

### ***Duração do proestro altera a fertilidade de vacas de leite de alta produção?***

Ronaldo Luís Aoki Cerri  
Applied Biology Program  
Faculty of Land and Food Systems  
University of British Columbia

#### *Introdução e Bases dos Protocolos de Sincronização*

No início do pós-parto a vaca de leite é normalmente submetida a um período de balanço energético negativo que, quando exacerbado, prolonga o período anovulatório e compromete a fertilidade (Butler, 2000). Vacas de alta produção tem redução na expressão de cio, (Lopez et al., 2004), que pode ser ainda mais afetada devido as práticas de manejo nas quais os animais são mantidos em currais tipo free-stall com chão de concreto e pouco ou nenhum acesso a currais de terra batida (Stevenson, 2001).

A queda nas taxas de concepção que foi observada nas ultimas décadas que foi motivo de preocupação de pesquisadores e produtores passou surpreendentemente por mudanças consideráveis nos últimos 10 anos. Dados recentes do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (Figura 1, Animal Improvement Programs Laboratory, ARS, USDA) mostraram que a taxa de prenhez das filhas dos touros da base de dados do USDA aumentaram significativamente. Foi sugerido que esse aumento da taxa de prenhez ocorreu em decorrência do fenótipo observado e não necessariamente da melhora genética do rebanho, mais acelerado nesse período após a inclusão de características de fertilidade das filhas serem incluídas nos catálogos de sêmen. A inseminação artificial (IA) em tempo fixo (IATF) é provavelmente uma das maiores responsáveis por essa expressiva melhora na performance reprodutiva dos últimos 10 anos. As taxas de prenhez por IA não necessariamente melhoraram, porém a proporção de animais submetidos ou taxa de serviço aumentou consideravelmente, uma vez que em programas de IATF a taxa de serviço é de 100%.

## Tendência Fenotípica    Tendência Genética

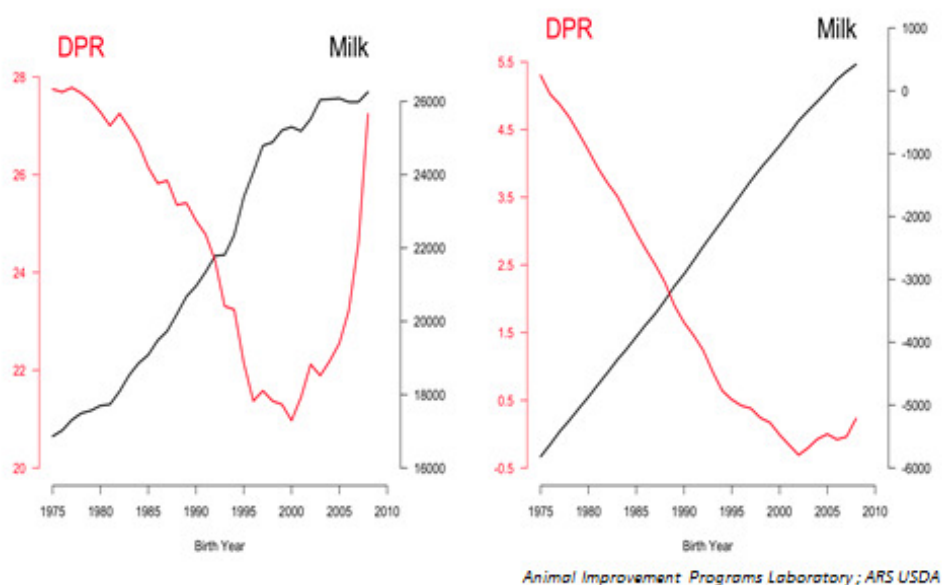


Figura 1. Tendência fenotípica e genética para a concepção das filhas de touros analisadas de 1975 a 2010 nos Estados Unidos.

Foi nesse período de desenvolvimento (desde os anos 80) dos protocolos de IATF para gado de leite que houve uma grande geração de conhecimento a respeito da fisiologia reprodutiva em fêmeas bovinas, especialmente a fisiologia ovariana (Santos et al., 2004; Wiltbank et al., 2006; Sá Filho and Vasconcelos, 2010). O envolvimento e sincronização de mudanças hormonais com as ondas foliculares permitiu o desenvolvimento de protocolos que permitissem a IATF. Inicialmente baseados no hormônio liberador de gonadotropinas (GnRH) e de prostaglandina  $F_{2\alpha}$  ( $PGF_{2\alpha}$ ) (Pursley et al., 1995), os protocolos sofreram diversas modificações no decorrer do tempo para que sua eficiência aumentasse. Por exemplo, Vasconcelos et al. (1999) mostraram que as taxas de sincronização eram melhores quando vacas iniciavam o protocolo Ovsynch entre os dias 5 e 9 do ciclo estral. Baseado nessas informações, pesquisadores da Florida (Moreira et al., 2001) mostraram que a pre-sincronização com duas injeções de  $PGF_{2\alpha}$  separadas por 14 dias antes do início do Ovsynch aumentava a proporção de animais no estágio ideal do ciclo estral com consequente aumento da prenhez por IA. Porém, a resposta a presincronização com  $PGF_{2\alpha}$ , foi efetiva somente em vacas cíclicas. Mais tarde outros

programas de presincronização passaram a ser desenvolvidos incorporando também o dispositivo de liberação interna contendo progesterona (CIDR) e GnRH com o intuito de induzir a ciclicidade e aumentar a resposta ao primeiro GnRH do protocolo de sincronização (Bello et al., 2006; Chebel et al., 2006; Souza et al., 2008). Mais recentemente foi comprovado que a não resposta ao primeiro GnRH do protocolo ovsynch aumentou o período de dominância do folículo ovulatório e comprometeu a qualidade do embrião (Cerri et al., 2009), que se traduziu em redução da prenhez por IA (Chebel et al., 2006).

Protocolos de sincronização de cio baseados em estradiol e progesterona foram desenvolvidos ainda nos anos 60 em gado de corte (Wiltbank and Kasson, 1968). Assim como os protocolos baseados em GnRH e PGF<sub>2α</sub>, os protocolos envolvendo estradiol e progesterona também evoluíram gradativamente e recentemente são provavelmente os programas de IATF mais utilizados no Brasil em gado de leite e corte. O seu uso na América do Norte e Europa seja talvez mais limitado devido restrições de uso desses fármacos, ou mesmo devido ao uso já eficaz de outros programas de IATF. Dados recentes tem mostrado que o uso de benzoato de estradiol (BE) associado a um CIDR tem obtido taxas de concepção surpreendentes em gado de corte (de Sá Filho and Vasconcelos, 2010) e similares aos protocolos que utilizam GnRH em gado de leite (Vasconcelos et al., 2011). Variações no momento de se administrar a PGF<sub>2α</sub>, utilização de estradiol como indutor de ovulação e uso da gonadotrofina coriônica equina (eCG) foram algumas das variações e adições ocorridas nos últimos anos e que se mostraram importantes na alteração do proestro e melhoria das taxas de sincronização e concepção desses protocolos.

#### *Efeitos da Progesterona Durante o Crescimento Folicular*

Em vacas leiteiras de alta produção, de 6 a 59% das vacas Holandesas pós-parto não voltaram a ciclar, e portanto não foram expostas a progesterona até os 60 dias pós-parto ou antes da primeira IA (Cerri et al., 2004; Stevenson et al., 2006; Santos et al., 2009). Essas vacas apresentaram redução na prenhez por IA e aumento das perdas de prenhez após a primeira inseminação (Chebel et al., 2006; Santos et al., 2009). Vacas anovulares são caracterizadas pelo padrão contínuo de ondas de crescimento folicular sem ovulação, que no caso de vacas leiteiras lactantes, é possivelmente ligado ao estado de balanço energético negativo e ausência de

responsividade do eixo hipotálamo-pituitária aos pulsos de GnRH/LH estimulados pelo estradiol. Estudos da literatura indicam que, de maneira geral, perdas embrionárias tardias foram numericamente maiores em vacas em condição anovulatória. A perda de prenhez em vacas anovulares foi mais de 10 unidades percentuais maiores quando comparadas com vacas cíclicas. Portanto, reduzir a prevalência de vacas anovulatórias antes da primeira IA pós parto é esperado que minimize as perdas de prenhez em vacas em lactação.

Paradoxalmente, alguns estudos anteriores que visavam induzir a ciclicidade (Chebel et al., 2006; Bicalho et al., 2007; Cerri et al., 2009b) conseguiram aumentar a proporção de vacas cíclicas ao início do protocolo de sincronização de ovulação, porém não obtiveram o aumento em concepção esperado. Nesses estudos um CIDR foi usado durante a presincronização e de fato aumentou a proporção de vacas ciclando provavelmente por induzir a formação de um folículo persistente capaz de ovular após a retirada do CIDR. Parte da razão pela qual o tratamento com o CIDR durante a presincronização não se traduziu em melhor fertilidade foi que apesar de aumentar a proporção de vacas cíclicas comparado com o controle sem CIDR, ainda assim mais da metade dos animais anovulares tratados com o CIDR continuaram sem ciclar. Vacas sem serem tratadas com CIDR durante a presincronização ainda tiveram ao redor de 30% delas retornando a ciclicidade de forma espontânea antes do início do protocolo de sincronização (Chebel et al., 2006; Cerri et al., 2009b) o que provavelmente também ajudou a diminuir a diferença entre os tratamentos. Em outro estudo utilizando uma fazenda de leite a pasto na Flórida (Ribeiro et al., 2011) com vacas cruzadas, um protocolo de presincronização utilizando PGF<sub>2α</sub> e GnRH, similar ao G6G (Bello et al., 2006), aumentou a proporção de vacas com alta progesterona no início do Ovsynch, porém também não traduziu esse aumento para melhoria na fertilidade. Em todos os estudos, se analisados somente os dados de vacas anovulares e cíclicas (ou com baixa ou alta progesterona no momento do início do protocolo de sincronização) independente do tratamento, a prenhez por IA foi de fato maior para as vacas cíclicas.

Recentemente Bisinotto et al. (2010) conduziu um estudo no qual classificou as vacas em anovulares, cíclicas com alta progesterona no início do programa de sincronização e cíclica com baixa progesterona no início da sincronização. Nesse estudo foi observado que vacas classificadas com baixa progesterona e anovulares tinham a mesma prenhez por IA, enquanto ambas foram menores que vacas classificadas como alta progesterona. Nesse mesmo estudo foi

observado a indução da primeira onda folicular reduziu a concepção. No trabalho de Stevenson (2011) foi observado declínio de mais de 50% na prenhez por IA no tratamento no qual a présincronização induziu a ovulação de um folículo da primeira onda folicular comparado com outros 4 métodos de presincronização. Ficou demonstrado portanto que não somente ciclicidade, nem somente a resposta ao primeiro GnRH do protocolo de sincronização, mas também a onda folicular que se inicia o protocolo, tem grande efeito na eficácia da sincronização.

Considerando esses achados, fica claro que existe um efeito importante da progesterona durante o crescimento folicular que afeta a fertilidade. Em um recente estudo (Cerri et al., 2011a) foi testado o efeito de diferentes concentrações de progesterona durante o crescimento folicular. Nesse estudo o efeito da progesterona na qualidade embrionária inicial (6 dias pós inseminação) foi nulo, ao contrário do que foi inicialmente hipotetizado. Entretanto, vacas que tiveram o folículo pré-ovulatório crescendo sob baixa progesterona tiveram maior incidência de ciclos curtos e maior liberação de PGF<sub>2α</sub>, detectada sob a forma de seu metabólito no plasma, no ciclo estral seguinte nos animais com duração luteal normal (Cerri et al., 2011b). Esse efeito tardio sobre o útero no ciclo seguinte mostra que a incidência de ciclos curtos pode ser induzida não somente em vacas previamente em anestro, mas também naquelas que ovulam um folículo dominante que se desenvolveu sob baixas concentrações de progesterona.

#### *Efeitos do Estradiol e Proestro Durante o Crescimento Folicular*

Sob baixas concentrações de progesterona, o aumento do estradiol durante o proestro induz o pico de LH (Chenault et al., 1975; Kinder et al., 1991). Produtos que são derivados do estradiol-17β como por exemplo os esters de estradiol (benzoado, valerato e cipionato) tem sido usados em protocolos de sincronização de cio e ovulação (Day et al., 2000; Fernandes et al., 2001; Diskin et al., 2002; Pancarci et al., 2002; Galvão et al., 2004; Sá Filho et al., 2009). O BE tem sido utilizado em programas de IATF em vacas de corte (Fernandes et al., 2001; Sá Filho et al., 2009) de maneira a substituir a primeira e/ou a segunda injeção de GnRH do ovsynch. Estudos na Nova Zelândia (Day et al., 2000) usaram de maneira eficiente uma combinação de progestinas, PGF<sub>2α</sub> e BE para aumentar o número de vacas inseminadas no início da estação de

monta em sistemas de produção de leite sazonais baseados no pastejo. Quando vacas lactantes receberam 1 a 2 mg de BE junto a colocação de um dispositivo de liberação de progesterona e  $\text{PGF}_{2\alpha}$  e retirada do dispositivo 7 dias depois, foi observado aumento na taxa de serviço e prenhez no primeiros dias da estação de monta (Day et al., 2000).

O cipionato de estradiol (ECP), uma forma esterificada do estradiol-17 $\beta$  com uma meia vida mais longa que o BE, foi usado num protocolo de IATF em vacas secas e novilhas em crescimento (Lopes et al., 2000) que foi posteriormente chamado de Heatsynch (Pancarci et al., 2002). Animais recebendo 0.5 e 1 mg de ECP alcançaram concentrações de estradiol durante o pico ao redor de 5 a 6 pg/mL próximo da IA (Cerri et al., 2009), e o intervalo médio da injeção de ECP até a ovulação em novilhas foi de 58 horas (Lopes et al., 2000). Este experimento resultou em prenhez por IA similares quando a IA se deu em seguida do protocolo Heatsynch ou de sincronização de cio feita com injeções de  $\text{PGF}_{2\alpha}$ . Quando o protocolo Heatsynch foi comparado a um protocolo de sincronização de cio (Cerri et al., 2004), as vacas que tiveram a IA seguida do Heatsynch tiveram melhor prenhez por IA do vacas inseminadas após observação de cio. Esse resultado obtido evidenciou um possível efeito positivo da adição de estradiol ao protocolo de sincronização. Nesse estudo os animais que tiveram IATF após o Heatsynch foram, na média, inseminados antes do que os animais observados em cio e portanto a ovulação de folículos mais jovens, mesmo que com diferenças pequenas, poderia também ter influenciado nos resultados. Parte desses resultados sugeriam que proestro e dominancia folicular poderiam ser fatores de grande importancia na eficiencia dos protocolos. Mais tarde, resultados de novas pesquisas iriam propor que ambas na verdade são importantes. Deve haver um balanço entre as duas para que se estenda o proestro sem que o folículo seja afetado negativamente.

Os protocolos de sincronização foram sendo modificados ao longo do tempo para que fossem mais eficientes e práticos operacionalmente. Os primeiros protocolos em gado de leite visavam somente induzir ou sincronizar o cio com administrações de acordo com diagnósticos durante a palpação ou seguindo uma agenda pré-determinada. A partir dos anos 90 o protocolo Ovsynch (Figura 2) passou a ser utilizado como a primeira ferramenta para a IATF usada em grande escala nos EUA. A primeira modificação desse protocolo se deu ao modificar-se o tempo entre a  $\text{PGF}_{2\alpha}$  e o último GnRH. Para que o protocolo ficasse mais prático de ser feito na fazendas e as inseminações pudessem ser feitas pela manhã, optou-se por estender de 48 para 56

h o tempo entre as duas últimas injeções do protocolo. Essa modificação não alterou a taxa de sincronização, mas aumentou o proestro dos animais em 12h. Até hoje contudo, a comparação direta entre o Ovsynch 48 e 56 não foi feita e não há como avaliar o efeito do proestro ligeiramente estendido, porém sabe-se que os dois protocolos tem obtido resultados satisfatórios nas diversas pesquisas em que foram utilizados. A segunda modificação desse protocolo foi a adição de uma presincronização feita com duas injeções de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  administradas com 14 dias de intervalo (Moreira et al., 2000), com o intuito de iniciar o Ovsynch num período ideal do ciclo estral (Vasconcelos et al., 1999). Uma modificação também iniciada para que se aumentasse a praticidade do protocolo inicial foi de aumentar o intervalo entre a última injeção de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  da presincronização e o primeiro GnRH do Ovsynch de 12 para 14 dias. Mais tarde, Galvão et al. (2004) mostrou que o aumento desse intervalo (nesse trabalho de 11 para 14 dias) diminuiu a resposta ao primeiro GnRH do Ovsynch e queda na taxa de concepção. Nesse caso o proestro em si não foi aumentado ou diminuído, mas talvez as concentrações de estradiol durante o proestro tenham sido modificados e até possam ter sido mais adequadas, porém o folículo pré-ovulatório foi afetado negativamente. As razões para tal queda na concepção nesse caso serão discutidas na próxima seção.

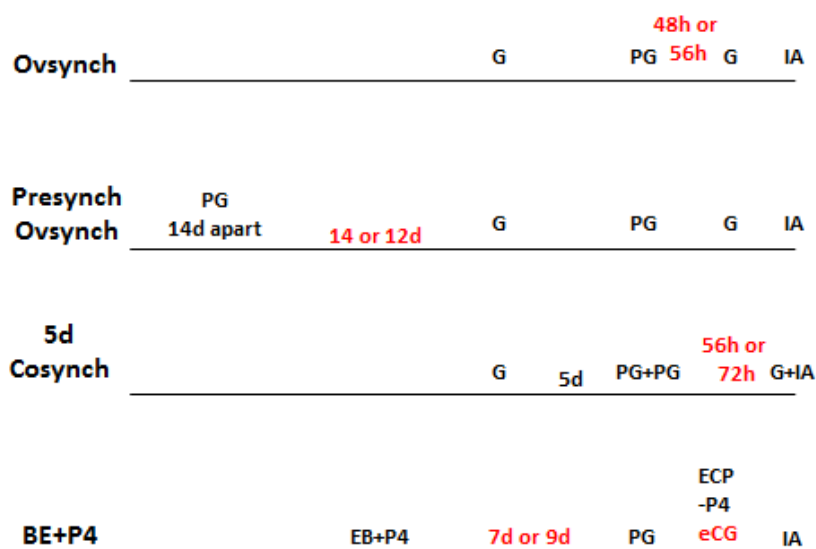


Figura 2. Protocolos de IATF e modificações feitas que afetaram direta ou indiretamente o proestro.

Recentemente, um protocolo similar ao Ovsynch, porém mais curto foi desenvolvido inicialmente em gado de corte (Bridges et al., 2008) e depois usado em novilhas em gado de leite (5d-Ovsynch ou 5d-Cosynch). Esse protocolo visava resolver um problema de sincronização de ovulação que diminuía a eficácia do Ovsynch, especialmente em novilhas já que estas costumavam apresentar maior proporção de três ondas foliculares. O grupo da Flórida passou a utilizar o protocolo em vacas lactantes e foi testado o uso do último GnRH concomitantemente com a IA (Ribeiro et al., 2012). Essa estratégia, apesar de ser já testada com efeitos negativos na concepção no Ovsynch original, foi proposta para que se diminuísse a quantidade de dias necessários para injeções. Foi também testado diferentes tempos entre a administração de PGF<sub>2α</sub> e a IA, variando de 48 e 72h. Obviamente, essa alteração modificava o proestro em 24h e foi observado aumento significativo na concepção nos animais previamente presincronizados com PGF que receberam a IA 72h após a PGF<sub>2α</sub> comparado com 48h (54.9 vs. 46.5%; Ribeiro et al., 2012). Esse resultado, comprova que a relação de tempo de dominância e proestro tem efeitos práticos importantes, mesmo que essas alterações sejam pequenas.

Os protocolos que utilizam BE e dispositivos de P4 para iniciar o protocolo de sincronização encontraram grande espaço no Brasil. O custo do BE e ECP aliados a excelente sincronização da ovulação sem a necessidade de presincronizações fez com que esses protocolos fossem os mais utilizados para IATF no Brasil tanto para gado de leite como gado de corte (Meneguetti et al., 2009; Vasconcelos et al., 2011). Esse protocolo também passou por modificações importantes nos últimos anos. A primeira delas foi a modificação de 9 para 7 dias do intervalo entre o início do protocolo e a administração de PGF<sub>2α</sub> (Dias et al., 2009). Essa simples modificação aumentou significativamente as taxas de concepção em gado de leite e também corte e foi sugerido que a melhora em concepção tem relação direta com a duração do proestro que nesse caso foi aumentado em 48 h. A segunda modificação foi a adição do eCG junto ao ECP (Dias et al., 2009). Essa modificação e suas implicações é talvez a que melhor ilustra as diferenças entre o gado de leite e corte quanto ao que diz respeito a maturação do folículo pré-ovulatório e concentrações de estradiol durante o proestro. Resultados de diversas pesquisas mostraram que a adição de eCG em gado de leite não afetou a taxa de concepção, enquanto que o efeito é significativo em gado de corte, particularmente em novilhas pré-pubescentes e vacas com baixa condição corporal. Mesmo em protocolos baseados em GnRH como o Ovsynch a adição de eCG não teve efeito algum na concepção, concentrações de estradiol durante o proestro e no



crescimento do folículo pré-ovulatório (Pulley et al., 2013). De maneira geral, animais que tenham pulsos de LH adequados ou até mesmo aumentados devido a condições fisiológicas específicas (ex.: vacas lactantes de alta produção) não colhem nenhum benefício do eCG. Animais nas condições citadas acima em gado de corte conseguem contudo usufruir do estímulo extra proporcionado pelo eCG, melhorar o desenvolvimento folicular, maior diâmetro, maiores concentrações de estradiol no proestro e de progesterona no ciclo subsequente, e aumentar a fertilidade.

#### *Efeito da Dominância Folicular na Fertilidade*

Vacas inseminadas após a detecção espontânea de cio tiveram redução linear na prenhez por IA a medida que o intervalo da emergência da onda folicular e o cio aumentou (Bleach et al., 2004). Esta redução na fertilidade observada após longos períodos de dominância folicular foi associado com a redução da qualidade do ócito (Revah and Butler, 1996) e desenvolvimento embrionário (Ahmad et al., 1995), embora esses estudos usaram períodos de dominância folicular extremamente longos que provavelmente não ocorreriam de forma espontânea. Estudos usando o protocolo ovsynch como plataforma para sincronizar a emergência da onda folicular, regressão do CL e ovulação demonstraram que quando as vacas ovularam ao primeiro GnRH elas tinham maior chance de ovular o folículo pré-ovulatório após a segunda injeção de GnRH do protocolo (Vasconcelos et al., 1999; Rutigliano et al., 2008). A ovulação ao primeiro GnRH do programa ovsynch também aumentou a prenhez por IA (Chebel et al., 2006; Rutigliano et al., 2008) e a qualidade de embriões coletados 6 dias após a IA (Cerri et al., 2009). Portanto, a ovulação ao primeiro GnRH do protocolo Ovsynch pode aumentar a fertilidade ao aumentar a sincronização da ovulação próxima a IA, mas também causar a ovulação de um folículo mais jovem que poderia beneficiar a fertilização e a qualidade embrionária. O uso de protocolos de sincronização tem sido por vezes associado ao aumento de perda de prenhez em vacas de leite (Lucy, 2001), porém o risco de perda de prenhez foi inalterado quando vários estudos comparando IA após detecção de cio ou protocolos de sincronização de ovulação foi analisado (Santos et al., 2004).

Em um estudo recente (Cerri et al., 2009) foi testado o efeito da dominância folicular na fertilização e qualidade embrionária em vacas lactantes de alta produção. Esse estudo demonstrou que programas reprodutivos que estendem o período de dominância folicular de fato influenciam a qualidade embrionária em vacas lactantes. De maneira geral foi concluído que reduzir o período de dominância folicular ao se otimizar a resposta a injeção inicial de GnRH do protocolo de sincronização melhorou o desenvolvimento embrionário inicial. Redução na qualidade do embrião foi observado mesmo quando o período de dominância foi estendido em apenas 1.5 a 2 dias. Se de fato a qualidade embrionária influenciar a prenhez em vacas em lactação, então a fertilidade poderia ser maximizada quando a dominância do folículo ovulatório se restringir a 5 ou 6 dias. Foi importante notar que vacas inseminadas após a sincronização do estro somente tiveram maior proporção de embriões degenerados, que foi associado com a dominância mais longa devido ao aumento do intervalo da regressão do CL até o cio e IA. A fertilização, por outro lado, não sofreu nenhum efeito associado a dominância folicular nesse estudo, assim como as concentrações de estradiol durante o proestro. Esse resultado mostrou que o processo de fertilização em si é pouco alterado e não parece ser um importante fator quando diferentes protocolos de sincronização foram comparados. É possível afirmar que o período de dominância foram mais importantes para o desenvolvimento inicial do embrião em vacas leiteiras de alta produção do que o perfil de concentração de esteróides durante o crescimento folicular (Figura 3). Além disso, protocolos de sincronização e IATF que são corretamente implementados podem resultar em qualidade embrionária similar ou melhor do que quando animais são inseminados após detecção de cio. Portanto, é possível que vacas lactantes de alta produção com intervalos maiores entre o desvio e o cio podem ter a fertilidade reduzida pois a qualidade do embrião é comprometida quando a dominância é aumentada em apenas 1.4 dias. Isso não quer dizer que o ambiente endócrino deva ser esquecido quando se tenta montar uma estratégia que vise maximizar a eficiência de protocolos de sincronização. É evidente que as concentrações de progesterona e estradiol antes, durante e depois da IA tem efeitos claros sobre a fertilidade da vaca, sendo todos de igual importância para a fertilidade final.

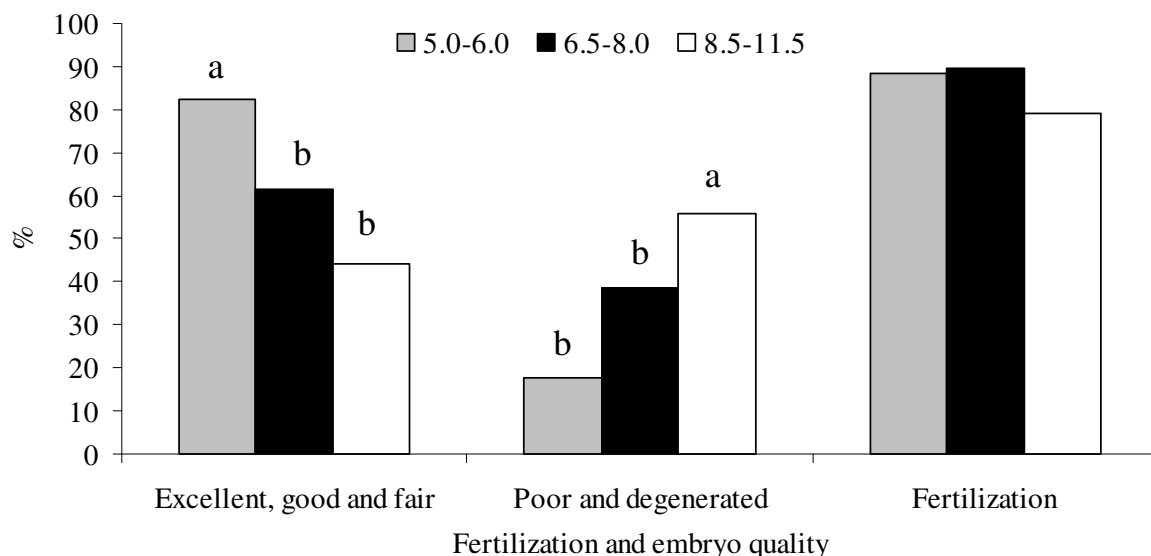


Figura 3. Distribuição da frequência de embriões de acordo com a classificação da qualidade e da fertilização do oócito (IETS, 1998) relativo ao período de dominância do folículo ovulatório. Fertilização permaneceu inalterada ( $P = 0.27$ ), mas a qualidade embrionária diminuiu ( $P < 0.001$ ) com o aumento do período de dominância. <sup>a,b</sup> Barras com diferentes letras diferem ( $P < 0.01$ ).

Baseado na idéia de se diminuir ainda mais a dominância folicular, foi proposto um programa que visasse diminuir o intervalo entre a primeira injeção de GnRH e PGF<sub>2α</sub> dos tradicionais 7 dias para 5 dias (Santos et al., 2010) em vacas lactantes de alta produção. O protocolo de sincronização de 5 dias parece usufruir melhor de um aumento na duração do proestro (Ribeiro et al., 2012) do que o Ovsynch tradicional.

### Considerações Finais

A questão do proestro em vacas de alta produção e também em outras classes de fêmeas (não-lactantes, pré-pubescentes, corte) é importante para a fertilidade e deve ser considerada na elaboração de protocolos de IATF e de programas de reprodução. É impossível falar somente de proestro e estradiol, sem também considerar efeitos da progesterona durante o crescimento folicular e do período de dominância especialmente em vacas leiteiras de alta produção. É necessário entender que para quase todas as perguntas a respeito de qual protocolo e programa reprodutivo é o melhor, a resposta na maioria das vezes será “Depende!”. As condições

fisiológicas dos animais e o tipo de protocolo influirão na fertilidade final. Em vacas lactantes de alta produção, altas concentrações de progesterona antes e depois da ovulação associado a períodos de dominância menores do que 6 d é recomendado. O uso de eCG não demonstrou nenhum benefício nesses animais de alta produção e o aumento do período de proestro foi associado a aumento de taxas de concepção em protocolos tanto baseados em GnRH como em BE e progesterona. A discussão sobre o proestro na fertilidade de fêmeas bovinas expõe de maneira clara as imensas diferenças entre o gado de leite e gado de corte no que diz respeito a fisiologia ovariana dessas duas classes de animais e as diferenças práticas resultantes nos protocolos de sincronização.

## *Referências*

- Ahmad, N., F.N. Schrick, R.L. Butcher, and E.K. Inskeep. 1995. Effect of persistent follicles on early embryonic losses in beef cows. *Biol. Reprod.* 52:1129-1135.
- Bisinotto, R.S., E.S. Ribeiro, L.T. Martins, R.S. Marsola, L.F. Greco, M.G. Favoreto, C.A. Risco, W.W. Thatcher, and J.E.P. Santos. 2010. Effect of interval between induction of ovulation and artificial insemination (AI) and supplemental progesterone for resynchronization on fertility of dairy cows subjected to a 5-d timed AI program. *J. Dairy Sci.* 93:5798-5808.
- Bleach, E.C.L., R.G. Glencross, and P.G. Knight. 2004. Association between ovarian follicle development and pregnancy rates in dairy cows undergoing spontaneous oestrous cycle. *Reprod.* 127:621-629.
- Bridges, G.A., L.A. Helser, D.E. Grum, M.L. Mussard, C.L. Gasser, and M.L. Day. 2008. Decreasing the interval between GnRH and PGF2alpha from 7 to 5 days and lengthening proestrus increases timed-AI pregnancy rates in beef cows. *Theriogenology* 69:843-51.
- Butler, W.R. 2000. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 60-61:449-457.
- Cerri, R.L.A., H.M. Rutigliano, R.C. Chebel, and J.E.P. Santos. 2009. Period of dominance of the ovulatory follicle during synchronization programs influences embryo quality. *Reproduction.* 137(5):813-823.
- Cerri, R.L.A., J.E. Santos, S.O. Juchem, K.N. Galvão, and R.C. Chebel. 2004. Timed artificial insemination with estradiol cypionate or insemination at estrus in high-producing dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87:3704-3715.
- Cerri, R.L.A., R.C. Chebel, F. Rivera, C.D. Narciso, R.A. Oliveira, W.W. Thatcher, and J.E.P. Santos. 2011a. Concentration of progesterone during the development of the ovulatory follicle: I. Ovarian and embryonic responses. *J. Dairy Sci.* 94:3342-3351.
- Cerri, R.L.A., R.C. Chebel, F. Rivera, C.D. Narciso, R.A. Oliveira, M. Amstalden, G.M.B. Sandoval, L.J. Oliveira, W.W. Thatcher, and J.E.P. Santos. 2011b. Concentration of progesterone during the development of the ovulatory follicle: II. Ovarian and uterine responses. *J. Dairy Sci.* 94:3352-3365.
- Chebel, R.C., J.E.P. Santos, R.L.A. Cerri, H.M. Rutigliano, and R.G.S. Bruno. 2006. Reproduction in dairy cows following progesterone insert presynchronization and resynchronization protocols. *J. Dairy Sci.* 89:4205-4219.
- Chenault, J.R., W.W. Thatcher, P.S. Kalra, R.M. Abrams, and C.J. Wilcox. 1975. Transitory changes in plasma progesterin, estradiol, and luteinizing hormone approaching ovulation in the bovine. *J. Dairy Sci.* 58:709-717.
- Day, M.L., C.R. Burke, V.K. Taufa, A.M. Day, and K.L. Macmillan. 2000. The strategic use of estradiol to enhance fertility and submission rates of progesterin-based estrus synchronization programs in dairy herds. *J. Anim. Sci.* 78:523-529.
- Dias, C.C., F.S. Wechsler, M.L. Day, and J.L.M. Vasconcelos. 2009. Progesterone concentrations, exogenous equine chorionic gonadotropin, and timing of prostaglandin F(2alpha) treatment affect fertility in postpuberal Nelore heifers. *Theriogenology* 72:378-385.

- Diskin, M.G., E.J. Austin, and J.F. Roche. 2002. Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle. *Domest. Anim. Endocrinol.* 23:211-23228.
- Fernandes, P., A.B. Teixeira, A.J. Crocci, and C.M. Barros. 2001. Timed artificial insemination in beef cattle using GnRH agonist, PGF2 $\alpha$  and estradiol benzoate. *Theriogenology* 55:1521-1532.
- Galvão, K.N., J.E.P. Santos, S.O. Juchem, R.L.A. Cerri, A.C. Coscioni, and M. Villaseñor. 2004. Effect of addition of a progesterone intravaginal insert to a timed insemination protocol using estradiol cypionate on ovulation rate, pregnancy rate, and late embryonic loss in lactating dairy cows. *J. Anim. Sci.* 82: 3508-3517.
- Kinder, J.E., M. Garcia-Winder, K. Imakawa, M.L. Day, D.D. Zalesky, M.L. D'Occhio, T.T. Sumpf, R.J. Kittok, and B.D. Schanbacher. 1991. Circulation concentration of 17-estradiol influence pattern of LH in circulation of cows. *Domest. Anim. Endocrinol.* 8:463-469.
- Lopes, F.L., D.R. Arnold, J. Williams, S.M. Pancarci, M.J. Thatcher, M. Drost, and W.W. Thatcher. 2000. Use of estradiol cypionate for timed insemination. *J. Dairy Sci.* 83 (Suppl. 1):910 (Abstr).
- Lopez, H., Z. Wu, L.D. Satter, M.C. Wiltbank. 2004. Effect of dietary phosphorus concentration on estrous behaviour of lactating dairy cows. *Theriogenology* 61: 437-445.
- Meneghetti, M., O.G. Sá Filho, R.F. Peres, G.C. Lamb, and J.L.M. Vasconcelos. 2009. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows I: basis for development of protocols. *Theriogenology* 72:179-189.
- Moreira, F., C. Orlandi, C.A. Risco, R. Mattos, F. Lopes, and W.W. Thatcher. 2001. Effects of presynchronization and bovine somatotropin on pregnancy rates to a timed artificial insemination protocol in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 84:1646-1659.
- Pancarci, S.M., E.R. Jordan, C.A. Risco, M.J. Schouten, F.L. Lopes, F. Moreira, and W.W. Thatcher. 2002. Use of estradiol cypionate in a pre-synchronized timed artificial insemination program for lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85:122-131.
- Pulley, S.L., L.D. Wallace, H.I. Mellieon Jr, and J.S. Stevenson. 2013. Ovarian characteristics, serum concentrations of progesterone and estradiol, and fertility in lactating dairy cows in response to equine chorionic gonadotropin. *Theriogenology* 79:127-134.
- Pursley, J.R., M.O. Mee, and M.C. Wiltbank. 1995. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2 $\alpha$  and GnRH. *Theriogenology*. 44:915-923.
- Revah, I., and W.R. Butler. 1996. Prolonged dominance of follicles and reduced viability of bovine oocytes. *J. Reprod. Fertil.* 106:339-347.
- Ribeiro, E.S., A.P. Monteiro, F.S. Lima, H. Ayres, R.S. Bisinotto, M. Favoreto, L.F. Greco, R.S. Marsola, W.W. Thatcher, and J.E.P. Santos. 2012. Effects of presynchronization and length of proestrus on fertility of grazing dairy cows subjected to a 5-day timed artificial insemination protocol. *J. Dairy Sci.* 95:2513-2522.
- Sá Filho, O.G. and J.L.M. Vasconcelos. 2010. Treatments to Optimize the Use of Artificial Insemination and Reproductive Efficiency in Beef Cattle under Tropical Environments. *Vet. Med. Int.* 2011:923053.
- Sá Filho, O.G., M. Meneghetti, R.F. Peres, G.C. Lamb, and J.L.M. Vasconcelos. 2009. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows II: strategies and factors affecting fertility. *Theriogenology* 72:210-218.
- Santos JE, Narciso CD, Rivera F, Thatcher WW, Chebel RC. 2010. Effect of reducing the period of follicle dominance in a timed artificial insemination protocol on reproduction of dairy cows. *J Dairy Sci.* 93(7):2976-88.

Santos, J.E., W.W. Thatcher, R.C. Chebel, R.L.A. Cerri, and K.N. Galvão. 2004. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. *Anim. Reprod. Sci.* 82-83:513-535.

Souza, A.H., H. Ayres, R.M. Ferreira, and M.C. Wiltbank. 2008. A new presynchronization system (Double-Ovsynch) increases fertility at first postpartum timed AI in lactating dairy cows. *Theriogenology* 70(2):208-15.

Stevenson, J.S. 2001. A review of oestrus behaviour and detection in dairy cows. In *Fertility in the High Producing Dairy Cow*. Publ. 26, Brit. Soc. Anim. Sci. 1:43-62.

Vasconcelos, J.L.M., D.T. Jardina, O.G. Sá Filho, F.L. Aragon, and M.B. Veras. 2011. Comparison of progesterone-based protocols with gonadotropin-releasing hormone or estradiol benzoate for timed artificial insemination or embryo transfer in lactating dairy cows. *Theriogenology* 75:1153-1160.

Vasconcelos, J.L.M., R.W. Silcox, G.J.M. Rosa, J.R. Pursley, and M.C. Wiltbank. 1999. Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows. *Theriogenology* 15:1067-1078.

Wiltbank, J.N., and C.W. Kasson. 1968. Synchronization of estrus in cattle with an oral progestational agent and an injection of an estrogen. *J. Anim. Sci.* 27:113-116.

Wiltbank, M.C., H. Lopez, R. Sartori, S. Sangsritavong, and A. Gumen. 2006. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. *Theriogenology* 65:17-29.