



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE DOUTORADO**

**EFEITO DO ANÁLOGO DA SUBSTÂNCIA APAZIGUADORA BOVINA
(ASAB) SOBRE O BEM-ESTAR E REPRODUÇÃO DE FÊMEAS NELORE
SINCRONIZADAS PARA IA EM TEMPO FIXO**

Eduardo de Assis Lima

Campo Grande, MS

2023



LIMA, E.A.	EFETO DO ANÁLOGO DA SUBSTÂNCIA APAZIGUADORA BOVINA (ASAB) SOBRE O BEM-ESTAR E REPRODUÇÃO DE FÊMEAS NELORE SINCRONIZADAS PARA IA EM TEMPO FIXO	2023
-------------------	--	-------------



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE DOUTORADO**

**EFEITO DO ANÁLOGO DA SUBSTÂNCIA APAZIGUADORA BOVINA
(ASAB) SOBRE O BEM-ESTAR E REPRODUÇÃO DE FÊMEAS NELORE
SINCRONIZADAS PARA IA EM TEMPO FIXO**

**EFFECT OF BOVINE APPEISING SUBSTANCE ANALOGUE (ASAB) ON THE WELFARE
AND REPRODUCTION OF NELORE FEMALES SYNCHRONIZED FOR AI IN FIXED TIME**

Eduardo de Assis Lima

Orientador: Prof. Dr. Gumercindo Lorian Franco

Coorientador: Prof. Dr. Marcelo Vedovatto

Tese apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito à obtenção do título de Doutor em Ciência Animal.

Área de concentração: Produção Animal

Campo Grande, MS

2023



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



Certificado de aprovação

EDUARDO DE ASSIS LIMA

EFEITO DO ANÁLOGO DA SUBSTÂNCIA APAZIGUADORA BOVINA (ASAB) SOBRE O BEM-ESTAR E REPRODUÇÃO DE FÊMEAS NELORE SINCRONIZADAS PARA IA EM TEMPO FIXO

EFFECT OF BOVINE APPESING SUBSTANCE ANALOGUE (ASAB) ON THE WELFARE AND REPRODUCTION OF NELORE FEMALES SYNCHRONIZED FOR AI IN FIXED TIME

Tese apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito para obtenção do título de Doutor em Ciência Animal.

Área de concentração: Produção Animal.

Aprovado em: 25-08-2023

BANCA EXAMINADORA:

Dr. Gumercindo Loriano Franco
(UFMS) – Presidente

Dra. Eliane Vianna da Costa e Silva
(UFMS)

Dr. Fabio Jose Carvalho Faria
(UFMS)

Dr. Ivo Pivato
(UnB)

Dr. Marcelo Vedovatto
(LSU)

NOTA
MÁXIMA
NO MEC

UFMS
É 10!!!



Documento assinado eletronicamente por **Gumercindo Loriano Franco, Professor do Magisterio Superior**, em 29/08/2023, às 10:19, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

NOTA
MÁXIMA
NO MEC

UFMS
É 10!!!



Documento assinado eletronicamente por **Ivo Pivato, Usuário Externo**, em 29/08/2023, às 14:02, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

NOTA
MÁXIMA
NO MEC

UFMS
É 10!!!



Documento assinado eletronicamente por **Eliane Vianna da Costa e Silva, Professora do Magistério Superior**, em 29/08/2023, às 14:55, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

NOTA
MÁXIMA
NO MEC

UFMS
É 10!!!



Documento assinado eletronicamente por **Marcelo Vedovatto, Usuário Externo**, em 29/08/2023, às 16:05, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

NOTA
MÁXIMA
NO MEC

UFMS
É 10!!!



Documento assinado eletronicamente por **Fabio Jose Carvalho Faria, Professor do Magisterio Superior**, em 29/08/2023, às 19:07, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufms.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **4314032** e o código CRC **31CA7E88**.

COLEGIADO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

Av Costa e Silva, s/nº - Cidade Universitária

Fone:

CEP 79070-900 - Campo Grande - MS



DEDICATÓRIA

Dedico primeiramente ao “Criador”, que guia meus passos e está sempre ao meu lado.

À minha mãe, Lucimere Aparecida de Assis Lima, meu sincero agradecimento por toda a dedicação e carinho que sempre demonstrou em todas as fases da vida, sua presença amorosa tem sido fundamental para me ajudar a superar os desafios e a alcançar as conquistas que tenho realizado.

Ao meu pai, Alberto de Oliveira Lima, por todo o apoio e orientação que me deu ao longo dos anos. Suas orientações me ensinaram a importância da disciplina, perseverança e responsabilidade.

Às minhas irmãs, Renata de Assis Lima e Cinthia de Assis Lima, pelo amor, dedicação e respeito que sempre tiveram por mim, me inspiram a ser uma pessoa melhor a cada dia.

À minha esposa, Ana Carla Pinheiro Lima, por todo o apoio, respeito e dedicação que sempre demonstrou ao longo dos anos. Sei que posso sempre contar com você, não importa as circunstâncias, serei eternamente grato por ter você ao meu lado.

Aos meus filhos, Eduardo de Assis Lima Filho e Pedro Pinheiro Lima de Assis, por terem sido uma fonte constante de inspiração e motivação durante minha jornada. Desde o início, vocês foram minha maior motivação para seguir em frente, apesar dos desafios e obstáculos que encontramos ao longo do caminho. Eu sou verdadeiramente abençoado por ter vocês em minha vida e sou grato por tudo o que vocês fazem por mim. Obrigado por serem minha inspiração e meu maior tesouro.



AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador, Gumercindo Lorian Franco, pelos seus ensinamentos e pela confiança que depositou em mim como seu orientado, desde o momento em que começamos a trabalhar juntos. Seus ensinamentos me permitiram crescer não apenas academicamente, mas também profissionalmente. Seu exemplo de dedicação e paixão pelo que faz, me inspira a me esforçar cada vez mais e a buscar excelência em tudo o que faço. Além disso, seus conselhos e orientações têm sido inestimáveis para mim em minha jornada acadêmica e profissional.

Agradeço também ao meu coorientador, Marcelo Vedovatto, por todo o apoio, e orientações valiosas ao longo do projeto. Sua experiência e conhecimento foram muito importantes. Sua dedicação durante o estudo foi fundamental, sou muito grato por ter tido a oportunidade de trabalhar com você.

Agradeço ao professor Fábio José Carvalho Faria, pelo apoio e parceria em nosso projeto. Sua contribuição foi fundamental para o sucesso do experimento e sou imensamente grato por tê-lo ao meu lado durante todo o processo.

Ao Sr. João Paulo Piotto e equipe da Amireia Pajoara®, gostaria de agradecer o apoio, confiança e respeito que sempre tiveram por mim, pois sempre estiveram à disposição para me ajudar em qualquer dificuldade.

Agradeço a todos os docentes do PPGCA pelo privilégio de conhecê-los, tanto diretamente como indiretamente.

Agradeço a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Assistente em administração do PPGCA, Ricardo, pela amizade construída e pelos momentos de descontração e apoio.

Meus sinceros agradecimentos aos meus amigos, Flávio Coelho, Luana Caramalac, Angelo Arcanjo, Leandro Gurgel e Gustavo Paranhos, pelo apoio que vocês sempre me deram. É maravilhoso saber que posso contar com amigos tão maravilhosos como vocês.



RESUMO

LIMA, E.A. Efeito do análogo da substância apaziguadora bovina (ASAB) sobre o bem-estar e reprodução de fêmeas Nelore sincronizadas para IA em tempo fixo. 2023. 110f. Tese (Doutorado) -Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2023.

O objetivo desta tese foi avaliar o efeito do análogo da substância apaziguadora bovina (ASAB) sobre o temperamento e parâmetros reprodutivos de fêmeas Nelore sincronizadas para IA em tempo fixo. Na revisão de literatura, inicialmente foi abordado a fisiologia geral do estresse e fisiologia reprodutiva, relatando as respostas fisiológicas e comportamentais do organismo a estímulos adversos causados por diversos fatores, como condições climáticas, mudanças no ambiente, alterações nutricionais, transporte e manejo. Sobre a importância do estresse na fisiologia reprodutiva, foram abordados dois tópicos específicos, estresse e reprodução e estresse e taxa de gestação. Esses dois últimos tópicos, versam sobre os impactos negativos do estresse a saúde e a produtividade dos animais, bem como a relação do estresse e reprodução, enfatizando a hiper estimulação do eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal (HHA) e as disfunções hormonais que prejudicam a fertilidade e o desempenho reprodutivo. O último tópico foi dedicado a uma síntese sobre os feromônios, bem como seu mecanismo de ação. No capítulo 1, um estudo avaliando os efeitos do análogo da substância apaziguadora bovina (ASAB) no início do protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) e subsequente mudança no peso corporal (PC), escore de condição corporal (ECC), temperamento, qualidade do manejo, sujidade na região perineal, variáveis ovarianas, taxa de gestação, tamanho do concepto e variáveis séricas de novilhas Nelore foi realizado. Os dados utilizados foram provenientes de um estudo utilizando vinte e nove novilhas selecionadas de acordo com temperamento, ECC e diâmetro do folículo ou corpo lúteo e que posteriormente foram alocadas de forma aleatória em dois tratamentos: 1 - Solução Salina ou 2 - ASAB ($n = 15$), ambas as soluções foram aplicadas topicamente entre os cornos na região da nuca. Desta forma foi observado os seguintes resultados: as novilhas do tratamento ASAB apresentaram maior PC no d 30 (394 vs. 392 ± 0.77 ; $P = 0.05$) e maior ECC entre o d -9 ao d 30 (0.05 vs. -0.21 ± 0.05 ; $P < 0.01$). As novilhas com tratamento ASAB vs. Salina tendeu a ter um menor escore de entrada ($P \leq 0.09$) e sujidade na região perineal ($P \leq 0.06$), não foi observado efeito tratamento para escore de tronco ($P \leq 0.39$), escore de saída ($P = 0.64$), tempo para inseminar ($P \leq 0.49$), percentual de agressão ($P \leq 0.96$) e acidente ($P \leq 0.61$). Novilhas do tratamento ASAB vs. Salina apresentaram maior ($P \leq 0.02$) escore de estro e taxa de monta (100% vs. $50.0 \pm 0.09\%$) e nenhum efeito foi observado para as variáveis ovarianas, progesterona, taxa de gestação e tamanho de concepto. Além do mais, tratamentos não diferiram nas variáveis séricas. Portanto, o ASAB aumentou PC, ECC, escore de estro e taxa de monta e tendeu a diminuir o temperamento do escore de entrada e sujidade na região perineal. No capítulo 2, foi realizado um estudo que avaliou os efeitos do análogo da substância apaziguadora bovina (ASAB) no início do protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) e subsequente mudança no escore de condição corporal (ECC), temperamento, qualidade do manejo, sujidade na região perineal, variáveis de estro, variáveis ovarianas, taxa de prenhez, tamanho do concepto e variáveis séricas de vacas Nelore. Sessenta e oito vacas (múltiparas) foram selecionadas de acordo com temperamento e ECC e posteriormente alocadas de forma aleatória em dois tratamentos: 1) Solução Salina (Salina; $0,9$ NaCl; $n =$



34) ou; ASAB ($n = 34$) ambas as soluções foram aplicadas topicamente entre os cornos na região da nuca (5 mL/vaca). Durante o d -11 ao d 7, as vacas foram mantidas em dois piquetes, separadas por tratamento e então (d 7 ao d 60) reagrupadas em um único grupo. O ECC foi avaliado no d -11, 0, 7, 14 e d 30. O temperamento foi avaliado utilizando o escore de entrada e escore de saída e o escore de tronco, nos d -11, -2, 0, 7, 14 e 30, no mesmo período foi realizado as coletas de sangue. Os achados observados foram; diferença para dia no ECC ângulo de garupa e visual ($P < 0.01$), nas variáveis de temperamento, não foi observado diferenças entre os tratamentos ($P = 0.68$) e nas variáveis qualidade de manejo, agressão ($P = 0.08$) e tempo para inseminar ($P = 0.10$). Contudo, observamos que as vacas do tratamento ASAB tenderam a ser mais calmas durante o manejo e desprenderam menos tempo para inseminar em relação ao tratamento Salina. Sendo assim, a ASAB administrada no décimo primeiro dia antes da IA, não interferiu no ECC, temperamento, sujidade na região perineal, variáveis de estro, variáveis ovarianas, progesterona, taxa de gestação, tamanho de concepto e variáveis séricas.

Palavras - Chave: estresse; gado de corte; produção



ABSTRACT

LIMA, E.A. Effect of bovine appeasing substance analogue (ASAB) on the welfare and reproduction of Nelore females synchronized to AI in fixed time. 2023. 110f. Thesis (Doctorate) -School of Veterinary Medicine and Animal Science, Federal University of Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2023.

The objective of this thesis was to evaluate the effect of bovine appeasing substance (BAS) on the temperament and reproductive parameters of Nelore females synchronized to AI at fixed time. In the literature review, it was initially addressed on the general physiology of stress and reproductive physiology, reporting the physiological and behavioral responses of the organism to adverse stimuli caused by various factors, such as climatic conditions, changes in the environment, nutritional changes, transport, and management. On the importance of stress in reproductive physiology, two specific topics were addressed, stress and reproduction and stress and pregnancy rate. These last two topics aimed to highlight the negative impacts of stress on the health and productivity of animals, as well as the relationship of stress and reproduction, emphasizing the hyperstimulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis and hormonal dysfunctions that impair fertility and reproductive performance. In chapter 1, a study evaluating the effects of bovine appeasing substance (BAS) at the beginning of the fixed-time artificial insemination protocol (FTAI) and subsequent change in body weight (BW), body condition score (BCS), temperament, quality of management, dirt in the perineal region, ovarian variables, pregnancy rate, conceptus size and serum variables of Nelore heifers was carried out. The data used came from a study using twenty-nine heifers selected according to temperament, BCS and diameter of the follicle or corpus luteum and that were later randomly allocated in two treatments: 1 - saline solution or 2 - BAS ($n = 15$), both solutions were applied topically between the horns in the neck region. Thus, the following results were observed: the heifers of the BAS treatment presented higher CP in d 30 (394 vs. 392 ± 0.77 ; $P = 0.05$) and higher BCS between d -9 to d 30 (0.05 vs. -0.21 ± 0.05 ; $P < 0.01$). Heifers with BAS vs. Salina treatment tended to have a lower entry score ($P \leq 0.09$) and dirt in the perineal region ($P \leq 0.06$), no treatment effect was observed for trunk score ($P \leq 0.39$), exit score ($P = 0.64$), time to inseminate ($P \leq 0.49$), percentage of aggression ($P \leq 0.96$) and accident ($P \leq 0.61$). Heifers from the BAS vs. Salina treatment had higher ($P \leq 0.02$) estrus score and mount rate (100% vs. $50.0 \pm 0.09\%$) and no effect was observed for the ovarian variables, progesterone, pregnancy rate and conceptus size. Moreover, treatments did not differ in serum variables. Therefore, the BAS increased WC, BCS, estrus score and mount rate and tended to decrease the temperament of the entrance score and dirt in the perineal region. In chapter 2, a study was conducted that evaluated the effects of bovine appeasing substance (BAS) at the beginning of the fixed-time artificial insemination protocol (FTAI) and subsequent change in body condition score (BCS), temperament, quality of management, dirt in the perineal region, estrus variables, ovarian variables, pregnancy rate, conceptus size and serum variables of Nelore cows. Sixty-eight cows (multiparous) were selected according to temperament and BCS and later randomly allocated into two treatments: 1) saline solution (Saline; 0.9 NaCl; $n = 34$) or BAS ($n = 34$) both solutions were applied topically between the horns in the neck region (5 mL/cow). During d -11 to d 7, the cows were kept in two paddocks, separated by treatment, and then (d 7 to d 60) regrouped into a single group. The BCS was evaluated at d -11, 0, 7, 14 and d 30. The temperament was evaluated



Serviço Público Federal
Ministério da Educação

Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



using the input score and exit score and the trunk score, in the d -11, -2, 0, 7, 14 and 30, in the same period the blood samples were collected. The findings observed were; difference for day in the BCS rump and visual angle ($P < 0.01$), in the temperament variables, no differences were observed between the treatments ($P = 0.68$) and in the variables quality of management, aggression ($P = 0.08$) and time to inseminate ($P < 0.01$), the cows of the BAS treatment tended to be calmer during the management and gave less time to inseminate in relation to the Salina treatment. Thus, the BAS administered on the eleventh day before the IA did not interfere in the CCS, temperament, dirt in the perineal region, estrus variables, ovarian variables, progesterone, pregnancy rate, conceptus size and serum variables.

Keywords: stress; beef cattle; production



LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Revisão de Literatura

Figura 1. Esquematização do ciclo estral de fêmeas bovinas..... 44

Figura 2. Esquematização do Eixo hipotalâmico Hipofisário Gonadal..... 44

Capítulo 1 - Efeito do análogo da substância apaziguadora bovina (ASAB) sobre o crescimento, estresse, qualidade do manejo e reprodução de novilhas *Bos indicus* sincronizadas para ia em tempo fixo

Figura 3. Esquema do protocolo de inseminação artificial de tempo fixo (IATF) de d -9 ao d 0. Em d - 9, as novilhas receberam aplicação intramuscular de 2 mg de benzoato de estradiol (Gonadiol; Zoetis, São Paulo, Brasil) e foi inserido com um dispositivo intravaginal liberador de progesterona (PRIMER; Agener). No d -2, o dispositivo foi removido e foi aplicado via intramuscular PGF2 α (12,5 mg; Lutalyse; Zoetis, São Paulo, Brasil), cipionato de estradiol (1 mg; ECP, Brasil) e eCG (300 UI; Novormon; Zoetis). No dia d 0, foi realizado o diagnóstico de gestação..... 69

Figura 4. Fluxo das etapas desenvolvidas com novilhas submetidas a um protocolo de IATF, aplicação solução Salina (n=14), substância apaziguadora (n=15) e coleta de amostras..... 70

Figura 5 Efeitos para dia sobre o temperamento (escore de saída) de novilhas que receberam solução Salina (Salina; n = 14) ou substância apaziguadora bovina (ASAB; n = 15) no início do protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (d -9). Os tratamentos (5 ml) foram aplicados topicamente na região da nuca de cada animal..... 73

Figura 6 Efeitos para dia sobre o temperamento (escore de tronco) de novilhas que receberam solução Salina (Salina; n = 14) ou substância apaziguadora bovina (ASAB; n = 15) no início do protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (d -9). Os tratamentos (5 ml) foram aplicados topicamente na região da nuca de cada animal..... 73

Figura 7. Efeitos por dia das variáveis séricas de novilhas que receberam solução Salina (Salina; n = 14) ou substância apaziguadora bovina (ASAB; n = 15) no início da inseminação artificial em tempo fixo (d -9). Painéis, A= níveis de cortisol (μ g/dL), B= níveis de haptoglobina (mg/mL) e C = níveis de ceruloplasmina (ng/dL). 76



Capítulo 2 - Efeito do análogo da substância apaziguadora bovina (ASAB) sobre o desempenho, estresse, qualidade do manejo e reprodução de vacas Nelore *Bos indicus* sincronizadas para IATF

Figura 8 Esquema do protocolo de inseminação artificial de tempo fixo (IATF) de d -11 ao d 0. Em d - 11, as vacas receberam aplicação intramuscular de 2 mg de benzoato de estradiol (Gonadiol; Zoetis, São Paulo, Brasil) e foi inserido com um dispositivo intravaginal liberador de progesterona (PRIMER; Agener). No d -2, o dispositivo foi removido e foi aplicado via intramuscular PGF2 α (12,5 mg; Lutalyse; Zoetis, São Paulo, Brasil), cipionato de estradiol (1 mg; ECP, Brasil) e eCG (300 UI; Novormon; Zoetis). No dia d 0, foi realizado o diagnóstico de gestação..... 101

Figura 9 Fluxo das etapas desenvolvidas com vacas submetidas a um protocolo de IATF, aplicação solução Salina (n=14), substância apaziguadora bovina AASAB (n=15) e coleta de amostras 102



LISTA DE TABELAS

Capítulo 1 - Efeito da substância apaziguadora bovina (ASAB) sobre o crescimento, estresse, qualidade do manejo e reprodução de novilhas Nelore *Bos indicus* sincronizadas para IA em tempo fixo

Tabela 1. Composição química da gramínea Marandu, pastejada por novilhas durante o experimento. 69

Tabela 2. Parâmetros corporais de novilhas recebendo solução Salina (Salina; n = 14) ou substância apaziguadora bovina (ASAB; n = 15) no início da inseminação artificial em tempo fixo (d -9)..... 70

Tabela 3. Temperamento, qualidade manejo e sujidade região perineal de novilhas recebendo solução Salina (SALINA; n = 14) ou substância apaziguadora bovina (ASAB; n = 15) no início da inseminação artificial em tempo fixo (d -9)..... 72

Tabela 4. Variáveis reprodutivas de novilhas que recebem solução Salina (Salina; n = 14) ou substância apaziguadora bovina (ASAB; n = 15) no início da inseminação artificial em tempo fixo (d -9) 74

Tabela 5. Variáveis séricas de novilhas que receberam solução Salina (Salina; n = 14) ou análogos à substância apaziguadora bovina (ASAB; n = 15) no início da inseminação artificial em tempo fixo (d -9) 75

Capítulo 2 - Efeito do análogo da substância apaziguadora bovina (ASAB) sobre o desempenho, estresse, qualidade do manejo e reprodução de vacas Nelore *Bos indicus* sincronizadas para IATF

Tabela 1 Composição química da gramínea Marandu, pastejada por vacas durante o experimento 101

Tabela 2 Parâmetros corporais de vacas multíparas recebendo solução Salina (Salina; n = 34) ou substância apaziguadora bovina (ASAB; n = 34) no início do protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (d -11). 103

Tabela 3 Temperamento, qualidade do manejo e sujidade da região perineal de vacas multíparas recebendo solução Salina (Salina; n = 34) ou substância apaziguadora bovina



(ASAB; n = 34) no início do protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (d -11).
..... 104

Tabela 4 Variáveis Reprodutivas de vacas múltiparas recebendo solução Salina (Salina; n = 34) ou substância apaziguadora bovina (ASAB; n = 34) no início da inseminação artificial de tempo fixo (d -11). 105

Tabela 5 Variáveis séricas de vacas que receberam solução Salina (Salina; n = 14) ou análogas à substância apaziguadora bovina (AASAB; n = 15) no início da inseminação artificial em tempo fixo (d -9) 106



LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACTH	Hormônio adrenocorticotrófico
CL	Corpo lúteo
CRH	Hormônio liberador corticotrofina
FSH	Hormônio folículo estimulante
GnRH	Hormônio liberador gonadotrofinas
HHA	Hipotálamo Hipófise Adrenal
HHG	Hipotálamo Hipófise Gonadal
IATF	Inseminação artificial em tempo fixo
LH	Hormônio Luteinizante
NPV	Nervo paraventricular
β - endorfina	Beta endorfina
PGF 2α	Prostaglandina



SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	17
REVISÃO DE LITERATURA	19
Fisiologia Geral do Estresse	19
Fisiologia Reprodutiva	21
Eixo hipotalâmico Hipofisário Gonadal (HHG)	23
Relação Estresse e Reprodução	24
Estresse e taxa de gestação	26
Feromônios	27
Mecanismo de Ação dos Feromônios	28
Substância Apaziguadora Bovina	29
CONSIDERAÇÕES FINAIS	30
REFERÊNCIAS	31
FIGURAS	44
CAPÍTULO 1 - EFEITO DO ANÁLOGO DA SUBSTÂNCIA APAZIGUADORA BOVINA (ASAB) SOBRE O CRESCIMENTO, ESTRESSE, QUALIDADE DO MANEJO E REPRODUÇÃO DE NOVILHAS NELORE <i>Bos indicus</i> SINCRONIZADAS PARA IA EM TEMPO FIXO	45
INTRODUÇÃO	47
MATERIAL E MÉTODOS	48
Animais, tratamentos e coleta das amostras	48
Análises Laboratoriais	50
Análises Estatística	51
RESULTADOS	51
DISCUSSÃO	52
CONCLUSÃO	55
REFERÊNCIAS	56
TABELAS E FIGURAS	69
CAPÍTULO 2 – EFEITOS DO ANÁLOGO DA SUBSTÂNCIA APAZIGUADORA BOVINA SOBRE O DESEMPENHO, ESTRESSE, QUALIDADE DO MANEJO E REPRODUÇÃO DE VACAS NELORE <i>Bos indicus</i> SINCRONIZADAS PARA IATF 77	
INTRODUÇÃO	79
MATERIAIS E MÉTODOS	80



Animais, tratamentos e coleta das amostras	80
Análises Laboratoriais	82
Análises Estatística	83
RESULTADOS	83
DISCUSSÕES	84
CONCLUSÃO	87
REFERÊNCIAS	88
TABELAS E FIGURAS	101
IMPLICAÇÕES DE CONSIDERAÇÕES FINAIS	107
ANEXOS	108
Anexo I – Mapa de calor da correlação de Person entre as variáveis avaliadas no experimento. Cores verdes representam correlação positiva, cores vermelhas representam correlação negativa entre as variáveis.....	108
Anexo II. Escore de condição corporal ângulo de garupa, relação entre o ângulo interno formado entre os lados esquerdo e direito da garupa, entre 104° e 124°, fêmeas aptas para reprodução	109
Anexo III. Aplicação dos tratamentos, tópico, tratamentos: 1) solução Salina (Saline; 0.9 % de NaCl) ou análogo da substância apaziguadora bovina (ASAB; (Secure Cattle, Nutricorp®, Araras, SP, Brasil).....	110



INTRODUÇÃO GERAL

A saúde e o bem-estar dos animais são fatores cruciais para otimizar o desempenho produtivo e reprodutivo nos sistemas de produção de bovinos. (Hernandez et al., 2022). A reprodução é um dos pilares da produção pecuária, sendo essencial para a manutenção do rebanho e para a produtividade do gado de corte (Crowe et al., 2021).

A raça Nelore é uma das mais importantes no Brasil e é conhecida por sua rusticidade e adaptabilidade às condições climáticas adversas (Azevêdo et al., 2016). No entanto, o estresse pode afetar negativamente o bem-estar dos animais impactando na produção (Meneses et al., 2021), pois é uma condição fisiológica desfavorável à homeostase dos animais, comprometendo o desempenho produtivo e reprodutivo (Brandão and Cooke, 2021; Davis and White, 2020).

O estresse pode ser definido como uma resposta fisiológica e comportamental do organismo a um estímulo adverso, podendo ser causado por diversos fatores, como condições climáticas adversas (Herbut et al., 2021), mudanças no ambiente (McIntosh et al., 2023), alterações nutricionais (Yıldırım et al., 2022), transporte (Hultgren et al., 2022), manejo agressivo (Rault et al., 2020), entre outros fatores. Portanto, quando os animais são submetidos a condições de estresse, seu bem-estar é comprometido, o que pode levar a uma série de alterações fisiológicas e comportamentais (Hughes et al., 2014).

No que se refere as alterações comportamentais, os animais se tornam mais agressivos, dificultando o manejo e aumentando o risco de acidentes (Rushen et al., 2001). Além disso, há uma provável redução na ingestão de alimentos, afetando negativamente a saúde geral e produtividade (Cooke, 2017).

As alterações fisiológicas causadas por agentes estressores ocorrem por uma hiperestimulação do eixo hipotalâmico hipofisário adrenal (HHA), levando a disfunções hormonais, prejudicando a fertilidade e impactando no desempenho reprodutivo dos animais. O eixo hipotalâmico hipofisário gonadal (HHG) é um dos principais mecanismos responsáveis pelo controle da reprodução. No entanto, o estresse pode afetar negativamente seu funcionamento, comprometendo a eficiência reprodutiva (Magata et al., 2023a). O hipotálamo é responsável por produzir hormônios que estimulam ou inibem a liberação do hormônio folículo-estimulante (FSH) e do hormônio luteinizante (LH) pela hipófise. Esses hormônios são responsáveis por estimular o desenvolvimento dos



33 folículos ovarianos, a ovulação e a produção de progesterona, que é essencial para a
34 manutenção da gestação (Cedeño et al., 2021). No entanto, quando os animais estão
35 estressados, ocorre uma redução na produção de hormônios pelo hipotálamo, o que leva
36 a uma diminuição na liberação de FSH e LH pela hipófise, comprometendo o
37 desenvolvimento dos folículos e a ovulação. Além disso, o estresse pode levar a uma
38 diminuição na produção de progesterona, o que pode afetar a manutenção da gestação e
39 aumentar a incidência de perdas embrionárias (Carrell et al., 2021; Oosthuizen et al.,
40 2020). Portanto no que se refere as variáveis reprodutivas, o estresse pode levar a uma
41 série de alterações, como qualidade das estruturas ovarianas, redução na taxa de gestação
42 e aumento no intervalo entre partos, afetando a produção e a eficiência reprodutiva
43 (Fernandez-Novo et al., 2020; Gutiérrez-Reinoso et al., 2020; Vedovatto et al., 2021).

44 A compreensão dos efeitos do estresse sobre o desempenho produtivo e
45 reprodução de gado de corte, pode ajudar os atores envolvidos no sistema de produção a
46 adotarem medidas preventivas, otimizando a saúde e o bem-estar dos animais e assim
47 garantindo um ambiente confortável, seguro e uma maior eficiência produtiva e
48 reprodutiva do rebanho. Este é o primeiro estudo que avaliou os efeitos do análogo da
49 substância apaziguadora bovina em fêmeas Nelore submetidas a IA em tempo fixo.

50 O objetivo desta tese foi avaliar o efeito do análogo da substância apaziguadora
51 bovina (ASAB) sobre o temperamento e parâmetros reprodutivos de fêmeas Nelore
52 sincronizadas para IA em tempo fixo.

53



REVISÃO DE LITERATURA

54

55

56 **Fisiologia Geral do Estresse**

57

58 Hans Selye, um endocrinologista canadense, foi o primeiro a desenvolver um
59 modelo teórico do estresse. Ele definiu o estresse como uma resposta do organismo a uma
60 demanda que exige esforço físico, emocional ou mental. Segundo o autor, o estresse é
61 uma resposta não específica do organismo, que pode ser desencadeada por diversos tipos
62 de estímulos estressores, incluindo mudanças no ambiente, problemas de saúde, conflitos
63 sociais, entre outros (Selye, 1936).

64 A resposta do organismo quando submetido a uma situação de estresse, é
65 desencadear uma série de alterações fisiológicas, como aumento da frequência cardíaca e
66 respiratória, liberação de hormônios do estresse e aumento da pressão arterial
67 (Charmandari et al., 2005). Se a exposição ao estresse for prolongada, pode levar a
68 consequências negativas para a saúde, incluindo problemas emocionais, cognitivos e
69 físicos (Selye, 1936).

70 Collier et al. (2017), definiram estresse como uma resposta adaptativa do
71 organismo a um estímulo desafiador, podendo ser físico, emocional ou cognitivo. Os
72 autores destacaram que o estresse é uma experiência subjetiva, que varia dentre
73 indivíduos, e que é influenciada por fatores intrínsecos e ou extrínsecos. Além disso, os
74 autores enfatizaram que o estresse não é necessariamente negativo e pode ser benéfico
75 em algumas situações.

76 No entanto, quando a exposição ao estresse é crônica e intensa, pode levar a
77 problemas de saúde física e mental, incluindo doenças cardiovasculares, depressão,
78 ansiedade e transtornos do sono (Collier et al., 2017).

79 O estresse pode ter uma origem física ou psicológica, desencadeando uma resposta
80 adaptativa do organismo. As origens físicas do estresse podem incluir alterações como,
81 doenças crônicas, lesões, dor e outras condições de saúde que podem sobrecarregar o
82 organismo. Além disso, a exposição a agentes ambientais, como poluição, ruído e
83 alterações climáticas, pode levar a uma sobrecarga no organismo e causar respostas de
84 estresse (Brown et al., 2017).



85 As origens psicológicas podem ser desencadeadas por diversos fatores, contudo o
86 manejo está entre os fatores psicológicos que impactam diretamente no bem-estar dos
87 animais, pois o estresse psicológico pode ser desencadeado por estímulos cognitivos
88 através de experiências negativas relacionadas ao manejo (Boivin et al., 2012; Cheng et
89 al., 2022; Cooke, 2017; Rushen et al., 2001).

90 O núcleo paraventricular (NPV) é uma região do hipotálamo que desempenha um
91 papel fundamental na regulação do estresse, através de neurônios especializados em
92 sintetizar e secretar hormônios peptídicos (Aires, 2008). O NPV é responsável por
93 integrar e processar informações sensoriais e emocionais provenientes do córtex pré-
94 frontal, amígdala e outras áreas cerebrais, e por iniciar uma série de respostas hormonais
95 e autonômicas que preparam o organismo para lidar com a exposição do agente estressor
96 (Toufexis et al., 2014).

97 Uma das principais funções do NPV é a secreção do hormônio liberador de
98 corticotrofina (CRH), que estimula a liberação do hormônio adrenocorticotrófico
99 (ACTH) pela adeno-hipófise (Anne et al., 2012). O ACTH, por sua vez, estimula a
100 liberação de cortisol, pelas células do córtex das glândulas adrenais, que atua em diversos
101 órgãos e tecidos do corpo para aumentar a disponibilidade de energia pelo aumento da
102 glicemia, mobilização de ácidos graxos para fornecer energia aos tecidos, aumenta a
103 pressão arterial e a frequência cardíaca, entre outras respostas fisiológicas para auxiliar o
104 organismo a lidar com a situação de estresse (Charmandari et al., 2005).

105 A regulação do eixo HHA pelo NPV ocorre em resposta a sinais provenientes de
106 várias áreas do cérebro, incluindo o sistema límbico, o hipotálamo dorsal e a amígdala.
107 Esses sinais são ativados em resposta a estímulos estressantes, como medo, dor ou
108 ansiedade, e é influenciado por fatores como o ritmo circadiano, atividade física e a
109 alimentação, podendo desencadear uma resposta neuroendócrina que resulta na liberação
110 de CRH (Jiang et al., 2019). Além disso, o cortisol pode influenciar a atividade do NPV,
111 atuando como um feedback negativo para regular a secreção de CRH. Quando os níveis
112 de cortisol estão elevados, o NPV é inibido, reduzindo assim a liberação de CRH e a
113 produção de cortisol pelas glândulas adrenais (Miller, 2018).

114 A relação entre o NPV e o eixo HHA é essencial para a regulação da resposta ao
115 estresse. O NPV é um importante integrador de sinais sensoriais e emocionais que
116 influenciam a atividade do eixo HHA. Ele desempenha um papel crítico na modulação da



117 resposta ao estresse, ajudando a regular a produção de cortisol e minimizar os efeitos
118 prejudiciais do estresse no corpo (Grassi et al., 2022). Contudo, o cortisol é importante
119 para a regulação do metabolismo energético, do sistema imunológico e da resposta ao
120 estresse, mas o excesso de cortisol pode ter efeitos negativos na saúde, incluindo a
121 supressão da resposta imune (Padgett and Glaser, 2003), o aumento da pressão arterial
122 (Huang et al., 2013), alterações metabólicas (McMahon et al., 1988) e reprodutivas
123 (Brandão and Cooke, 2021).

124

125 **Fisiologia Reprodutiva**

126

127 A fisiologia reprodutiva é um aspecto crucial para a pecuária bovina, uma vez que
128 a produção de carne e leite depende em grande parte da fertilidade e do sucesso
129 reprodutivo das fêmeas (Berry et al., 2014). A compreensão da fisiologia reprodutiva
130 desses animais é essencial para o desenvolvimento de estratégias eficazes de manejo
131 reprodutivo e para a melhoria da eficiência do rebanho (Baruselli et al., 2018).

132 Tradicionalmente, a prática de manejo para criação de novilhas de reposição na
133 pecuária de corte tem como objetivo preparar de forma eficiente esses animais para atingir
134 o peso corporal desejável na fase da puberdade (Freetly and Cundiff, 1998),
135 correspondendo a cerca de 65% do peso corporal estimado na fase adulta (Patterson et
136 al., 1992).

137 Esse manejo visa garantir a adequada reserva de tecido adiposo, que é um
138 indicador importante para assegurar a ocorrência da puberdade antes do início da estação
139 reprodutiva (Grings et al., 2007). É importante destacar que a busca por esses objetivos é
140 essencial para o sucesso reprodutivo e produtivo do sistema, sendo que o atraso na
141 ocorrência da puberdade pode acarretar prejuízos econômicos significativos (Patterson et
142 al., 1992). Sendo assim, o ciclo reprodutivo de novilhas é controlado por uma complexa
143 interação hormonal e metabólica, entre a hipófise, os ovários e o útero. Essa interação é
144 fundamental para a regulação do ciclo estral, que é o período entre o início de um ciclo
145 reprodutivo e o início do próximo ciclo (Grings et al., 2007; Mastro Monaco and
146 Gonzalez-Grajales, 2020).

147 O ciclo estral das fêmeas bovinas dura em média 21 dias e é dividido em quatro
148 fases principais: proestro, estro, metaestro e diestro (Figura 1). Cada uma dessas fases é



149 regulada por diferentes hormônios sexuais e é importante para o sucesso da ovulação e
150 fertilização (Bridges et al., 2010; Cardoso Consentini et al., 2021).

151 Durante o proestro, ocorre a maturação dos folículos ovarianos que contêm o
152 oócito imaturo. Esse processo é estimulado pelos níveis crescentes do FSH, produzido
153 pela hipófise (D’Occhio et al., 2019).

154 Os folículos, por sua vez, produzem o hormônio estradiol, o principal hormônio
155 sexual feminino. Conforme o proestro avança, o estradiol aumenta, levando à maturação
156 dos folículos e espessamento do revestimento uterino (Bridges et al., 2010).

157 O estro é a fase mais visível do ciclo estral e é caracterizado pelo comportamento
158 de monta, atividade aumentada e aceitação do touro (Röttgen et al., 2020; Rutten et al.,
159 2013). Nessa fase, ocorre a ovulação, que é desencadeada pelo pico de liberação do LH
160 produzido pela hipófise. A ovulação ocorre cerca de 24 a 32 horas após o início do estro,
161 e os níveis de estradiol atingem o pico (Ginther et al., 1996).

162 Após a ovulação, no metaestro, as células da granulosa rompidas e células da teca
163 se reestruturam e formam o corpo lúteo (CL), uma estrutura temporária que produz
164 progesterona (Moreira et al., 2000). A progesterona é fundamental para a manutenção da
165 gestação e preparação do útero para a implantação do embrião (Cardoso Consentini et al.,
166 2021), pois durante o metaestro, a produção de progesterona aumenta gradualmente, até
167 atingir o pico na fase subsequente do ciclo estral, o diestro (Martins et al., 2019, 2017).

168 Durante o diestro, considerada a fase lútea do ciclo, ocorre a maior síntese de
169 progesterona, em contrapartida, apresenta os menores níveis de estradiol (Jinks et al.,
170 2012). Isso ocorre devido as alterações estruturais que ocorrem no folículo que se
171 desenvolveu e posteriormente se rompeu liberando o ovócito, durante a fase anterior, o
172 estro, se transformando em CL, que secreta progesterona (Lonergan and Sánchez, 2020).

173 Portanto, entender as diferentes fases do ciclo estral é crucial para o sucesso
174 reprodutivo e, conseqüentemente, conhecer as características hormonais e
175 comportamentais em cada fase do ciclo estral pode ser utilizado para otimizar a detecção
176 do estro e o momento correto para a inseminação artificial, garantindo assim uma
177 eficiência reprodutiva no rebanho. (Adams, 1994).

178

179

180



181

182 **Eixo hipotalâmico Hipofisário Gonadal (HHG)**

183

184 A fisiologia do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal (HHG) em bovinos é
185 fundamental para a regulação do ciclo estral e para a manutenção da fertilidade (Baruselli
186 et al., 2012). Esse eixo é composto por três órgãos principais: o hipotálamo, a hipófise e
187 os ovários. O hipotálamo é uma parte do cérebro que atua como um regulador central para
188 a produção de hormônios gonadotrópicos pela hipófise. Ele produz o hormônio liberador
189 de gonadotrofinas (GnRH), que estimula a produção de hormônios gonadotrópicos pela
190 hipófise (Magata et al., 2023b).

191 A hipófise, por sua vez, é uma glândula endócrina localizada na base do cérebro,
192 que secreta hormônios gonadotrópicos, como o FSH e o LH. O FSH estimula o
193 crescimento e desenvolvimento dos folículos ovarianos, enquanto o LH é responsável
194 pela liberação do ovócito maduro durante a ovulação (Ginther et al., 2001).

195 Os ovários são as glândulas reprodutivas femininas que produzem os hormônios
196 sexuais, como o estradiol e a progesterona. Durante o ciclo estral, os ovários passam por
197 mudanças hormonais cíclicas que são controladas pela ação dos hormônios
198 gonadotrópicos produzidos pela hipófise (Aires, 2008).

199 No início do ciclo estral, o hipotálamo começa a produzir o hormônio liberador
200 de gonadotrofinas (GnRH), que estimula a produção de FSH e LH pela hipófise. O FSH
201 estimula o crescimento dos folículos ovarianos, que produzem o estradiol. À medida que
202 o estradiol aumenta, ele exerce um feedback positivo sobre o hipotálamo e a hipófise,
203 estimulando a produção de mais GnRH e LH (Cedeño et al., 2021).

204 O pico de liberação do LH pela hipófise desencadeia a ovulação, que é a liberação
205 do óvulo maduro do folículo ovariano. O folículo que se rompeu para liberar o ócito se
206 transforma em um corpo lúteo, que produz progesterona (Moreira et al., 2000). A
207 progesterona mantém o útero em estado de receptividade para a fixação embrionária, caso
208 ocorra a fecundação (Cardoso Consentini et al., 2021).

209 Caso não ocorra a fecundação, inicia-se a regressão do corpo lúteo e
210 consequentemente os níveis de progesterona diminuem, levando ao início de um novo
211 ciclo estral. Esse processo é controlado por um sistema cíclico de feedbacks hormonais,
212 que envolve a interação entre o hipotálamo, a hipófise e os ovários (Murdoch and Kirk,



213 1998). A compreensão da fisiologia do eixo HHG em fêmeas é fundamental para o
214 manejo reprodutivo e para o momento correto para a inseminação artificial (Figura 2).

215

216 **Relação Estresse e Reprodução**

217

218 Nos últimos anos, o sistema de produção de bovinos tem se intensificado,
219 resultando em uma maior concentração de animais em uma menor área de produção
220 (ABIEC, 2021). Esta mudança no sistema de produção, exige uma gestão mais
221 especializada, principalmente no que diz respeito aos recursos humanos, pois a eficiência
222 reprodutiva dos animais pode ser afetada por diversos fatores, tais como manejo,
223 condições ambientais, nutrição e a interação humano-animal (Boivin et al., 2012;
224 Coleman and Hemsworth, 2014).

225 As fêmeas aptas para reprodução, geralmente passam por diversos processos de
226 manejo, como o protocolo reprodutivo adotado pela propriedade, podendo afetar
227 positivamente ou negativamente seu desempenho reprodutivo (Pooch and Payne, 2013).

228 Experientes colaboradores podem estabelecer uma relação de confiança com os
229 animais, mediante recompensas como alimentos, interação animal-humano e manejo
230 adequado. No entanto, indivíduos inexperientes e mal treinados, podem causar medo nos
231 animais ao adotarem um manejo agressivo e abrupto, levando-os a se sentirem coagidos
232 (Davis and White, 2020; Rault et al., 2020).

233 As respostas fisiológicas dos animais durante a estação reprodutiva podem ser
234 diversas e complexas, não havendo especificidade, uma vez que estas respostas dependem
235 da intensidade e duração da exposição ao agente estressor. Pois a exposição a uma
236 condição de estresse, diferentes estímulos neuroendócrinos, autônomos e imunológicos
237 são ativados (Fernandez-Novo et al., 2020; Toufexis et al., 2014).

238 As respostas mediadas pelo sistema nervoso central, juntamente com as
239 comportamentais, desencadeiam reações fisiológicas agudas com o intuito de restaurar a
240 homeostase (Collier et al., 2017). Essas alterações fisiológicas de fase aguda são
241 consideradas menos importantes em relação à reprodução, dado que o sistema reprodutivo
242 é uma função biológica essencial e, portanto, não é facilmente comprometida (Anne et
243 al., 2012; Charmandari et al., 2005). Contudo a exposição crônica a um agente estressor
244 pode desencadear respostas persistentes que têm impacto direto na reprodução animal.



245 Essas respostas estão relacionadas a uma interação recíproca entre o eixo HHA e o eixo
246 HHG, resultando na ativação ou inibição mútua desses eixos.(Toufexis et al., 2014).

247 O GnRH é produzido no hipotálamo e é responsável por estimular a liberação dos
248 hormônios gonadotróficos, como o FSH e o LH, pela glândula pituitária anterior (Dawuda
249 et al., 2002). Esses hormônios, por sua vez, são transportados pelo sistema circulatório
250 até os ovários, onde se ligam a receptores específicos e estimulam a síntese e secreção de
251 hormônios esteroides, incluindo estrógenos e progesterona (Mapletoft et al., 2018).

252 Os hormônios esteroides produzidos nos ovários têm efeitos específicos nos
253 tecidos reprodutivos, como a maturação e transporte de gametas, preparação de estruturas
254 reprodutivas para a possível gestação e apresentação de cio nas fêmeas. Portanto, o eixo
255 HHG é um sistema essencial para a fisiologia reprodutiva, pois regula a função
256 reprodutiva em mamíferos (Miller, 2018). Porém o estresse é um fator que pode interferir
257 na homeostase do eixo HHG, afetando o sistema reprodutivo dos animais (Mello et al.,
258 2020).

259 Para se obter a concentração necessária de LH, para ocorrer a ovulação, um
260 aumento preciso em concentração e no momento correto, é necessário para que ocorram
261 uma série de eventos controlados no hipotálamo e na glândula pituitária. Sendo assim,
262 após a diminuição dos efeitos inibitórios da progesterona durante a fase de luteólise sobre
263 a secreção de GnRH, ocorre um feedback positivo sobre a secreção de GnRH e,
264 consequentemente, de LH, em resposta aos efeitos do feedback positivos desencadeados
265 pelo estradiol (Evans et al., 1995).

266 Os caminhos do eixo HHA e do HHG são semelhantes, contudo, a ativação do
267 HHA pelo agente estressor, reduz a liberação de GnRH no hipotálamo e
268 consequentemente de FSH e LH pela hipófise, inibindo o desenvolvimento folicular e os
269 níveis de LH para que ocorra a ovulação (Dobson and Smith, 2000). Além disso estresse
270 crônico pode levar a uma ativação contínua do eixo HHA, aumentando a secreção de
271 CRH e β -endorfinas, o que pode inibir o eixo HHG de secretar GnRH, causando
272 mudanças fisiológicas no sistema reprodutivo (Mello et al., 2020).

273 Além do mais, o estresse crônico aumenta a concentração sérica de
274 glicocorticoides, o que pode inibir os neurônios sintetizadores de Kisspeptina, um
275 hormônio que participa da liberação de GnRH pelo hipotalâmico, consequentemente,
276 reduzindo a secreção de hormônios gonadotróficos (Scott et al., 2018).



277 Os glicocorticoides também atuam diminuindo a sensibilidade ovariana ao FSH e
278 LH, o que pode resultar em menor produção de hormônios esteroides (Scott et al., 2018;
279 Turner et al., 2002).

280

281 **Estresse e taxa de gestação**

282

283 A pecuária de corte é uma atividade importante para o Brasil, pois contribui
284 significativamente com o produto interno bruto (ABIEC, 2021). Contudo o sistema de
285 produção do gado *Bos indicus*, nos trópicos, mesmo esses animais sendo geneticamente
286 selecionados para rusticidade, é comumente criado em sistemas extensivos, expõe esses
287 animais a condições ambientais diversas (Petherick, 2005).

288 Essa exposição pode desencadear respostas comportamentais e fisiológicas
289 indesejadas, o que pode prejudicar o bem-estar dos animais e a produtividade da atividade
290 (Naranjo-Gómez et al., 2021). Diante disso, diversas estratégias de manejo têm sido
291 estudadas para minimizar o estresse dos animais, garantindo bem-estar, sustentabilidade
292 e produtividade na pecuária (Coleman and Hemsworth, 2014). Essas estratégias incluem
293 medidas como a implementação de boas práticas de manejo associadas ao bem-estar,
294 controle sanitário e nutricional (Herbut et al., 2021). Dessa forma, as estratégias de
295 manejo são importantes para promover o bem-estar animal e garantir a sustentabilidade e
296 produtividade da atividade (Beatty et al., 2006).

297 O animal quando exposto a um agente agressor pode elevar os níveis de cortisol
298 plasmático, através de estímulos neuroendócrinos, sendo um importante indicador da
299 resposta fisiológica ao estresse (Tilbrook and Clarke, 2006).

300 Os elevados níveis de cortisol plasmático estão relacionados negativamente à
301 reprodução em mamíferos, pois resulta na diminuição dos hormônios esteroides e da
302 atividade gonadotrófica. Portanto, em altos níveis plasmáticos, o cortisol impacta
303 negativamente na taxa de gestação e ou perda embrionária. (Dobson' et al., 2001;
304 Wolfenson et al., 2000).

305 Uma semelhança comportamental à ação do cortisol, tem sido observada entre as
306 catecolaminas, em especial a epinefrina (Aires, 2008). No entanto, as concentrações de
307 epinefrina associadas ao estresse são significativamente mais baixas em comparação às
308 de cortisol (Burdick et al., 2010). Nesse sentido, a dosagem dos níveis de cortisol tem



309 sido amplamente utilizada como biomarcador de estresse (Brandão and Cooke, 2021;
310 Cook et al., 2009).

311 Um estudo realizado por Cook et al. (2009), durante dois anos consecutivos,
312 avaliando a interação entre vacas Brahman cruzadas e humanos, os autores observaram
313 que animais adaptados, apresentaram uma taxa de gestação superior a animais não
314 adaptados. Sendo assim, os autores concluíram que as respostas psicológicas associadas
315 ao temperamento, influenciou na probabilidade das vacas se tornarem gestantes durante
316 a estação de monta.

317 Outro estudo realizado pelo mesmo grupo, avaliando os efeitos do temperamento
318 na taxa de gestação de vacas Nelore múltiparas, submetidas a um protocolo de IATF,
319 demonstrou que vacas com temperamento excitado, apresentam uma taxa de gestação
320 inferior a vacas com temperamento calmo (Cooke et al., 2011). Os mesmos resultados
321 foram relatados por Cooke et al. (2012), utilizando fêmeas múltiparas *Bos taurus*.

322

323 **Feromônios**

324

325 A palavra "feromônio" origina-se do grego "Pheran" (transferir) e "Hormon"
326 (estimular). O conceito foi inicialmente descrito para caracterizar substâncias excretadas
327 no ambiente por um indivíduo e captada por outro indivíduo da mesma espécie,
328 desencadeando respostas fisiológicas específicas, tais como padrões comportamentais
329 distintos ou processos de maturação específicos (Karlson and Luscher, 1959).

330 Esses mensageiros químicos são excretados para o ambiente circundante e
331 exercem influência direta sobre os níveis hormonais e ou comportamentais de outros
332 indivíduos (Rekwot et al., 2001). Os feromônios desempenham um papel crucial na
333 modulação do comportamento animal e nos processos reprodutivos, pois os sinais
334 transmitidos por meio de feromônios têm sido reconhecidos por seu potencial na
335 regulação da reprodução e no comportamento animal (Kekan et al., 2017).

336 Feromônios são agentes químicos sintetizados e excretados por uma variedade de
337 fluídos e excreções corpóreas. As principais fontes de feromônios em vertebrados são:
338 urina, excrementos, secreções cervicais e vaginais, assim como excreções de glândulas
339 exócrinas (Mostafa et al., 2012; Rivard and Klemm, 1989)



340 Os feromônios demonstram capacidade de induzir alterações no comportamento
341 e desenvolvimento dos indivíduos, operando por meio da ativação do eixo hipotálamo-
342 hipofisário-adrenal e gonadal (Mcclintwk, 1978; Rekwot et al., 2001). A atuação dos
343 feromônios engloba a modulação de eventos fisiológicos, mediada pela inibição ou
344 ativação de sistemas endócrinos, reprodutivos e outros sistemas fisiológicos (Patra and
345 Kumar, 2012). Os feromônios atuam como veículos de informações sobre o emissor, tais
346 como identidade individual ou de grupo. Essa transmissão de informações é fundamental
347 para o reconhecimento intraespecífica, bem como na escolha de parceiros reprodutivos
348 (Pageat et al., 2003; Yamazaki et al., 2000).

349

350 **Mecanismo de Ação dos Feromônios**

351

352 A anatomia nasal em mamíferos possui duas unidades distintas, o epitélio olfativo
353 principal (EOP) e o órgão vomeronasal (OVN). O EOP desempenha um papel
354 multifacetado atuando como um analisador molecular para diversos compostos odoríferos
355 e moléculas químicas do entorno, não possuindo qualquer significado pré-condicionado.
356 Por outro lado, o OVN demonstra uma especialização em detecção de sinais químicos
357 específicos da mesma espécie, denominados feromônios, os quais contêm informações
358 intrínsecas relacionadas ao gênero, estado reprodutivo ou hierarquia (Cherry and Baum,
359 2020; Kondo and Hayashi, 2021).

360 O OVN apresenta neuro receptores que se ativam mediante feromônios
361 particulares. Esses neurônios especializados estimulam uma série de respostas
362 neuroendócrinas desencadeadas independentemente do reconhecimento cognitivo (Patra
363 et al., 2012).

364 Feromônios designam compostos químicos voláteis, esses compostos químicos ao
365 serem liberados no ambiente, em forma de aerossóis hidrofóbicos, são absorvidos pelo
366 OVN, e conseqüentemente se ligam às proteínas de ligação de odorantes (OBP)(Cherry
367 and Baum, 2020). Após a ligação, OBP transporta os feromônios e ativa os quimio
368 receptores neuronais no OVN. Os neurônios do OVN têm a capacidade de codificar a
369 intensidade do estímulo e quando atinge seu limiar, ela ativa toda uma rede de neurônios,
370 alcançando o limiar do potencial de ação e conduzindo um sinal eletroquímico forte até
371 o cérebro (Cherry and Baum, 2020; Kondo and Hayashi, 2021). Esse sinal pode estimular



372 diretamente o hipotálamo a exibir uma resposta neuroendócrina apropriada, exclusiva
373 para os neurônios estimulados no OVN (Baum and Cherry, 2015).

374 O reconhecimento olfativo entre a mãe e sua prole pós-parto é estabelecido
375 imediatamente dentro das primeiras horas após o parto, auxiliando a mãe a aceitar sua
376 prole (Nowak et al., 2011). O estabelecimento da seletividade materna baseia-se
377 principalmente na mãe aprendendo reconhecer olfativamente sua prole (Poindron et al.,
378 2007).

379

380 **Substância Apaziguadora Bovina**

381

382 A substância apaziguadora é um dos feromônios sintetizados pelos mamíferos,
383 esse composto possui um efeito calmante (Pageat et al., 2003; Taylor and Mills, 2007).

384 No sistema de produção de bovinos, um análogo da substância apaziguadora bovina
385 (ASAB) foi sintetizada a partir de uma mistura de ácidos graxos semelhante ao sintetizado
386 pelas glândulas exócrinas, localizadas na glândula mamária, com o objetivo de minimizar
387 efeitos estressores (Cappelozza et al., 2020; Cooke et al., 2020). Estudos demonstram
388 que ASAS melhora o bem-estar dos animais e produtividade sob situações estressantes.
389 De acordo com Osella et al. (2018), vacas leiteiras quando administrado o ASAB
390 apresentaram uma maior produção de leite e menor quantidade de células somáticas
391 durante um período de transição, animais confinados para um sistema extensivo,
392 indicando uma redução dos efeitos do estresse. Um outro estudo realizado com bezerros
393 no período de desmame, demonstrou que o ASAB reduziu as proteínas de fase aguda e
394 aumentou o ganho médio diário durante um período de 45 dias pós desmame
395 (Cappelozza et al., 2020; Cooke et al., 2020).

396 A comunicação por feromônios desempenha um papel importante no
397 comportamento e nos processos reprodutivos dos mamíferos. Os feromônios podem ser
398 utilizados como ferramentas eficientes para otimizar a reprodução e o manejo, a fim de
399 controlar o intervalo entre os partos, aumentar a produção de leite e minimizar os efeitos
400 negativos que o estresse causa sobre a prole (Kekan et al., 2017).

401

402



CONSIDERAÇÕES FINAIS

403

404

405 O estresse é uma resposta adaptativa do organismo a estímulos desafiadores,
406 porém quando se torna crônico e intenso, conduz a problemas de saúde física e mental. O
407 núcleo paraventricular desempenha um papel crucial na regulação do estresse,
408 controlando a liberação de hormônios, como o cortisol. Entretanto, animais expostos a
409 situações crônicas de agentes estressores apresentam um excesso de cortisol em níveis
410 fisiológicos, o que impacta negativamente no sistema reprodutivo.

411 O ciclo reprodutivo das fêmeas bovinas é regulado por uma complexa interação
412 hormonal e metabólica entre a hipófise, ovários e útero. Nesse contexto, o estresse
413 interfere na homeostase do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal (HHG), afetando a
414 homeostase do sistema reprodutivo e levando a possíveis problemas de fertilidade.

415 Na pecuária, a compreensão da fisiologia reprodutiva é essencial para o
416 desenvolvimento de estratégias eficazes de manejo reprodutivo e para melhorar a
417 eficiência do rebanho. Portanto, é fundamental entender os efeitos do estresse sobre o
418 desempenho produtivo e reprodutivo dos animais, a fim de adotar medidas preventivas
419 que otimizem a saúde e bem-estar, garantindo um ambiente confortável e seguro, e, assim,
420 aumentar a eficiência produtiva e reprodutiva do rebanho.

421

422



REFERÊNCIAS

423
424

- 425 ABIEC, 2021. Realização Promoção. São Paulo.
- 426 Accorsi, P.A., Carloni, E., Valsecchi, P., Viggiani, R., Gamberoni, M., Tamanini, C.,
427 Seren, E., 2008. Cortisol determination in hair and faeces from domestic cats and
428 dogs. *Gen Comp Endocrinol* 155, 398–402.
429 <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2007.07.002>
- 430 Adams, G.P., 1994. Control of ovarian follicular wave dynamics in cattle: implications
431 for synchronization & superstimulation. *Theriogenology* 41, 19–24.
- 432 Aires, M. de M., 2008. *Fisiologia*, 3rd ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- 433 Anne, I., Charlotte, L., Alan, J., 2012. Sex Differences and the Role of Sex Steroids in
434 Sympatho-Adrenal Medullary System and Hypothalamo-Pituitary Adrenal Axis
435 Responses to Stress, in: *Sex Steroids*. InTech. <https://doi.org/10.5772/25611>
- 436 AOAC, 2019. *Official Methods of Analysis™*, 21st Edition (2019) [WWW Document].
437 AOAC.
- 438 Augusto Gomes Azevêdo, J., de Campos Valadares Filho, S., Fernando Costa Silva, L.,
439 Batista dos Santos, A., Lins Souza, L., Pizzi Rotta, P., Navajas Rennó, L., Nunes do
440 Prado, I., 2016. *Regulation and prediction of dry matter intake*, 3rd ed. BR-Corte,
441 Viçosa.
- 442 Baruselli, P.S., Ferreira, R.M., Sá Filho, M.F., Bó, G.A., 2018. Review: Using artificial
443 insemination v. natural service in beef herds. *Animal* 12, s45–s52.
444 <https://doi.org/10.1017/S175173111800054X>
- 445 Baruselli, P.S., Sales, J.N.S., Sala, R. V, Vieira, L.M., Filho, M.F.S., 2012. History,
446 evolution and perspectives of timed artificial insemination programs in Brazil, *Anim*
447 *Reprod*.
- 448 Baszczak, J.A., Grandin, T., Gruber, S.L., Engle, T.E., Platter, W.J., Laudert, S.B.,
449 Schroeder, A.L., Tatum, J.D., 2006. Effects of ractopamine supplementation on
450 behavior of British, Continental, and Brahman crossbred steers during routine
451 handling. *J Anim Sci* 84, 3410–3414. <https://doi.org/10.2527/jas.2006-167>
- 452 Baum, M.J., Cherry, J.A., 2015. Processing by the main olfactory system of chemosignals
453 that facilitate mammalian reproduction. *Horm Behav* 68, 53–64.
454 <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2014.06.003>
- 455 Beatty, D.T., Barnes, A., Taylor, E., Pethick, D., McCarthy, M., Maloney, S.K., 2006.
456 Physiological responses of *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle to prolonged,
457 continuous heat and humidity1. *J Anim Sci* 84, 972–985.
458 <https://doi.org/10.2527/2006.844972x>



- 459 Berry, D.P., Wall, E., Pryce, J.E., 2014. Genetics and genomics of reproductive
460 performance in dairy and beef cattle. *Animal* 8, 105–121.
461 <https://doi.org/10.1017/S1751731114000743>
- 462 Bó, G.A., Baruselli, P.S., Martínez, M.F., 2003. Pattern and manipulation of follicular
463 development in *Bos indicus* cattle. *Anim Reprod Sci* 78, 307–326.
464 [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(03\)00097-6](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(03)00097-6)
- 465 Boivin, X., Bensoussan, S., L’Hotellier, N., Bignon, L., Brives, H., Brule, A., Godet, J.,
466 Grannec, M., Hausberger, M., Kling- Eveillard, F., 2012. Hommes et animaux
467 d’élevage. *INRA Prod. Anim* 1, 159–167.
- 468 Bormann, J.M., Totir, L.R., Kachman, S.D., Fernando, R.L., Wilson, D.E., 2006.
469 Pregnancy rate and first-service conception rate in Angus heifers. *J Anim Sci* 84,
470 2022–2025. <https://doi.org/10.2527/jas.2005-615>
- 471 Boyle, L., Conneely, M., Kennedy, E., O’Connell, N., O’Driscoll, K., Earley, B., 2022.
472 Animal welfare research – progress to date and future prospects. *Irish Journal of*
473 *Agricultural and Food Research*. <https://doi.org/10.15212/ijafr-2020-0151>
- 474 Brandão, A.P., Cooke, R.F., 2021. Effects of temperament on the reproduction of beef
475 cattle. *Animals*. <https://doi.org/10.3390/ani11113325>
- 476 Bridges, G.A., Mussard, M.L., Burke, C.R., Day, M.L., 2010. Influence of the length of
477 proestrus on fertility and endocrine function in female cattle. *Anim Reprod Sci* 117,
478 208–215. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2009.05.002>
- 479 Brown, E.J., Vosloo, A., Brown, E., 2017. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*.
480 <https://doi.org/10.4102/ojvr>
- 481 Burdick, N.C., Carroll, J.A., Hulbert, L.E., Dailey, J.W., Willard, S.T., Vann, R.C.,
482 Welsh, T.H., Randel, R.D., 2010. Relationships between temperament and
483 transportation with rectal temperature and serum concentrations of cortisol and
484 epinephrine in bulls. *Livest Sci* 129, 166–172.
485 <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2010.01.020>
- 486 Cappelozza, B.I., Bastos, J.P., Cooke, R.F., 2020. Short communication: Administration
487 of an appeasing substance to *Bos indicus*-influenced beef cattle improves
488 performance after weaning and carcass pH. *Livest Sci* 238.
489 <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2020.104067>
- 490 Cardoso Consentini, C.E., Wiltbank, M.C., Sartori, R., 2021. Factors that optimize
491 reproductive efficiency in dairy herds with an emphasis on timed artificial
492 insemination programs. *Animals* 11, 1–30. <https://doi.org/10.3390/ani11020301>
- 493 Carrell, R.C., Smith, W.B., Kinman, L.A., Mercadante, V.R.G., Dias, N.W., Roper, D.A.,
494 2021. Cattle stress and pregnancy responses when imposing different restraint
495 methods for conducting fixed time artificial insemination. *Anim Reprod Sci* 225.
496 <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106672>



- 497 Carroll, J.A., Forsberg, N.E., 2007. Influence of stress and nutrition on cattle immunity.
498 Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. 23, 105–149.
- 499 Cedeño, A. V., Cuervo, R., Tríbulo, A., Tríbulo, R., Andrada, S., Mapletoft, R.,
500 Menchaca, A., Bó, G.A., 2021. Effect of expression of estrus and treatment with
501 GnRH on pregnancies per AI in beef cattle synchronized with an
502 estradiol/progesterone-based protocol. Theriogenology 161, 294–300.
503 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.12.014>
- 504 Charmandari, E., Tsigos, C., Chrousos, G., 2005. ENDOCRINOLOGY OF THE
505 STRESS RESPONSE. Annu Rev Physiol 67, 259–284.
506 <https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.67.040403.120816>
- 507 Cheng, M., McCarl, B., Fei, C., 2022. Climate Change and Livestock Production: A
508 Literature Review. Atmosphere (Basel). <https://doi.org/10.3390/atmos13010140>
- 509 Cherry, J.A., Baum, M.J., 2020. Sex differences in main olfactory system pathways
510 involved in psychosexual function. Genes Brain Behav.
511 <https://doi.org/10.1111/gbb.12618>
- 512 Ciccioili, N.H., Wettemann, R.P., Spicer, L.J., Lents, C.A., White, F.J., Keisler, D.H.,
513 2003. Influence of body condition at calving and postpartum nutrition on endocrine
514 function and reproductive performance of primiparous beef cows 1,2, J. Anim. Sci.
- 515 Coleman, G.J., Hemsworth, P.H., 2014. Training to improve stockperson beliefs and
516 behaviour towards livestock enhances welfare and productivity. Rev. sci. tech. Off.
517 int. Epiz 33, 131–137.
- 518 Collier, R.J., Renquist, B.J., Xiao, Y., 2017. A 100-Year Review: Stress physiology
519 including heat stress. J Dairy Sci 100, 10367–10380.
520 <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13676>
- 521 Cook, F.R., Arthington, D.J., Austin, R.B., Yelich, V.J., 2009. Effects of acclimation to
522 handling on performance, reproductive, and physiological responses of Brahman-
523 crossbred heifers. J Anim Sci 87, 3403–3412.
- 524 Cooke, R.F., 2017. Nutritional and management considerations for beef cattle
525 experiencing stress-induced inflammation Prof. Anim. Sci. 33, 1–11.
- 526 Cooke, R.F., Arthington, J.D., 2013. Concentrations of haptoglobin in bovine plasma
527 determined by ELISA or a colorimetric method based on peroxidase activity. J Anim
528 Physiol Anim Nutr (Berl) 97, 531–536. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2012.01298.x>
- 530 Cooke, R.F., Arthington, J.D., Araujo, D.B., Lamb, G.C., 2009a. Effects of acclimation
531 to human interaction on performance, temperament, physiological responses, and
532 pregnancy rates of Brahman-crossbred cows1. J Anim Sci 87, 4125–4132.
533 <https://doi.org/10.2527/jas.2009-2021>



- 534 Cooke, R.F., Arthington, J.D., Araujo, D.B., Lamb, G.C., 2009b. Effects of acclimation
535 to human interaction on performance, temperament, physiological responses, and
536 pregnancy rates of Brahman-crossbred cows. *J Anim Sci* 87, 4125–4132.
537 <https://doi.org/10.2527/jas.2009-2021>
- 538 Cooke, R.F., Bohnert, D.W., 2011. Technical note: Bovine acute-phase response after
539 corticotrophin-release hormone challenge. *J Anim Sci* 89, 252–257.
540 <https://doi.org/10.2527/jas.2010-3131>
- 541 Cooke, R.F., Bohnert, D.W., Cappellozza, B.I., Mueller, C.J., Delcurto, T., 2012. Effects
542 of temperament and acclimation to handling on reproductive performance of *Bos*
543 *taurus* beef females1. *J Anim Sci* 90, 3547–3555. [https://doi.org/10.2527/jas.2011-](https://doi.org/10.2527/jas.2011-4768)
544 4768
- 545 Cooke, R.F., Bohnert, D.W., Meneghetti, M., Losi, T.C., Vasconcelos, J.L.M., 2011.
546 Effects of temperament on pregnancy rates to fixed-timed AI in *Bos indicus* beef
547 cows. *Livest Sci* 142, 108–113. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2011.06.024>
- 548 Cooke, R.F., Lamb, G.C., Vasconcelos, J.L.M., Pohler, K.G., 2021. Effects of body
549 condition score at initiation of the breeding season on reproductive performance and
550 overall productivity of *Bos taurus* and *B. indicus* beef cows. *Anim Reprod Sci* 232.
551 <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2021.106820>
- 552 Cooke, R.F., Millican, A., Brandão, A.P., Schumacher, T.F., de Sousa, O.A., Castro, T.,
553 Farias, R.S., Cappellozza, B.I., 2020. Short communication: administering an
554 appeasing substance to *Bos indicus*-influenced beef cattle at weaning and feedlot
555 entry. *Animal* 14, 566–569. <https://doi.org/10.1017/S1751731119002490>
- 556 Cooke, R.F., Moriel, P., Cappellozza, B.I., Miranda, V.F.B., Batista, L.F.D., Colombo,
557 E.A., Ferreira, V.S.M., Miranda, M.F., Marques, R.S., Vasconcelos, J.L.M., 2019.
558 Effects of temperament on growth, plasma cortisol concentrations and puberty
559 attainment in Nelore beef heifers. *Animal* 13, 1208–1213.
560 <https://doi.org/10.1017/S1751731118002628>
- 561 Couto, S.R.B., Guerson, Y.B., Caparelli, N.M.P.M., Andrade, J.P.N., Jacob, J.C.F.,
562 Barbero, R.P., Mello, M.R.B., 2022. Mitigation of low pregnancy rate in excitable
563 Nelore cows by administration of GnRH or P4. *Theriogenology* 192, 14–21.
564 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2022.08.003>
- 565 Crowe, A.D., Lonergan, P., Butler, S.T., 2021. Invited review: Use of assisted
566 reproduction techniques to accelerate genetic gain and increase value of beef
567 production in dairy herds. *J Dairy Sci* 104, 12189–12206.
568 <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20281>
- 569 Davis, T.C., White, R.R., 2020. Breeding animals to feed people: The many roles of
570 animal reproduction in ensuring global food security. *Theriogenology* 150, 27–33.
571 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.01.041>



- 572 Dawuda, P.M., Scaife, J.R., Hutchinson, J.S.M., Sinclair, K.D., 2002. Mechanisms
573 linking under-nutrition and ovarian function in beef heifers. *Anim Reprod Sci* 74,
574 11–26.
- 575 Debus, N., Breen, K.M., Barrell, G.K., Billings, H.J., Brown, M., Young, E.A., Karsch,
576 F.J., 2002. Does cortisol mediate endotoxin-induced inhibition of pulsatile
577 luteinizing hormone and gonadotropin-releasing hormone secretion? *Endocrinology*
578 143, 3748–3758. <https://doi.org/10.1210/en.2002-220291>
- 579 Demetriou, J.A., Drewes, P.A., Gin, J.B., 1974. Ceruloplasmim. In: *Clinical chemistry:*
580 *principles and techniques*, 2nd ed. Hagerstown.
- 581 Dickinson, S.E., Elmore, M.F., Kriese-Anderson, L., Elmore, J.B., Walker, B.N., Dyce,
582 P.W., Rodning, S.P., Biase, F.H., 2019. Evaluation of age, weaning weight, body
583 condition score, and reproductive tract score in pre-selected beef heifers relative to
584 reproductive potential. *J Anim Sci Biotechnol* 10. [https://doi.org/10.1186/s40104-](https://doi.org/10.1186/s40104-019-0329-6)
585 [019-0329-6](https://doi.org/10.1186/s40104-019-0329-6)
- 586 Dieleman, S.J., Bevers, M.M., Poortman, J., Van Tol, H.T.M., Uithof, D., Utrecht, T.D.,
587 1983. Steroid and pituitary hormone concentrations in the fluid of preovulatory
588 bovine follicles relative to the peak of LH in the peripheral blood. *Journal*
589 *Reproduction* 69, 641–649.
- 590 Dobson, H., Smith, R.F., 2000. What is stress, and how does it affect reproduction? *Anim*
591 *Reprod Sci* 60, 743–752.
- 592 Dobson', H., Tebble, J.E., Smith, R.F., Ward, W.R., 2001. Is stress really all that
593 important? *Theriogenology* 55, 65–73.
- 594 D'Occhio, M.J., Baruselli, P.S., Campanile, G., 2019. Influence of nutrition, body
595 condition, and metabolic status on reproduction in female beef cattle: A review.
596 *Theriogenology* 125, 277–284.
597 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.11.010>
- 598 Evans, N.P., Dahl, G.E., Mauger, D., Karsch, F.J., 1995. Estradiol Induces both
599 Qualitative and Quantitative Changes in the Pattern of Gonadotropin-Releasing
600 Hormone Secretion during the Presurge Period in the Ewe*. *Endocrinology* 136.
- 601 Fernandez-Novo, A., Pérez-Garnelo, S.S., Villagrà, A., Pérez-Villalobos, N., Astiz, S.,
602 2020. The effect of stress on reproduction and reproductive technologies in beef
603 cattle—A review. *Animals* 10, 1–23. <https://doi.org/10.3390/ani10112096>
- 604 Francisco, C.L., Castilhos, A.M., Silva, D.C.M., Silva, F.M., Meirelles, P.R.L., Cooke,
605 R.F., Jorge, A.M., 2020. Temperament of Nelore growing-steers receiving
606 supplementation in grazing system: Performance, ultrasound measures, feeding
607 behavior, and serum parameters. *Livest Sci* 241.
608 <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2020.104203>



- 609 Freetly, H.C., Cundiff, L. V, 1998. Reproductive Performance, Calf Growth, and Milk
610 Production of First-Calf Heifers Sired by Seven Breeds and Raised on Different
611 Levels of Nutrition. *American Society of Animal Science* 76, 1513–1522.
- 612 García-Ispierto, I., López-Gatius, F., Santolaria, P., Yániz, J.L., Nogareda, C., López-
613 Béjar, M., De Rensis, F., 2006. Relationship between heat stress during the peri-
614 implantation period and early fetal loss in dairy cattle. *Theriogenology* 65, 799–807.
615 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.06.011>
- 616 Ginther, O.J., Bergfelt, D.R., Beg, M.A., Kot, K., 2001. Follicle selection in cattle:
617 Relationships among growth rate, diameter ranking, and capacity for dominance.
618 *Biol Reprod* 65, 345–350. <https://doi.org/10.1095/biolreprod65.2.345>
- 619 Ginther, O.J., Wiltbank, M.C., Fricke, P.M., Gibbons, J.R., Kot, K., 1996. Minireview
620 Selection of the Dominant Follicle in Cattle?, *BIOLOGY OF REPRODUCTION*.
- 621 Grassi, D., Marraudino, M., Garcia-Segura, L.M., Panzica, G.C., 2022. The hypothalamic
622 paraventricular nucleus as a central hub for the estrogenic modulation of
623 neuroendocrine function and behavior. *Front Neuroendocrinol*.
624 <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2021.100974>
- 625 Grings, E.E., Geary, T.W., Short, R.E., MacNeil, M.D., 2007. Beef heifer development
626 within three calving systems. *J Anim Sci* 85, 2048–2058.
627 <https://doi.org/10.2527/jas.2006-758>
- 628 Gutierrez, K., Kasimanickam, R., Tibary, A., Gay, J.M., Kastelic, J.P., Hall, J.B.,
629 Whittier, W.D., 2014. Effect of reproductive tract scoring on reproductive efficiency
630 in beef heifers bred by timed insemination and natural service versus only natural
631 service. *Theriogenology* 81, 918–924.
632 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.01.008>
- 633 Gutiérrez-Reinoso, M.A., Aponte, P.M., Cabezas, J., Rodriguez-Alvarez, L., Garcia-
634 Herreros, M., 2020. Genomic evaluation of primiparous high-producing dairy cows:
635 Inbreeding effects on genotypic and phenotypic production–reproductive traits.
636 *Animals* 10, 1–18. <https://doi.org/10.3390/ani10091704>
- 637 Han, Y., Jiang, T., Shi, J., Liu, A., Liu, L., 2023. Review: Role and regulatory mechanism
638 of inhibin in animal reproductive system. *Theriogenology* 202, 10–20.
639 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2023.02.016>
- 640 Herbut, P., Hoffmann, G., Angrecka, S., Godyń, D., Vieira, F.M.C., Adamczyk, K.,
641 Kupczyński, R., 2021. The effects of heat stress on the behaviour of dairy cows-A
642 review. *Annals of Animal Science*. <https://doi.org/10.2478/aoas-2020-0116>
- 643 Herd, D.B., Sprott, L.R., 1986. Body Condition, Nutrition and Reproduction of Beef
644 Cows. *Agri Life Extension* 1526.



- 645 Hernandez, A., Galina, C.S., Geffroy, M., Jung, J., Westin, R., Berg, C., 2022. Cattle
646 welfare aspects of production systems in the tropics. *Anim Prod Sci*.
647 <https://doi.org/10.1071/an21230>
- 648 Hosie, J., Rowe, S.M., Morton, J.M., Tranter, W.P., Cavalieri, J., 2019. Use of a sanitary
649 sheath at artificial insemination by nonprofessional technicians does not markedly
650 improve pregnancy rates to artificial insemination in pasture-based dairy cows. *J*
651 *Dairy Sci* 102, 5588–5598. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-16082>
- 652 Huang, C.J., Webb, H.E., Zourdos, M.C., Acevedo, E.O., 2013. Cardiovascular reactivity,
653 stress, and physical activity. *Front Physiol*.
654 <https://doi.org/10.3389/fphys.2013.00314>
- 655 Hughes, H.D., Carroll, J.A., Sanchez, N.C.B., Richeson, J.T., 2014. Natural variations in
656 the stress and acute phase responses of cattle. *Innate Immun*.
657 <https://doi.org/10.1177/1753425913508993>
- 658 Hultgren, J., Segerkvist, K.A., Berg, C., Karlsson, A.H., Öhgren, C., Algers, B., 2022.
659 Preslaughter stress and beef quality in relation to slaughter transport of cattle. *Livest*
660 *Sci* 264. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2022.105073>
- 661 Jiang, Z., Rajamanickam, S., Justice, N.J., 2019. CRF signaling between neurons in the
662 paraventricular nucleus of the hypothalamus (PVN) coordinates stress responses.
663 *Neurobiol Stress* 11. <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2019.100192>
- 664 Jinks, E.M., Smith, M.F., Atkins, J.A., Pohler, K.G., Perry, G.A., Macneil, M.D., Roberts,
665 A.J., Waterman, R.C., Alexa, L.J., Geary, T.W., 2012. Preovulatory estradiol and
666 the establishment and maintenance of pregnancy in suckled beef cows 1. *J. Anim*.
667 *Sci* 91, 1176–1185. <https://doi.org/10.2527/jas2012-5611>
- 668 KARLSON, P., LÜSCHER, M., 1959. ‘Pheromones’: a New Term for a Class of
669 Biologically Active Substances. *Nature* 183, 55–56.
670 <https://doi.org/10.1038/183055a0>
- 671 Kasimanickam, R., Schroeder, S., Assay, M., Kasimanickam, V., Moore, D., Gay, J.,
672 Whittier, W., 2014. Influence of Temperament Score and Handling Facility on
673 Stress, Reproductive Hormone Concentrations, and Fixed Time AI Pregnancy Rates
674 in Beef Heifers. *Reproduction in Domestic Animals* 49, 775–782.
675 <https://doi.org/10.1111/rda.12368>
- 676 Kastelic, J.P., Ginther, O.J., 1990. Relationship between ultrasonic assessment of the
677 corpus luteum and plasma progesterone concentration in heifers. *Theriogenology* 33.
- 678 Kekan, P.M., Ingole, S.D., Sirsat, S.D., Bharucha, S. V., Kharde, S.D., Nagvekar, A.S.,
679 2017. The role of pheromones in farm animals - A review. *Agricultural Reviews* 38.
680 <https://doi.org/10.18805/ag.v38i02.7939>
- 681 Kondo, Y., Hayashi, H., 2021. Neural and hormonal basis of opposite-sex preference by
682 chemosensory signals. *Int J Mol Sci*. <https://doi.org/10.3390/ijms22158311>



- 683 Koren, L., Mokady, O., Karaskov, T., Klein, J., Koren, G., Geffen, E., 2002. A novel
684 method using hair for determining hormonal levels in wildlife. *Anim Behav.*
685 <https://doi.org/10.1006/anbe.2001.1907>
- 686 Lensink, B.J., Boivin, X., Pradel, P., Le Neindre, P., Veissier, I., 2000. Reducing veal
687 calves' reactivity to people by providing additional human contact 1,2, *J. Anim. Sci.*
- 688 Li, Q., Jimenez-Krassel, F., Bettegowda, A., Ireland, J.J., Smith, G.W., 2007. Evidence
689 that the preovulatory rise in intrafollicular progesterone may not be required for
690 ovulation in cattle. *Journal of Endocrinology* 192, 473–483.
691 <https://doi.org/10.1677/JOE-06-0020>
- 692 Lonergan, P., Sánchez, J.M., 2020. Symposium review: Progesterone effects on early
693 embryo development in cattle. *J Dairy Sci* 103, 8698–8707.
694 <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18583>
- 695 Magata, F., Tsukamura, H., Matsuda, F., 2023a. The impact of inflammatory stress on
696 hypothalamic kisspeptin neurons: Mechanisms underlying inflammation-associated
697 infertility in humans and domestic animals. *Peptides (N.Y.)* 162.
698 <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2023.170958>
- 699 Magata, F., Tsukamura, H., Matsuda, F., 2023b. The impact of inflammatory stress on
700 hypothalamic kisspeptin neurons: Mechanisms underlying inflammation-associated
701 infertility in humans and domestic animals. *Peptides (N.Y.)* 162.
702 <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2023.170958>
- 703 Mapletoft, R.J., Bó, G.A., Baruselli, P.S., Menchaca, A., Sartori, R., 2018. Evolution of
704 knowledge on ovarian physiology and its contribution to the widespread application
705 of reproductive biotechnologies in South American cattle. *Anim Reprod* 15, 1003–
706 1014. <https://doi.org/10.21451/1984-3143-AR2018-0007>
- 707 Marinho, A.L.M., Socolosk, ; S N G, Gomes, ; S C, Santos, ; R, Castro, ; B G, 2016.
708 Inseminação artificial na fêmea bovina Artificial insemination in bovine. *Scientific*
709 *Electronic Archives.*
- 710 Martin, J.L., Vonnahme, K.A., Adams, D.C., Lardy, G.P., Funston, R.N., 2007. Effects
711 of dam nutrition on growth and reproductive performance of heifer calves. *J Anim*
712 *Sci* 85, 841–847. <https://doi.org/10.2527/jas.2006-337>
- 713 Martins, T., Pugliesi, G., Sponchiado, M., Cardoso, B.O., Gomes, N.S., Mello, B.P.,
714 Celeghini, E.C.C., Binelli, M., 2019. Supplementation with long-acting
715 progesterone in early diestrus in beef cattle: I. effect of artificial insemination on
716 onset of luteolysis. *Domest Anim Endocrinol* 67, 63–70.
717 <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2018.12.002>
- 718 Martins, T., Talamoni, J.P., Sponchiado, M., Maio, J.R.G., Nogueira, G.P., Pugliesi, G.,
719 Binelli, M., 2017. Impact of estradiol cypionate prior to TAI and progesterone
720 supplementation at initial diestrus on ovarian and fertility responses in beef cows.



- 721 Theriogenology 104, 156–163.
722 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.08.017>
- 723 Mastromonaco, G.F., Gonzalez-Grajales, A.L., 2020. Reproduction in female wild cattle:
724 Influence of seasonality on ARTs. *Theriogenology* 150, 396–404.
725 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.02.016>
- 726 Mcclintwk, M.K., 1978. Estrous Synchrony and Its Mediation by Airborne Chemical
727 Communication (*Rattus norvegicus*). *Horm Behav* 10, 264–276.
- 728 McIntosh, M.M., Spiegall, S.A., McIntosh, S.Z., Castaño Sanchez, J., Estell, R.E., Steele,
729 C.M., Elias, E.H., Bailey, D.W., Brown, J.R., Cibils, A.F., 2023. Matching beef
730 cattle breeds to the environment for desired outcomes in a changing climate: A
731 systematic review. *J Arid Environ* 211.
732 <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2022.104905>
- 733 McMahan, M., Gerich, J., Rizzat, R., 1988. Effects of Glucocorticoids on Carbohydrate
734 Metabolism. *Clinical Research Center* 4, 17–30.
- 735 Mello, B.P., Maturana Filho, M., Lemes, K.M., Gonçalves, R.L., Lollato, J.P.M., Zanella,
736 A.J., Ferreira, T.F. de V., Pugliesi, G., Madureira, E.H., Gonella-Diaza, A.,
737 Membrive, C.M.B., 2020. Importance of temperament in the pregnancy by timed
738 insemination in bovine females *Bos taurus indicus*. *Livest Sci* 240.
739 <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2020.104104>
- 740 Meneses, J.A.M., de Sá, O.A.A.L., Coelho, C.F., Pereira, R.N., Batista, E.D., Ladeira,
741 M.M., Casagrande, D.R., Gionbelli, M.P., 2021. Effect of heat stress on ingestive,
742 digestive, ruminal and physiological parameters of Nelore cattle feeding low- or
743 high-energy diets. *Livest Sci* 252. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2021.104676>
- 744 Miller, L., 2018. The Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis: A Brief History. *Karger*
745 *Journals* 89, 212–223.
- 746 Moreira, F., De La Sota, R.L., Diaz, T., Thatcher, W.W., 2000. Effect of day of the estrous
747 cycle at the initiation of a timed artificial insemination protocol on reproductive
748 responses in dairy heifers 1. *J. Anim. Sci* 78, 1568–1576.
- 749 Mostafa, T., Khouly, G. El, Hassan, A., 2012. Pheromones in sex and reproduction: Do
750 they have a role in humans? *J Adv Res*. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2011.03.003>
- 751 Murata, H., Shimada, N., Yoshioka, M., 2004. Current research on acute phase proteins
752 in veterinary diagnosis: An overview. *Veterinary Journal* 168, 28–40.
753 [https://doi.org/10.1016/S1090-0233\(03\)00119-9](https://doi.org/10.1016/S1090-0233(03)00119-9)
- 754 Murdoch, W.J., Kirk, E.A. Van, 1998. Luteal Dysfunction in Ewes Induced to Ovulate
755 Early in the Follicular Phase*. *Endocrinology* 139, 3480–3484.
- 756 Naranjo-Gómez, J.S., Uribe-García, H.F., Herrera-Sánchez, M.P., Lozano-Villegas, K.J.,
757 Rodríguez-Hernández, R., Rondón-Barragán, I.S., 2021. Heat stress on cattle



- 758 embryo: gene regulation and adaptation. Heliyon 7.
759 <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06570>
- 760 NASEM, 2016. NRC GADO DE CORTE, 8th ed. Washington.
- 761 Nishimura, T.K., Martins, T., da Silva, M.I., Lafuente, B.S., de Garla Maio, J.R., Binelli,
762 M., Pugliesi, G., Saran Netto, A., 2018. Importance of body condition score and
763 ovarian activity on determining the fertility in beef cows supplemented with long-
764 acting progesterone after timed-AI. Anim Reprod Sci 198, 27–36.
765 <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.08.042>
- 766 Nowak, R., Keller, M., Lévy, F., 2011. Mother-young relationships in sheep: A model for
767 a multidisciplinary approach of the study of attachment in mammals. J
768 Neuroendocrinol 23, 1042–1053. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2011.02205.x>
- 769 Núñez-Olivera, R., Bó, G.A., Menchaca, A., 2022. Association between length of
770 proestrus, follicular size, estrus behavior, and pregnancy rate in beef heifers
771 subjected to fixed-time artificial insemination. Theriogenology 181, 1–7.
772 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2021.12.028>
- 773 Oosthuizen, N., Cooke, R.F., Schubach, K.M., Fontes, P.L.P., Brandão, A.P., Oliveira
774 Filho, R. V., Colombo, E.A., Franco, G.A., Reese, S., Pohler, K.G., Lamb, G.C.,
775 2020. Effects of estrous expression and intensity of behavioral estrous symptoms on
776 variables associated with fertility in beef cows treated for fixed-time artificial
777 insemination. Anim Reprod Sci 214.
778 <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106308>
- 779 Osella, M.C., Cozzi, A., Spegis, C., Turille, G., Barmaz, A., Lecuelle, C.L., Teruel, E.,
780 Bienboire-Frosini, C., Chabaud, C., Bougrat, L., Pageat, P., 2018. The effects of a
781 synthetic analogue of the Bovine Appeasing Pheromone on milk yield and
782 composition in Valdostana dairy cows during the move from winter housing to
783 confined lowland pastures. Journal of Dairy Research 85, 174–177.
784 <https://doi.org/10.1017/S0022029918000262>
- 785 Padgett, D.A., Glaser, R., 2003. How stress influences the immune response. Trends
786 Immunol. [https://doi.org/10.1016/S1471-4906\(03\)00173-X](https://doi.org/10.1016/S1471-4906(03)00173-X)
- 787 Pageat, P., Gaultier, E., Pherosynthese, M.A., 2003. Current research in canine and feline
788 pheromones. The Veterinary Clinics Small Animal Practice 33, 187–211.
- 789 Patel, B.N., Dunn, R.J., Jeong, Y., Zhu, Q., Julien, J.-P., David, S., 2002. Ceruloplasmin
790 Regulates Iron Levels in the CNS and Prevents Free Radical Injury.
- 791 Patra, M.K., Kumar, H., 2012. Potential application of pheromones in
792 reproduction of farm animals - A review. Agricultural Research
793 Communication Centre 33, 82–86.



- 794 Patterson, D.J., Perry+, R.C., Kiracofe, H., Bellows, R.A., Staigmiller, R.B., Corahg,
795 L.R., 1992. Management Considerations in Heifer Development and Pubertyll'.
796 Journal Animal Science 70, 4018–4035.
- 797 Perry, G.A., Swanson, O.L., Larimore, E.L., Perry, B.L., Djira, G.D., Cushman, R.A.,
798 2014. Relationship of follicle size and concentrations of estradiol among cows
799 exhibiting or not exhibiting estrus during a fixed-time AI protocol. Domestic Anim
800 Endocrinol 48, 15–20. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2014.02.001>
- 801 Petherick, J.C., 2005. Animal welfare issues associated with extensive livestock
802 production: The northern Australian beef cattle industry. Appl Anim Behav Sci 92,
803 211–234. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2005.05.009>
- 804 Petherick, J.C., Doogan, V.J., Venus, B.K., Holroyd, R.G., Olsson, P., 2009. Quality of
805 handling and holding yard environment, and beef cattle temperament: 2.
806 Consequences for stress and productivity. Appl Anim Behav Sci 120, 28–38.
807 <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2009.05.009>
- 808 Pfeifer, L.F.M., Castro, N.A., Neves, P.M.A., Cestaro, J.P., Siqueira, L.G.B., 2017.
809 Development and validation of an objective method for the assessment of body
810 condition scores and selection of beef cows for timed artificial insemination. Livest
811 Sci 197, 82–87. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2017.01.011>
- 812 Plasse, D., Warnick, A.C., Koger, M., 1970. Reproductive Behavior of Bos Indicus
813 Females in a Subtropical Environment. IV. Length of Estrous Cycle, duration of
814 Estrus, Time of Ovulation, Fertilization and Embryo Survival in Grade Brahman
815 Heifers. J Anim Sci 30, 63–72.
- 816 Pohler, Ky.G., Geary, T.W., Atkins, J.A., Perry, G.A., Jinks, E.M., Smith, M.F., 2012.
817 Follicular determinants of pregnancy establishment. Cell Tissue Res 349, 649–664.
- 818 Poindron, P., Lévy, F., Keller, M., 2007. Maternal responsiveness and maternal
819 selectivity in domestic sheep and goats: The two facets of maternal attachment. Dev
820 Psychobiol 49, 54–70. <https://doi.org/10.1002/dev.20192>
- 821 Poock, S.E., Payne, C.A., 2013. Incorporating reproductive management of beef heifers
822 into a veterinary practice. Veterinary Clinics of North America - Food Animal
823 Practice 29, 667–678. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2013.07.010>
- 824 R. F. Cooke, 2014. Temperament and acclimation to human handling influence growth,
825 health, and reproductive responses in Bos taurus and Bos indicus cattle.
- 826 Rault, J.L., Waiblinger, S., Boivin, X., Hemsworth, P., 2020. The Power of a Positive
827 Human–Animal Relationship for Animal Welfare. Front Vet Sci.
828 <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.590867>
- 829 Rekwot, P.I., Ogwu, D., Oyedipe, E.O., Sekoni, V.O., 2001. The role of pheromones and
830 biostimulation in animal reproduction, Animal Reproduction Science.



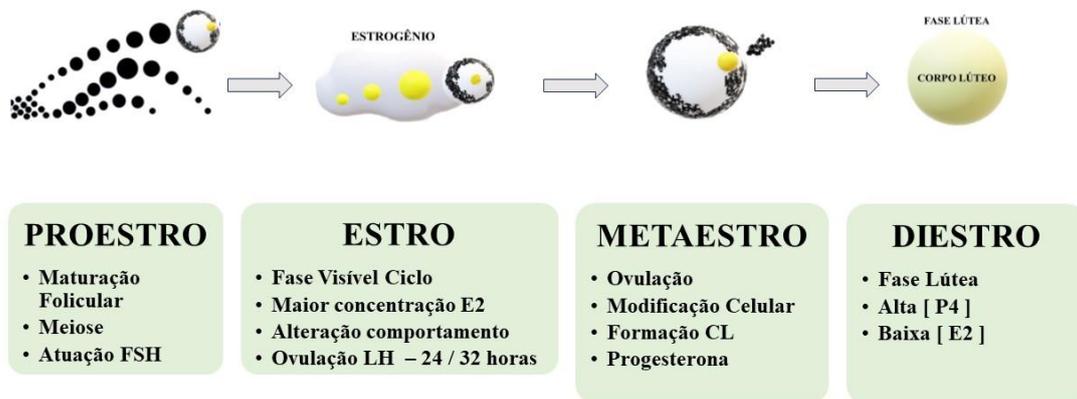
- 831 Rivard, G., Klemm, W.R., 1989. Two body fluids containing bovine estrous
832 pheromone(s). *Chem Senses* 14, 273–279. <https://doi.org/10.1093/chemse/14.2.273>
- 833 Röttgen, V., Schön, P.C., Becker, F., Tuchscherer, A., Wrenzycki, C., Döpjan, S., Puppe,
834 B., 2020. Automatic recording of individual oestrus vocalisation in group-housed
835 dairy cattle: Development of a cattle call monitor. *Animal* 14, 198–205.
836 <https://doi.org/10.1017/S1751731119001733>
- 837 Rueda, P.M., Sant’Anna, A.C., Valente, T.S., Paranhos da Costa, M.J.R., 2015. Impact
838 of the temperament of Nellore cows on the quality of handling and pregnancy rates
839 in fixed-time artificial insemination. *Livest Sci* 177, 189–195.
840 <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2015.04.021>
- 841 Rushen, J., Munksgaard, L., Marnet, P.G., Depassille, A.M., 2001. Human contact and
842 the effects of acute stress on cows at milking. *Appl Anim Behav Sci* 73, 1–14.
- 843 Rutten, C.J., Velthuis, A.G.J., Steeneveld, W., Hogeveen, H., 2013. Invited review:
844 Sensors to support health management on dairy farms. *J Dairy Sci* 96, 1928–1952.
845 <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6107>
- 846 Scott, C.J., Rose, J.L., Gunn, A.J., McGrath, B.M., 2018. Kisspeptin and the regulation
847 of the reproductive axis in domestic animals. *Journal of Endocrinology*.
848 <https://doi.org/10.1530/JOE-18-0485>
- 849 Selye, H., 1936. A Syndrome produced by Diverse Nocuous Agents. *Nature* 32–32.
- 850 Sheng, J.A., Bales, N.J., Myers, S.A., Bautista, A.I., Roueinfar, M., Hale, T.M., Handa,
851 R.J., 2021. The Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis: Development, Programming
852 Actions of Hormones, and Maternal-Fetal Interactions. *Front Behav Neurosci*.
853 <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2020.601939>
- 854 Taylor, K., Mills, D.S., 2007. A placebo-controlled study to investigate the effect of Dog
855 Appeasing Pheromone and other environmental and management factors on the
856 reports of disturbance and house soiling during the night in recently adopted puppies
857 (*Canis familiaris*). *Appl Anim Behav Sci* 105, 358–368.
858 <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2006.11.003>
- 859 Tilbrook, A.J., Clarke, I.J., 2006. Neuroendocrine mechanisms of innate states of
860 attenuated responsiveness of the hypothalamo-pituitary adrenal axis to stress. *Front*
861 *Neuroendocrinol*. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2006.06.002>
- 862 Toufexis, D., Rivarola, M.A., Lara, H., Viau, V., 2014. Stress and the reproductive axis.
863 *J Neuroendocrinol*. <https://doi.org/10.1111/jne.12179>
- 864 Turner, A.I., Hemsworth, P.H., Tilbrook, A.J., 2002. Susceptibility of reproduction in
865 female pigs to impairment by stress and the role of the hypothalamo-pituitary-
866 adrenal axis. *Reprod Fertil Dev*. <https://doi.org/10.1071/rd02012>
- 867 Van Soest, P.J., 1994. *Nutritional Ecology of the Ruminant*, 2nd ed.



- 868 Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A., 1991. Methods for Dietary Fiber, Neutral
869 Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. *J*
870 *Dairy Sci* 74, 3583–3597. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2)
- 871 Vedovatto, M., Faria, F.J.C., Costa, D.S., Cooke, R.F., Sanchez, J.M.D., Moriel, P.,
872 Coelho, R.N., Franco, G.L., 2021. Effects of temperament on body parameters,
873 ovarian structures and inflammatory response in grazing Nellore cows following
874 fixed-time artificial insemination. *Journal of Veterinary Behavior* 44, 50–54.
875 <https://doi.org/10.1016/j.jveb.2021.03.005>
- 876 Vedovatto, M., Leccioli, R.B., Lima, E. de A., Rocha, R.F.A.T., Coelho, R.N., Moriel,
877 P., da Silva, L.G., Ferreira, L.C.L., da Silva, A.F., Alves dos Reis, W.V., de Oliveira,
878 D.M., Franco, G.L., 2022. Impacts of body condition score at beginning of fixed-
879 timed AI protocol and subsequent energy balance on ovarian structures, estrus
880 expression, pregnancy rate and embryo size of *Bos indicus* beef cows. *Livest Sci*
881 256. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2022.104823>
- 882 Weiss, W.P., Conrad, H.R., Pierre, N.R. St., 1992. A theoretically-based model for
883 predicting total digestible nutrient values of forages and concentrates. *Anim Feed*
884 *Sci Technol* 39, 95–100.
- 885 Wolfenson, D., Roth, Z., Meidan, R., 2000. Impaired reproduction in heat-stressed cattle:
886 basic and applied aspects. *Anim Reprod Sci* 60, 535–547.
- 887 Yamazaki, K., Beauchamp, G.K., Curran, M., Bard, J., Boyse, E.A., 2000. Parent-
888 progeny recognition as a function of MHC odortype identity. Tucson.
- 889 Yıldırım, M., Çakır, D.Ü., Yurtman, İ.Y., 2022. Effects of restricted nutrition and flushing
890 on reproductive performance and metabolic profiles in sheep. *Livest Sci* 258.
891 <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2022.104870>
- 892 Yoshioka, M., Watanabe, A., Shimada, N., Murata, H., Yokomizo, Y., Nakajima, Y.,
893 2002. Regulation of haptoglobin secretion by recombinant bovine cytokines in
894 primary cultured bovine hepatocytes, *Domestic Animal Endocrinology*.
- 895
- 896
- 897
- 898
- 899
- 900
- 901
- 902
- 903

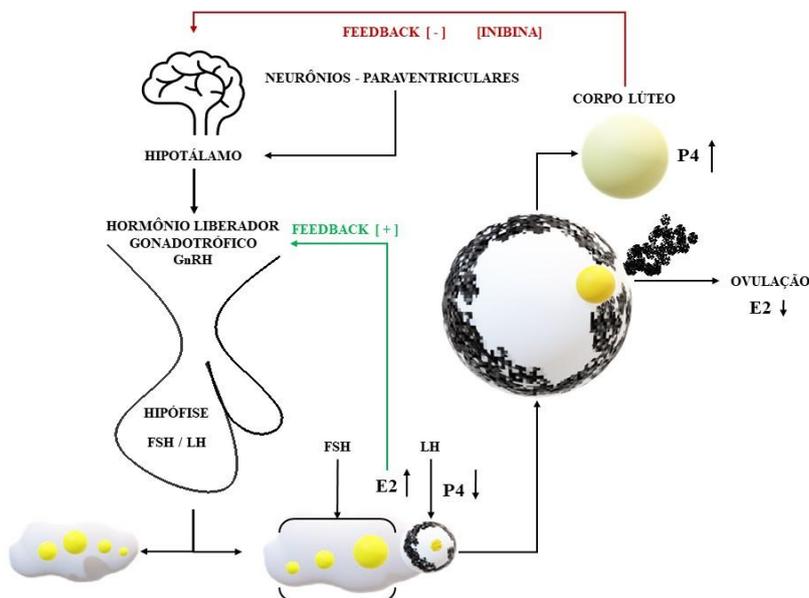
904
905
906

FIGURAS



907
908
909

Figura 1. Esquemática do ciclo estral de fêmeas bovinas.



910
911
912
913

Figura 2. Esquemática do Eixo hipotalâmico Hipofisário Gonadal



1 **CAPÍTULO 1 - EFEITO DO ANÁLAGO DA SUBSTÂNCIA APAZIGUADORA**
2 **BOVINA (ASAB) SOBRE O CRESCIMENTO, ESTRESSE, QUALIDADE DO**
3 **MANEJO E REPRODUÇÃO DE NOVILHAS NELORE *Bos indicus***
4 **SINCRONIZADAS PARA IA EM TEMPO FIXO**
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33

O artigo a seguir será submetido
ao periódico *Livestock Science*.



34 **EFEITO DO ANÁLOGO DA SUBSTÂNCIA APAZIGUADORA BOVINA**
35 **(ASAB) SOBRE O CRESCIMENTO, ESTRESSE, QUALIDADE DO MANEJO E**
36 **REPRODUÇÃO DE NOVILHAS NELORE *Bos indicus* SINCRONIZADAS**
37 **PARA IA EM TEMPO FIXO**
38

39 **RESUMO**

40 Este estudo avaliou os efeitos do análogo da substância apaziguadora bovina (ASAB) no
41 início do protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) e subsequente
42 mudança no peso corporal (PC), escore de condição corporal (ECC), temperamento,
43 qualidade do manejo, sujidade na região perineal, variáveis ovarianas, taxa de gestação,
44 tamanho do conceito e variáveis séricas de novilhas Nelore. Vinte e nove novilhas foram
45 selecionadas de acordo com temperamento, ECC e diâmetro do folículo ou corpo lúteo >
46 7mm e posteriormente alocadas de forma aleatória em dois tratamentos: 1) Solução
47 Salina (Salina; 0,9 NaCl; n = 14) ou; ASAB (n = 15) ambas as soluções foram aplicadas
48 topicamente entre os cornos na região da nuca (5 mL/novilha). Durante o d -9 ao d 7, as
49 novilhas foram mantidas em dois piquetes, separadas por tratamento e então (d 7 ao d 60)
50 reagrupadas em um único grupo. O PC e ECC foram avaliados no d -9 e d 30. O
51 temperamento individual foi avaliado no tronco de contenção, utilizando o escore de
52 entrada e escore de saída (1-3; maior valor, mais estressada) e o escore de tronco (1-5;
53 maior valor, mais estressada) no d -9, 0, 7, 14 e 30, juntamente com as coletas de sangue.
54 As variáveis qualidade do manejo, sujeira da região perineal, estro e diâmetro do folículo
55 dominante foram avaliadas no d 0. O diâmetro e o volume do corpo lúteo foram avaliados
56 no d 7 e 14, a concentração plasmática de progesterona em d 14, a taxa de prenhez em d
57 30 e o tamanho do conceito em d 60. As novilhas do tratamento ASAB apresentaram
58 maior PC no d 30 (394 vs. 392 ± 0.77; $P = 0.05$) e maior ECC entre o d -9 ao d 30 (0.05
59 vs. -0.21 ± 0.05; $P < 0.01$). As novilhas com tratamento ASAB vs. Salina tenderam a ter
60 um menor escore de entrada ($P = 0.09$) e sujidade na região perineal ($P \leq 0.06$), não foi
61 observado efeito tratamento para escore de tronco ($P \leq 0.39$), escore de saída ($P = 0.64$),
62 tempo para inseminar ($P \leq 0.49$), percentual de agressão ($P \leq 0.96$) e acidente ($P \leq 0.61$).
63 Novilhas do tratamento ASAB vs. SALINA apresentaram maior ($P \leq 0.02$) escore de
64 estro e taxa de monta (100% vs. 50.0 ± 0.09%) e nenhum efeito foi observado para as
65 variáveis ovarianas, progesterona, taxa de gestação e tamanho de conceito. Além do
66 mais, tratamentos não diferiram nas variáveis séricas. Portanto, o ASAB aumentou PC,
67 ECC, escore de estro e taxa de monta e tendeu a diminuir o temperamento do escore de
68 entrada e sujidade na região perineal.

69
70 **Palavras - Chave:** estresse; gado de corte; produção

71

72

73



INTRODUÇÃO

74
75

76 A exposição dos bovinos de corte a situações de stress durante o ciclo produtivo
77 é inevitável (Cooke, 2017). O estresse em animais, causa adaptações fisiológicas para
78 manter a homeostase, expostos a situações estressantes mecanismos intrínsecos
79 estimulam o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA). As respostas de fase aguda
80 impactam na imunidade, temperamento, metabolismo, sistema nervoso autônomo e,
81 consequentemente, a reprodução (Carroll and Forsberg, 2007; Sheng et al., 2021).

82 No entanto, estratégias para reduzir o estresse e diminuir os impactos causados
83 sobre o bem-estar, saúde, produtividade e reprodução dos animais tem preocupado
84 pesquisadores há muito tempo. (Plasse et al., 1970; Cooke, 2014). Uma estratégia para
85 diminuir esses efeitos indesejáveis em bovinos é a utilização de um análogo sintético do
86 feromônio apaziguador [análogo da substância apaziguadora bovina (ASAB)], que se
87 baseia em uma mistura de ácidos graxos semelhante ao sintetizado na glândula mamária
88 (Cooke et al., 2020).

89 A substância sintética adquiriu atenção na pecuária bovina por potencializar o
90 desempenho dos animais e minimizar o estresse causado pelo desmame de bezerros
91 (Cappelozza et al., 2020).

92 Bovinos estressados diminuem o ganho de peso (Cooke et al., 2019) e reduzem o
93 desempenho reprodutivo (Cooke et al., 2011) quando comparado com bovinos calmos.
94 Os animais estressados são mais difíceis de manejar e o risco de lesões é aumentado
95 (Cooke et al., 2011, 2009a; Francisco et al., 2020). Além disso, tendem a ter perda de
96 escore de condição corporal (ECC), menores folículos dominantes, menores diâmetros de
97 corpo lúteo (CL) e consequentemente menor concentração plasmática de progesterona
98 (Vedovatto et al., 2021).

99 No entanto, não temos conhecimento de estudos que tenham avaliado os efeitos
100 do ASAB na reprodução de bovinos de corte. Nossa hipótese é que administração do
101 ASAB no início do protocolo (IATF) melhoraria o desempenho reprodutivo de novilhas
102 Nelore. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos de um análogo da substância
103 apaziguadora bovina (ASAB) no início do protocolo (IATF) sobre o peso corporal (PC)
104 e ECC, temperamento, qualidade do manejo, sujidade na região perineal, variáveis de cio,



105 variáveis ovarianas, taxa de prenhez, tamanho do conceito e variáveis séricas de novilhas
106 da raça Nelore.

107 MATERIAL E MÉTODOS

108

109 Todas as novilhas foram manejadas de acordo com as práticas descritas no Guia
110 para o Cuidado e Uso de Animais na Pesquisa e Ensino (FASS, 2010) e protocolos
111 experimentais revisados e aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de animais (CEUA) da
112 Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) ao abrigo do protocolo nº
113 1.135/2020.

114 **Animais, tratamentos e coleta das amostras**

115

116 Um total de 29 novilhas Nelore (ECC = 4.84 ± 0.13 , escala 1 a 9, PC = 371 ± 0.77
117 kg e diâmetro do folículo ou corpo lúteo $> 7\text{mm}$) foram selecionadas e avaliadas de acordo
118 com o temperamento; escore de entrada em uma escala de 1 – 3, sendo 1 quando os
119 animais entravam e saíam voluntariamente do tronco de contenção, sem contato físico
120 entre animal e manipulador, quando os animais necessitavam de encorajamento, sem
121 contato físico, para entrar e sair do tronco de contenção ou entravam e ou saíam trotando,
122 recebiam uma pontuação 2; se os animais necessitassem de encorajamento com contato
123 físico, onde o manipulador batesse levemente na garupa do animal com a mão e ou
124 entravam e ou saíam do tronco de contenção correndo, eram classificados com a
125 pontuação 3 (Baszczak et al., 2006). A pontuação no tronco de contenção foi mensurada
126 em uma escala de 1–5, pontuação 1 foi empregada em animais mais calmos sem
127 movimento abrupto, escala 2 para animais inquietos, animais com movimentos frequentes
128 foram classificados com a escala 3, quando apresentavam movimentos constantes 4 e
129 animais que manifestavam vocalização, agitação no tronco de contenção e animais
130 violentos com luta contínua receberam a pontuação 5 (Cooke et al., 2011; Vedovatto et
131 al., 2021).

132 Em seguida, foram estratificados por PC, ECC e escore no tronco de contenção e
133 aleatoriamente designado para um dos dois tratamentos: 1) solução Salina (Saline; 0.9 %
134 de NaCl; n = 14) ou análogo da substância apaziguadora bovina (ASAB; (Secure Cattle,
135 Nutricorp®, Araras, SP, Brasil; n = 15). Ambas as soluções (5 mL/novilha) foram
136 aplicadas topicamente entre os cornos, na região da nuca de cada animal, conforme



137 indicado pelo fabricante. O grupo Salina recebeu a aplicação primeiro e imediatamente
138 alocado em um piquete. Em seguida, o grupo ASAB recebeu a solução e foi alocado em
139 outro piquete. Os piquetes foram separados por uma distância de 200 m. Esse manejo foi
140 adotado para evitar qualquer contaminação cruzada. Cada piquete tinha 12 hectares cada,
141 formado com capim-marandu (*Urochloa brizantha* [Hochst. ex A. Rich] R. D. Webster,
142 cv. Marandu) como forragem.

143 As novilhas tinham acesso livre à água e foi fornecido uma mistura completa de
144 minerais e vitaminas (Mega Fós 90 Milk, AgroMega Indústria de Alimentos Animal,
145 Tamboara, PR, Brasil; Ca: 196 g / kg, P: 90 g / Kg, Na: 99 g / kg, Mg: 20 g / Kg, S: 14 g
146 / kg, Fe: 2.400 mg / kg, Zn: 3.000 mg / kg, Mn: 1.670 mg / kg, Se: 40 mg / kg, Cu: 1.200
147 mg / kg, F: 900 mg / kg, Co: 200 mg / kg, I: 180 mg / kg, vitamina A: 1500.000 UI / kg,
148 vitamina D3: 30.000 UI / kg e vitamina E: 1.500 UI / kg; meta de ingestão de 100 g / d).
149 Após a segregação, os grupos tratados não tiveram contato físico entre os dias d -9 a d 7
150 (15 dias é o tempo de ação do ASAB), então, posteriormente ao período de ação do ASAB
151 foram reagrupadas e manejadas em um único grupo, até o final do experimento (d 7 ao
152 60).

153 O PC e o ECC foram avaliados em d-9 e 30, para avaliação do ECC foram
154 utilizadas duas técnicas, visual que foi avaliada por um único técnico (Herd and Sprott,
155 1986) e a relação entre o ângulo interno formado entre os lados esquerdo e direito da
156 garupa (IAR) que foi mensurada quando as novilhas entravam no troco de contenção
157 (Pfeifer et al., 2017). O temperamento foi avaliado por três técnicos treinados em d -9, d
158 0, d 7, d 14 e d 30. Todas as novilhas foram manuseadas com calma durante todo o
159 processo de avaliação, sem uso de choque elétrico ou qualquer outro contato físico até
160 chegarem ao tronco de contenção. Todas as novilhas foram designadas para um protocolo
161 IATF de d -9 ao d 0. Em d -9, as novilhas receberam 2 mg por via intramuscular de
162 benzoato de estradiol (Gonadiol; Zoetis, São Paulo, Brasil) inserção de um dispositivo
163 intravaginal liberador de progesterona, contendo 0,5 g de progesterona (PRIMER; Agener
164 União, São Paulo, Brasil). Em d - 2, o dispositivo PRIMER foi removido e as novilhas
165 receberam aplicações intramusculares de PGF2 α (12,5 mg; Lutalyse; Zoetis, São Paulo,
166 Brasil), cipionato de estradiol (1 mg; ECP; Zoetis, São Paulo, Brasil) e eCG (300 UI;
167 Novormon; Zoetis, São Paulo, Brasil). Em d 0 (aproximadamente 48 h após a aplicação
168 de PGF2 α), as novilhas foram inseminadas por um único técnico usando o sêmen de um



169 único touro Nelore. O diagnóstico de prenhez foi avaliado em d 30 por ultrassonografia
170 transretal (transdutor de 7,5 MHz; Mindray DP 2200 VET, Shenzhen, China), bem como
171 as estruturas ovarianas (Figura 2).

172 Foram avaliados os diâmetros (mm) dos folículos dominantes no dia da IA (d 0)
173 e os diâmetros do CL (d 7 e d14) após a IA (d 0). O volume CL (cm³) foi calculado
174 utilizando-se a fórmula para volumes da esfera [$V = 4/3 \pi(D/2)^3$] onde D é o diâmetro
175 máximo (mm) do CL (Cook et al., 2009).

176 Amostras de sangue foram coletadas da veia coccígea em d -9, 0, 7, 14 e 30 em
177 tubos de coleta de sangue de 10 mL (Vacutainer, Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ,
178 EUA) com heparina sódica. Imediatamente após a coleta, as amostras de sangue foram
179 armazenadas em gelo e, em seguida, centrifugadas a 1200 ×g por 30 minutos para a
180 colheita de plasma. Amostras de plasma foram armazenadas a -20 °C para análises
181 posteriores das concentrações de haptoglobina, ceruloplasmina, cortisol e progesterona.
182 As concentrações plasmáticas de progesterona foram analisadas em d 14. Amostras
183 coletadas manualmente de pastagens, d-9, d7 e d30, foram coletadas e secas a 60 °C por
184 5 dias, posteriormente moídas a 1 mm, amostras inicialmente compostas foram
185 reagrupadas em uma única amostra e analisadas quanto à composição química (Figura 3).

186 **Análises Laboratoriais**

187

188 Amostras de forragem, matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo e cinzas foram
189 analisados de acordo com métodos oficiais de análise (AOAC, 2019). As concentrações
190 de lignina, fibra em detergente neutro (FDN) e ácido (FDA) foram realizadas (Van Soest
191 et al., 1991). Foram calculadas as concentrações de nutrientes digestíveis totais (NDT)
192 (Weiss et al., 1992), energia digestível (DE), energia metabolizável (ME) e energia
193 líquida (NE) das amostras (NASEM, 2016).

194 Amostras de plasma foram analisadas para cortisol (Immulite 1000; Siemens
195 Medical Solutions Diagnostics, Los Angeles, CA, USA) conforme descrito anteriormente
196 (Cooke et al., 2019), haptoglobina (Cooke and Arthington, 2013), progesterona (Martin
197 et al., 2007) e ceruloplasmina (Demetriou et al., 1974).

198

199



200

201 **Análises Estatísticas**

202

203 Para todas as análises, as novilhas foram consideradas como unidade
204 experimental. Os resultados das alterações de ECC e PC, tempo de inseminação, sujidade
205 na região perineal, escore de estro, variáveis ovarianas e tamanho do concepto foram
206 analisados pelo procedimento MIXED do SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC; version 9.4) e
207 as taxas de agressão, acidente, monta e prenhez pelo procedimento GLIMMIX / SAS.
208 Para ambos foi utilizado a aproximação de Satterthwaite para determinar os graus de
209 liberdade para o teste de efeitos fixos. Todos esses dados foram testados para efeito fixo
210 tratamento, utilizando novilhas (tratamento) como efeito aleatório. Os dados de PC, ECC
211 e escore de temperamento (escores de entrada, tronco e saída) foram analisados como
212 medidas repetidas utilizando o procedimento MIXED do SAS e testados quanto aos
213 efeitos fixos do tratamento, dia e interação, utilizando novilhas (tratamento) como
214 variável aleatória. As estruturas de covariância foram selecionadas de acordo com o
215 menor critério de informação de Akaike. Todos os resultados obtidos em d -9 (início do
216 estudo) para cada variável foram incluídos como covariáveis em cada respectiva de
217 análise, mas foram retirados do modelo quando $P > 0,10$. As médias foram separadas por
218 meio de PDIFF e todos os resultados foram relatados como LSMEANS seguidos de SEM.
219 A significância foi definida quando $P \leq 0,05$ e tendência quando $P > 0,05$ e $\leq 0,10$. Para
220 avaliar a correlação entre as variáveis foi utilizado o procedimento CORR do SAS.

221

RESULTADOS

222

223 Houve interação tratamento x dia ($P = 0.05$) e tendeu para o efeito de tratamento
224 ($P = 0.07$), com maior peso no d 30 para as novilhas que receberam tratamento ASAB
225 (Tabela 2). As variáveis ECC, ângulo de garupa ($P = 0.60$) não apresentou diferença entre
226 tratamentos, contudo, o ECC visual ($P < 0.01$) apresentou diferença ($P < 0.05$) entre
227 interação tratamento x dia (Tabela 2).

228 Para variáveis temperamento (Table 3), não foram observados efeitos para
229 interação tratamento x dia, escore de entrada ($P = 0.73$), escore tronco ($P = 0.52$) e escore
230 de saída ($P = 0.65$), efeitos para o dia foram observados no escore tronco ($P < 0.01$) e



231 escore saída ($P < 0.01$), porém não foi observado diferença para a escore entrada ($P =$
232 0.16). As novilhas que receberam tratamento ASAB tenderam a ser mais calmas no escore
233 de entrada ($P = 0.09$), mas nenhum efeito de tratamento foi observado para escore tronco
234 ($P = 0.39$) e escore de saída ($P = 0.64$).

235 Para as variáveis qualidade de manejo, agressão ($P = 0.96$), acidente ($P = 0.61$) e
236 tempo para inseminar ($P = 0.49$) não foi detectado efeito de tratamento (Tabela 3). No
237 entanto, as novilhas que receberam tratamento ASAB tenderam para menor sujidade da
238 região perineal ($P = 0.06$) em relação ao tratamento Salina (Tabela 3).

239 Foram observadas diferenças para as variáveis de cio, onde o ASAB apresentou
240 um maior escore estro ($P = 0.02$) e porcentagem de monta ($P < 0.01$) em relação ao
241 tratamento Salina (Tabela 4). Em relação as variáveis ovarianas avaliadas, diâmetro do
242 folículo dominante ($P = 0.70$), diâmetro CL no d 7 ($P = 0.85$) e d 14 ($P = 0.67$), volume
243 de CL no d 7 ($P = 0.66$) e d 14 ($P = 0.46$) e concentração plasmática de progesterona d
244 14 ($P = 0.19$), nenhum efeito foi detectado (Tabela 4). A taxa de prenhez no d 30 ($P =$
245 0.57) e as variáveis analisadas para tamanho do concepto no d 60, ângulo de garupa ($P =$
246 0.11) e tamanho torácico ($P = 0.47$), não foi observado efeito de tratamento (Tabela 4).

247 Sobre as variáveis séricas (Tabela 5) não foi observado efeito de interação
248 tratamento x dia, cortisol ($P = 0.79$), haptoglobina ($P = 0.25$) e ceruloplasmina ($P = 0.31$),
249 bem como para tratamento, cortisol ($P = 0.42$), haptoglobina ($P = 0.29$) e ceruloplasmina
250 ($P = 0.77$), porém foram observadas diferenças para dia ($P < 0.01$) nas variáveis séricas
251 analisadas (Figura 4).

252

253 DISCUSSÃO

254

255 A aplicação do ASAB aumentou o PC e o ECC durante o estudo. Outros estudos
256 observaram aumento no PC pela aplicação do ASAB no desmame e na entrada no
257 confinamento (Cappellozza et al., 2020). Entretanto, não temos conhecimento de outro
258 estudo avaliando os efeitos do ASAB em novilhas. Esse aumento de PC e ECC causado
259 pelo ASAB provavelmente foi consequência do efeito apaziguador da substância, pois o
260 temperamento tem um forte efeito no crescimento. Em um estudo conduzido por (Cooke
261 et al., 2019), novilhas Nelore com temperamento calmo ganharam mais PC comparado
262 com novilhas excitadas. Em outro estudo realizado por (Petherick et al., 2009), com



263 animais em crescimento o temperamento excitável tem correlação negativa em relação à
264 ECC. Já com vacas, excitadas vs. calmas tenderam a ter menor ECC no final do período
265 de IATF (Vedovatto et al., 2021).

266 A importância do ECC para a reprodução, está relacionada à necessidade de as
267 fêmeas terem reservas energéticas corporal adequadas para a reprodução no início da
268 estação reprodutiva. Acordando com (Pfeifer et al., 2017), o ângulo interno formado entre
269 os lados esquerdo e direito da garupa (IAR), entre 104° a 124° , é um indicador eficiente
270 para avaliação do ECC e seleção das fêmeas aptas para a reprodução. De outra forma, a
271 avaliação subjetiva para estimar a reserva de energia corporal do animal é o ECC visual
272 (Bormann et al., 2006; Dickinson et al., 2019), fêmeas no início da estação de reprodutiva
273 com $ECC \geq 5$, apresentam maior taxa de prenhez (Cooke et al., 2021; Vedovatto et al.,
274 2021). Em nosso estudo as novilhas apresentaram ECC adequado para reprodução e
275 mantiveram ao longo do experimento, contudo o tratamento ASAB não influenciou na
276 taxa de gestação. Além do mais, para ambos os tratamentos a taxa de gestação apresentou
277 um índice inferior ao descrito por (Bormann et al., 2006; Gutierrez et al., 2014), os
278 estudos relataram que novilhas apresentam uma taxa de prenhez entre 48% e 69% quando
279 submetidas a inseminação artificial.

280 Em nosso experimento, a aplicação do ASAB tendeu a reduzir a sujidade na região
281 perineal no dia da IA. Esse efeito é também relacionado ao efeito apaziguador do ASAB.
282 Além disso, o contato entre pessoas e animais pode causar estresse e fazer com que os
283 animais se tornem mais excitados, aumentando a frequência de sinalização da cauda
284 durante o manuseio, propagar fezes e urina em torno de sua região perineal, bem como
285 produzir e eliminar mais fezes líquidas do que o normal (Lensink et al., 2000; Rushen et
286 al., 2001). Ainda, a qualidade do manejo e experiências prévias podem causar estresse
287 nos animais, tornando-os mais agressivos, e aumentando a sujidade perineal. Fêmeas com
288 uma maior sujidade perineal necessita de mais tempo para limpar a região para serem
289 inseminadas, aumentando as chances de infecção do trato reprodutivo durante a IA
290 (Rueda et al., 2015).

291 Os tratamentos não apresentaram diferenças entre as variáveis ovarianas e
292 concentração de cortisol. Contudo diferenças foram observadas para ECC, o que poderia
293 explicar um maior escore de estro e conseqüentemente maior monta observada no
294 tratamento ASAB. Alguns autores (Nishimura et al., 2018; Perry et al., 2014; Vedovatto



295 et al., 2022) relataram que, fêmeas com maior ECC no início do protocolo de IATF tem
296 um demonstram maior escore de estro, contudo, (Vedovatto et al., 2022) relataram que,
297 o ECC no início do protocolo não tem influência no tamanho do folículo dominante. O
298 ECC poderia ser um indicativo para um maior aporte nutricional e conseqüentemente
299 poderia aumentar o estradiol sintetizado pelo folículo (Ciccioli et al., 2003) e o tamanho
300 do folículo dominante está relacionado com a concentração sérica de estradiol (Perry et
301 al., 2014). Acordando com, (Núñez-Olivera et al., 2022) um largo folículo dominante
302 aumenta a síntese de estradiol e a expressão de estro em novilhas. Outra possibilidade
303 para explicar o escore de estro é a concentração de cortisol plasmático, pois o cortisol é
304 um indicativo para o estresse (Cook et al., 2009; Cooke, 2017), devido ao aumento de
305 ACTH pela hiper estimulação do eixo HHA impactando no desempenho reprodutivo
306 (Mello et al., 2020). Nós não detectamos diferenças nas concentrações de cortisol entre
307 os tratamentos, contudo, as novilhas do tratamento ASAB apresentaram tendência para o
308 escore de entrada. Em nosso estudo foi avaliado os níveis plasmáticos de cortisol, porém
309 para estudos futuros, o cortisol poderia ser avaliado através da concentração em pelos,
310 conforme descrito por (Koren et al., 2002) e modificado por (Accorsi et al., 2008). Além
311 do mais, poderia também ser avaliado a dinâmica da onda folicular durante o ciclo estral
312 e o momento da ovulação (Bó et al., 2003), estas avaliações poderiam ajudar a explicar
313 melhor o escore de estro e a influência do ASAB no escore de estro e monta.

314 As proteínas de fase aguda (APP), haptoglobina e ceruloplasmina, são sintetizadas
315 pelo fígado (Patel et al., 2002; Yoshioka et al., 2002) quando os animais são expostos a
316 situação ao estresse e ou trauma (Cooke et al., 2012) sendo importantes mercados
317 biológicos para identificar respostas de fase aguda (Murata et al., 2004). Em nosso estudo,
318 não foi observado efeitos de tratamento nas concentrações de APP. Corroborando com
319 (Vedovatto et al., 2021), onde não observaram diferença na concentração plasmática de
320 APP quando avaliou a associação de temperamento em vacas Nelores submetidas a
321 protocolo de IATF. Contudo, outros estudos observaram uma menor concentração sérica
322 de ceruloplasmina (Cooke et al., 2009a) e haptoglobina (Cooke et al., 2012) em fêmeas
323 de corte calmas vs. excitadas. Possivelmente, em nosso estudo, o efeito da ASAB não foi
324 suficiente para detectar efeito significativo nas concentrações das APP.

325 Os resultados do presente estudo não apresentou diferenças entre tratamentos para
326 tamanho de conceito e concentrações de progesterona plasmática. Acordando com



327 (Kastelic and Ginther, 1990), a concentração de progesterona plasmática está
328 possivelmente correlacionada com tamanho de concepto, como em nosso estudo, não
329 observamos diferença em tamanho de CL que conseqüentemente não diferiria a
330 concentração plasmática de progesterona entre tratamentos, não observamos diferença no
331 tamanho de concepto. Outra variável que poderia influenciar no tamanho do concepto é
332 o ECC, pois de acordo com Vedovatto et al. (2022) o ECC inadequado para reprodução
333 pode afetar o tamanho do concepto. Porém, em nosso experimento, as novilhas de ambos
334 os tratamentos apresentaram um ECC adequado (Cooke et al., 2021; Pfeifer et al., 2017),
335 contudo, o grupo do tratamento ASAB apresentou diferença no PC e ECC, portanto, um
336 não efeito no tamanho de concepto no tratamento ASAB não foi esperado.

337 Portanto, todos os resultados explorados nesse estudo, que avaliou a utilização do
338 ASAB influenciando no temperamento e conseqüentemente no desempenho reprodutivo
339 de novilhas submetidas a um protocolo de IATF, ajuda a compreender que é necessário
340 avaliar outras variáveis que poderiam impactar na reprodução. Além do mais, o grupo
341 desconhece outro estudo que avaliou a utilização do ASAB no desempenho reprodutivo
342 de novilhas submetidas a um protocolo de IATF, mais estudos avaliando a utilização do
343 ASAB influenciando no temperamento e parâmetros reprodutivos são necessários.

344

345

CONCLUSÃO

346

347 A aplicação do ASAB no nono dia antes da IA, aumenta PC, ECC, escore de estro
348 e percentagem de monta. Além do mais, o ASAB tende a reduzir o temperamento no
349 escore de entrada e sujidade na região perineal. Contudo, nesse estudo, o ASAB não
350 afetou as variáveis ovarianas, concentração plasmática de progesterona, taxa de gestação,
351 tamanho de concepto, cortisol e APP.

352

353



REFERÊNCIAS

- 1
2
- 3 ABIEC, 2021. Realização Promoção. São Paulo.
- 4 Accorsi, P.A., Carloni, E., Valsecchi, P., Viggiani, R., Gamberoni, M., Tamanini, C.,
5 Seren, E., 2008. Cortisol determination in hair and faeces from domestic cats and
6 dogs. *Gen Comp Endocrinol* 155, 398–402.
7 <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2007.07.002>
- 8 Adams, G.P., 1994. Control of ovarian follicular wave dynamics in cattle: implications
9 for synchronization & superstimulation. *Theriogenology* 41, 19–24.
- 10 Aires, M. de M., 2008. Fisiologia, 3rd ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- 11 Anne, I., Charlotte, L., Alan, J., 2012. Sex Differences and the Role of Sex Steroids in
12 Sympatho-Adrenal Medullary System and Hypothalamo-Pituitary Adrenal Axis
13 Responses to Stress, in: Sex Steroids. InTech. <https://doi.org/10.5772/25611>
- 14 AOAC, 2019. Official Methods of AnalysisTM, 21st Edition (2019) [WWW Document].
15 AOAC.
- 16 Augusto Gomes Azevêdo, J., de Campos Valadares Filho, S., Fernando Costa Silva, L.,
17 Batista dos Santos, A., Lins Souza, L., Pizzi Rotta, P., Navajas Rennó, L., Nunes do
18 Prado, I., 2016. Regulation and prediction of dry matter intake, 3rd ed. BR-Corte,
19 Viçosa.
- 20 Baruselli, P.S., Ferreira, R.M., Sá Filho, M.F., Bó, G.A., 2018. Review: Using artificial
21 insemination v. natural service in beef herds. *Animal* 12, s45–s52.
22 <https://doi.org/10.1017/S175173111800054X>
- 23 Baruselli, P.S., Sales, J.N.S., Sala, R. V, Vieira, L.M., Filho, M.F.S., 2012. History,
24 evolution and perspectives of timed artificial insemination programs in Brazil, *Anim*
25 *Reprod*.
- 26 Baszczak, J.A., Grandin, T., Gruber, S.L., Engle, T.E., Platter, W.J., Laudert, S.B.,
27 Schroeder, A.L., Tatum, J.D., 2006. Effects of ractopamine supplementation on
28 behavior of British, Continental, and Brahman crossbred steers during routine
29 handling. *J Anim Sci* 84, 3410–3414. <https://doi.org/10.2527/jas.2006-167>
- 30 Baum, M.J., Cherry, J.A., 2015. Processing by the main olfactory system of chemosignals
31 that facilitate mammalian reproduction. *Horm Behav* 68, 53–64.
32 <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2014.06.003>
- 33 Beatty, D.T., Barnes, A., Taylor, E., Pethick, D., McCarthy, M., Maloney, S.K., 2006.
34 Physiological responses of *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle to prolonged,
35 continuous heat and humidity¹. *J Anim Sci* 84, 972–985.
36 <https://doi.org/10.2527/2006.844972x>



- 37 Berry, D.P., Wall, E., Pryce, J.E., 2014. Genetics and genomics of reproductive
38 performance in dairy and beef cattle. *Animal* 8, 105–121.
39 <https://doi.org/10.1017/S1751731114000743>
- 40 Bó, G.A., Baruselli, P.S., Martínez, M.F., 2003. Pattern and manipulation of follicular
41 development in *Bos indicus* cattle. *Anim Reprod Sci* 78, 307–326.
42 [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(03\)00097-6](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(03)00097-6)
- 43 Boivin, X., Bensoussan, S., L’Hotellier, N., Bignon, L., Brives, H., Brule, A., Godet, J.,
44 Grannec, M., Hausberger, M., Kling- Eveillard, F., 2012. Hommes et animaux
45 d’élevage. *INRA Prod. Anim* 1, 159–167.
- 46 Bormann, J.M., Totir, L.R., Kachman, S.D., Fernando, R.L., Wilson, D.E., 2006.
47 Pregnancy rate and first-service conception rate in Angus heifers. *J Anim Sci* 84,
48 2022–2025. <https://doi.org/10.2527/jas.2005-615>
- 49 Boyle, L., Conneely, M., Kennedy, E., O’Connell, N., O’Driscoll, K., Earley, B., 2022.
50 Animal welfare research – progress to date and future prospects. *Irish Journal of*
51 *Agricultural and Food Research*. <https://doi.org/10.15212/ijafr-2020-0151>
- 52 Brandão, A.P., Cooke, R.F., 2021. Effects of temperament on the reproduction of beef
53 cattle. *Animals*. <https://doi.org/10.3390/ani11113325>
- 54 Bridges, G.A., Mussard, M.L., Burke, C.R., Day, M.L., 2010. Influence of the length of
55 proestrus on fertility and endocrine function in female cattle. *Anim Reprod Sci* 117,
56 208–215. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2009.05.002>
- 57 Brown, E.J., Vosloo, A., Brown, E., 2017. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*.
58 <https://doi.org/10.4102/ojvr>
- 59 Burdick, N.C., Carroll, J.A., Hulbert, L.E., Dailey, J.W., Willard, S.T., Vann, R.C.,
60 Welsh, T.H., Randel, R.D., 2010. Relationships between temperament and
61 transportation with rectal temperature and serum concentrations of cortisol and
62 epinephrine in bulls. *Livest Sci* 129, 166–172.
63 <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2010.01.020>
- 64 Cappelozza, B.I., Bastos, J.P., Cooke, R.F., 2020. Short communication: Administration
65 of an appeasing substance to *Bos indicus*-influenced beef cattle improves
66 performance after weaning and carcass pH. *Livest Sci* 238.
67 <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2020.104067>
- 68 Cardoso Consentini, C.E., Wiltbank, M.C., Sartori, R., 2021. Factors that optimize
69 reproductive efficiency in dairy herds with an emphasis on timed artificial
70 insemination programs. *Animals* 11, 1–30. <https://doi.org/10.3390/ani11020301>
- 71 Carrell, R.C., Smith, W.B., Kinman, L.A., Mercadante, V.R.G., Dias, N.W., Roper, D.A.,
72 2021. Cattle stress and pregnancy responses when imposing different restraint
73 methods for conducting fixed time artificial insemination. *Anim Reprod Sci* 225.
74 <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106672>



- 75 Carroll, J.A., Forsberg, N.E., 2007. Influence of stress and nutrition on cattle immunity.
76 Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. 23, 105–149.
- 77 Cedeño, A. V., Cuervo, R., Tríbulo, A., Tríbulo, R., Andrada, S., Mapletoft, R.,
78 Menchaca, A., Bó, G.A., 2021. Effect of expression of estrus and treatment with
79 GnRH on pregnancies per AI in beef cattle synchronized with an
80 estradiol/progesterone-based protocol. Theriogenology 161, 294–300.
81 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.12.014>
- 82 Charmandari, E., Tsigos, C., Chrousos, G., 2005. ENDOCRINOLOGY OF THE
83 STRESS RESPONSE. Annu Rev Physiol 67, 259–284.
84 <https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.67.040403.120816>
- 85 Cheng, M., McCarl, B., Fei, C., 2022. Climate Change and Livestock Production: A
86 Literature Review. Atmosphere (Basel). <https://doi.org/10.3390/atmos13010140>
- 87 Cherry, J.A., Baum, M.J., 2020. Sex differences in main olfactory system pathways
88 involved in psychosexual function. Genes Brain Behav.
89 <https://doi.org/10.1111/gbb.12618>
- 90 Ciccioili, N.H., Wettemann, R.P., Spicer, L.J., Lents, C.A., White, F.J., Keisler, D.H.,
91 2003. Influence of body condition at calving and postpartum nutrition on endocrine
92 function and reproductive performance of primiparous beef cows 1,2, J. Anim. Sci.
- 93 Coleman, G.J., Hemsworth, P.H., 2014. Training to improve stockperson beliefs and
94 behaviour towards livestock enhances welfare and productivity. Rev. sci. tech. Off.
95 int. Epiz 33, 131–137.
- 96 Collier, R.J., Renquist, B.J., Xiao, Y., 2017. A 100-Year Review: Stress physiology
97 including heat stress. J Dairy Sci 100, 10367–10380.
98 <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13676>
- 99 Cook, F.R., Arthington, D.J., Austin, R.B., Yelich, V.J., 2009. Effects of acclimation to
100 handling on performance, reproductive, and physiological responses of Brahman-
101 crossbred heifers. J Anim Sci 87, 3403–3412.
- 102 Cooke, R.F., 2017. Nutritional and management considerations for beef cattle
103 experiencing stress-induced inflammation Prof. Anim. Sci. 33, 1–11.
- 104 Cooke, R.F., Arthington, J.D., 2013. Concentrations of haptoglobin in bovine plasma
105 determined by ELISA or a colorimetric method based on peroxidase activity. J Anim
106 Physiol Anim Nutr (Berl) 97, 531–536. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2012.01298.x>
- 108 Cooke, R.F., Arthington, J.D., Araujo, D.B., Lamb, G.C., 2009a. Effects of acclimation
109 to human interaction on performance, temperament, physiological responses, and
110 pregnancy rates of Brahman-crossbred cows1. J Anim Sci 87, 4125–4132.
111 <https://doi.org/10.2527/jas.2009-2021>



- 112 Cooke, R.F., Arthington, J.D., Araujo, D.B., Lamb, G.C., 2009b. Effects of acclimation
113 to human interaction on performance, temperament, physiological responses, and
114 pregnancy rates of Brahman-crossbred cows. *J Anim Sci* 87, 4125–4132.
115 <https://doi.org/10.2527/jas.2009-2021>
- 116 Cooke, R.F., Bohnert, D.W., 2011. Technical note: Bovine acute-phase response after
117 corticotrophin-release hormone challenge. *J Anim Sci* 89, 252–257.
118 <https://doi.org/10.2527/jas.2010-3131>
- 119 Cooke, R.F., Bohnert, D.W., Cappellozza, B.I., Mueller, C.J., Delcurto, T., 2012. Effects
120 of temperament and acclimation to handling on reproductive performance of *Bos*
121 *taurus* beef females1. *J Anim Sci* 90, 3547–3555. [https://doi.org/10.2527/jas.2011-](https://doi.org/10.2527/jas.2011-4768)
122 4768
- 123 Cooke, R.F., Bohnert, D.W., Meneghetti, M., Losi, T.C., Vasconcelos, J.L.M., 2011.
124 Effects of temperament on pregnancy rates to fixed-timed AI in *Bos indicus* beef
125 cows. *Livest Sci* 142, 108–113. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2011.06.024>
- 126 Cooke, R.F., Lamb, G.C., Vasconcelos, J.L.M., Pohler, K.G., 2021. Effects of body
127 condition score at initiation of the breeding season on reproductive performance and
128 overall productivity of *Bos taurus* and *B. indicus* beef cows. *Anim Reprod Sci* 232.
129 <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2021.106820>
- 130 Cooke, R.F., Millican, A., Brandão, A.P., Schumacher, T.F., de Sousa, O.A., Castro, T.,
131 Farias, R.S., Cappellozza, B.I., 2020. Short communication: administering an
132 appeasing substance to *Bos indicus*-influenced beef cattle at weaning and feedlot
133 entry. *Animal* 14, 566–569. <https://doi.org/10.1017/S1751731119002490>
- 134 Cooke, R.F., Moriel, P., Cappellozza, B.I., Miranda, V.F.B., Batista, L.F.D., Colombo,
135 E.A., Ferreira, V.S.M., Miranda, M.F., Marques, R.S., Vasconcelos, J.L.M., 2019.
136 Effects of temperament on growth, plasma cortisol concentrations and puberty
137 attainment in Nelore beef heifers. *Animal* 13, 1208–1213.
138 <https://doi.org/10.1017/S1751731118002628>
- 139 Couto, S.R.B., Guerson, Y.B., Caparelli, N.M.P.M., Andrade, J.P.N., Jacob, J.C.F.,
140 Barbero, R.P., Mello, M.R.B., 2022. Mitigation of low pregnancy rate in excitable
141 Nelore cows by administration of GnRH or P4. *Theriogenology* 192, 14–21.
142 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2022.08.003>
- 143 Crowe, A.D., Lonergan, P., Butler, S.T., 2021. Invited review: Use of assisted
144 reproduction techniques to accelerate genetic gain and increase value of beef
145 production in dairy herds. *J Dairy Sci* 104, 12189–12206.
146 <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20281>
- 147 Davis, T.C., White, R.R., 2020. Breeding animals to feed people: The many roles of
148 animal reproduction in ensuring global food security. *Theriogenology* 150, 27–33.
149 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.01.041>



- 150 Dawuda, P.M., Scaife, J.R., Hutchinson, J.S.M., Sinclair, K.D., 2002. Mechanisms
151 linking under-nutrition and ovarian function in beef heifers. *Anim Reprod Sci* 74,
152 11–26.
- 153 Debus, N., Breen, K.M., Barrell, G.K., Billings, H.J., Brown, M., Young, E.A., Karsch,
154 F.J., 2002. Does cortisol mediate endotoxin-induced inhibition of pulsatile
155 luteinizing hormone and gonadotropin-releasing hormone secretion? *Endocrinology*
156 143, 3748–3758. <https://doi.org/10.1210/en.2002-220291>
- 157 Demetriou, J.A., Drewes, P.A., Gin, J.B., 1974. Ceruloplasmim. In: *Clinical chemistry:*
158 *principles and techniques*, 2nd ed. Hagerstown.
- 159 Dickinson, S.E., Elmore, M.F., Kriese-Anderson, L., Elmore, J.B., Walker, B.N., Dyce,
160 P.W., Rodning, S.P., Biase, F.H., 2019. Evaluation of age, weaning weight, body
161 condition score, and reproductive tract score in pre-selected beef heifers relative to
162 reproductive potential. *J Anim Sci Biotechnol* 10. [https://doi.org/10.1186/s40104-](https://doi.org/10.1186/s40104-019-0329-6)
163 [019-0329-6](https://doi.org/10.1186/s40104-019-0329-6)
- 164 Dieleman, S.J., Bevers, M.M., Poortman, J., Van Tol, H.T.M., Uithof, D., Utrecht, T.D.,
165 1983. Steroid and pituitary hormone concentrations in the fluid of preovulatory
166 bovine follicles relative to the peak of LH in the peripheral blood. *Journal*
167 *Reproduction* 69, 641–649.
- 168 Dobson, H., Smith, R.F., 2000. What is stress, and how does it affect reproduction? *Anim*
169 *Reprod Sci* 60, 743–752.
- 170 Dobson', H., Tebble, J.E., Smith, R.F., Ward, W.R., 2001. IS STRESS REALLY ALL
171 THAT IMPORTANT? *Theriogenology* 55, 65–73.
- 172 D'Occhio, M.J., Baruselli, P.S., Campanile, G., 2019. Influence of nutrition, body
173 condition, and metabolic status on reproduction in female beef cattle: A review.
174 *Theriogenology* 125, 277–284.
175 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.11.010>
- 176 Evans, N.P., Dahl, G.E., Mauger, D., Karsch, F.J., 1995. Estradiol Induces both
177 Qualitative and Quantitative Changes in the Pattern of Gonadotropin-Releasing
178 Hormone Secretion during the Presurge Period in the Ewe*. *Endocrinology* 136.
- 179 Fernandez-Novo, A., Pérez-Garnelo, S.S., Villagrà, A., Pérez-Villalobos, N., Astiz, S.,
180 2020. The effect of stress on reproduction and reproductive technologies in beef
181 cattle—A review. *Animals* 10, 1–23. <https://doi.org/10.3390/ani10112096>
- 182 Francisco, C.L., Castilhos, A.M., Silva, D.C.M., Silva, F.M., Meirelles, P.R.L., Cooke,
183 R.F., Jorge, A.M., 2020. Temperament of Nelore growing-steers receiving
184 supplementation in grazing system: Performance, ultrasound measures, feeding
185 behavior, and serum parameters. *Livest Sci* 241.
186 <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2020.104203>



- 187 Freetly, H.C., Cundiff, L. V, 1998. Reproductive Performance, Calf Growth, and Milk
188 Production of First-Calf Heifers Sired by Seven Breeds and Raised on Different
189 Levels of Nutrition. *American Society of Animal Science* 76, 1513–1522.
- 190 García-Ispierto, I., López-Gatius, F., Santolaria, P., Yániz, J.L., Nogareda, C., López-
191 Béjar, M., De Rensis, F., 2006. Relationship between heat stress during the peri-
192 implantation period and early fetal loss in dairy cattle. *Theriogenology* 65, 799–807.
193 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.06.011>
- 194 Ginther, O.J., Bergfelt, D.R., Beg, M.A., Kot, K., 2001. Follicle selection in cattle:
195 Relationships among growth rate, diameter ranking, and capacity for dominance.
196 *Biol Reprod* 65, 345–350. <https://doi.org/10.1095/biolreprod65.2.345>
- 197 Ginther, O.J., Wiltbank, M.C., Fricke, P.M., Gibbons, J.R., Kot, K., 1996. Minireview
198 Selection of the Dominant Follicle in Cattle?, *BIOLOGY OF REPRODUCTION*.
- 199 Grassi, D., Marraudino, M., Garcia-Segura, L.M., Panzica, G.C., 2022. The hypothalamic
200 paraventricular nucleus as a central hub for the estrogenic modulation of
201 neuroendocrine function and behavior. *Front Neuroendocrinol*.
202 <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2021.100974>
- 203 Grings, E.E., Geary, T.W., Short, R.E., MacNeil, M.D., 2007. Beef heifer development
204 within three calving systems. *J Anim Sci* 85, 2048–2058.
205 <https://doi.org/10.2527/jas.2006-758>
- 206 Gutierrez, K., Kasimanickam, R., Tibary, A., Gay, J.M., Kastelic, J.P., Hall, J.B.,
207 Whittier, W.D., 2014. Effect of reproductive tract scoring on reproductive efficiency
208 in beef heifers bred by timed insemination and natural service versus only natural
209 service. *Theriogenology* 81, 918–924.
210 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.01.008>
- 211 Gutiérrez-Reinoso, M.A., Aponte, P.M., Cabezas, J., Rodriguez-Alvarez, L., Garcia-
212 Herreros, M., 2020. Genomic evaluation of primiparous high-producing dairy cows:
213 Inbreeding effects on genotypic and phenotypic production–reproductive traits.
214 *Animals* 10, 1–18. <https://doi.org/10.3390/ani10091704>
- 215 Han, Y., Jiang, T., Shi, J., Liu, A., Liu, L., 2023. Review: Role and regulatory mechanism
216 of inhibin in animal reproductive system. *Theriogenology* 202, 10–20.
217 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2023.02.016>
- 218 Herbut, P., Hoffmann, G., Angrecka, S., Godyn, D., Vieira, F.M.C., Adamczyk, K.,
219 Kupczyński, R., 2021. The effects of heat stress on the behaviour of dairy cows-A
220 review. *Annals of Animal Science*. <https://doi.org/10.2478/aoas-2020-0116>
- 221 Herd, D.B., Sprott, L.R., 1986. Body Condition, Nutrition and Reproduction of Beef
222 Cows. *Agri Life Extension* 1526.



- 223 Hernandez, A., Galina, C.S., Geffroy, M., Jung, J., Westin, R., Berg, C., 2022. Cattle
224 welfare aspects of production systems in the tropics. *Anim Prod Sci*.
225 <https://doi.org/10.1071/an21230>
- 226 Hosie, J., Rowe, S.M., Morton, J.M., Tranter, W.P., Cavalieri, J., 2019. Use of a sanitary
227 sheath at artificial insemination by nonprofessional technicians does not markedly
228 improve pregnancy rates to artificial insemination in pasture-based dairy cows. *J*
229 *Dairy Sci* 102, 5588–5598. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-16082>
- 230 Huang, C.J., Webb, H.E., Zourdos, M.C., Acevedo, E.O., 2013. Cardiovascular reactivity,
231 stress, and physical activity. *Front Physiol*.
232 <https://doi.org/10.3389/fphys.2013.00314>
- 233 Hughes, H.D., Carroll, J.A., Sanchez, N.C.B., Richeson, J.T., 2014. Natural variations in
234 the stress and acute phase responses of cattle. *Innate Immun*.
235 <https://doi.org/10.1177/1753425913508993>
- 236 Hultgren, J., Segerkvist, K.A., Berg, C., Karlsson, A.H., Öhgren, C., Algers, B., 2022.
237 Preslaughter stress and beef quality in relation to slaughter transport of cattle. *Livest*
238 *Sci* 264. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2022.105073>
- 239 Jiang, Z., Rajamanickam, S., Justice, N.J., 2019. CRF signaling between neurons in the
240 paraventricular nucleus of the hypothalamus (PVN) coordinates stress responses.
241 *Neurobiol Stress* 11. <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2019.100192>
- 242 Jinks, E.M., Smith, M.F., Atkins, J.A., Pohler, K.G., Perry, G.A., Macneil, M.D., Roberts,
243 A.J., Waterman, R.C., Alexa, L.J., Geary, T.W., 2012. Preovulatory estradiol and
244 the establishment and maintenance of pregnancy in suckled beef cows 1. *J. Anim*.
245 *Sci* 91, 1176–1185. <https://doi.org/10.2527/jas2012-5611>
- 246 KARLSON, P., LÜSCHER, M., 1959. ‘Pheromones’: a New Term for a Class of
247 Biologically Active Substances. *Nature* 183, 55–56.
248 <https://doi.org/10.1038/183055a0>
- 249 Kasimanickam, R., Schroeder, S., Assay, M., Kasimanickam, V., Moore, D., Gay, J.,
250 Whittier, W., 2014. Influence of Temperament Score and Handling Facility on
251 Stress, Reproductive Hormone Concentrations, and Fixed Time AI Pregnancy Rates
252 in Beef Heifers. *Reproduction in Domestic Animals* 49, 775–782.
253 <https://doi.org/10.1111/rda.12368>
- 254 Kastelic, J.P., Ginther, O.J., 1990. Relationship between ultrasonic assessment of the
255 corpus luteum and plasma progesterone concentration in heifers. *Theriogenology* 33.
- 256 Kekan, P.M., Ingole, S.D., Sirsat, S.D., Bharucha, S. V., Kharde, S.D., Nagvekar, A.S.,
257 2017. The role of pheromones in farm animals - A review. *Agricultural Reviews* 38.
258 <https://doi.org/10.18805/ag.v38i02.7939>
- 259 Kondo, Y., Hayashi, H., 2021. Neural and hormonal basis of opposite-sex preference by
260 chemosensory signals. *Int J Mol Sci*. <https://doi.org/10.3390/ijms22158311>



- 261 Koren, L., Mokady, O., Karaskov, T., Klein, J., Koren, G., Geffen, E., 2002. A novel
262 method using hair for determining hormonal levels in wildlife. *Anim Behav.*
263 <https://doi.org/10.1006/anbe.2001.1907>
- 264 Lensink, B.J., Boivin, X., Pradel, P., Le Neindre, P., Veissier, I., 2000. Reducing veal
265 calves' reactivity to people by providing additional human contact 1,2, *J. Anim. Sci.*
- 266 Li, Q., Jimenez-Krassel, F., Bettegowda, A., Ireland, J.J., Smith, G.W., 2007. Evidence
267 that the preovulatory rise in intrafollicular progesterone may not be required for
268 ovulation in cattle. *Journal of Endocrinology* 192, 473–483.
269 <https://doi.org/10.1677/JOE-06-0020>
- 270 Lonergan, P., Sánchez, J.M., 2020. Symposium review: Progesterone effects on early
271 embryo development in cattle. *J Dairy Sci* 103, 8698–8707.
272 <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18583>
- 273 Magata, F., Tsukamura, H., Matsuda, F., 2023a. The impact of inflammatory stress on
274 hypothalamic kisspeptin neurons: Mechanisms underlying inflammation-associated
275 infertility in humans and domestic animals. *Peptides (N.Y.)* 162.
276 <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2023.170958>
- 277 Magata, F., Tsukamura, H., Matsuda, F., 2023b. The impact of inflammatory stress on
278 hypothalamic kisspeptin neurons: Mechanisms underlying inflammation-associated
279 infertility in humans and domestic animals. *Peptides (N.Y.)* 162.
280 <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2023.170958>
- 281 Mapletoft, R.J., Bó, G.A., Baruselli, P.S., Menchaca, A., Sartori, R., 2018. Evolution of
282 knowledge on ovarian physiology and its contribution to the widespread application
283 of reproductive biotechnologies in South American cattle. *Anim Reprod* 15, 1003–
284 1014. <https://doi.org/10.21451/1984-3143-AR2018-0007>
- 285 Marinho, A.L.M., Socolosk, ; S N G, Gomes, ; S C, Santos, ; R, Castro, ; B G, 2016.
286 Inseminação artificial na fêmea bovina Artificial insemination in bovine. *Scientific*
287 *Eletronic Archives.*
- 288 Martin, J.L., Vonnahme, K.A., Adams, D.C., Lardy, G.P., Funston, R.N., 2007. Effects
289 of dam nutrition on growth and reproductive performance of heifer calves. *J Anim*
290 *Sci* 85, 841–847. <https://doi.org/10.2527/jas.2006-337>
- 291 Martins, T., Pugliesi, G., Sponchiado, M., Cardoso, B.O., Gomes, N.S., Mello, B.P.,
292 Celeghini, E.C.C., Binelli, M., 2019. Supplementation with long-acting
293 progesterone in early diestrus in beef cattle: I. effect of artificial insemination on
294 onset of luteolysis. *Domest Anim Endocrinol* 67, 63–70.
295 <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2018.12.002>
- 296 Martins, T., Talamoni, J.P., Sponchiado, M., Maio, J.R.G., Nogueira, G.P., Pugliesi, G.,
297 Binelli, M., 2017. Impact of estradiol cypionate prior to TAI and progesterone
298 supplementation at initial diestrus on ovarian and fertility responses in beef cows.



- 299 Theriogenology 104, 156–163.
300 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.08.017>
- 301 Mastromonaco, G.F., Gonzalez-Grajales, A.L., 2020. Reproduction in female wild cattle:
302 Influence of seasonality on ARTs. *Theriogenology* 150, 396–404.
303 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.02.016>
- 304 Mcclintwk, M.K., 1978. Estrous Synchrony and Its Mediation by Airborne Chemical
305 Communication (*Rattus norvegicus*). *Horm Behav* 10, 264–276.
- 306 McIntosh, M.M., Spiegall, S.A., McIntosh, S.Z., Castaño Sanchez, J., Estell, R.E., Steele,
307 C.M., Elias, E.H., Bailey, D.W., Brown, J.R., Cibils, A.F., 2023. Matching beef
308 cattle breeds to the environment for desired outcomes in a changing climate: A
309 systematic review. *J Arid Environ* 211.
310 <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2022.104905>
- 311 McMahan, M., Gerich, J., Rizzat, R., 1988. Effects of Glucocorticoids on Carbohydrate
312 Metabolism. *Clinical Research* 4, 17–30.
- 313 Mello, B.P., Maturana Filho, M., Lemes, K.M., Gonçalves, R.L., Lollato, J.P.M., Zanella,
314 A.J., Ferreira, T.F. de V., Pugliesi, G., Madureira, E.H., Gonella-Diaza, A.,
315 Membrive, C.M.B., 2020. Importance of temperament in the pregnancy by timed
316 insemination in bovine females *Bos taurus indicus*. *Livest Sci* 240.
317 <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2020.104104>
- 318 Meneses, J.A.M., de Sá, O.A.A.L., Coelho, C.F., Pereira, R.N., Batista, E.D., Ladeira,
319 M.M., Casagrande, D.R., Gionbelli, M.P., 2021. Effect of heat stress on ingestive,
320 digestive, ruminal and physiological parameters of Nellore cattle feeding low- or
321 high-energy diets. *Livest Sci* 252. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2021.104676>
- 322 Miller, L., 2018. The Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis: A Brief History. *Karger*
323 *Journals* 89, 212–223.
- 324 Moreira, F., De La Sota, R.L., Diaz, T., Thatcher, W.W., 2000. Effect of day of the estrous
325 cycle at the initiation of a timed artificial insemination protocol on reproductive
326 responses in dairy heifers 1. *J. Anim. Sci* 78, 1568–1576.
- 327 Mostafa, T., Khouly, G. El, Hassan, A., 2012. Pheromones in sex and reproduction: Do
328 they have a role in humans? *J Adv Res*. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2011.03.003>
- 329 Murata, H., Shimada, N., Yoshioka, M., 2004. Current research on acute phase proteins
330 in veterinary diagnosis: An overview. *Veterinary Journal* 168, 28–40.
331 [https://doi.org/10.1016/S1090-0233\(03\)00119-9](https://doi.org/10.1016/S1090-0233(03)00119-9)
- 332 Murdoch, W.J., Kirk, E.A. Van, 1998. Luteal Dysfunction in Ewes Induced to Ovulate
333 Early in the Follicular Phase*. *Endocrinology* 139, 3480–3484.
- 334 Naranjo-Gómez, J.S., Uribe-García, H.F., Herrera-Sánchez, M.P., Lozano-Villegas, K.J.,
335 Rodríguez-Hernández, R., Rondón-Barragán, I.S., 2021. Heat stress on cattle



- 336 embryo: gene regulation and adaptation. *Heliyon* 7.
337 <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06570>
- 338 NASEM, 2016. NRC GADO DE CORTE, 8th ed. Washington.
- 339 Nishimura, T.K., Martins, T., da Silva, M.I., Lafuente, B.S., de Garla Maio, J.R., Binelli,
340 M., Pugliesi, G., Saran Netto, A., 2018. Importance of body condition score and
341 ovarian activity on determining the fertility in beef cows supplemented with long-
342 acting progesterone after timed-AI. *Anim Reprod Sci* 198, 27–36.
343 <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.08.042>
- 344 Nowak, R., Keller, M., Lévy, F., 2011. Mother-young relationships in sheep: A model for
345 a multidisciplinary approach of the study of attachment in mammals. *J*
346 *Neuroendocrinol* 23, 1042–1053. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2011.02205.x>
- 347 Núñez-Olivera, R., Bó, G.A., Menchaca, A., 2022. Association between length of
348 proestrus, follicular size, estrus behavior, and pregnancy rate in beef heifers
349 subjected to fixed-time artificial insemination. *Theriogenology* 181, 1–7.
350 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2021.12.028>
- 351 Oosthuizen, N., Cooke, R.F., Schubach, K.M., Fontes, P.L.P., Brandão, A.P., Oliveira
352 Filho, R. V., Colombo, E.A., Franco, G.A., Reese, S., Pohler, K.G., Lamb, G.C.,
353 2020. Effects of estrous expression and intensity of behavioral estrous symptoms on
354 variables associated with fertility in beef cows treated for fixed-time artificial
355 insemination. *Anim Reprod Sci* 214.
356 <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106308>
- 357 Osella, M.C., Cozzi, A., Spegis, C., Turille, G., Barmaz, A., Lecuelle, C.L., Teruel, E.,
358 Bienboire-Frosini, C., Chabaud, C., Bougrat, L., Pageat, P., 2018. The effects of a
359 synthetic analogue of the Bovine Appeasing Pheromone on milk yield and
360 composition in Valdostana dairy cows during the move from winter housing to
361 confined lowland pastures. *Journal of Dairy Research* 85, 174–177.
362 <https://doi.org/10.1017/S0022029918000262>
- 363 Padgett, D.A., Glaser, R., 2003. How stress influences the immune response. *Trends*
364 *Immunol.* [https://doi.org/10.1016/S1471-4906\(03\)00173-X](https://doi.org/10.1016/S1471-4906(03)00173-X)
- 365 Pageat, P., Gaultier, E., Pherosynthese, M.A., 2003. Current research in canine and feline
366 pheromones. *The Veterinary Clinics Small Animal Practice* 33, 187–211.
- 367 Patel, B.N., Dunn, R.J., Jeong, Y., Zhu, Q., Julien, J.-P., David, S., 2002. Ceruloplasmin
368 Regulates Iron Levels in the CNS and Prevents Free Radical Injury.
- 369 Patra, M.K., Kumar, H., 2012. Potential application of pheromones in
370 reproduction of farm animals - A review. *Agricultural Research*
371 *Communication Centre* 33, 82–86.



- 372 Patterson, D.J., Perry+, R.C., Kiracofe, H., Bellows, R.A., Staigmiller, R.B., Corahg,
373 L.R., 1992. Management Considerations in Heifer Development and Pubertyll'.
374 Journal Animal Science 70, 4018–4035.
- 375 Perry, G.A., Swanson, O.L., Larimore, E.L., Perry, B.L., Djira, G.D., Cushman, R.A.,
376 2014. Relationship of follicle size and concentrations of estradiol among cows
377 exhibiting or not exhibiting estrus during a fixed-time AI protocol. Domestic Anim
378 Endocrinol 48, 15–20. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2014.02.001>
- 379 Petherick, J.C., 2005. Animal welfare issues associated with extensive livestock
380 production: The northern Australian beef cattle industry. Appl Anim Behav Sci 92,
381 211–234. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2005.05.009>
- 382 Petherick, J.C., Doogan, V.J., Venus, B.K., Holroyd, R.G., Olsson, P., 2009. Quality of
383 handling and holding yard environment, and beef cattle temperament: 2.
384 Consequences for stress and productivity. Appl Anim Behav Sci 120, 28–38.
385 <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2009.05.009>
- 386 Pfeifer, L.F.M., Castro, N.A., Neves, P.M.A., Cestaro, J.P., Siqueira, L.G.B., 2017.
387 Development and validation of an objective method for the assessment of body
388 condition scores and selection of beef cows for timed artificial insemination. Livest
389 Sci 197, 82–87. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2017.01.011>
- 390 Plasse, D., Warnick, A.C., Koger, M., 1970. Reproductive Behavior of Bos Indicus
391 Females in a Subtropical Environment. IV. Length of Estrous Cycle, duration of
392 Estrus, Time of Ovulation, Fertilization and Embryo Survival in Grade Brahman
393 Heifers. J Anim Sci 30, 63–72.
- 394 Pohler, Ky.G., Geary, T.W., Atkins, J.A., Perry, G.A., Jinks, E.M., Smith, M.F., 2012.
395 Follicular determinants of pregnancy establishment. Cell Tissue Res 349, 649–664.
- 396 Poindron, P., Lévy, F., Keller, M., 2007. Maternal responsiveness and maternal
397 selectivity in domestic sheep and goats: The two facets of maternal attachment. Dev
398 Psychobiol 49, 54–70. <https://doi.org/10.1002/dev.20192>
- 399 Poock, S.E., Payne, C.A., 2013. Incorporating reproductive management of beef heifers
400 into a veterinary practice. Veterinary Clinics of North America - Food Animal
401 Practice 29, 667–678. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2013.07.010>
- 402 R. F. Cooke, 2014. Temperament and acclimation to human handling influence growth,
403 health, and reproductive responses in Bos taurus and Bos indicus cattle.
- 404 Rault, J.L., Waiblinger, S., Boivin, X., Hemsworth, P., 2020. The Power of a Positive
405 Human–Animal Relationship for Animal Welfare. Front Vet Sci.
406 <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.590867>
- 407 Rekwot, P.I., Ogwu, D., Oyedipe, E.O., Sekoni, V.O., 2001. The role of pheromones and
408 biostimulation in animal reproduction, Animal Reproduction Science.



- 409 Rivard, G., Klemm, W.R., 1989. Two body fluids containing bovine estrous
410 pheromone(s). *Chem Senses* 14, 273–279. <https://doi.org/10.1093/chemse/14.2.273>
- 411 Röttgen, V., Schön, P.C., Becker, F., Tuchscherer, A., Wrenzycki, C., Döpjan, S., Puppe,
412 B., 2020. Automatic recording of individual oestrus vocalisation in group-housed
413 dairy cattle: Development of a cattle call monitor. *Animal* 14, 198–205.
414 <https://doi.org/10.1017/S1751731119001733>
- 415 Rueda, P.M., Sant’Anna, A.C., Valente, T.S., Paranhos da Costa, M.J.R., 2015. Impact
416 of the temperament of Nellore cows on the quality of handling and pregnancy rates
417 in fixed-time artificial insemination. *Livest Sci* 177, 189–195.
418 <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2015.04.021>
- 419 Rushen, J., Munksgaard, L., Marnet, P.G., Depassille, A.M., 2001. Human contact and
420 the effects of acute stress on cows at milking. *Appl Anim Behav Sci* 73, 1–14.
- 421 Rutten, C.J., Velthuis, A.G.J., Steeneveld, W., Hogeveen, H., 2013. Invited review:
422 Sensors to support health management on dairy farms. *J Dairy Sci* 96, 1928–1952.
423 <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6107>
- 424 Scott, C.J., Rose, J.L., Gunn, A.J., McGrath, B.M., 2018. Kisspeptin and the regulation
425 of the reproductive axis in domestic animals. *Journal of Endocrinology*.
426 <https://doi.org/10.1530/JOE-18-0485>
- 427 Selye, H., 1936. A Syndrome produced by Diverse Nocuous Agents. *Nature* 32–32.
- 428 Sheng, J.A., Bales, N.J., Myers, S.A., Bautista, A.I., Roueinfar, M., Hale, T.M., Handa,
429 R.J., 2021. The Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis: Development, Programming
430 Actions of Hormones, and Maternal-Fetal Interactions. *Front Behav Neurosci*.
431 <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2020.601939>
- 432 Taylor, K., Mills, D.S., 2007. A placebo-controlled study to investigate the effect of Dog
433 Appeasing Pheromone and other environmental and management factors on the
434 reports of disturbance and house soiling during the night in recently adopted puppies
435 (*Canis familiaris*). *Appl Anim Behav Sci* 105, 358–368.
436 <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2006.11.003>
- 437 Tilbrook, A.J., Clarke, I.J., 2006. Neuroendocrine mechanisms of innate states of
438 attenuated responsiveness of the hypothalamo-pituitary adrenal axis to stress. *Front*
439 *Neuroendocrinol.* <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2006.06.002>
- 440 Toufexis, D., Rivarola, M.A., Lara, H., Viau, V., 2014. Stress and the reproductive axis.
441 *J Neuroendocrinol.* <https://doi.org/10.1111/jne.12179>
- 442 Turner, A.I., Hemsworth, P.H., Tilbrook, A.J., 2002. Susceptibility of reproduction in
443 female pigs to impairment by stress and the role of the hypothalamo-pituitary-
444 adrenal axis. *Reprod Fertil Dev.* <https://doi.org/10.1071/rd02012>
- 445 Van Soest, P.J., 1994. *Nutritional Ecology of the Ruminant*, 2nd ed.



- 446 Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A., 1991. Methods for Dietary Fiber, Neutral
447 Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. *J*
448 *Dairy Sci* 74, 3583–3597. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2)
- 449 Vedovatto, M., Faria, F.J.C., Costa, D.S., Cooke, R.F., Sanchez, J.M.D., Moriel, P.,
450 Coelho, R.N., Franco, G.L., 2021. Effects of temperament on body parameters,
451 ovarian structures and inflammatory response in grazing Nellore cows following
452 fixed-time artificial insemination. *Journal of Veterinary Behavior* 44, 50–54.
453 <https://doi.org/10.1016/j.jveb.2021.03.005>
- 454 Vedovatto, M., Leccioli, R.B., Lima, E. de A., Rocha, R.F.A.T., Coelho, R.N., Moriel,
455 P., da Silva, L.G., Ferreira, L.C.L., da Silva, A.F., Alves dos Reis, W.V., de Oliveira,
456 D.M., Franco, G.L., 2022. Impacts of body condition score at beginning of fixed-
457 timed AI protocol and subsequent energy balance on ovarian structures, estrus
458 expression, pregnancy rate and embryo size of *Bos indicus* beef cows. *Livest Sci*
459 256. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2022.104823>
- 460 Weiss, W.P., Conrad, H.R., Pierre, N.R. St., 1992. A theoretically-based model for
461 predicting total digestible nutrient values of forages and concentrates. *Anim Feed*
462 *Sci Technol* 39, 95–100.
- 463 Wolfenson, D., Roth, Z., Meidan, R., 2000. Impaired reproduction in heat-stressed cattle:
464 basic and applied aspects. *Anim Reprod Sci* 60, 535–547.
- 465 Yamazaki, K., Beauchamp, G.K., Curran, M., Bard, J., Boyse, E.A., 2000. Parent-
466 progeny recognition as a function of MHC odortype identity. Tucson.
- 467 Yıldırım, M., Çakır, D.Ü., Yurtman, İ.Y., 2022. Effects of restricted nutrition and flushing
468 on reproductive performance and metabolic profiles in sheep. *Livest Sci* 258.
469 <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2022.104870>
- 470 Yoshioka, M., Watanabe, A., Shimada, N., Murata, H., Yokomizo, Y., Nakajima, Y.,
471 2002. Regulation of haptoglobin secretion by recombinant bovine cytokines in
472 primary cultured bovine hepatocytes, *Domestic Animal Endocrinology*.
- 473
474



TABELAS E FIGURAS

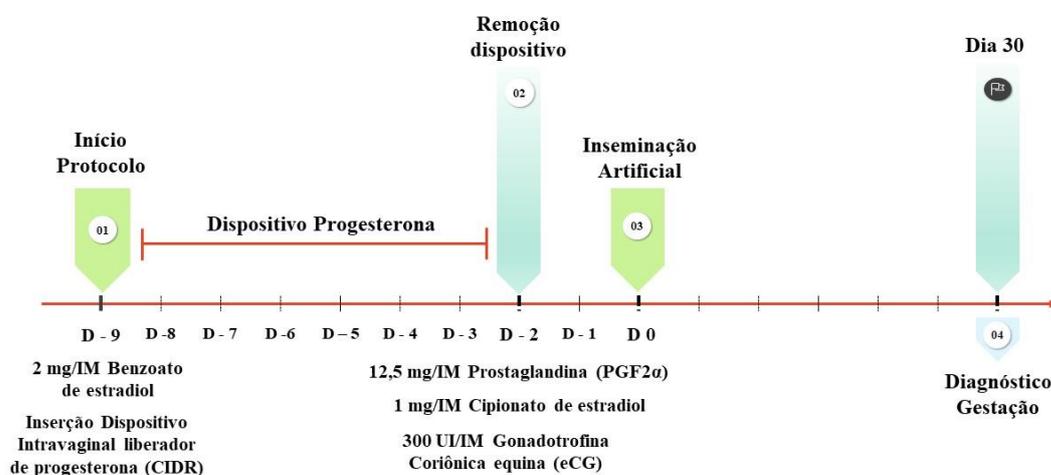
1
2

3 **Tabela 1.** Composição química da gramínea Marandu, pastejada por novilhas durante o experimento.

Ítems ¹	ASAB	SALINA	SALINE e ASAB	
	d-9	d-9	d7	d30
Matéria Seca (MS), g/kg	928	926	935	932
Proteína Bruta g/kg of MS	92.9	67.5	119	54.6
FDN %	62.7	63.37	68.72	74.57
FDA %	34.46	34.47	41.64	46.27
Lignina %	5.04	4.68	7.82	16.4
Extrato Etéreo %	1.27	1.23	1.1	0.80
Cinzas %	10.64	11.68	10.72	9.58
NDT ² g/Kg	580.7	574.8	518.8	396.4
Mcal/kg of MS	2.56	2.53	2.29	1.75
NEm ³ ,	1.25	1.23	1.03	0.59
NEg ³ , Mcal/kg	0.68	0.66	0.48	0.06

4 FDN, fibra em detergente neutro; FDA, fibra em detergente ácido; NDT, nutrientes digestíveis totais;
5 NEm, energia líquida para manutenção; NEg, energia líquida para ganho.
6 ²Calculo descrito por Weiss et al. (1992).
7 ³Calculo utilizando as equações propostas pelo NASEM (2016).

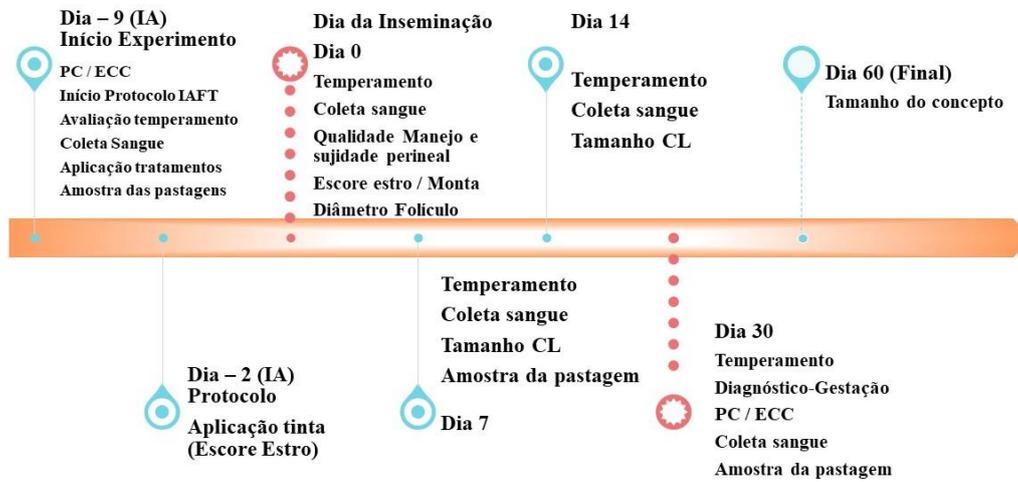
8



9

10 **Figura 1.** Esquema do protocolo de inseminação artificial de tempo fixo (IATF) de d -9 ao d 0. Em d - 9,
11 as novilhas receberam aplicação intramuscular de 2 mg de benzoato de estradiol (Gonadiol; Zoetis, São
12 Paulo, Brasil) e foi inserido com um dispositivo intravaginal liberador de progesterona (PRIMER; Agener).
13 No d -2, o dispositivo foi removido e foi aplicado via intramuscular PGF2 α (12,5 mg; Lutalyse; Zoetis, São
14 Paulo, Brasil), cipionato de estradiol (1 mg; ECP, Brasil) e eCG (300 UI; Novormon; Zoetis). No dia d 0,
15 foi realizado o diagnóstico de gestação

16



17

18 **Figura 2.** Fluxo das etapas desenvolvidas com novilhas submetidas a um protocolo de IATF, aplicação
19 solução Salina (n=14), análogo da substância apaziguadora (n=15) e coleta de amostras

20

21

22

23



24 **Tabela 2.** Parâmetros corporais de novilhas recebendo solução Salina (Salina; n = 14) ou análogo da
25 substância apaziguadora bovina (ASAB; n = 15) no início da inseminação artificial em tempo fixo (d -9)

Itens	Tratamentos ¹			P-valor		
	SALINA	ASAB	SEM	Tratamento	Dia	Tratamento × Dia
Peso corporal, kg				0.07	<0.01	0.05
d -9	371	371	0.77			
d 30	392 ^b	394 ^a	0.77			
Mudança PC, kg						
d -9 ao 30	20.83	23.6	1.03	0.09	-	-
ECC ângulo garupa, °				0.59	0.84	0.58
d -9	121	121	0.82			
d 30	122	121	0.82			
Mudança (d -9 para 30)	0.61	-0.29	1.22	0.60	-	-
ECC visual, 1 - 9				0.23	<0.01	0.05
d -9	4.86	4.84	0.09			
d 30	4.65	4.93	0.09			
Mudança (d -9 para 30)	-0,21	0,05	0.05	<0.01		

26 ¹ Salina = solução Salina; ASAB = análogo da substância apaziguadora bovina. Tratamentos (5 ml) foram
27 topicamente aplicados na pele nucal de cada animal.

28 ^{a-b} Na linha, com diferença ($P \leq 0.05$) ou tendência ($P \leq 0.10$).

29

30



31 **Tabela 3.** Temperamento, qualidade manejo e sujidade região perineal de novilhas recebendo solução
32 Salina (Salina; n = 14) ou análogo da substância apaziguadora bovina (ASAB; n = 15) no início da
33 inseminação artificial em tempo fixo (d -9)

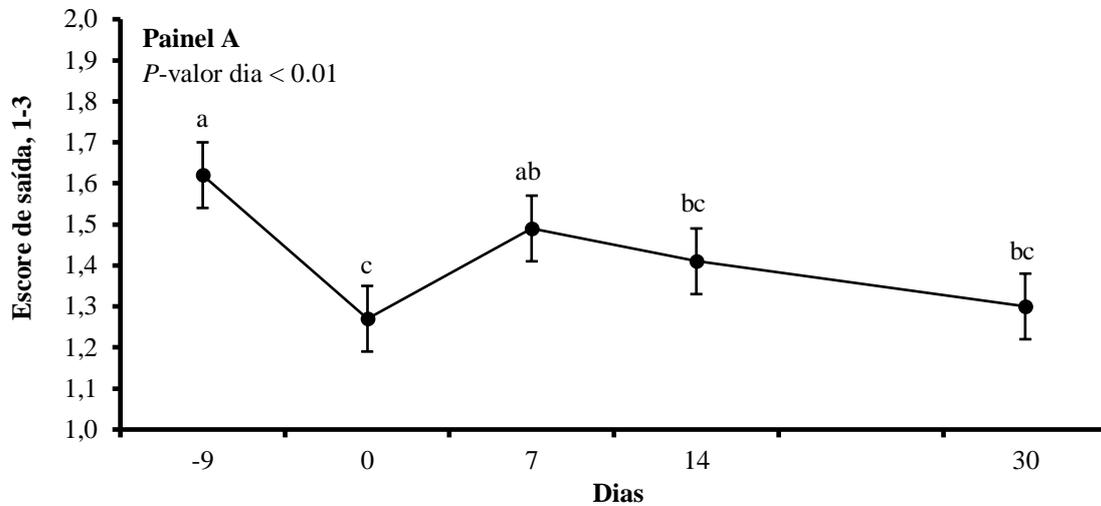
Itens ¹	Tratamento ²			P-valor		
	SALINA	ASA B	SEM	Tratamento	Dia	Tratamento × dia
<i>Temperamento</i>						
Escore entrada (1 – 3)				0.09	0.16	0.73
d -9	1.91	1.58	0.16			
d 0	1.37	1.38	0.16			
d 7	1.65	1.34	0.16			
d 14	1.65	1.41	0.16			
d 30	1.75	1.41	0.16			
Média (d -9 ao d 30)	1.67	1.42	0.08			
Escore Tronco (1 – 5)				0.39	<0.01	0.52
d -9	2.42	2.30	0.17			
d 0	1.92	2.10	0.17			
d 7	1.71	1.52	0.17			
d 14	1.56	1.52	0.17			
d 30	1.56	1.16	0.17			
Média (d -9 ao d30)	1.84	1.72	0.09			
Escore saída (1 – 3)				0.64	<0.01	0.65
d -9	1.74	1.49	0.12			
d 0	1.24	1.29	0.12			
d 7	1.52	1.46	0.12			
d 14	1.43	1.40	0.12			
d 30	1.27	1.33	0.12			
Média (d -9 ao 30)	1.44	1.39	0.07			
<i>Qualidade Manejo e Sujidade</i>						
Agressão, %	7.14	6.67	6.78	0.96	-	-
Acidente, %	35.7	26.7	12.3	0.61		
Tempo Inseminação, s	21.7	19.3	2.50	0.49	-	-
Sujidade região perineal, %	71.15	48.3	8.67	0.06	-	-

34 ¹ SALINA = solução Salina; ASAB = análogo da substância apaziguadora bovina. Tratamentos (5 ml)
35 foram topicamente aplicados na região da nuca de cada animal.

36 ^{a-b} Na linha, com diferença ($P \leq 0.05$) ou tendência ($P \leq 0.10$).

37

38

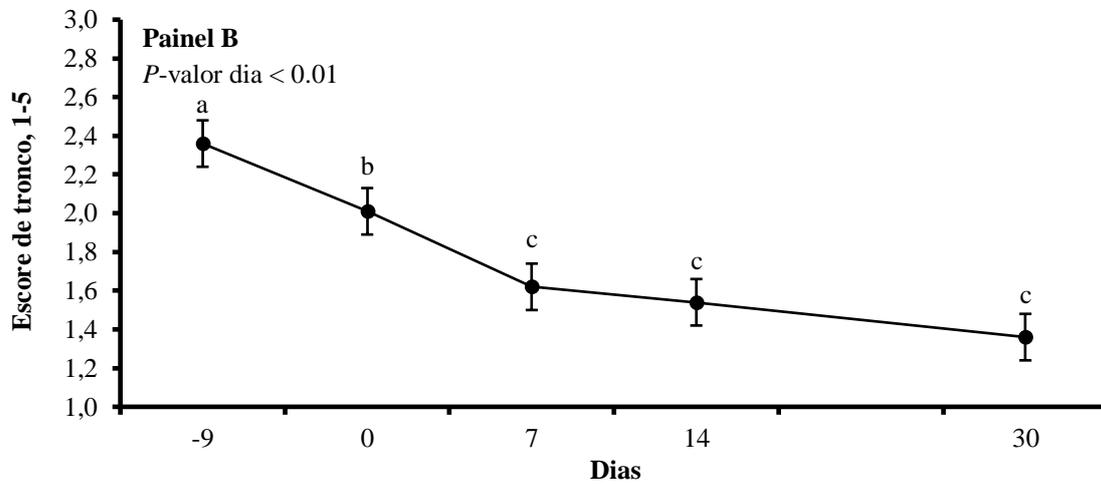


39

40 **Figura 3** Efeitos para dia sobre o temperamento (escore de saída) de novilhas que receberam solução Salina
41 (Salina; n = 14) ou análogo da substância apaziguadora bovina (ASAB; n = 15) no início do protocolo de
42 inseminação artificial em tempo fixo (d -9). Os tratamentos (5 ml) foram aplicados topicamente na região
43 da nuca de cada animal

44

45



46

47 **Figura 4** Efeitos para dia sobre o temperamento (escore de tronco) de novilhas que receberam solução
48 Salina (Salina; n = 14) ou análogo da substância apaziguadora bovina (ASAB; n = 15) no início do protocolo
49 de inseminação artificial em tempo fixo (d -9). Os tratamentos (5 ml) foram aplicados topicamente na região
50 da nuca de cada animal

51

52



53 **Tabela 4.** Variáveis reprodutivas de novilhas que recebem solução Salina (Salina; n = 14) ou substância
54 apaziguadora bovina (ASAB; n = 15) no início da inseminação artificial em tempo fixo (d -9)

Itens ¹	Tratamentos ²		SEM	P-valor
	SALINA	AASAB		
<i>Variáveis Estro</i>				
Escore estro (d 0), 1 – 3	1.27	2.00	0.21	0.02
Monta (d 0), %	50	100	0.09	<0.01
<i>Variáveis Ovarianas</i>				
Diâmetro folículo dominante (d 0), mm	10.30	10.80	0.87	0.70
Diâmetro CL, mm				
d 7	18.9	18.7	0.99	0.85
d 14	17.9	18.5	0.93	0.67
Volume CL, cm ³				
d 7	3.96	3.62	0.57	0.66
d 14	3.15	3.65	0.49	0.46
Progesterona (d14), ng/mL	6.68	5.41	0.68	0.19
Taxa gestação (d30), %	35.71	46.67	13.56	0.57
<i>Tamanho do concepto (d 60)</i>				
Ângulo garupa, mm	34.2	29.9	1.8	0.11
Torácico, mm	14.84	13.80	1.05	0.47

55 ¹Nos protocolos de IATF, no momento da remoção do P4, todas as vacas foram pintadas na região sacral
56 com ASABtão marcador (RaidezMaxi; RAIDEX GmbH, Dettingen/Erms, Alemanha), e no momento
57 IATF, o escore de estro foi avaliado e classificada de acordo com a remoção da tinta na região sacral: 1 –
58 sem remoção de tinta = sem expressão do estro; 2 – pouca remoção da tinta = baixa expressão de estro; 3 –
59 remoção total da tinta = alta expressão de estro (Rodrigues et al., 2019).

60 ² Salina = solução de Salina; ASAB = substância apaziguadora bovina. Os tratamentos (5 mL) foram
61 aplicados topicamente na área da pele da nuca de cada animal.

62

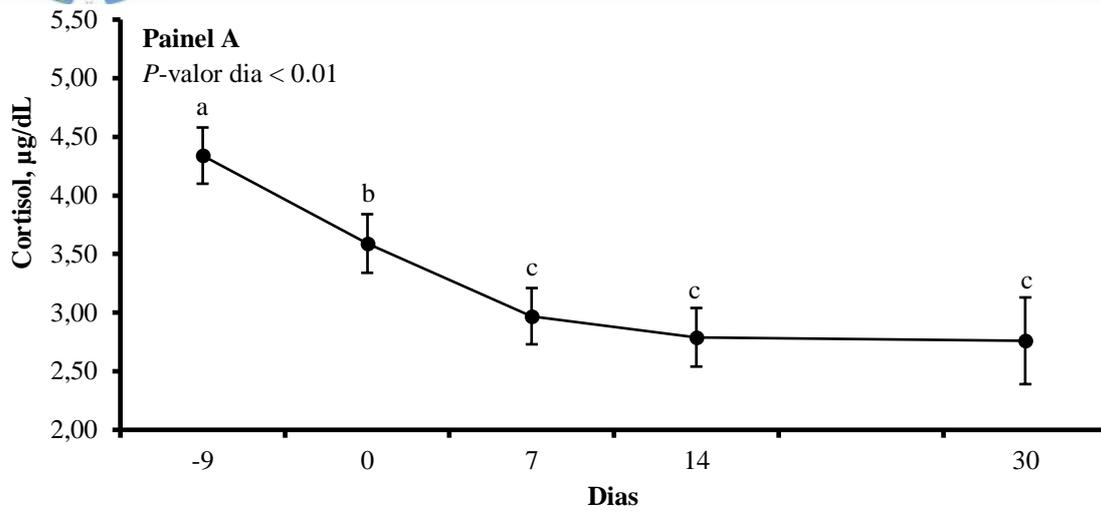
63



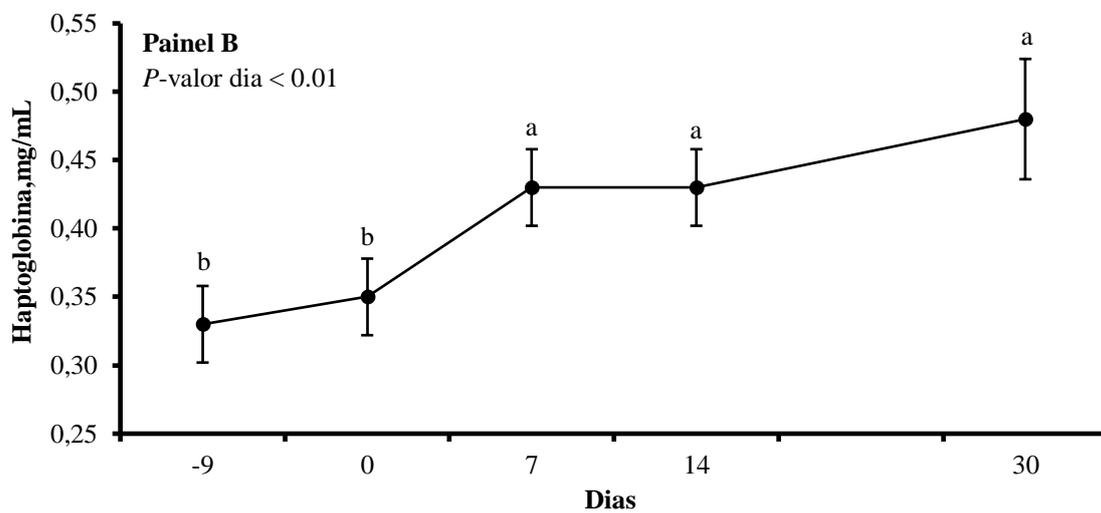
64 **Tabela 5.** Variáveis séricas de novilhas que receberam solução Salina (Salina; n = 14) ou análogo da
65 substância apaziguadora bovina (ASAB; n = 15) no início da inseminação artificial em tempo fixo (d -9)

Itens ¹	Tratamentos ²			P-valor		
	SALINA	ASAB	SEM	Tratamento	Dia	Tratamento × dia
Cortisol (µg/dL)				0.42	<0.01	0.79
d -9	4.40	4.30	0.34			
d 0	3.50	3.68	0.35			
d 7	3.08	2.87	0.34			
d 14	3.14	2.49	0.35			
d 30	3.26	2.78	0.43			
Média (d -9 ao 30)	3.47	3.22	0.21			
Haptoglobina (mg/mL)				0.29	<0.01	0.25
d -9	0.33	0.32	0.04			
d 0	0.35	0.34	0.04			
d 7	0.50	0.36	0.04			
d 14	0.45	0.40	0.04			
d 30	0.44	0.51	0.04			
Média (d -9 ao 30)	0.42	0.39	0.02			
Ceruloplasmina (ng/dL)				0.77	<0.01	0.31
d -9	16.5	15.8	0.85			
d 0	19.3	18.0	0.90			
d 7	16.6	18.9	0.94			
d 14	14.0	14.2	0.91			
d 30	15.4	16.0	1.30			
Média (d -9 ao 30)	16.4	16.6	0.55			

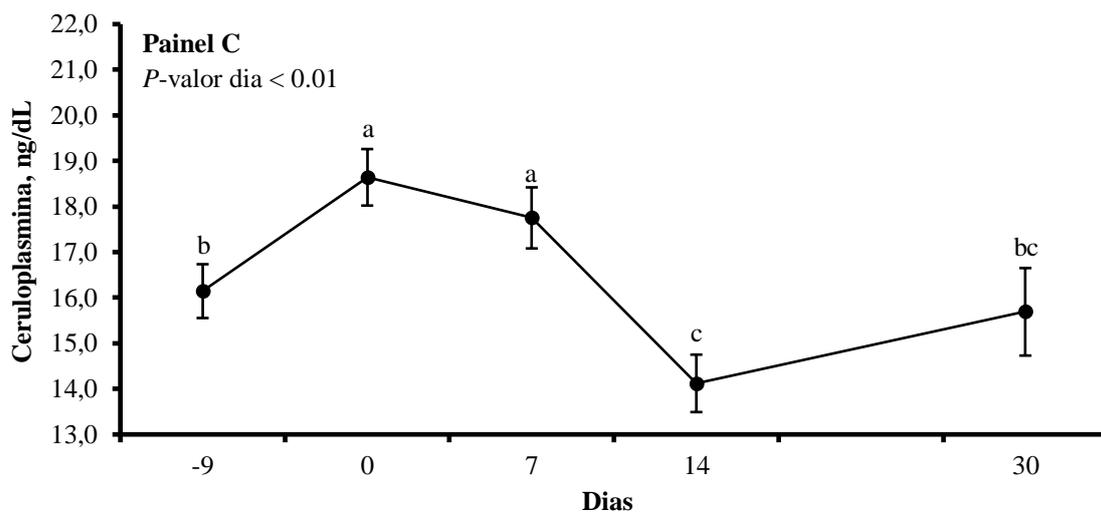
66 ¹ Salina = solução de Salina; ASAB = análogo da substância apaziguadora bovina. Os tratamentos (5 ml)
67 foram aplicados topicamente na região de pele da nuca de cada animal.
68



70



71



72

73 **Figura 5.** Efeitos por dia das variáveis séricas de novilhas que receberam solução Salina (Salina; n = 14)
74 ou análogo da substância apaziguadora bovina (ASAB; n = 15) no início da inseminação artificial em tempo
75 fixo (d -9). Painéis, A= níveis de cortisol (µg/dL), B= níveis de haptoglobina (mg/mL) e C = níveis de
76 ceruloplasmina (ng/dL).



1 **CAPÍTULO 2 – EFEITOS DO ANÁLOGO DA SUBSTÂNCIA**
2 **APAZIGUADORA BOVINA SOBRE O DESEMPENHO, ESTRESSE,**
3 **QUALIDADE DO MANEJO E REPRODUÇÃO DE VACAS NELORE *Bos***
4 ***indicus* SINCRONIZADAS PARA IATF**
5

6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32

O artigo a seguir será submetido
ao periódico *Livestock Science*.



33 **EFEITOS DO ANÁLOGO DA SUBSTÂNCIA APAZIGUADORA BOVINA**
34 **SOBRE O DESEMPENHO, ESTRESSE, QUALIDADE DO MANEJO E**
35 **REPRODUÇÃO DE VACAS NELORE *Bos indicus* SINCRONIZADAS PARA**
36 **IATF**

37
38 **RESUMO**

39 Este estudo avaliou os efeitos do análogo da substância apaziguadora bovina (ASAB) no
40 início do protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) e subsequente
41 mudança no escore de condição corporal (ECC), temperamento, qualidade do manejo,
42 sujidade na região perineal, variáveis de estro, variáveis ovarianas, taxa de prenhez,
43 tamanho do conceito e variáveis séricas de vacas Nelore. Sessenta e oito vacas
44 (multíparas) foram selecionadas de acordo com temperamento e ECC e posteriormente
45 alocadas de forma aleatória em dois tratamentos: 1) Solução Salina (Salina; 0,9 NaCl; n =
46 34) ou; ASAB (n = 34) ambas as soluções foram aplicadas topicamente entre os cornos
47 na região da nuca (5 mL/vaca). Durante o d -11 ao d 7, as vacas foram mantidas em dois
48 piquetes, separadas por tratamento e então (d 7 ao d 60) reagrupadas em um único grupo.
49 O ECC foi avaliado no d -11, 0, 7, 14 e d 30. O temperamento foi avaliado no tronco de
50 contenção, utilizando o escore de entrada e escore de saída (1-3; maior valor, mais
51 estressada) e o escore de tronco (1-5; maior valor, mais estressada) no d -11,-2, 0, 7, 14 e
52 30, juntamente com as coletas de sangue. Foram avaliados os diâmetros (mm) dos
53 folículos dominantes no dia da IA (d 0) e os diâmetros da CL (d 7 e d14) após a IA (d 0).
54 Foram observado diferença no ECC ângulo de garupa e visual ($P < 0.01$) para dia. Para
55 as variáveis de temperamento não foi observado diferenças entre os tratamentos ($P =$
56 0.68). Nas variáveis qualidade de manejo, agressão ($P = 0.08$) e tempo para inseminar (P
57 = 0.01), as vacas do tratamento ASAB tendeu ser mais calmas durante o manejo e
58 desprenderam menos tempo para inseminar em relação ao tratamento Salina. Portanto, o
59 ASAB administrada no décimo primeiro dia antes da IA, não interferiu no ECC,
60 temperamento, sujidade na região perineal, variáveis de estro, variáveis ovarianas,
61 progesterona, taxa de gestação, tamanho de conceito e variáveis séricas.

62
63
64 **Palavras - Chave:** cortisol; feromônio; ovário; temperamento

65
66
67
68
69
70
71
72



INTRODUÇÃO

73
74

75 A eficiência reprodutiva de vacas está associada a diversos fatores, como estresse,
76 nutrição, manejo e doenças (Cooke and Bohnert, 2011). Sendo assim, vacas submetidas
77 a protocolos de IATF, estão sendo manejadas rotineiramente, com isso podem manifestar
78 alterações comportamentais e ou psicológicas, podendo apresentar baixa taxa de prenhez
79 (Cooke et al., 2011; Kasimanickam et al., 2014).

80 A ocorrência de efeitos indesejados relacionados a eficiência reprodutiva, pode
81 ocorrer devido a secreção de diversos hormônios, como cortisol, adrenalina e
82 noradrenalina, sendo todos esses associados ao estresse (Aires, 2008). O aumento desses
83 hormônios está correlacionado com a ativação do eixo hipotalâmico hipofisário adrenal
84 (HHA) (Couto et al., 2022), pois esses hormônios interferem na liberação do LH
85 (Marinho et al., 2016), no desenvolvimento folicular e conseqüentemente no diâmetro
86 corpo lúteo, desempenho reprodutivo e perda embrionária (Cooke et al., 2011; Debus et
87 al., 2002; García-Ispierto et al., 2006).

88 Os animais quando expostos a um agente estressor, desencadeiam adaptações
89 fisiológicas para manter a homeostase, através de mecanismos intrínsecos que estimulam
90 o HHA (García-Ispierto et al., 2006; Sheng et al., 2021). As respostas de fase aguda
91 impactam na imunidade, temperamento, metabolismo, sistema nervoso autônomo e,
92 conseqüentemente, a reprodução (Brandão and Cooke, 2021; Carroll and Forsberg, 2007).

93 Sendo assim, estudos direcionados a minimizar efeitos indesejáveis relacionados
94 ao bem-estar dos animais e para otimizar o desempenho reprodutivo, tem se intensificado
95 (Han et al., 2023; Magata et al., 2023b; McIntosh et al., 2023). A substância apaziguadora
96 bovina (ASAB) tem demonstrado resultados satisfatórios relacionados a minimizar o
97 estresse em bovinos, otimizando o desempenho dos animais, minimizando o estresse
98 causado pelo desmame dos bezerros e diminuindo a incidência de doenças no rebanho
99 (Cappelozza et al., 2020; Cooke et al., 2020). O ASAB é uma substância sintética
100 composta por ácidos graxos semelhante ao sintetizado na glândula mamária (Cooke et al.,
101 2020).

102 Entretanto, não temos conhecimento de estudos avaliando os efeitos do ASAB na
103 reprodução de vacas Nelore múltíparas de corte. Nossa hipótese é que a administração do
104 ASAB no início do protocolo de IATF melhora o desempenho reprodutivo de vacas



105 Nelore. Sendo assim, nosso objetivo foi avaliar os efeitos do ASAB no início do protocolo
106 de IATF e subsequentes alterações do ECC, temperamento, qualidade do manejo,
107 sujidade perineal, variáveis de estro, variáveis ovarianas, taxa de prenhez, tamanho do
108 conceito e variáveis séricas.

109 MATERIAIS E MÉTODOS

110

111 Todas os animais foram manejados de acordo com as práticas descritas no Guia
112 para o Cuidado e Uso de Animais na Pesquisa e Ensino (FASS, 2010) e protocolos
113 experimentais revisados e aprovados pelo comitê de ética em uso animal da Universidade
114 Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) ao abrigo do protocolo nº 1.135/2020.

115

116 **Animais, tratamentos e coleta das amostras**

117

118 Um total de 68 vacas (multíparas) Nelore ($ECC = 4.25 \pm 0.10$, escala 1 a 9 e
119 diâmetro do folículo ou corpo lúteo $> 7\text{mm}$) foram selecionados e avaliados de acordo
120 com o temperamento; escore de entrada em uma escala de 1 – 3, sendo 1 quando os
121 animais entravam e saíam voluntariamente do tronco de contenção, sem contato físico
122 entre animal e manipulador; quando os animais necessitavam de encorajamento, sem
123 contato físico, para entrar e sair do tronco de contenção, e ou entrada e saíam trotando,
124 recebiam uma pontuação 2; se os animais necessitassem de encorajamento com contato
125 físico, onde o manipulador batesse levemente na garupa do animal com a mão e ou
126 entravam ou saíam do tronco de contenção correndo, eram classificados com a pontuação
127 3 (Baszczak et al., 2006). A pontuação do tronco de contenção foi mensurada em uma
128 escala de 1–5, pontuação 1 foi empregada em animais mais calmos sem movimento
129 abrupto, escala 2 para animais inquietos, animais com movimentos frequentes foram
130 classificados com a escala 3, quando apresentavam movimentos constantes 4 e animais
131 que manifestavam vocalização, agitação no tronco de contenção e animais violentos com
132 luta contínua receberam a pontuação 5 (Cooke et al., 2011; Vedovatto et al., 2021).

133 Em seguida, foram estratificados por ECC e escore no tronco de contenção e
134 aleatoriamente designado para um dos dois tratamentos: 1) solução Salina (Saline; 0.9 %
135 de NaCl; $n = 34$) ou análogo da substância apaziguadora bovina (ASAB; (Secure Cattle,
136 Nutricorp®, Araras, SP, Brasil; $n = 34$). Para ambas as soluções (5 mL/vaca) foram



137 aplicadas topicamente entre os cornos, na região da nuca de cada animal, conforme
138 indicado pelo fabricante. O grupo Salina recebeu a aplicação primeiro e imediatamente
139 alocado em um piquete. Em seguida, o grupo ASAB recebeu a solução e foi alocado em
140 outro piquete. Os piquetes foram separados por uma distância de 200 m. Esse manejo foi
141 adotado para evitar qualquer contaminação cruzada. Cada piquete tinha 12 hectares cada,
142 formado com capim-marandu (*Urochloa brizantha* [Hochst. ex A. Rich] R. D. Webster,
143 cv. Marandu).

144 As vacas tinham acesso livre à água e foi fornecido uma mistura completa de
145 minerais e vitaminas (Mega Fós 90 Milk, AgroMega Indústria de Alimentos Animal,
146 Tamboara, PR, Brasil; Ca: 196 g / kg, P: 90 g / Kg, Na: 99 g / kg, Mg: 20 g / Kg, S: 14 g
147 / kg, Fe: 2.400 mg / kg, Zn: 3.000 mg / kg, Mn: 1.670 mg / kg, Se: 40 mg / kg, Cu: 1.200
148 mg / kg, F: 900 mg / kg, Co: 200 mg / kg, I: 180 mg / kg, vitamina A: 1500.000 UI / kg,
149 vitamina D3: 30.000 UI / kg e vitamina E: 1.500 UI / kg; meta de ingestão 100 g / d).
150 Após a segregação, os grupos tratados não tiveram contato físico entre os dias d -11 a d
151 7 (tempo de ação do ASAB 15 dias), então, posteriormente foram reagrupadas e
152 manejadas em um único grupo, até o final do experimento (d 7 ao d 60).

153 O ECC foi avaliado em d-11, 0, 7, 14 e d 30, para avaliação do ECC, foram
154 utilizado duas técnicas, visual, avaliação realizada por único observador treinado (Herd
155 and Sprott, 1986) e a relação entre o ângulo interno formado entre os lados esquerdo e
156 direito da garupa (IAR) que foi mensurada quando as vacas entram no troco de contenção
157 (Pfeifer et al., 2017). O temperamento foi avaliado por três técnicos treinados em d -11, -
158 2, 0, 7, 14 e d 30. Todas as vacas foram manuseadas com calma durante todo o processo
159 de avaliação, sem uso de choque elétrico ou qualquer outro contato físico até chegarem
160 ao tronco de contenção. Todas as vacas foram designadas para um protocolo IATF de d -
161 11 ao d 0. Em d -11, as vacas receberam 2 mg por via intramuscular de benzoato de
162 estradiol (Gonadiol; Zoetis, São Paulo, Brasil) e inserido com um dispositivo intravaginal
163 liberador de progesterona, contendo 0,5 g de progesterona (PRIMER; Agener União, São
164 Paulo, Brasil). Em d - 2, o dispositivo foi removido e as vacas receberam aplicação
165 intramusculares de PGF2 α (12,5 mg; Lutalyse; Zoetis, São Paulo, Brasil), cipionato de
166 estradiol (1 mg; ECP; Zoetis, São Paulo, Brasil) e eCG (300 UI; Novormon; Zoetis, São
167 Paulo, Brasil). Em d 0 (aproximadamente 48 h após a aplicação de PGF2 α), as vacas
168 foram inseminadas por um único técnico usando o sêmen de um único touro Nelore. O



169 diagnóstico de prenhez foi avaliado em d 30 por ultrassonografia transretal (transdutor de
170 7,5 MHz; Mindray DP 2200 VET, Shenzhen, China), bem como as estruturas ovarianas
171 (Figura 7).

172 Foram avaliados os diâmetros (mm) dos folículos dominantes no dia da IA (d 0)
173 e os diâmetros da CL (d 7 e d14) após a IA (d 0). Os volumes CL (cm³) foram calculados
174 utilizando-se a fórmula para volumes da esfera [$V = 4/3 \pi(D/2)^3$] onde D é o diâmetro
175 máximo (mm) do CL(Cooke et al., 2009a).

176 Amostras de sangue foram coletadas da veia coccígea em d -11, 0, 7, 14 e 30 em
177 tubos de coleta de sangue de 10 mL (Vacutainer, Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ,
178 EUA) com heparina sódica. Imediatamente após a coleta, as amostras de sangue foram
179 armazenadas em gelo e, em seguida, centrifugadas a 1200 ×g por 30 minutos para a
180 colheita de plasma. Amostras de plasma foram armazenadas a -20 °C para análises
181 posteriores das concentrações de haptoglobina, ceruloplasmina, cortisol e progesterona.
182 As concentrações plasmáticas de progesterona foram analisadas em d 7 e d 14. Amostras
183 coletadas manualmente de pastagens, d- 11, d7 e d30, foram coletadas e secas a 60 °C por
184 5 dias, posteriormente moídas a 1 mm, amostras inicialmente compostas foram
185 reagrupadas em uma única amostra e analisadas quanto à composição química (Figura 8).

186

187 **Análises Laboratoriais**

188

189 Amostras de forragem, matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo e cinzas foram
190 analisados de acordo com métodos oficiais de análise (AOAC, 2019). As concentrações
191 de lignina, fibra em detergente neutro (FDN) e ácido (FDA) foram realizadas (Van Soest,
192 1994; Van Soest et al., 1991). Foram calculadas as concentrações de nutrientes digestíveis
193 totais (NDT) (Weiss et al., 1992), energia digestível (DE), energia metabolizável (ME) e
194 energia líquida (NE) das amostras (NASEM, 2016).

195 Amostras de plasma foram analisadas para cortisol (Immulite 1000; Siemens
196 Medical Solutions Diagnostics, Los Angeles, CA, USA) conforme descrito anteriormente
197 (Cooke et al., 2019), haptoglobina (Cooke and Arthington, 2013) e progesterona (Martins
198 et al., 2017).

199

200



201

202

203 **Análises Estatísticas**

204

205 Para todas as análises, as vacas foram consideradas como unidade experimental.
206 Os resultados das alterações do ECC, tempo de inseminação, sujidade na região perineal,
207 escore de estro, variáveis ovarianas e tamanho do concepto foram analisados pelo
208 procedimento MIXED do SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC; version 9.4) e as taxas de
209 agressão, acidente, monta e prenhez pelo procedimento GLIMMIX / SAS. Para ambos
210 foi utilizado a aproximação de Satterthwaite para determinar os graus de liberdade para o
211 teste de efeitos fixos. Todos esses dados foram testados para efeito fixo tratamento,
212 utilizando vacas (tratamento) como efeito aleatório. Os dados do ECC e escore de
213 temperamento (escores de entrada, tronco e saída) foram analisados como medidas
214 repetidas utilizando o procedimento MIXED do SAS e testados quanto aos efeitos fixos
215 do tratamento, dia e interação, utilizando vacas (tratamento) como variável aleatória. As
216 estruturas de covariância foram selecionadas de acordo com o menor critério de
217 informação de Akaike. Todos os resultados obtidos em d -11 (início do estudo) para cada
218 variável foram incluídos como covariáveis em cada respectiva de análise, mas foram
219 retirados do modelo quando $P > 0,10$. As médias foram separadas por meio de PDIFF e
220 todos os resultados foram relatados como LSMEANS seguidos de SEM. A significância
221 foi definida quando $P \leq 0,05$ e tendência quando $P > 0,05$ e $\leq 0,10$. Para avaliar a
222 correlação entre as variáveis foi utilizado o procedimento CORR do SAS.

223

224 **RESULTADOS**

225

226 As variáveis ECC, ângulo de garupa, não apresentaram diferença para interação
227 tratamento x dia ($P = 0.59$), bem como efeito de tratamento ($P = 0.47$). Contudo, o ECC
228 ângulo de garupa ($P < 0.01$) apresentou diferença para dia dentre os tratamentos (Tabela
229 2). Para ECC visual, não foi observado diferenças para interação tratamento x dia ($P =$
230 0.47) e efeito de tratamento ($P = 0.22$), porém foi detectado ($P < 0.01$) diferença para dia
dentre os tratamentos (Tabela 2).

231

232 Para variáveis temperamento (Table 3), não foram observados efeitos para
interação tratamento x dia, escore de entrada ($P = 0.80$), escore tronco ($P = 0.50$) e escore



233 de saída ($P = 0.81$), e efeitos de tratamento, escore de entrada ($P = 0.68$), escore tronco
234 ($P = 0.67$) e escore de saída ($P = 0.83$), sendo observado diferenças para dia, escore de
235 entrada ($P < 0.01$), escore tronco ($P < 0.01$), porém não para escore de saída ($P = 0.72$).

236 Em relação as variáveis qualidade de manejo, agressão ($P = 0.08$) e tempo para
237 inseminar ($P = 0.01$), as vacas do tratamento ASAB tendeu ser mais calmas durante o
238 manejo e desprenderam menos tempo para inseminar em relação ao tratamento SALINA,
239 porém não foi detectado efeito de tratamento ($P = 0.20$) para sujidade da região perineal
240 (Tabela 3).

241 Diferenças não foram observadas entre os tratamentos para as variáveis de cio
242 (Tabela 4), escore estro ($P = 0.40$) e monta ($P = 0.33$), bem como para as variáveis
243 ovarianas, diâmetro do folículo dominante d 0 ($P = 0.44$), diâmetro CL no d 7 ($P = 0.34$)
244 e d 14 ($P = 0.37$), volume do CL no d 7 ($P = 0.34$) e d 14 ($P = 0.65$) e concentração
245 plasmática de progesterona d 7 ($P = 0.50$) e d 14 ($P = 0.61$).

246 Os tratamentos não diferiram em relação a taxa de prenhez no d 30 ($P = 0.81$) e
247 para tamanho do concepto no d 37, ângulo de garupa ($P = 0.19$) e tamanho torácico ($P =$
248 0.94), entre os grupos avaliados (Tabela 4).

249 Sobre as variáveis séricas (Tabela 5) não foi observado efeito de interação
250 tratamento x dia, cortisol ($P = 0.89$) e haptoglobina ($P = 0.89$), bem como para tratamento,
251 cortisol ($P = 0.66$) e haptoglobina ($P = 0.24$), contudo foi observado diferença para dia
252 os níveis de haptoglobina ($P < 0.01$), porém não foi detectado diferença para dia nos
253 níveis plasmáticos de cortisol ($P = 0.79$).

254

255

DISCUSSÕES

256

257 A influência do ASAB está associada a seu efeito apaziguador (Cappelozza et al.,
258 2020; Cooke et al., 2020), pois animais mais calmos, ganham mais peso corporal em
259 comparação a animais mais excitados e consequentemente, alteram o ECC (Cooke et al.,
260 2019; Vedovatto et al., 2021). Contudo a utilização do ASAB no presente estudo, não
261 interferiu no ECC dos animais, bem como nas variáveis de temperamento avaliadas,
262 sendo uma resposta não esperada. Em nosso estudo, ambos os tratamentos não diferiram
263 em relação ao temperamento. Porém para todas as observações de temperamento, ambos



264 os grupos, apresentaram temperamentos classificados como, animais calmos (Baszczak
265 et al., 2006; Cooke et al., 2011; Vedovatto et al., 2021).

266 Corroborando com Boyle et al. (2022) a importância de um manejo saudável e
267 harmônico, possibilita que os animais mantenham condições físicas e psicológicas
268 adequadas ao sistema de produção. Sendo assim, uma possível justificativa para essas
269 observações de temperamento, poderia ser o manejo utilizado pela equipe e a boa
270 interação entre animais e humanos (Rault et al., 2020).

271 A importância de se mensurar o ECC antes e durante a gestação (Nishimura et al.,
272 2018), está associada a reservas de energia adequada que serão utilizadas pelas fêmeas
273 durante as fases reprodutivas (D'Occhio et al., 2019). Sendo assim, de acordo com
274 Pfeifer et al. (2017), utilizando a técnica (IAR), os animais utilizados no presente estudo
275 estavam aptos para reprodução. Contudo, alguns autores (Bormann et al., 2006;
276 Dickinson et al., 2019) relataram, através da técnica ECC visual, que fêmeas com ECC <
277 5 não apresentam reservas de energia adequadas para reprodução. Sendo assim segundo
278 o ECC visual as vacas utilizadas no experimento, ECC < 5, apresentaram ECC inferior
279 durante a estação reprodutiva, o que poderia ter impactado negativamente na taxa de
280 prenhez. Em contrapartida, de acordo com técnica (IAR), as vacas estariam aptas a
281 reprodução. Contudo em nosso estudo, a ASAB não influenciou na taxa de prenhez.

282 No presente estudo o tratamento ASAB tendeu a uma menor agressão em relação
283 ao tratamento Salina e um menor tempo para inseminação. Segundo Rueda et al. (2015),
284 animais que apresentam temperamento mais agressivos, apresentam um efeito negativo
285 no manejo durante o protocolo de IATF, bem como desprendem mais tempo para
286 inseminação. Além do mais apresentam uma taxa de gestação menor do que animais
287 calmos e o risco de infecção do trato reprodutivo é aumentada (Hosie et al., 2019).
288 Contudo em nosso estudo, esses efeitos não foram relacionados a temperamento.
289 Possivelmente essas observações foram relacionadas a variáveis não analisadas neste
290 estudo. Em nosso estudo não foi observado diferença na sujidade perineal, sendo um
291 indicativo de animais com temperamento calmo. Pois animais excitados, excretam e
292 propagando mais fezes e urina na região perineal, bem como, aumentam a frequência de
293 movimentação da cauda durante o manejo (Lensink et al., 2000; Rushen et al., 2001).

294 Em relação as variáveis ovarianas, não foi observado diferença entre os
295 tratamentos. O diâmetro do folículo dominante poderia influenciar nos níveis de



296 estrogênio sistêmico (Núñez-Olivera et al., 2022), o qual, poderia diferenciar o escore de
297 estro (Pohler et al., 2012) e consequentemente percentagem de monta (Perry et al., 2014).
298 Além disso, não foi observado em nosso estudo, diferenças no diâmetro de CL,
299 concentração plasmática de progesterona, taxa de gestação e tamanho de concepto. O
300 tamanho do folículo dominante está associado ao tamanho do CL (Dieleman et al., 1983),
301 concentração plasmática de progesterona (Li et al., 2007), taxa de prenhez e tamanho de
302 concepto (Lonergan and Sánchez, 2020).

303 No presente estudo não foi detectado diferenças nos níveis plasmáticos de cortisol,
304 que poderia impactar negativamente no eixo HHG, pela hiper estimulação do eixo HHA
305 que aumentaria a secreção de ACTH, inibindo a secreção de LH pela hipófise (Dobson
306 and Smith, 2000). Com o aumento de ACTH, níveis plasmáticos de cortisol seriam
307 aumentados e reduziriam o desempenho reprodutivo (Mello et al., 2020). Contudo, não
308 foi observado diferenças em temperamento para ambos os grupos, sendo assim os níveis
309 de cortisol também não diferiram, porém a taxa de gestação para ambos os grupos foi
310 inferior a 50%.

311 Em um estudo realizado por (Cooke et al., 2009b) avaliando os efeitos de
312 aclimatização de vacas interagindo com humanos, animais climatizados e não
313 climatizados, os autores avaliaram os níveis plasmáticos de cortisol, foi observado níveis
314 superiores (3.33 ug/dL) em animais climatizados, níveis superiores aos detectados no
315 presente estudo.

316 Animais quando submetidos a situação de estresse (Cooke et al., 2012), a proteína
317 de fase aguda (APP), haptoglobina, é sintetizada pelo fígado (Patel et al., 2002). Sendo
318 uma indicadora biológica para detecção e respostas de fase aguda (Murata et al., 2004).
319 No presente estudo não observamos diferenças entre os tratamentos, corroborando com
320 os observados nas variáveis de temperamento e níveis plasmáticos de cortisol.
321 Corroborando com (Vedovatto et al., 2021) realizando um experimento avaliando
322 temperamento de vacas Nelore submetidas a um protocolo de IATF, também não detectou
323 diferenças em níveis plasmáticos de haptoglobina. Contudo (Cooke et al., 2012)
324 observaram diferenças em níveis de haptoglobina avaliando vacas calmas vs excitadas.
325 Esses resultados demonstram que no presente experimento as vacas mantiveram
326 temperamento calmo, o que não diferiu entre os tratamentos.



327 Sendo assim, os resultados analisados no presente estudo, que avaliou a utilização
328 do ASAB influenciando no temperamento e conseqüentemente no desempenho
329 reprodutivo de vacas Nelore submetidas a um protocolo de IATF, ajuda a compreender
330 que é necessário avaliar outras variáveis que poderiam impactar na reprodução. Além do
331 mais, o grupo desconhece outro estudo que avaliou a utilização do ASAB no desempenho
332 reprodutivo de vacas múltiparas Nelore submetidas a um protocolo de IATF, mais estudos
333 avaliando a utilização do ASAB influenciando no temperamento e parâmetros
334 reprodutivos são necessários.

335
336

CONCLUSÃO

337 A utilização do ASAB no décimo primeiro dia antes da IA, não influencia no ECC,
338 temperamento, sujidade na região perineal, variáveis de estro, variáveis ovarianas,
339 progesterona, taxa de gestação, tamanho de concepto e variáveis séricas. Contudo o
340 ASAB apresenta tendência para minimizar agressão e tempo para inseminar.
341



REFERÊNCIAS

342
343

- 344 ABIEC, 2021. Realização Promoção. São Paulo.
- 345 Accorsi, P.A., Carloni, E., Valsecchi, P., Viggiani, R., Gamberoni, M., Tamanini, C.,
346 Seren, E., 2008. Cortisol determination in hair and faeces from domestic cats and
347 dogs. *Gen Comp Endocrinol* 155, 398–402.
348 <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2007.07.002>
- 349 Adams, G.P., 1994. Control of ovarian follicular wave dynamics in cattle: implications
350 for synchronization & superstimulation. *Theriogenology* 41, 19–24.
- 351 Aires, M. de M., 2008. *Fisiologia*, 3rd ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- 352 Anne, I., Charlotte, L., Alan, J., 2012. Sex Differences and the Role of Sex Steroids in
353 Sympatho-Adrenal Medullary System and Hypothalamo-Pituitary Adrenal Axis
354 Responses to Stress, in: *Sex Steroids*. InTech. <https://doi.org/10.5772/25611>
- 355 AOAC, 2019. *Official Methods of Analysis™*, 21st Edition (2019) [WWW Document].
356 AOAC.
- 357 Augusto Gomes Azevêdo, J., de Campos Valadares Filho, S., Fernando Costa Silva, L.,
358 Batista dos Santos, A., Lins Souza, L., Pizzi Rotta, P., Navajas Rennó, L., Nunes do
359 Prado, I., 2016. *Regulation and prediction of dry matter intake*, 3rd ed. BR-Corte,
360 Viçosa.
- 361 Baruselli, P.S., Ferreira, R.M., Sá Filho, M.F., Bó, G.A., 2018. Review: Using artificial
362 insemination v. natural service in beef herds. *Animal* 12, s45–s52.
363 <https://doi.org/10.1017/S175173111800054X>
- 364 Baruselli, P.S., Sales, J.N.S., Sala, R. V, Vieira, L.M., Filho, M.F.S., 2012. History,
365 evolution and perspectives of timed artificial insemination programs in Brazil, *Anim*
366 *Reprod*.
- 367 Baszczak, J.A., Grandin, T., Gruber, S.L., Engle, T.E., Platter, W.J., Laudert, S.B.,
368 Schroeder, A.L., Tatum, J.D., 2006. Effects of ractopamine supplementation on
369 behavior of British, Continental, and Brahman crossbred steers during routine
370 handling. *J Anim Sci* 84, 3410–3414. <https://doi.org/10.2527/jas.2006-167>
- 371 Baum, M.J., Cherry, J.A., 2015. Processing by the main olfactory system of chemosignals
372 that facilitate mammalian reproduction. *Horm Behav* 68, 53–64.
373 <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2014.06.003>
- 374 Beatty, D.T., Barnes, A., Taylor, E., Pethick, D., McCarthy, M., Maloney, S.K., 2006.
375 Physiological responses of *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle to prolonged,
376 continuous heat and humidity1. *J Anim Sci* 84, 972–985.
377 <https://doi.org/10.2527/2006.844972x>



- 378 Berry, D.P., Wall, E., Pryce, J.E., 2014. Genetics and genomics of reproductive
379 performance in dairy and beef cattle. *Animal* 8, 105–121.
380 <https://doi.org/10.1017/S1751731114000743>
- 381 Bó, G.A., Baruselli, P.S., Martínez, M.F., 2003. Pattern and manipulation of follicular
382 development in *Bos indicus* cattle. *Anim Reprod Sci* 78, 307–326.
383 [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(03\)00097-6](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(03)00097-6)
- 384 Boivin, X., Bensoussan, S., L’Hotellier, N., Bignon, L., Brives, H., Brule, A., Godet, J.,
385 Grannec, M., Hausberger, M., Kling- Eveillard, F., 2012. Hommes et animaux
386 d’élevage. *INRA Prod. Anim* 1, 159–167.
- 387 Bormann, J.M., Totir, L.R., Kachman, S.D., Fernando, R.L., Wilson, D.E., 2006.
388 Pregnancy rate and first-service conception rate in Angus heifers. *J Anim Sci* 84,
389 2022–2025. <https://doi.org/10.2527/jas.2005-615>
- 390 Boyle, L., Conneely, M., Kennedy, E., O’Connell, N., O’Driscoll, K., Earley, B., 2022.
391 Animal welfare research – progress to date and future prospects. *Irish Journal of*
392 *Agricultural and Food Research*. <https://doi.org/10.15212/ijafr-2020-0151>
- 393 Brandão, A.P., Cooke, R.F., 2021. Effects of temperament on the reproduction of beef
394 cattle. *Animals*. <https://doi.org/10.3390/ani11113325>
- 395 Bridges, G.A., Mussard, M.L., Burke, C.R., Day, M.L., 2010. Influence of the length of
396 proestrus on fertility and endocrine function in female cattle. *Anim Reprod Sci* 117,
397 208–215. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2009.05.002>
- 398 Brown, E.J., Vosloo, A., Brown, E., 2017. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*.
399 <https://doi.org/10.4102/ojvr>
- 400 Burdick, N.C., Carroll, J.A., Hulbert, L.E., Dailey, J.W., Willard, S.T., Vann, R.C.,
401 Welsh, T.H., Randel, R.D., 2010. Relationships between temperament and
402 transportation with rectal temperature and serum concentrations of cortisol and
403 epinephrine in bulls. *Livest Sci* 129, 166–172.
404 <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2010.01.020>
- 405 Cappelozza, B.I., Bastos, J.P., Cooke, R.F., 2020. Short communication: Administration
406 of an appeasing substance to *Bos indicus*-influenced beef cattle improves
407 performance after weaning and carcass pH. *Livest Sci* 238.
408 <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2020.104067>
- 409 Cardoso Consentini, C.E., Wiltbank, M.C., Sartori, R., 2021. Factors that optimize
410 reproductive efficiency in dairy herds with an emphasis on timed artificial
411 insemination programs. *Animals* 11, 1–30. <https://doi.org/10.3390/ani11020301>
- 412 Carrell, R.C., Smith, W.B., Kinman, L.A., Mercadante, V.R.G., Dias, N.W., Roper, D.A.,
413 2021. Cattle stress and pregnancy responses when imposing different restraint
414 methods for conducting fixed time artificial insemination. *Anim Reprod Sci* 225.
415 <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106672>



- 416 Carroll, J.A., Forsberg, N.E., 2007. Influence of stress and nutrition on cattle immunity.
417 Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. 23, 105–149.
- 418 Cedeño, A. V., Cuervo, R., Tríbulo, A., Tríbulo, R., Andrada, S., Mapletoft, R.,
419 Menchaca, A., Bó, G.A., 2021. Effect of expression of estrus and treatment with
420 GnRH on pregnancies per AI in beef cattle synchronized with an
421 estradiol/progesterone-based protocol. Theriogenology 161, 294–300.
422 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.12.014>
- 423 Charmandari, E., Tsigos, C., Chrousos, G., 2005. ENDOCRINOLOGY OF THE
424 STRESS RESPONSE. Annu Rev Physiol 67, 259–284.
425 <https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.67.040403.120816>
- 426 Cheng, M., McCarl, B., Fei, C., 2022. Climate Change and Livestock Production: A
427 Literature Review. Atmosphere (Basel). <https://doi.org/10.3390/atmos13010140>
- 428 Cherry, J.A., Baum, M.J., 2020. Sex differences in main olfactory system pathways
429 involved in psychosexual function. Genes Brain Behav.
430 <https://doi.org/10.1111/gbb.12618>
- 431 Ciccioili, N.H., Wettemann, R.P., Spicer, L.J., Lents, C.A., White, F.J., Keisler, D.H.,
432 2003. Influence of body condition at calving and postpartum nutrition on endocrine
433 function and reproductive performance of primiparous beef cows 1,2, J. Anim. Sci.
- 434 Coleman, G.J., Hemsworth, P.H., 2014. Training to improve stockperson beliefs and
435 behaviour towards livestock enhances welfare and productivity. Rev. sci. tech. Off.
436 int. Epiz 33, 131–137.
- 437 Collier, R.J., Renquist, B.J., Xiao, Y., 2017. A 100-Year Review: Stress physiology
438 including heat stress. J Dairy Sci 100, 10367–10380.
439 <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13676>
- 440 Cook, F.R., Arthington, D.J., Austin, R.B., Yelich, V.J., 2009. Effects of acclimation to
441 handling on performance, reproductive, and physiological responses of Brahman-
442 crossbred heifers. J Anim Sci 87, 3403–3412.
- 443 Cooke, R.F., 2017. Nutritional and management considerations for beef cattle
444 experiencing stress-induced inflammation Prof. Anim. Sci. 33, 1–11.
- 445 Cooke, R.F., Arthington, J.D., 2013. Concentrations of haptoglobin in bovine plasma
446 determined by ELISA or a colorimetric method based on peroxidase activity. J Anim
447 Physiol Anim Nutr (Berl) 97, 531–536. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2012.01298.x>
- 449 Cooke, R.F., Arthington, J.D., Araujo, D.B., Lamb, G.C., 2009a. Effects of acclimation
450 to human interaction on performance, temperament, physiological responses, and
451 pregnancy rates of Brahman-crossbred cows1. J Anim Sci 87, 4125–4132.
452 <https://doi.org/10.2527/jas.2009-2021>



- 453 Cooke, R.F., Arthington, J.D., Araujo, D.B., Lamb, G.C., 2009b. Effects of acclimation
454 to human interaction on performance, temperament, physiological responses, and
455 pregnancy rates of Brahman-crossbred cows. *J Anim Sci* 87, 4125–4132.
456 <https://doi.org/10.2527/jas.2009-2021>
- 457 Cooke, R.F., Bohnert, D.W., 2011. Technical note: Bovine acute-phase response after
458 corticotrophin-release hormone challenge. *J Anim Sci* 89, 252–257.
459 <https://doi.org/10.2527/jas.2010-3131>
- 460 Cooke, R.F., Bohnert, D.W., Cappellozza, B.I., Mueller, C.J., Delcurto, T., 2012. Effects
461 of temperament and acclimation to handling on reproductive performance of *Bos*
462 *taurus* beef females1. *J Anim Sci* 90, 3547–3555. [https://doi.org/10.2527/jas.2011-](https://doi.org/10.2527/jas.2011-4768)
463 4768
- 464 Cooke, R.F., Bohnert, D.W., Meneghetti, M., Losi, T.C., Vasconcelos, J.L.M., 2011.
465 Effects of temperament on pregnancy rates to fixed-timed AI in *Bos indicus* beef
466 cows. *Livest Sci* 142, 108–113. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2011.06.024>
- 467 Cooke, R.F., Lamb, G.C., Vasconcelos, J.L.M., Pohler, K.G., 2021. Effects of body
468 condition score at initiation of the breeding season on reproductive performance and
469 overall productivity of *Bos taurus* and *B. indicus* beef cows. *Anim Reprod Sci* 232.
470 <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2021.106820>
- 471 Cooke, R.F., Millican, A., Brandão, A.P., Schumacher, T.F., de Sousa, O.A., Castro, T.,
472 Farias, R.S., Cappellozza, B.I., 2020. Short communication: administering an
473 appeasing substance to *Bos indicus*-influenced beef cattle at weaning and feedlot
474 entry. *Animal* 14, 566–569. <https://doi.org/10.1017/S1751731119002490>
- 475 Cooke, R.F., Moriel, P., Cappellozza, B.I., Miranda, V.F.B., Batista, L.F.D., Colombo,
476 E.A., Ferreira, V.S.M., Miranda, M.F., Marques, R.S., Vasconcelos, J.L.M., 2019.
477 Effects of temperament on growth, plasma cortisol concentrations and puberty
478 attainment in Nelore beef heifers. *Animal* 13, 1208–1213.
479 <https://doi.org/10.1017/S1751731118002628>
- 480 Couto, S.R.B., Guerson, Y.B., Caparelli, N.M.P.M., Andrade, J.P.N., Jacob, J.C.F.,
481 Barbero, R.P., Mello, M.R.B., 2022. Mitigation of low pregnancy rate in excitable
482 Nelore cows by administration of GnRH or P4. *Theriogenology* 192, 14–21.
483 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2022.08.003>
- 484 Crowe, A.D., Lonergan, P., Butler, S.T., 2021. Invited review: Use of assisted
485 reproduction techniques to accelerate genetic gain and increase value of beef
486 production in dairy herds. *J Dairy Sci* 104, 12189–12206.
487 <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20281>
- 488 Davis, T.C., White, R.R., 2020. Breeding animals to feed people: The many roles of
489 animal reproduction in ensuring global food security. *Theriogenology* 150, 27–33.
490 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.01.041>



- 491 Dawuda, P.M., Scaife, J.R., Hutchinson, J.S.M., Sinclair, K.D., 2002. Mechanisms
492 linking under-nutrition and ovarian function in beef heifers. *Anim Reprod Sci* 74,
493 11–26.
- 494 Debus, N., Breen, K.M., Barrell, G.K., Billings, H.J., Brown, M., Young, E.A., Karsch,
495 F.J., 2002. Does cortisol mediate endotoxin-induced inhibition of pulsatile
496 luteinizing hormone and gonadotropin-releasing hormone secretion? *Endocrinology*
497 143, 3748–3758. <https://doi.org/10.1210/en.2002-220291>
- 498 Demetriou, J.A., Drewes, P.A., Gin, J.B., 1974. Ceruloplasmim. In: *Clinical chemistry:*
499 *principles and techniques*, 2nd ed. Hagerstown.
- 500 Dickinson, S.E., Elmore, M.F., Kriese-Anderson, L., Elmore, J.B., Walker, B.N., Dyce,
501 P.W., Rodning, S.P., Biase, F.H., 2019. Evaluation of age, weaning weight, body
502 condition score, and reproductive tract score in pre-selected beef heifers relative to
503 reproductive potential. *J Anim Sci Biotechnol* 10. [https://doi.org/10.1186/s40104-](https://doi.org/10.1186/s40104-019-0329-6)
504 [019-0329-6](https://doi.org/10.1186/s40104-019-0329-6)
- 505 Dieleman, S.J., Bevers, M.M., Poortman, J., Van Tol, H.T.M., Uithof, D., Utrecht, T.D.,
506 1983. Steroid and pituitary hormone concentrations in the fluid of preovulatory
507 bovine follicles relative to the peak of LH in the peripheral blood. *Journal*
508 *Reproduction* 69, 641–649.
- 509 Dobson, H., Smith, R.F., 2000. What is stress, and how does it affect reproduction? *Anim*
510 *Reprod Sci* 60, 743–752.
- 511 Dobson', H., Tebble, J.E., Smith, R.F., Ward, W.R., 2001. Is stress really all that
512 important? *Theriogenology* 55, 65–73.
- 513 D'Occhio, M.J., Baruselli, P.S., Campanile, G., 2019. Influence of nutrition, body
514 condition, and metabolic status on reproduction in female beef cattle: A review.
515 *Theriogenology* 125, 277–284.
516 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.11.010>
- 517 Evans, N.P., Dahl, G.E., Mauger, D., Karsch, F.J., 1995. Estradiol Induces both
518 Qualitative and Quantitative Changes in the Pattern of Gonadotropin-Releasing
519 Hormone Secretion during the Presurge Period in the Ewe*. *Endocrinology* 136.
- 520 Fernandez-Novo, A., Pérez-Garnelo, S.S., Villagrà, A., Pérez-Villalobos, N., Astiz, S.,
521 2020. The effect of stress on reproduction and reproductive technologies in beef
522 cattle—A review. *Animals* 10, 1–23. <https://doi.org/10.3390/ani10112096>
- 523 Francisco, C.L., Castilhos, A.M., Silva, D.C.M., Silva, F.M., Meirelles, P.R.L., Cooke,
524 R.F., Jorge, A.M., 2020. Temperament of Nelore growing-steers receiving
525 supplementation in grazing system: Performance, ultrasound measures, feeding
526 behavior, and serum parameters. *Livest Sci* 241.
527 <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2020.104203>



- 528 Freetly, H.C., Cundiff, L. V, 1998. Reproductive Performance, Calf Growth, and Milk
529 Production of First-Calf Heifers Sired by Seven Breeds and Raised on Different
530 Levels of Nutrition. *American Society of Animal Science* 76, 1513–1522.
- 531 García-Ispierto, I., López-Gatius, F., Santolaria, P., Yániz, J.L., Nogareda, C., López-
532 Béjar, M., De Rensis, F., 2006. Relationship between heat stress during the peri-
533 implantation period and early fetal loss in dairy cattle. *Theriogenology* 65, 799–807.
534 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.06.011>
- 535 Ginther, O.J., Bergfelt, D.R., Beg, M.A., Kot, K., 2001. Follicle selection in cattle:
536 Relationships among growth rate, diameter ranking, and capacity for dominance.
537 *Biol Reprod* 65, 345–350. <https://doi.org/10.1095/biolreprod65.2.345>
- 538 Ginther, O.J., Wiltbank, M.C., Fricke, P.M., Gibbons, J.R., Kot, K., 1996. Minireview
539 Selection of the Dominant Follicle in Cattle?, *BIOLOGY OF REPRODUCTION*.
- 540 Grassi, D., Marraudino, M., Garcia-Segura, L.M., Panzica, G.C., 2022. The hypothalamic
541 paraventricular nucleus as a central hub for the estrogenic modulation of
542 neuroendocrine function and behavior. *Front Neuroendocrinol*.
543 <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2021.100974>
- 544 Grings, E.E., Geary, T.W., Short, R.E., MacNeil, M.D., 2007. Beef heifer development
545 within three calving systems. *J Anim Sci* 85, 2048–2058.
546 <https://doi.org/10.2527/jas.2006-758>
- 547 Gutierrez, K., Kasimanickam, R., Tibary, A., Gay, J.M., Kastelic, J.P., Hall, J.B.,
548 Whittier, W.D., 2014. Effect of reproductive tract scoring on reproductive efficiency
549 in beef heifers bred by timed insemination and natural service versus only natural
550 service. *Theriogenology* 81, 918–924.
551 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.01.008>
- 552 Gutiérrez-Reinoso, M.A., Aponte, P.M., Cabezas, J., Rodriguez-Alvarez, L., Garcia-
553 Herreros, M., 2020. Genomic evaluation of primiparous high-producing dairy cows:
554 Inbreeding effects on genotypic and phenotypic production–reproductive traits.
555 *Animals* 10, 1–18. <https://doi.org/10.3390/ani10091704>
- 556 Han, Y., Jiang, T., Shi, J., Liu, A., Liu, L., 2023. Review: Role and regulatory mechanism
557 of inhibin in animal reproductive system. *Theriogenology* 202, 10–20.
558 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2023.02.016>
- 559 Herbut, P., Hoffmann, G., Angrecka, S., Godyn, D., Vieira, F.M.C., Adamczyk, K.,
560 Kupczyński, R., 2021. The effects of heat stress on the behaviour of dairy cows-A
561 review. *Annals of Animal Science*. <https://doi.org/10.2478/aoas-2020-0116>
- 562 Herd, D.B., Sprott, L.R., 1986. Body Condition, Nutrition and Reproduction of Beef
563 Cows. *Agri Life Extension* 1526.



- 564 Hernandez, A., Galina, C.S., Geffroy, M., Jung, J., Westin, R., Berg, C., 2022. Cattle
565 welfare aspects of production systems in the tropics. *Anim Prod Sci*.
566 <https://doi.org/10.1071/an21230>
- 567 Hosie, J., Rowe, S.M., Morton, J.M., Tranter, W.P., Cavalieri, J., 2019. Use of a sanitary
568 sheath at artificial insemination by nonprofessional technicians does not markedly
569 improve pregnancy rates to artificial insemination in pasture-based dairy cows. *J*
570 *Dairy Sci* 102, 5588–5598. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-16082>
- 571 Huang, C.J., Webb, H.E., Zourdos, M.C., Acevedo, E.O., 2013. Cardiovascular reactivity,
572 stress, and physical activity. *Front Physiol*.
573 <https://doi.org/10.3389/fphys.2013.00314>
- 574 Hughes, H.D., Carroll, J.A., Sanchez, N.C.B., Richeson, J.T., 2014. Natural variations in
575 the stress and acute phase responses of cattle. *Innate Immun*.
576 <https://doi.org/10.1177/1753425913508993>
- 577 Hultgren, J., Segerkvist, K.A., Berg, C., Karlsson, A.H., Öhgren, C., Algers, B., 2022.
578 Preslaughter stress and beef quality in relation to slaughter transport of cattle. *Livest*
579 *Sci* 264. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2022.105073>
- 580 Jiang, Z., Rajamanickam, S., Justice, N.J., 2019. CRF signaling between neurons in the
581 paraventricular nucleus of the hypothalamus (PVN) coordinates stress responses.
582 *Neurobiol Stress* 11. <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2019.100192>
- 583 Jinks, E.M., Smith, M.F., Atkins, J.A., Pohler, K.G., Perry, G.A., Macneil, M.D., Roberts,
584 A.J., Waterman, R.C., Alexa, L.J., Geary, T.W., 2012. Preovulatory estradiol and
585 the establishment and maintenance of pregnancy in suckled beef cows 1. *J. Anim*.
586 *Sci* 91, 1176–1185. <https://doi.org/10.2527/jas2012-5611>
- 587 KARLSON, P., LÜSCHER, M., 1959. ‘Pheromones’: a New Term for a Class of
588 Biologically Active Substances. *Nature* 183, 55–56.
589 <https://doi.org/10.1038/183055a0>
- 590 Kasimanickam, R., Schroeder, S., Assay, M., Kasimanickam, V., Moore, D., Gay, J.,
591 Whittier, W., 2014. Influence of Temperament Score and Handling Facility on
592 Stress, Reproductive Hormone Concentrations, and Fixed Time AI Pregnancy Rates
593 in Beef Heifers. *Reproduction in Domestic Animals* 49, 775–782.
594 <https://doi.org/10.1111/rda.12368>
- 595 Kastelic, J.P., Ginther, O.J., 1990. Relationship between ultrasonic assessment of the
596 corpus luteum and plasma progesterone concentration in heifers. *Theriogenology* 33.
- 597 Kekan, P.M., Ingole, S.D., Sirsat, S.D., Bharucha, S. V., Kharde, S.D., Nagvekar, A.S.,
598 2017. The role of pheromones in farm animals - A review. *Agricultural Reviews* 38.
599 <https://doi.org/10.18805/ag.v38i02.7939>
- 600 Kondo, Y., Hayashi, H., 2021. Neural and hormonal basis of opposite-sex preference by
601 chemosensory signals. *Int J Mol Sci*. <https://doi.org/10.3390/ijms22158311>



- 602 Koren, L., Mokady, O., Karaskov, T., Klein, J., Koren, G., Geffen, E., 2002. A novel
603 method using hair for determining hormonal levels in wildlife. *Anim Behav.*
604 <https://doi.org/10.1006/anbe.2001.1907>
- 605 Lensink, B.J., Boivin, X., Pradel, P., Le Neindre, P., Veissier, I., 2000. Reducing veal
606 calves' reactivity to people by providing additional human contact 1,2, *J. Anim. Sci.*
- 607 Li, Q., Jimenez-Krassel, F., Bettegowda, A., Ireland, J.J., Smith, G.W., 2007. Evidence
608 that the preovulatory rise in intrafollicular progesterone may not be required for
609 ovulation in cattle. *Journal of Endocrinology* 192, 473–483.
610 <https://doi.org/10.1677/JOE-06-0020>
- 611 Lonergan, P., Sánchez, J.M., 2020. Symposium review: Progesterone effects on early
612 embryo development in cattle. *J Dairy Sci* 103, 8698–8707.
613 <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18583>
- 614 Magata, F., Tsukamura, H., Matsuda, F., 2023a. The impact of inflammatory stress on
615 hypothalamic kisspeptin neurons: Mechanisms underlying inflammation-associated
616 infertility in humans and domestic animals. *Peptides (N.Y.)* 162.
617 <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2023.170958>
- 618 Magata, F., Tsukamura, H., Matsuda, F., 2023b. The impact of inflammatory stress on
619 hypothalamic kisspeptin neurons: Mechanisms underlying inflammation-associated
620 infertility in humans and domestic animals. *Peptides (N.Y.)* 162.
621 <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2023.170958>
- 622 Mapletoft, R.J., Bó, G.A., Baruselli, P.S., Menchaca, A., Sartori, R., 2018. Evolution of
623 knowledge on ovarian physiology and its contribution to the widespread application
624 of reproductive biotechnologies in South American cattle. *Anim Reprod* 15, 1003–
625 1014. <https://doi.org/10.21451/1984-3143-AR2018-0007>
- 626 Marinho, A.L.M., Socolosk, ; S N G, Gomes, ; S C, Santos, ; R, Castro, ; B G, 2016.
627 Inseminação artificial na fêmea bovina Artificial insemination in bovine. *Scientific*
628 *Electronic Archives.*
- 629 Martin, J.L., Vonnahme, K.A., Adams, D.C., Lardy, G.P., Funston, R.N., 2007. Effects
630 of dam nutrition on growth and reproductive performance of heifer calves. *J Anim*
631 *Sci* 85, 841–847. <https://doi.org/10.2527/jas.2006-337>
- 632 Martins, T., Pugliesi, G., Sponchiado, M., Cardoso, B.O., Gomes, N.S., Mello, B.P.,
633 Celeghini, E.C.C., Binelli, M., 2019. Supplementation with long-acting
634 progesterone in early diestrus in beef cattle: I. effect of artificial insemination on
635 onset of luteolysis. *Domest Anim Endocrinol* 67, 63–70.
636 <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2018.12.002>
- 637 Martins, T., Talamoni, J.P., Sponchiado, M., Maio, J.R.G., Nogueira, G.P., Pugliesi, G.,
638 Binelli, M., 2017. Impact of estradiol cypionate prior to TAI and progesterone
639 supplementation at initial diestrus on ovarian and fertility responses in beef cows.



- 640 Theriogenology 104, 156–163.
641 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.08.017>
- 642 Mastromonaco, G.F., Gonzalez-Grajales, A.L., 2020. Reproduction in female wild cattle:
643 Influence of seasonality on ARTs. *Theriogenology* 150, 396–404.
644 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.02.016>
- 645 Mcclintwk, M.K., 1978. Estrous Synchrony and Its Mediation by Airborne Chemical
646 Communication (*Rattus norvegicus*). *Horm Behav* 10, 264–276.
- 647 McIntosh, M.M., Spiegall, S.A., McIntosh, S.Z., Castaño Sanchez, J., Estell, R.E., Steele,
648 C.M., Elias, E.H., Bailey, D.W., Brown, J.R., Cibils, A.F., 2023. Matching beef
649 cattle breeds to the environment for desired outcomes in a changing climate: A
650 systematic review. *J Arid Environ* 211.
651 <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2022.104905>
- 652 McMahan, M., Gerich, J., Rizzat, R., 1988. Effects of Glucocorticoids on Carbohydrate
653 Metabolism. *Clinical Research Center* 4, 17–30.
- 654 Mello, B.P., Maturana Filho, M., Lemes, K.M., Gonçalves, R.L., Lollato, J.P.M., Zanella,
655 A.J., Ferreira, T.F. de V., Pugliesi, G., Madureira, E.H., Gonella-Diaza, A.,
656 Membrive, C.M.B., 2020. Importance of temperament in the pregnancy by timed
657 insemination in bovine females *Bos taurus indicus*. *Livest Sci* 240.
658 <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2020.104104>
- 659 Meneses, J.A.M., de Sá, O.A.A.L., Coelho, C.F., Pereira, R.N., Batista, E.D., Ladeira,
660 M.M., Casagrande, D.R., Gionbelli, M.P., 2021. Effect of heat stress on ingestive,
661 digestive, ruminal and physiological parameters of Nellore cattle feeding low- or
662 high-energy diets. *Livest Sci* 252. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2021.104676>
- 663 Miller, L., 2018. The Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis: A Brief History. *Karger*
664 *Journals* 89, 212–223.
- 665 Moreira, F., De La Sota, R.L., Diaz, T., Thatcher, W.W., 2000. Effect of day of the estrous
666 cycle at the initiation of a timed artificial insemination protocol on reproductive
667 responses in dairy heifers 1. *J. Anim. Sci* 78, 1568–1576.
- 668 Mostafa, T., Khouly, G. El, Hassan, A., 2012. Pheromones in sex and reproduction: Do
669 they have a role in humans? *J Adv Res*. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2011.03.003>
- 670 Murata, H., Shimada, N., Yoshioka, M., 2004. Current research on acute phase proteins
671 in veterinary diagnosis: An overview. *Veterinary Journal* 168, 28–40.
672 [https://doi.org/10.1016/S1090-0233\(03\)00119-9](https://doi.org/10.1016/S1090-0233(03)00119-9)
- 673 Murdoch, W.J., Kirk, E.A. Van, 1998. Luteal Dysfunction in Ewes Induced to Ovulate
674 Early in the Follicular Phase*. *Endocrinology* 139, 3480–3484.
- 675 Naranjo-Gómez, J.S., Uribe-García, H.F., Herrera-Sánchez, M.P., Lozano-Villegas, K.J.,
676 Rodríguez-Hernández, R., Rondón-Barragán, I.S., 2021. Heat stress on cattle



- 677 embryo: gene regulation and adaptation. *Heliyon* 7.
678 <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06570>
- 679 NASEM, 2016. NRC GADO DE CORTE, 8th ed. Washington.
- 680 Nishimura, T.K., Martins, T., da Silva, M.I., Lafuente, B.S., de Garla Maio, J.R., Binelli,
681 M., Pugliesi, G., Saran Netto, A., 2018. Importance of body condition score and
682 ovarian activity on determining the fertility in beef cows supplemented with long-
683 acting progesterone after timed-AI. *Anim Reprod Sci* 198, 27–36.
684 <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.08.042>
- 685 Nowak, R., Keller, M., Lévy, F., 2011. Mother-young relationships in sheep: A model for
686 a multidisciplinary approach of the study of attachment in mammals. *J*
687 *Neuroendocrinol* 23, 1042–1053. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2011.02205.x>
- 688 Núñez-Olivera, R., Bó, G.A., Menchaca, A., 2022. Association between length of
689 proestrus, follicular size, estrus behavior, and pregnancy rate in beef heifers
690 subjected to fixed-time artificial insemination. *Theriogenology* 181, 1–7.
691 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2021.12.028>
- 692 Oosthuizen, N., Cooke, R.F., Schubach, K.M., Fontes, P.L.P., Brandão, A.P., Oliveira
693 Filho, R. V., Colombo, E.A., Franco, G.A., Reese, S., Pohler, K.G., Lamb, G.C.,
694 2020. Effects of estrous expression and intensity of behavioral estrous symptoms on
695 variables associated with fertility in beef cows treated for fixed-time artificial
696 insemination. *Anim Reprod Sci* 214.
697 <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106308>
- 698 Osella, M.C., Cozzi, A., Spegis, C., Turille, G., Barmaz, A., Lecuelle, C.L., Teruel, E.,
699 Bienboire-Frosini, C., Chabaud, C., Bougrat, L., Pageat, P., 2018. The effects of a
700 synthetic analogue of the Bovine Appeasing Pheromone on milk yield and
701 composition in Valdostana dairy cows during the move from winter housing to
702 confined lowland pastures. *Journal of Dairy Research* 85, 174–177.
703 <https://doi.org/10.1017/S0022029918000262>
- 704 Padgett, D.A., Glaser, R., 2003. How stress influences the immune response. *Trends*
705 *Immunol.* [https://doi.org/10.1016/S1471-4906\(03\)00173-X](https://doi.org/10.1016/S1471-4906(03)00173-X)
- 706 Pageat, P., Gaultier, E., Pherosynthese, M.A., 2003. Current research in canine and feline
707 pheromones. *The Veterinary Clinics Small Animal Practice* 33, 187–211.
- 708 Patel, B.N., Dunn, R.J., Jeong, Y., Zhu, Q., Julien, J.-P., David, S., 2002. Ceruloplasmin
709 Regulates Iron Levels in the CNS and Prevents Free Radical Injury.
- 710 Patra, M.K., Kumar, H., 2012. Potential application of pheromones in
711 reproduction of farm animals - A review. *Agricultural Research*
712 *Communication Centre* 33, 82–86.



- 713 Patterson, D.J., Perry+, R.C., Kiracofe, H., Bellows, R.A., Staigmiller, R.B., Corahg,
714 L.R., 1992. Management Considerations in Heifer Development and Pubertyll'.
715 Journal Animal Science 70, 4018–4035.
- 716 Perry, G.A., Swanson, O.L., Larimore, E.L., Perry, B.L., Djira, G.D., Cushman, R.A.,
717 2014. Relationship of follicle size and concentrations of estradiol among cows
718 exhibiting or not exhibiting estrus during a fixed-time AI protocol. Domest Anim
719 Endocrinol 48, 15–20. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2014.02.001>
- 720 Petherick, J.C., 2005. Animal welfare issues associated with extensive livestock
721 production: The northern Australian beef cattle industry. Appl Anim Behav Sci 92,
722 211–234. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2005.05.009>
- 723 Petherick, J.C., Doogan, V.J., Venus, B.K., Holroyd, R.G., Olsson, P., 2009. Quality of
724 handling and holding yard environment, and beef cattle temperament: 2.
725 Consequences for stress and productivity. Appl Anim Behav Sci 120, 28–38.
726 <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2009.05.009>
- 727 Pfeifer, L.F.M., Castro, N.A., Neves, P.M.A., Cestaro, J.P., Siqueira, L.G.B., 2017.
728 Development and validation of an objective method for the assessment of body
729 condition scores and selection of beef cows for timed artificial insemination. Livest
730 Sci 197, 82–87. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2017.01.011>
- 731 Plasse, D., Warnick, A.C., Koger, M., 1970. Reproductive Behavior of Bos Indicus
732 Females in a Subtropical Environment. IV. Length of Estrous Cycle, duration of
733 Estrus, Time of Ovulation, Fertilization and Embryo Survival in Grade Brahman
734 Heifers. J Anim Sci 30, 63–72.
- 735 Pohler, Ky.G., Geary, T.W., Atkins, J.A., Perry, G.A., Jinks, E.M., Smith, M.F., 2012.
736 Follicular determinants of pregnancy establishment. Cell Tissue Res 349, 649–664.
- 737 Poindron, P., Lévy, F., Keller, M., 2007. Maternal responsiveness and maternal
738 selectivity in domestic sheep and goats: The two facets of maternal attachment. Dev
739 Psychobiol 49, 54–70. <https://doi.org/10.1002/dev.20192>
- 740 Poock, S.E., Payne, C.A., 2013. Incorporating reproductive management of beef heifers
741 into a veterinary practice. Veterinary Clinics of North America - Food Animal
742 Practice 29, 667–678. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2013.07.010>
- 743 R. F. Cooke, 2014. Temperament and acclimation to human handling influence growth,
744 health, and reproductive responses in Bos taurus and Bos indicus cattle.
- 745 Rault, J.L., Waiblinger, S., Boivin, X., Hemsworth, P., 2020. The Power of a Positive
746 Human–Animal Relationship for Animal Welfare. Front Vet Sci.
747 <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.590867>
- 748 Rekwot, P.I., Ogwu, D., Oyedipe, E.O., Sekoni, V.O., 2001. The role of pheromones and
749 biostimulation in animal reproduction, Animal Reproduction Science.



- 750 Rivard, G., Klemm, W.R., 1989. Two body fluids containing bovine estrous
751 pheromone(s). *Chem Senses* 14, 273–279. <https://doi.org/10.1093/chemse/14.2.273>
- 752 Röttgen, V., Schön, P.C., Becker, F., Tuchscherer, A., Wrenzycki, C., Döpjan, S., Puppe,
753 B., 2020. Automatic recording of individual oestrus vocalisation in group-housed
754 dairy cattle: Development of a cattle call monitor. *Animal* 14, 198–205.
755 <https://doi.org/10.1017/S1751731119001733>
- 756 Rueda, P.M., Sant’Anna, A.C., Valente, T.S., Paranhos da Costa, M.J.R., 2015. Impact
757 of the temperament of Nellore cows on the quality of handling and pregnancy rates
758 in fixed-time artificial insemination. *Livest Sci* 177, 189–195.
759 <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2015.04.021>
- 760 Rushen, J., Munksgaard, L., Marnet, P.G., Depassille, A.M., 2001. Human contact and
761 the effects of acute stress on cows at milking. *Appl Anim Behav Sci* 73, 1–14.
- 762 Rutten, C.J., Velthuis, A.G.J., Steeneveld, W., Hogeveen, H., 2013. Invited review:
763 Sensors to support health management on dairy farms. *J Dairy Sci* 96, 1928–1952.
764 <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6107>
- 765 Scott, C.J., Rose, J.L., Gunn, A.J., McGrath, B.M., 2018. Kisspeptin and the regulation
766 of the reproductive axis in domestic animals. *Journal of Endocrinology*.
767 <https://doi.org/10.1530/JOE-18-0485>
- 768 Selye, H., 1936. A Syndrome produced by Diverse Nocuous Agents. *Nature* 32–32.
- 769 Sheng, J.A., Bales, N.J., Myers, S.A., Bautista, A.I., Roueinfar, M., Hale, T.M., Handa,
770 R.J., 2021. The Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis: Development, Programming
771 Actions of Hormones, and Maternal-Fetal Interactions. *Front Behav Neurosci*.
772 <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2020.601939>
- 773 Taylor, K., Mills, D.S., 2007. A placebo-controlled study to investigate the effect of Dog
774 Appeasing Pheromone and other environmental and management factors on the
775 reports of disturbance and house soiling during the night in recently adopted puppies
776 (*Canis familiaris*). *Appl Anim Behav Sci* 105, 358–368.
777 <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2006.11.003>
- 778 Tilbrook, A.J., Clarke, I.J., 2006. Neuroendocrine mechanisms of innate states of
779 attenuated responsiveness of the hypothalamo-pituitary adrenal axis to stress. *Front*
780 *Neuroendocrinol*. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2006.06.002>
- 781 Toufexis, D., Rivarola, M.A., Lara, H., Viau, V., 2014. Stress and the reproductive axis.
782 *J Neuroendocrinol*. <https://doi.org/10.1111/jne.12179>
- 783 Turner, A.I., Hemsworth, P.H., Tilbrook, A.J., 2002. Susceptibility of reproduction in
784 female pigs to impairment by stress and the role of the hypothalamo-pituitary-
785 adrenal axis. *Reprod Fertil Dev*. <https://doi.org/10.1071/rd02012>
- 786 Van Soest, P.J., 1994. *Nutritional Ecology of the Ruminant*, 2nd ed.



- 787 Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A., 1991. Methods for Dietary Fiber, Neutral
788 Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. *J*
789 *Dairy Sci* 74, 3583–3597. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2)
- 790 Vedovatto, M., Faria, F.J.C., Costa, D.S., Cooke, R.F., Sanchez, J.M.D., Moriel, P.,
791 Coelho, R.N., Franco, G.L., 2021. Effects of temperament on body parameters,
792 ovarian structures and inflammatory response in grazing Nellore cows following
793 fixed-time artificial insemination. *Journal of Veterinary Behavior* 44, 50–54.
794 <https://doi.org/10.1016/j.jveb.2021.03.005>
- 795 Vedovatto, M., Leccioli, R.B., Lima, E. de A., Rocha, R.F.A.T., Coelho, R.N., Moriel,
796 P., da Silva, L.G., Ferreira, L.C.L., da Silva, A.F., Alves dos Reis, W.V., de Oliveira,
797 D.M., Franco, G.L., 2022. Impacts of body condition score at beginning of fixed-
798 timed AI protocol and subsequent energy balance on ovarian structures, estrus
799 expression, pregnancy rate and embryo size of *Bos indicus* beef cows. *Livest Sci*
800 256. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2022.104823>
- 801 Weiss, W.P., Conrad, H.R., Pierre, N.R. St., 1992. A theoretically-based model for
802 predicting total digestible nutrient values of forages and concentrates. *Anim Feed*
803 *Sci Technol* 39, 95–100.
- 804 Wolfenson, D., Roth, Z., Meidan, R., 2000. Impaired reproduction in heat-stressed cattle:
805 basic and applied aspects. *Anim Reprod Sci* 60, 535–547.
- 806 Yamazaki, K., Beauchamp, G.K., Curran, M., Bard, J., Boyse, E.A., 2000. Parent-
807 progeny recognition as a function of MHC odortype identity. Tucson.
- 808 Yıldırım, M., Çakır, D.Ü., Yurtman, İ.Y., 2022. Effects of restricted nutrition and flushing
809 on reproductive performance and metabolic profiles in sheep. *Livest Sci* 258.
810 <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2022.104870>
- 811 Yoshioka, M., Watanabe, A., Shimada, N., Murata, H., Yokomizo, Y., Nakajima, Y.,
812 2002. Regulation of haptoglobin secretion by recombinant bovine cytokines in
813 primary cultured bovine hepatocytes, *Domestic Animal Endocrinology*.
- 814
815



TABELAS E FIGURAS

1
2

3 **Tabela 1** Composição química da gramínea Marandu, pastejada por vacas durante o experimento.

Ítems ¹	ASAB		SALINA		SALINE e ASAB	
	d-9	d-9	d-9	d-9	d7	d30
Matéria Seca (MS), g/kg	925	925	925	925	929	923
Proteína Bruta g/kg of MS	46.4	50.0	50.0	50.0	54.6	56.8
FDN %	68.07	68.6	68.6	68.6	69.33	78.00
FDA %	37.94	39.02	39.02	39.02	36.73	39.56
Lignina %	7.25	6.15	6.15	6.15	8.74	7.52
Extrato Etéreo %	0.77	0.78	0.78	0.78	0.58	0.64
Cinzas %	12.71	12.71	12.71	12.71	9.50	7.65
NDT ² g/Kg	504.58	520.68	520.68	520.68	507.85	522.32
Mcal/kg of MS	2.22	2.30	2.30	2.30	2.24	2.30
NEm ³ ,	0.98	1.04	1.04	1.04	1.00	1.05
NEg ³ , Mcal/kg	0.44	0.49	0.49	0.49	0.45	0.49

4 FDN, fibra em detergente neutro; FDA, fibra em detergente ácido; NDT, nutrientes digestíveis totais;

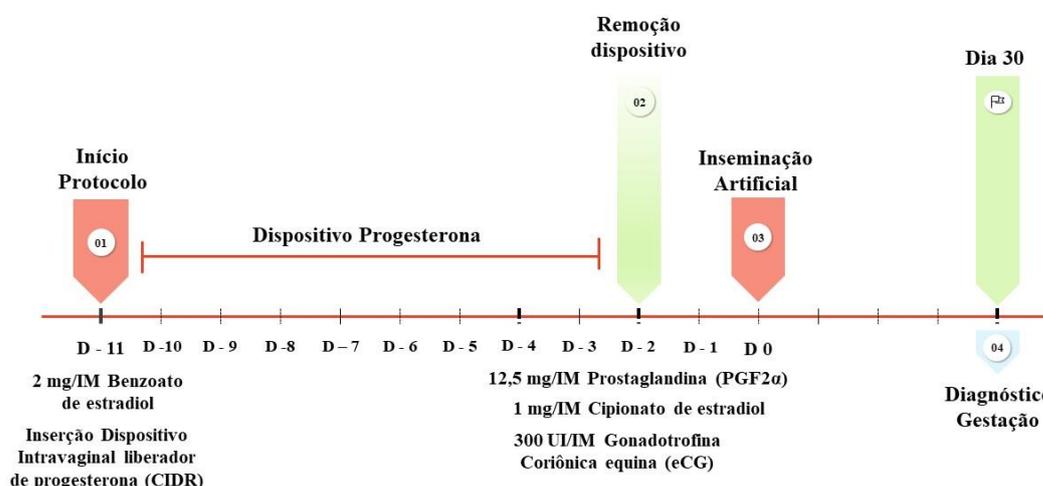
5 NEm, energia líquida para manutenção; NEg, energia líquida para ganho.

6 ²Calculo descrito por Weiss et al. (1992).

7 ³Calculo utilizando as equações propostas pelo NASEM (2016).

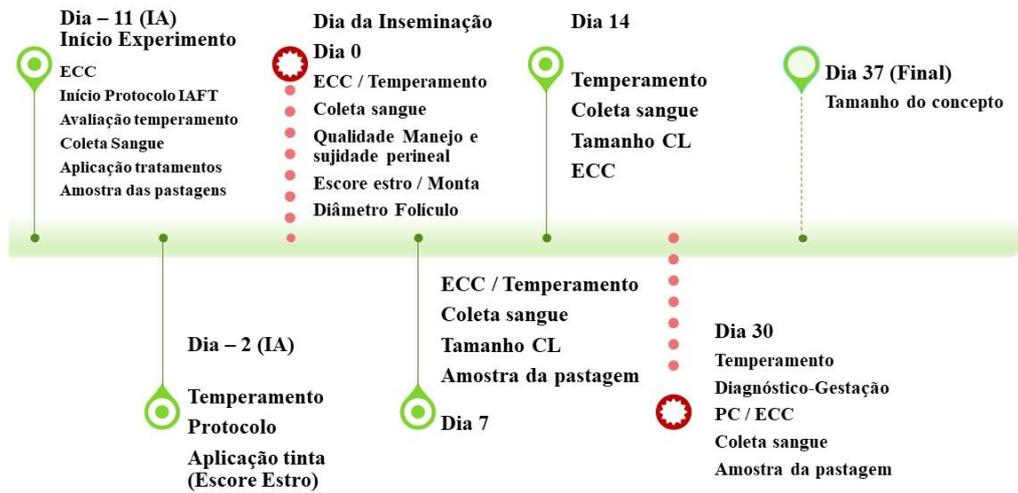
8

9



10

11 **Figura 6** Esquema do protocolo de inseminação artificial de tempo fixo (IATF) de d -11 ao d 0. Em d - 11,
12 as vacas receberam aplicação intramuscular de 2 mg de benzoato de estradiol (Gonadiol; Zoetis, São Paulo,
13 Brasil) e foi inserido com um dispositivo intravaginal liberador de progesterona (PRIMER; Agener). No d
14 -2, o dispositivo foi removido e foi aplicado via intramuscular PGF2α (12,5 mg; Lutalyse; Zoetis, São
15 Paulo, Brasil), cipionato de estradiol (1 mg; ECP, Brasil) e eCG (300 UI; Novormon; Zoetis). No dia d 0,
16 foi realizado o diagnóstico de gestação.



17

18 **Figura 7** Fluxo das etapas desenvolvidas com vacas submetidas a um protocolo de IATF, aplicação solução
19 Salina (n=14), substância apaziguadora bovina ASAB (n=15) e coleta de amostras

20

21



22 **Tabela 2** Parâmetros corporais de vacas multíparas recebendo solução Salina (Salina; n = 34) ou substância
23 apaziguadora bovina (ASAB; n = 34) no início do protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (d -
24 11).

Itens	Tratamentos ¹		SEM	P-valor		
	SALINA	ASAB		Tratamento	Dia	Tratamento × dia
ECC ângulo garupa, °				0.47	<0.01	0.59
d -11	104.83	104.69	0.77			
d 0	102.98	102.90	0.77			
d 7	109.64	111.44	0.82			
d 14	111.90	112.01	0.83			
d 30	112.16	113.11	0.83			
Média (d -11 ao 30)	108.30	108.83	0.52			
Mudança ECC, °						
d -9 ao 30	7.50	8.71	1.24	0.48	-	-
ECC visual, 1 - 9				0.22	<0.01	0.47
d -9	4.13	4.38	0.10			
d 0	3.91	3.83	0.10			
d 7	4.06	4.17	0.11			
d 14	4.03	4.19	0.11			
d 30	4.49	4.63	0.11			
Média (d -11 ao 30)	4.23	4.24	0.07			
Mudança ECC visual, 1 - 9						
d -11 ao 30	0.40	0.22	0.17	0.42	-	-

25 ¹ Salina = solução Salina; ASAB = substância apaziguadora bovina. Tratamento (5 ml) foram topicamente
26 aplicados na região da nuca dos animais.
27

28



29 **Tabela 3** Temperamento, qualidade do manejo e sujidade da região perineal de vacas multíparas recebendo
30 solução Salina (Salina; n = 34) ou substância apaziguadora bovina (ASAB; n = 34) no início do protocolo
31 de inseminação artificial em tempo fixo (d -11).

Itens ¹	Tratamentos ²			P-valor		
	Salina	ASAB	SEM	Tratamento	Dia	Tratamento × dia
<i>Temperamento</i>						
Escore entrada (1 – 3)				0.68	<0.01	0.80
d -11	1.30	1.25	0.09			
d -2	1.30	1.41	0.09			
d 0	1.36	1.32	0.09			
d 7	1.36	1.32	0.10			
d 14	1.21	1.25	0.11			
d 30	1.50	1.66	0.11			
Média (d -11 ao 30)	1.34	1.37	0.06			
Escore Tronco (1 – 5)				0.67	<0.01	0.50
d -11	2.01	1.92	0.08			
d -2	1.53	1.42	0.08			
d 0	1.25	1.08	0.08			
d 7	1.13	1.17	0.10			
d 14	1.02	1.13	0.10			
d 30	1.20	1.26	0.10			
Média (d -11 ao 30)	1.36	1.33	0.04			
Escore saída (1 – 3)				0.83	0.72	0.81
d -11	1.31	1.23	0.08			
d -2	1.28	1.22	0.07			
d 0	1.34	1.26	0.07			
d 7	1.20	1.30	0.08			
d 14	1.16	1.19	0.09			
d 30	1.23	1.23	0.08			
Média (d -11 ao 30)	1.25	1.24	0.04			
<i>Manejo e Sujidade (d 0)</i>						
Agressão, %	9.09 (3/34)	0.00 (0/34)	3.59	0.08	-	-
Tempo Inseminação, s	14.56	12.17	1.03	0.10	-	-
Sujidade perineal, %	43.19	34.09	4.99	0.20	-	-

32 ¹ Salina = solução Salina; ASAB = substância apaziguadora bovina. Tratamentos (5 ml) foram aplicados
33 topicamente na região de pele da nuca de cada animal.

34 Valores em parênteses representam o número de vacas que apresentaram acidente ou agressão.

35



36

37 **Tabela 4** Variáveis Reprodutivas de vacas multíparas recebendo solução Salina (Salina; n = 34) ou
38 substância apaziguadora bovina (ASAB; n = 34) no início da inseminação artificial de tempo fixo (d -11).

Itens ¹	Tratamentos ²		SEM	P-valor
	Salina	ASAB		
<i>Variáveis Estro</i>				
Escore Estro (d 0), 1 – 3	1.82	1.67	0.13	0.40
Monta (d 0), %	78.79 (27/34)	87.88 (30/34)	6.53	0.33
<i>Variáveis Ovarianas</i>				
Diâmetro Folículo Dominante (d 0), mm	13.46	12.75	0.60	0.44
Diâmetro CL, mm				
d 7	19.20	18.52	0.52	0.34
d 14	18.38	18.96	0.47	0.37
Volume CL, cm ³				
d 7	3.88	3.50	0.29	0.34
d 14	3.46	3.63	0.28	0.65
Progesterona, ng/mL				
d 7	5.94	5.08	0.96	0.50
d 14	6.76	6.08	0.90	0.61
<i>Taxa Gestação, %</i>				
d 37	46.88 (15/34)	50.00 (16/34)	8.97	0.81
<i>Tamanho Concepto</i>				
Ângulo Garupa, mm				
d 37	10.55	9.86	0.36	0.19
Torácico, mm				
d 37	4.58	4.61	0.23	0.94

39 ¹Nos protocolos de IATF, no momento da remoção do dispositivo de progesterona, todas as vacas eram
40 pintadas na região sacral com tinta (RaideXMaxi; RAIDEX GmbH, Dettingen/Erms, Alemanha), e no
41 momento da inseminação artificial, a expressão do estro foi avaliada e classificada em escores de acordo
42 com a remoção da tinta na região sacral: 1 – sem remoção de tinta = sem expressão do estro; 2 – má remoção
43 de tinta = baixa expressão do estro; 3 – remoção total da tinta = alta expressão do estro (Rodrigues et al.,
44 2019).

45 ²Salina = solução Salina; ASAB = substância apaziguadora bovina. Os tratamentos (5 ml) foram aplicados
46 topicamente na área da pele da nuca de cada animal. Os valores entre parênteses representam o número de
47 vacas que sofreram acidente ou causaram agressão.

48



49 **Tabela 5** Variáveis séricas de vacas que receberam solução Salina (Salina; n = 14) ou análogas à substância
50 apaziguadora bovina (AASAB; n = 15) no início da inseminação artificial em tempo fixo (d -9)

Itens ¹	Tratamentos ²			P-valor		
	Salina	ASAB	SEM	Tratamento	Dia	Tratamento × dia
Cortisol (µg/dL)				0.66	0.79	0.89
d -11	2.67	2.91	0.32			
d 0	2.69	2.72	0.32			
d 7	2.39	2.54	0.42			
d 14	2.82	2.60	0.40			
d 30	2.67	3.17	0.40			
Média (d -9 ao 30)	2.64	2.79	0.22			
Haptoglobina (mg/mL)				0.24	<0.01	0.89
d -11	0.38	0.38	0.02			
d 0	0.40	0.38	0.02			
d 7	0.26	0.26	0.02			
d 14	0.34	0.31	0.02			
d 30	0.34	0.32	0.02			
Média (d -9 ao 30)	0.35	0.33	0.01			

51 ¹ Salina = solução Salina; ASAB = substância apaziguadora bovina. Os tratamentos (5 ml) foram
52 aplicados topicamente na área de pele da nuca de cada animal.

53



54
55

IMPLICAÇÕES DE CONSIDERAÇÕES FINAIS

56 O estresse crônico e intenso pode afetar negativamente a saúde reprodutiva em
57 fêmeas bovinas, interferindo na regulação hormonal e metabólica do ciclo reprodutivo. A
58 disrupção da homeostase do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal (HHG) devido ao
59 estresse pode levar a problemas de fertilidade, impactando a eficiência produtiva e
60 reprodutiva do rebanho.

61 A compreensão dos efeitos do estresse sobre o sistema reprodutivo é crucial para
62 a indústria pecuária, visto que a eficiência do rebanho está intrinsecamente ligada à saúde
63 e bem-estar dos animais.

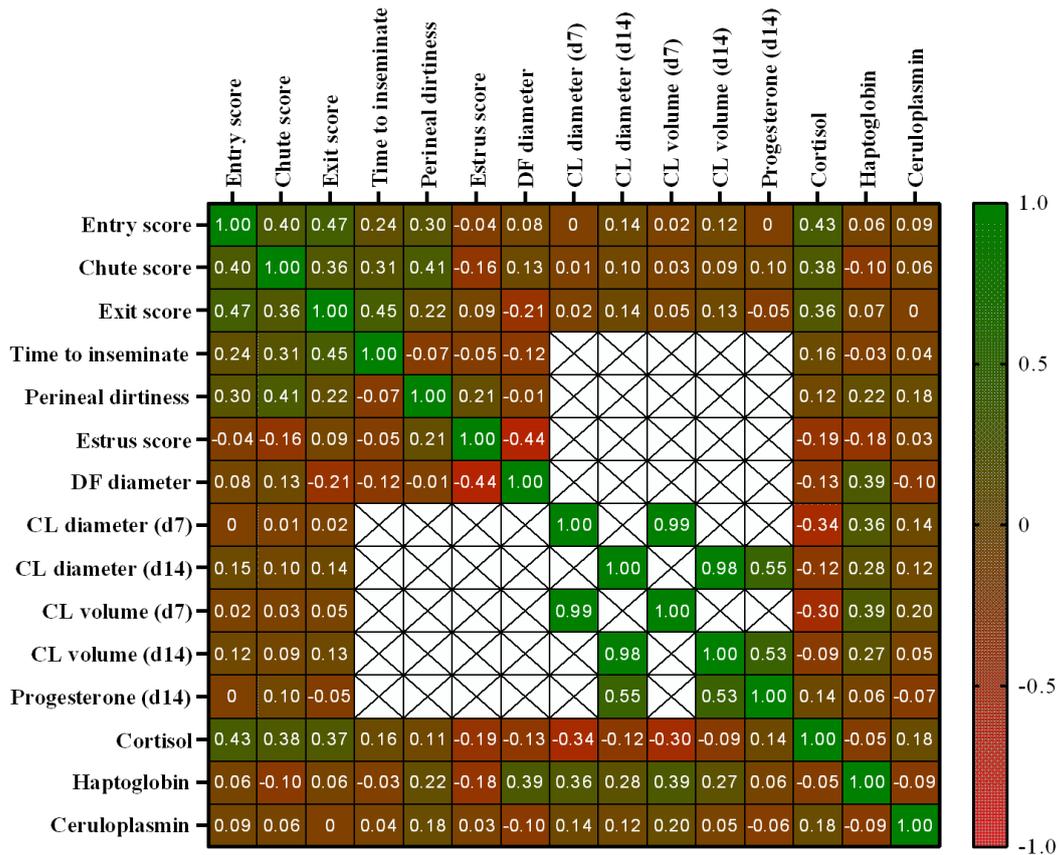
64 Estratégias de manejo reprodutivo devem levar em consideração os impactos do
65 estresse sobre as variáveis reprodutivas e produtivas, visando garantir um ambiente
66 confortável e seguro para os animais. Além disso, o uso do ASAB demonstrou influenciar
67 positivamente algumas variáveis relacionadas ao desempenho reprodutivo, destacando a
68 importância de pesquisas contínuas para desenvolver abordagens preventivas e
69 terapêuticas que otimizem a reprodução e a produção.



1
2
3
4
5
6

ANEXOS

Anexo I – Mapa de calor da correlação de Person entre as variáveis avaliadas no experimento. Cores verdes representam correlação positiva, cores vermelhas representam correlação negativa entre as variáveis.





7
8
9
10

Anexo II. Escore de condição corporal ângulo de garupa, relação entre o ângulo interno formado entre os lados esquerdo e direito da garupa, entre 104° e 124° , fêmeas aptas para reprodução



11



12
13
14
15

Anexo III. Aplicação dos tratamentos, tópico, tratamentos: 1) solução Salina (Saline; 0.9 % de NaCl) ou análogo da substância apaziguadora bovina (ASAB; (Secure Cattle, Nutricorp®, Araras, SP, Brasil).



16