase in beef cattle. *Reprod. Domest. Anim.* 49, 85–91. <https://doi.org/10.1111/rda.12231>
- Pugliesi, G., Rezende, R.G., Silva, J.C.B. da, Lopes, E., Nishimura, T.K., Baruselli, P.S., Madureira, E.H., Binelli, M., 2017. Use of Doppler ultrasonography in timed-AI and ET programs in cattle. / Uso da ultrassonografia Doppler em programas de IATF e TETF em bovinos. *Rev. Bras. Reprodução Anim.* 41, 140–150.
- Pugliesi, G., Santos, F.B., Lopes, E., Nogueira, É., Maio, J.R.G., Binelli, M., 2015. Fertility response in suckled beef cows supplemented with long-acting progesterone after timed artificial insemination. *Reprod. Fertil. Dev.* 27, 98. <https://doi.org/10.1071/RDv27n1Ab11>
- Pugliesi, G., Santos, F.B., Lopes, E., Nogueira, Maio, J.R.G., Binelli, M., 2016. Improved fertility in suckled beef cows ovulating large follicles or supplemented with long-acting progesterone after timed-AI. *Theriogenology* 85, 1239–1248. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.12.006>
- Santos, J.E.P., Thatcher, W.W., Chebel, R.C., Cerri, R.L.A., Galvão, K.N., 2004. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. *Anim. Reprod. Sci.* 82–83, 513–535. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.04.015>
- Santos, J.E.P., Thatcher, W.W., Pool, L., Overton, M.W., 2001. Effect of human chorionic gonadotropin on luteal function and reproductive performance of high-producing lactating Holstein dairy cows. *J. Anim. Sci.* 79, 2881–2894. <https://doi.org/10.2527/2001.79112881x>
- Siqueira, L.G.B., Areas, V.S., Ghetti, A.M., Fonseca, J.F., Palhao, M.P., Fernandes, C.A.C., Viana, J.H.M., 2013. Color Doppler flow imaging for the early detection of nonpregnant cattle at 20 days after timed artificial insemination. *J. Dairy Sci.* 96, 6461–6472. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6814>
- Souza, E.D.F., Sala, R. V, Ortolan, M.D.D. V, Azrak, A.J., Maio, J.R.G., Teixeira, A.A.,

- Bastos, M.R., Sales, J.N.S., Baruselli, P.S., 2013. Effects of exogenous progesterone on luteal function of high production dairy cows. *Anim. Reprod.* 10, 446.
- Sterry, R.A., Welle, M.L., Fricke, P.M., 2006. Treatment with gonadotropin-releasing hormone after first timed artificial insemination improves fertility in noncycling lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89, 4237–4245. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72469-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72469-9)
- Stevenson, J.S., Portaluppi, M.A., Tenhouse, D.E., Lloyd, A., Eborn, D.R., Kacuba, S., DeJarnette, J.M., 2007. Interventions after artificial insemination: Conception rates, pregnancy survival, and ovarian responses to gonadotropin-releasing hormone, human chorionic gonadotropin, and progesterone. *J. Dairy Sci.* 90, 331–340. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(07\)72634-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(07)72634-6)
- Stojanov, B., Atanasov, B., Grizelj, J., Vince, S., Nikolovski, M., Kjosevski, M., Dovenski, T., Adamov, N., Ilievska, K., Samardzija, M., 2020. Induction and Formation of Accessory Corpus Luteum after Artificial Insemination (AI) Might Increase Pregnancy Rate per AI in Heat Stressed Dairy Cows. *Maced. Vet. Rev.* 43, 37–43. <https://doi.org/10.2478/macvetrev-2020-0012>
- Szenci, O., Takács, E., Sulon, J., Sousa, N.M. de, Beckers, J.F., 2006. Evaluation of GnRH treatment 12 days after AI in the reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology* 66, 1811–1815. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.04.034>
- Thatcher, W.W., Staples, C.R., Danet-Desnoyers, G., Oldick, B., Schmitt, E.P., 1994. Embryo Health and Mortality in Sheep and Cattle. *J. Anim. Sci.* 72, 16–30. https://doi.org/10.2527/1994.72suppl_316x
- Thuemmel, A.E., Gwazdauskas, F.C., Whittier, W.D., McGilliard, M.L., 1992. Effect of progesterone supplementation in repeat-breeder cattle on conception and plasma progesterone. *J. Endocrinol. Investig. Off. J. Ital. Soc. Endocrinol.* 15, 393–396. <https://doi.org/10.1007/BF03348762>
- Urzúa E., C.G., Gutiérrez, A., Garza, C., Corona, G., Mapes, Hernández, C.J., 2009. . Pregnancy success and luteal function of lactating Holstein cows after hCG on day 5 after insemination. *J. Dairy Sci.* 92, 443.
- Whisnant, C.S., Burns, P.J., 2002. Evaluation of steroid microspheres for control of estrus in cows and induction of puberty in heifers. *Theriogenology* 58, 1229–1235. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(02\)00942-1](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(02)00942-1)
- Willard, S., Gandy, S., Bowers, S., Graves, K., Elias, A., Whisnant, C., 2003. The effects of GnRH administration postinsemination on serum concentrations of progesterone and pregnancy rates in dairy cattle exposed to mild summer heat stress. *Theriogenology* 59, 1799–1810. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(02\)01232-3](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(02)01232-3)
- Wiltbank, M.C., Souza, A.H., Carvalho, P.D., Cunha, A.P., Giordano, J.O., Fricke, P.M., Baez, G.M., Diskin, M.G., 2014. Physiological and practical effects of progesterone on reproduction in dairy cattle. *Animal* 8, 70–81. <https://doi.org/10.1017/S1751731114000585>

6. CONCLUSÕES GERAIS

Muitos animais falham em conceber por uma série de fatores que muitas vezes são desconhecidos por profissionais da área. O conhecimento das causas envolvidas é fundamental para definir estratégias com intuito de melhorar o desempenho reprodutivo.

O temperamento excitável em fêmeas da raça Nelore afeta o desempenho reprodutivo do rebanho sendo uma característica importante com influência nas concentrações de cortisol que afetam as estruturas ovarianas como o tamanho dos folículos e corpo lúteo, e ainda, animais excitáveis apresentam menores fluxos sanguíneo no corpo lúteo dezesseis dias após a ovulação. Logo, estratégias que proporcionem um aumento na concentração plasmática de progesterona, podem melhores resultados em programas de IATF.

Apesar da utilização de GnRH e P4LA afetar a vascularização do CL, as concentrações plasmáticas de progesterona dezesseis dias após a ovulação foram maiores. Além disso, estas estratégias de suplementação de P4 melhoraram as taxas de concepção em animais excitáveis. Sendo uma alternativa viável a fim de minimizar o impacto negativo do estresse e melhorar os índices reprodutivos. Com isso, é possível alinhar quais as melhores estratégias de incremento de progesterona plasmática afim de contribuir para melhora nos índices reprodutivos.