



**FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS
CURSO DE DOUTORADO**



**FERTILIDADE DE VACAS DE CORTE SUBMETIDAS À IATF
COM DIFERENTES ESTRATÉGIAS NUTRICIONAIS E
HORMONAIS**

WAGNER RODRIGUES GARCIA

CAMPO GRANDE-MS

OUTUBRO / 2019

WAGNER RODRIGUES GARCIA

FERTILIDADE DE VACAS DE CORTE SUBMETIDAS À IATF COM DIFERENTES ESTRATÉGIAS NUTRICIONAIS E HORMONAIS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciências Veterinárias.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Eliane Vianna da Costa e Silva

Co-orientador: Prof. Dr. Ériklis Nogueira

**CAMPO GRANDE-MS
OUTUBRO / 2019**

“Aos meus pais (Alcides e Hélia) e meu querido filho Felipe, com amor e gratidão, dedico este trabalho”.

AGRADECIMENTOS

A Deus, guia e suporte para meu desenvolvimento pessoal e espiritual, sobretudo nessa etapa.

Aos meus queridos pais Alcides Garcia e Hélia Rodrigues Garcia, por proporcionarem a base do meu desenvolvimento, o incentivo na minha vida acadêmica, compreensão por minhas ausências e principalmente pelo amor.

Ao meu amado filho Felipe Guimarães Garcia, minha inspiração e meu suporte de vida. O verdadeiro sentido do amor incondicional.

Aos meus irmãos Olivia Rodrigues Garcia e Daniel Rodrigues Garcia, pelo incentivo, amizade e acima de tudo por sempre estarem ao meu lado, mesmo que distante, mais em coração. Ao meu irmão cunhado Mário Paulino e meu querido sobrinho afilhado Thiago Paulino Garcia.

À minha querida namorada Camile Sanches Silva por todo o incentivo, parceria e dedicação. Espírito iluminado sempre presente para me alegrar, motivar, dando o verdadeiro sentido para as palavras companheirismo e amor, agradeço de coração. A minha estimada sogra Neuza Sanches pelo apoio e amizade verdadeira, agradeço muito seus conselhos.

Ao meu querido prof. Dr Alfredo Sampaio Carrijo (*in memorian*), amigo que sempre me incentivou e foi minha referência de profissional. Tenho certeza que no céu você está muito feliz por essa conclusão. Saudades meu grande amigo.

À minha professora e orientadora Prof^a. Eliane Vianna da Costa e Silva, pela dedicação e confiança durante todo esse tempo. Gratidão pelos conselhos e ensinamentos.

Ao meu co-orientador Dr. Érikles Nogueira, profissional extremamente competente e exemplar, agradeço pela orientação, dedicação, acolhimento e amizade de tanto tempo.

Aos proprietários das Fazendas Pinheirão: Idamir Munarin, José Carlos Santin e em especial, Ana Paula Santin, pela confiança no meu trabalho, pela amizade e por permitir a utilização dos animais e das instalações para este estudo. A todos os funcionários envolvidos no trabalho de tantos anos, Ivair, Luciano, Cristina, Ito, Vicente e tantos outros. Muito obrigado meus amigos.

Aos estagiários e veterinários envolvidos na pesquisa e nas atividades práticas: Nathan, Rodrigo, Morgana, Glenda, Geovani, Wagner, Marcelo, ... agradeço pelo auxílio e amizade nesta etapa tão importante.

Aos amigos professores Fernandão, Larissa, Gilberto, Alda, Elisa e Aline, por todo o apoio na realização desta pesquisa. Grandes amigos que a vida me deu a oportunidade de ter. Gratidão.

Aos amigos do Repronutri, pelo auxílio e parceria durante a execução de diversos projetos. Tenho muito orgulho em participar de um grupo de pesquisa tão importante.

À Universidade Anhanguera-Uniderp pelo auxílio e parceria. Minha gratidão e felicidade em fazer parte desta equipe de profissionais. À todos meus colegas docentes, muito obrigado pelo apoio incondicional.

À Universidade Federal Mato Grosso do Sul (UFMS) pela oportunidade da realização e construção da minha vida profissional, desde a graduação até o doutorado. Aos professores, colaboradores pós-graduandos do Programa de Pós-graduação em Ciência Veterinária (PPGCV).

À DSM – Tortuga pelo apoio e parceria durante toda a execução do experimento, meu agradecimento especial.

Obrigado a todos, vocês foram essenciais durante a caminhada para a conclusão deste trabalho!

Elevo os meus olhos para os montes: de onde me virá socorro?

O meu socorro virá do Senhor, criador do céu e da terra.

*Ele não permitirá que teus pés resvaalem; não dormirá aquele que te
guarda.*

Não, não há de dormir, nem adormecer o guarda de Israel.

O Senhor é teu guarda, o Senhor é teu abrigo, sempre ao teu lado.

De dia, o sol não te fará mal; nem a lua durante a noite.

O Senhor te resguardará de todo o mal; ele velará sobre tua alma.

O Senhor guardará os teus passos, agora e para todo o sempre.

(Salmo 120)

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1.....	12
1. INTRODUÇÃO.....	12
2. OBJETIVOS.....	14
2.1. Objetivos Gerais.....	14
2.2. Objetivos Específicos.....	14
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	15
3.1. Influência nutricional no período pós-parto.....	15
3.2. Suplementação vitamínica.....	15
3.2.1. Vitamina A.....	16
3.2.2. Vitamina D.....	19
3.2.3. Vitamina E.....	20
3.2.4. Biotina.....	21
3.3. Aspectos fisiológicos da expressão de cio e impacto sobre a eficiência reprodutiva.....	22
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	25
CAPÍTULO 2.....	33
Resumo.....	33
Abstract.....	34
Introdução.....	34
Material e Métodos.....	35
Resultados.....	39
Discussão.....	42
Conclusão.....	45
Referências Bibliográficas	45

CAPÍTULO 3.....	49
Resumo.....	49
Abstract.....	50
Introdução.....	50
Material e Métodos.....	52
Resultados.....	54
Discussão.....	57
Conclusão.....	59
Referências Bibliográficas	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Comparação da condição corporal e crescimento folicular entre vacas suplementadas com Betacaroteno e vitaminas (BetaC+Vit) e não suplementadas submetidas a protocolo de Inseminação artificial em tempo fixo.....	40
Tabela 2. Influência da expressão de cio sobre a taxa de prenhez (TxP IATF), em vacas zebuínas lactantes submetidas à IATF	41
Tabela 3. Média de ECC e Taxa de Prenhez à IATF por grupo experimental.....	54
Tabela 4. Taxa de prenhez entre os grupos experimentais, de acordo com animal, em fêmeas bovinas submetidas à IATF.....	56

LISTA DE QUADRO

Quadro 1. Níveis de Garantia do suplemento para matrizes bovinas submetidas ao protocolo.....	37
---	----

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama experimental do protocolo de sincronização de ovulação de vacas e suplementação com betacaroteno e vitaminas ADE e biotina.....	38
Figura 2. Influência do nível sérico de betacaroteno sobre o diâmetro do folículo dominante.....	41
Figura 3. Taxa de prenhez à IATF e acumulativa final entre os grupos experimentais.....	42
Figura 4. Influência do diâmetro do folículo dominante na taxa de prenhez à IATF.....	42
Figura 5. Diagrama experimental do protocolo de sincronização de ovulação.....	53
Figura 6. Influência na taxa de prenhez em função do escore de condição corporal para fêmeas bovinas submetidas a programas de IATF	55
Figura 7. Efeito do escore de condição corporal sobre a taxa de prenhez à IATF em fêmeas bovinas, de acordo com os grupos experimentais.....	55

Figura 8. Taxa de observação de cio (escore de tinta 3) e taxa de prenhez a IATF em 56 fêmeas bovinas, de acordo com categorias.....

RESUMO: O objetivo deste trabalho foi avaliar estratégias nutricionais e hormonais durante a condução de protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) nas respostas ovarianas e na taxa de concepção após IATF em fêmeas zebuínas de corte. Deste modo, aferindo-se potenciais implicações práticas na utilização desses dados para a melhoria dos resultados em programas de IATF em fêmeas zebuínas. Essa tese é dividida em três capítulos. No primeiro capítulo, foi realizada uma referência bibliográfica sobre implicações nutricionais e hormonais em relação às respostas das fêmeas após sincronização da ovulação e IATF. O segundo capítulo determina a influência dos níveis séricos de retinol sobre a taxa de prenhez na IATF, em animais suplementados ou não com betacaroteno e vitaminas (ADE e biotina) na mistura mineral. Verificando o efeito da suplementação sobre a componentes metabólicos, dinâmica ovarina e taxa de prenhez à IATF e acumulativa na estação de monta. Foi observado que o nível sérico de betacaroteno está correlacionado positivamente com o crescimento folicular, entretanto a suplementação durante o verão não influenciou a taxa de prenhez à primeira IATF em vacas zebuínas lactantes mantidas em pastagens tropicais, evidenciando a necessidade de mais pesquisas que avaliem os efeitos desses nutrientes na reprodução bovina. Por fim, o terceiro capítulo determina o efeito da aplicação de GnRH em fêmeas bovinas, com ausência ou pouca expressão de cio, no momento da IATF, em diferentes categorias e condição corporal. Avaliando a interação do GnRH exógeno com ECC e categoria de fêmeas bovinas submetidas a protocolos de IATF e não expressaram cio. Foi observado que a ocorrência de estro determina maior probabilidade das matrizes, independente da categoria, se tornarem gestantes quando submetidas à IATF. A utilização de análogos de GnRH é uma ferramenta efetiva para aumentar a taxa de prenhez em primíparas e multíparas com baixa ou nenhuma expressão de estro. Portanto, a utilização de estratégias hormonais e nutricionais são fatores fundamentais para o sucesso dos programas de sincronização da ovulação para IATF de fêmeas zebuínas, e tais critérios devem ser analisados e executados no intuito de alcançar melhor eficiência reprodutiva.

PALAVRAS-CHAVES: nutrição, reprodução, vaca

ABSTRACT: The objective of this study was to evaluate nutritional and hormonal strategies while conducting fixed time artificial insemination (FTAI) protocols on ovarian responses and conception rate after FTAI in zebu females. Thus, potential practical implications for the use of these data to improve the results in TAI programs in zebu females are assessed. This thesis is divided into three chapters. In the first chapter, a bibliographic reference on nutritional and hormonal implications regarding female responses after ovulation synchronization and TAI was performed. The second chapter determines the influence of serum retinol levels on FTAI pregnancy rate in animals supplemented or not with beta carotene and vitamins (ADE and biotin) in the mineral mixture. Verifying the effect of supplementation on metabolic components, ovarian dynamics and pregnancy rate to FTAI and cumulative in the breeding season. Serum beta-carotene level was positively correlated with follicular growth; however, summer supplementation did not influence the pregnancy rate at the first FTAI in lactating zebu cows kept on tropical pastures, highlighting the need for further research to evaluate the effects of these nutrients in bovine reproduction. Finally, the third chapter determines the effect of GnRH application on bovine females, with or without estrus expression, at the time of FTAI, in different categories and body condition. Evaluating the interaction of exogenous GnRH with ECC and category of bovine females submitted to FTAI protocols and did not express estrus. It was observed that the occurrence of estrus determines the higher probability of pregnancy, regardless of category, becoming pregnant when submitted to FTAI. The use of GnRH analogs is an effective tool for increasing the pregnancy rate in primiparous and multiparous cows with low or no estrus expression. Therefore, the use of hormonal and nutritional strategies are fundamental factors for the success of Zebu female TAI ovulation synchronization programs, and such criteria should be analyzed and executed in order to achieve better reproductive efficiency.

KEYWORDS: cow, nutrition, reproduction

CAPÍTULO 1

1. INTRODUÇÃO

O rebanho bovino brasileiro é composto por aproximadamente 214,69 milhões de animais, sendo 44,2 milhões de cabeças abatidas anualmente, totalizando 10,9 milhões de toneladas em equivalente carcaça, das quais 20,1% destinam-se ao mercado externo, o que garantiu em 2018 um faturamento de todo o agronegócio da pecuária de R\$ 597,22 bilhões. Em uma década, houve um aumento em mais de 80% no montante gerado pela pecuária, incluindo desde os insumos, receita na venda dos animais, até o total comercializado pelas indústrias e varejo (ABIEC, 2018).

A eficiência reprodutiva do rebanho é um fator primordial na melhoria produtiva da pecuária, sendo diretamente relacionada a estratégias nutricionais, avaliação do status sanitário e ao uso adequado de programas de melhoramento genético animal. A necessidade do estabelecimento de um intervalo de partos de 12 meses, obtendo um bezerro por vaca por ano, é uma premissa fundamental na otimização da pecuária de cria (MCGOWAN et al., 2014). Entretanto, diversos fatores fisiológicos, metabólicos e nutricionais limitam a obtenção dessa meta, entre eles, o anestro pós-parto prolongado (YAVAS e WALTON, 2000).

Uma das principais responsáveis pelo crescimento da adoção de biotecnologias reprodutivas no Brasil é a inseminação artificial em tempo fixo (IATF), pois a IATF difundiu e ampliou o volume de fêmeas prenhes via inseminação artificial. Os segmentos de corte e leite comercializaram 13.831.149 doses em 2018, contra 12.134.438 doses em 2017, conferindo um incremento de 14% nas vendas (ASBIA, 2018).

Apesar do expressivo incremento na utilização desta biotecnologia, um dos maiores limitantes para resposta adequada aos programas de IATF é a condição corporal da fêmea bovina durante o período pós-parto, pois baixo escore de corporal intensifica o anestro pós-parto (ECHTERNKAMP et al., 1982; LALMAN et al., 1997; YAVAS e WALTON, 2000). Além disso, outros fatores também contribuem para a ausência de ciclicidade, como categoria animal (GRIMARD et al., 1995) e a presença do bezerro (WILLIAMS et al., 1983). Condições de

subnutrição, devido a reduzida oferta de pastagens, determinam um bloqueio da secreção de GnRH e, conseqüentemente, da liberação de LH (SCHILLO et al., 1992), limitando a resposta adequada aos tratamentos de indução hormonal na IATF (BARUSELLI et al., 2004).

O aumento da demanda energética ao final da gestação está associada a maior mobilização de gordura e redução na ingestão de matéria seca nas últimas semanas antes do parto, fatores que determinam uma situação de extremo desafio nutricional e metabólico, deste modo potencializam o anestro pós-parto, já que o não suprimento dos requerimentos nutricionais leva a maior mobilização de reservas corporais e, conseqüentemente, mobilização de gordura, com tendência a um agravamento do balanço energético negativo (BEN; STAPLES et al., 1990; DRACKLEY, 1999; JUCHEM et al., 2000).

O estabelecimento de estratégias nutricionais e farmacológicas que otimizem o retorno do equilíbrio fisiológico durante o puerpério é essencial na busca da eficiência reprodutiva, principalmente em rebanhos de fêmeas lactantes mantidas em pastagens e posteriormente submetidas a protocolos de IATF. Uma das opções para contornar a maior mobilização de reservas corporais é a utilização de ferramentas nutricionais, visando promover melhor desempenho metabólico, seja a partir de aumentos quantitativos e/ou qualitativos dos nutrientes disponíveis ou na eficiência de utilização destes nutrientes (DA SILVA et al., 2017) e o emprego estratégico de fármacos visando otimizar a resposta da sincronização de ovulação em bovinos (RODRIGUES et al., 2019).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito de estratégias nutricionais e hormonais no desempenho reprodutivo de fêmeas bovinas mantidas em pastagens e submetidas a protocolos de inseminação artificial em tempo fixo.

2.2. Objetivos específicos

- Verificar o efeito da suplementação de betacaroteno e vitaminas (ADE e biotina) sobre a taxa de crescimento folicular, diâmetro do folículo dominante no dia da IA e taxa de prenhez cumulativa na estação de monta.
- Determinar a influência dos níveis séricos de betacaroteno sobre o tamanho do folículo dominante, em animais suplementados ou não com betacaroteno e vitaminas (ADE e biotina) na mistura mineral.
- Efeito da aplicação de GnRH em fêmeas bovinas, com ausência ou pouca expressão de cio, no momento da IATF, em diferentes categorias e condição corporal.
- Avaliar o efeito da aplicação de GnRH exógeno em fêmeas com diferentes ECC e diferentes categorias, que não expressaram cio quando submetidas a IATF.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Influência nutricional no período pós-parto

O escore de condição corporal ao parto influencia sobremaneira o período pós-parto, pois ao iniciar o período de lactação, há um substancial aumento na exigência nutricional. Além disso, há demandas para a recuperação da condição uterina e retorno da ciclicidade, em primíparas a exigência é ainda maior, já que ainda não atingiram seu peso adulto (NRC, 2001). A situação pode ser agravada em propriedades que utilizam a estratégia de estação de monta, com partos no período de seca, coincidindo com escassa disponibilidade de forragem (NOGUEIRA et al., 2015).

O estado nutricional inadequado no pós-parto é um dos fatores mais importantes no atraso da primeira ovulação pós-parto, pois a redução na condição corporal aumenta significativamente o risco de atraso na ovulação e prolongamento do início da atividade luteal (BUTLER, 2000; SHRESTHA et al., 2005). Durante esse período, a excessiva mobilização de nutrientes pode atrasar o início da ovulação por meio da redução na pulsatilidade de hormônio luteinizante (LH), além de baixas concentrações plasmáticas de glicose, insulina e fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-I), o que coletivamente limita o crescimento do folículo dominante (BUTLER, 2000).

Alterações nutricionais que potencializem o anestro pós-parto implicam em perdas econômicas consistentes para o setor de produção de carne, pois há estreita relação entre o nível nutricional das fêmeas e sua eficiência reprodutiva (CUTIA e BÓ, 2004). Assim, o fornecimento de 1,5 kg de suplemento durante os últimos 60 dias de gestação, é uma estratégia de manejo nutricional que pode ser adotada para melhorar o desempenho da vaca, reduzindo a perda de peso após o parto e reduzindo o intervalo de partos, sem efeito negativo no consumo de forragem ou digestibilidade (DA SILVA et al., 2017).

3.2. Suplementação vitamínica

As vitaminas exercem diversas funções no organismo, dentre as quais aquelas relacionadas ao crescimento, reprodução e saúde. Apresentam atuação em sítios específicos e mais de uma vitamina pode estar envolvida em uma mesma

função (LEE e DUBROWSKI, 2004). Vale salientar que suas deficiências podem levar a sintomas negativos ao organismo (CASALS e CALSAMIGLIA, 2012).

3.2.1 Vitamina A

A vitamina A (retinol) não ocorre de modo direto nas plantas, mas sim na forma de precursores, os carotenos, que são pigmentos amarelo-alaranjados presentes nas folhas verdes, em menor escala nos grãos de milho. Quatro destes compostos, alfacaroteno, betacaroteno, gamacaroteno e criptoxantina, são de particular importância devido à sua forma de provitamina A (OLSON, 2001). A atividade da vitamina A do betacaroteno é substancialmente maior que a de outros carotenoides (TANUMIHARDJO e HOWE, 2005).

Os carotenoides são denominados de “provitamina A” porque podem ser transformados enzimaticamente em vitamina A pela maioria das espécies. O principal local de conversão do caroteno em retinol é a mucosa gastrointestinal. Nos ruminantes, são transformados no rúmen, com 24% de eficiência de conversão (MCDOWELL, 2012). Nesse processo, o betacaroteno é clivado pela enzima: betacaroteno 15, 15-dioxigenase, produzindo uma molécula de retinaldeído, que é enzimaticamente reduzida a retinol. Para que haja a absorção e subsequente conversão de betacaroteno em retinol, são necessários processos normais de digestão e absorção de gordura, além de conteúdo adequado de gordura na dieta (BAUERNFEIND, 1981).

A conversão do betacaroteno em retinol é inversamente proporcional ao status da vitamina A (MCDOWELL, 1989). Há uma diminuição da conversão com o aumento da ingestão de caroteno ou vitamina A e com o aumento das concentrações de vitamina A no fígado (VAN VLIET et al., 1996).

Vale ressaltar que durante o período quente e chuvoso do ano as pastagens possuem abundância de carotenoides (provitamina A), caindo drasticamente durante a seca. Adicionalmente, a digestibilidade do caroteno é maior durante os meses mais quentes e menor durante o inverno (ANDRIGUETTO et al., 1990). Vários fatores podem ainda afetar a absorção de carotenoides, entre eles, o isomerismo *cis-trans* dos carotenoides, sendo as formas *trans* mais eficientemente absorvidas (STAHL et al., 1995).

O tecido hepático possui competência de armazenar vitamina A suficiente para resguardar os animais da deficiência por longos períodos de baixa ingestão de caroteno. As concentrações de retinol hepático acima de 20µg/g de tecido fresco fornecem reservas adequadas para manter o retinol sérico dentro dos limites normais (HERDT e STOWE, 1991). Essa grande capacidade de armazenamento deve ser considerada em estudos de requisitos de vitamina A, visando assegurar que as ingestões que parecem adequadas para uma dada função não estejam sendo suplantadas por reservas armazenadas antes do período de observação.

A deficiência de vitamina A resulta em xeroftalmia, metaplasia, diferenciação epitelial, anorexia e comprometimento da função imunológica (ROSS e HARRISON, 2007). Requisitos de vitamina A, estão sendo utilizados para uma gama de indicadores de status fisiológicos, incluindo a ocorrência de cegueira noturna (por ser responsável pela síntese de rodopsina), manutenção da pressão normal no líquido cefalorraquidiano e as quantidades necessárias para o crescimento e reprodução (MCDOWELL, 2000). Ao nascimento, os ruminantes têm reservas hepáticas muito baixas de vitamina A, o que é refletido pela baixa concentração de vitamina A sanguínea. A fim de evitar a deficiência, o recém-nascido necessita ingerir grandes quantidades de vitamina A através do colostro (SWANSON et al., 2000; ZANKER et al., 2000).

Uma das características do retinol que tem sido amplamente estudada é a sua influência na reprodução. A carência de retinol pode reduzir a eficiência reprodutiva em vacas, especialmente sobre a função ovariana e uterina (HURLEY e DOANE, 1989). Há uma correlação positiva entre os níveis plasmáticos de progesterona e o teor celular de betacaroteno no corpo lúteo de bovinos (RAPOPORT et al., 1998).

O papel positivo dos carotenoides, especialmente o betacaroteno, na fertilidade da vaca, já foi descrito em diversos estudos (HURLEY e DOANE, 1989; DE BIE et al., 2016; KAWASHIMA et al., 2009; ARECHIGA et al., 1998). O suprimento de vitamina A é fundamental para a manutenção da atividade reprodutiva, uma vez que sua escassez provoca a atresia ou persistência de folículos, degeneração cística (ANDRIGUETTO et al., 1984), maior quantidade de

abortos, retenção de placenta e nascimento de bezerros debilitados, cegos ou mortos (SCHAFHAUSER e GAEDE, 1997).

Em rebanho leiteiro mantido sob condições de estresse térmico e suplementados com betacaroteno por 90 dias ou mais, submetendo os animais a altos níveis de vitamina A na dieta (200.000 a 250.000 UI / dia), o betacaroteno provocou um aumento consistente na produção de leite, com melhoria na taxa de prenhez (ARÉCHIGA et al., 1998).

Ao avaliar vacas zebuínas lactantes, suplementadas com betacaroteno e vitaminas, Gouvêa et al. (2018) observaram um acréscimo na taxa de prenhez a primeira IATF de 15,6% (67% vs 58%). Entretanto, não observaram diferenças na taxa de prenhez na segunda IATF, na monta natural subsequente e na taxa geral de prenhez ao final da estação reprodutiva.

De acordo com Graves-Hoagland et al. (1988) há uma correlação positiva entre a função luteal bovina pós-parto e as concentrações sanguíneas de betacaroteno, que podem desempenhar um efeito antioxidante no folículo, influenciando de maneira positiva o microambiente do oócito na presença de estresse metabólico materno (DE BIE et al., 2016). Schweigert et al. (1988) relacionaram que a concentração intrafolicular de vitamina A influencia positivamente a qualidade folicular, indicando ser um dos fatores que influenciam o recrutamento, seleção e crescimento de folículos dominantes em bovinos.

Tanto o corpo lúteo quanto o folículo possuem atividade da enzima betacaroteno 15, 15-dioxigenase e convertem o betacaroteno em retinol dentro do tecido da granulosa (SKLAN, 1983; SCHWEIGERT et al. 1988; RAPOPORT et al. 1998). Graves-Hoagland et al. (1989) descreveram uma correlação positiva entre a síntese de progesterona pós-parto e as concentrações plasmáticas de betacaroteno em vacas leiteiras.

Outra função relacionada ao betacaroteno é a proteção de células uterinas e embrionárias contra a peroxidação, influenciando na implantação e sobrevivência do embrião (CHEW et al., 2001; SCHWEIGERT et al., 2002). Próximo ao parto, os agentes intrínsecos antioxidantes podem estar sobrecarregados, resultando em maior predisposição às patologias relacionadas ao sistema imune, tais como a retenção de placenta (BERNABUCCI et al., 2002).

A inclusão de betacaroteno no pré-parto em bovinos demonstrou potencial melhora na fertilidade pós-parto, pois aumentou o nível plasmático da hidroxiprolina, indicador de involução uterina, com efeitos benéficos em leucócitos polimorfonucleares no útero e colo do útero (KAEWLAMUN et al., 2011; WANG et al., 2013).

3.2.2 Vitamina D

A vitamina D designa um grupo de compostos lipossolúveis, responsáveis por manter o equilíbrio mineral do organismo, sendo também conhecida como calciferol e vitamina antirraquítica. As duas formas mais proeminentes de vitamina D são ergocalciferol (vitamina D₂) e colecalciferol (vitamina D₃), ambas as formas são encontradas no plasma bovino (HORST e LITTLEDIKE, 1981). A provitamina 7-deidrocolesterol, derivada do colesterol, é sintetizado no organismo e presente em grandes quantidades na pele, na parede intestinal e em outros tecidos. Os precursores da vitamina D devem sofrer irradiação ultravioleta (luz solar) para serem ativados nas vitaminas D₂ e D₃ (ANDRIGUETTO et al., 1990).

O intestino e os rins também podem produzir um precursor da vitamina D, o 25-OH D₃, mas em pequenas quantidades (MCDOWELL, 1989). Absorvida também pela dieta e armazenada no fígado, há conversão renal ao hormônio 1,25-dihidroxi-vitamina D, responsável pela homeostase do cálcio e fósforo no organismo, pois estimula a absorção intestinal de Ca e P, além de influenciar a síntese do paratormônio (PTH), visando incremento na reabsorção óssea (NRC, 2001).

Evidências indicam um papel regulador da vitamina D (1,25- (OH)₂D₃) nas funções das células imunes (REINHARDT e HUSTMEYER, 1987), além de estimular a liberação de insulina em relação ao desafio da glicose (DELUCA, 1988), promover diferenciação celular e alterações na estrutura da membrana celular (COMBS, 1992).

A influência da deficiência de cálcio, tanto em aspecto clínico ou subclínico, está relacionada com depressão imunológica, predispondo a diversas enfermidades: metrite, distocia, cetose, deslocamento de abomaso e mastite, afetando de maneira significativa a eficiência reprodutiva e produtiva (KIMURA et

al., 2006; MARTINEZ et al., 2014). Em bovinos leiteiros a inclusão de vitamina D na dieta pré-parto apresentou incremento nos níveis séricos da vitamina, com aumento da sua concentração no colostro e leite, dessa maneira otimizando a oferta para o neonato. Entretanto, não foi verificada diminuição da incidência de hipocalcemia subclínica quando realizada suplementação de vitamina D em dietas pré-parto com diferença catiônica da dieta positiva (DCAD +; WEISS et al., 2015).

3.2.3 Vitamina E

A vitamina E é classificada como composto lipossolúvel, cuja forma mais biologicamente ativa é o α -tocoferol (NRC, 2001). Há uma grande variação na sua concentração entre os alimentos, de forma que as forragens novas apresentam maior concentração que as maduras. Além disso, a oxidação e a luz solar aumentam significativamente as perdas de atividade da vitamina E (THAFVELIN e OKSANEN, 1966). Silagem e feno possuem significativamente menos vitamina E que as mesmas plantas frescas, sendo as perdas proporcionalmente maiores em decorrência ao tempo de armazenamento (NRC, 2001). A sua absorção ocorre associada a digestão e absorção de gordura, requerendo sais biliares, enzimas lipase e esterase pancreáticas para tal ação. O nível de inclusão alimentar influencia a eficiência da digestão e absorção da vitamina E (SITRIN et al., 1987).

As reservas biológicas da vitamina E ocorrem em todos os tecidos e órgãos do corpo, com maior prevalência no tecido adiposo, músculo esquelético e fígado. Células de linhagem imunológicas (neutrófilos, macrófagos e linfócitos) possuem altas concentrações de vitamina E, assim como os eritrócitos. O tecido hepático também possui a capacidade de armazenar vitamina E, embora não na mesma extensão que armazena vitamina A, realizando sua inclusão a lipoproteínas de densidade baixa (VLDL), carreando para outros tecidos (BJORNEBOE et al., 1990).

O metabolismo aeróbico gera espécies reativas de oxigênio (ânion superóxido, radical hidroxila, peróxido de hidrogênio, etc.), que danificam proteínas celulares, ácidos nucleicos e lipídios (TRABER, 2006). Enzimas antioxidantes, vitamina E e vitamina C possuem propriedades antioxidantes, constituindo uma linha de defesa celular contra os danos oxidativos (SIES et al., 1992). Há um funcionamento sinérgico para proteção celular, desse modo, a vitamina E possui

funções relacionadas à defesa, atuando como antioxidante lipossolúvel primário nas membranas celulares (TRABER, 2006).

Os fosfolipídios das membranas celulares são extremamente suscetíveis a danos oxidativo e a vitamina E funciona como um antioxidante ligado à membrana, aprisionando radicais livres produzidos em condições de estresse oxidativo (DUNNET, 2003). Nota-se também um sinergismo da vitamina E com o selênio na participação em processos antioxidantes (HATFIELD e GLADYSHEV, 2002). O selênio é um cofator da enzima glutathione peroxidase (GSH-Px) que neutraliza o peróxido de hidrogênio e hidroperóxidos na fase aquosa (citosol e matriz mitocondrial), impedindo a oxidação de lipídios insaturados dentro das membranas celulares. A peroxidação de lipídios de membrana causa a oxidação de proteínas de membrana (LEESON e SUMMER, 2001).

Nos aspectos reprodutivos, o tratamento com vitamina E acelera a involução uterina em vacas com retenção de membranas fetais (PONTES et al., 2015). Além disso, a vitamina E protege o embrião inicial dos efeitos do estresse térmico do ambiente (ARÉCHIGA et al., 1994).

3.2.4 Biotina

A biotina é uma vitamina hidrossolúvel do complexo B, trata-se de um nutriente essencial para as bactérias ruminais, além de ser fundamental para a gliconeogênese, síntese de ácidos graxos e de proteínas, a biotina também é necessária como co-fator para quatro enzimas (acetil-CoA carboxilase, piruvato carboxilase, β -metilcrotonil-CoA carboxilase e propionil-CoA carboxilase; DAKSHINAMURTI e CHAUHAN, 1988). A biotina está envolvida com a gliconeogênese, o metabolismo do propionato, a síntese de ácidos graxos e a degradação de aminoácidos (REYNOLDS, 2007).

A deficiência de biotina afeta negativamente muitos tecidos, especialmente aqueles com altas taxas de atividade metabólica ou divisão celular. O sinal clássico da deficiência de biotina em animais e humanos é uma dermatite vermelha escamosa. A função imune é comprometida pela deficiência de biotina, com reduções nas imunoglobulinas plasmáticas e nos linfócitos T e B (ZEMPLIEN e MOCK, 1999).

A biotina é necessária para a síntese de queratina e para a produção da substância cementante intercelular, matriz orgânica que une os queratinócitos, formando uma barreira semipermeável no estrato córneo (TOMLINSON et al. 2004). Em ruminantes já foi comprovado que a deficiência dessa vitamina é rara, no entanto, a suplementação de bovinos com biotina promove efeitos benéficos na qualidade dos cascos (BERGSTEN et al. 2003; POTZSCH et al. 2003). A suplementação diária com 20 mg de biotina durante 120 dias é capaz de promover redução da taxa de desgaste e, conseqüentemente, aumento do crescimento líquido da muralha dorsal do casco (QUEIROZ, 2017).

3.3. Aspectos fisiológicos da expressão de cio e impacto sobre a eficiência reprodutiva

O aumento na concentração sérica de estradiol, na ausência de progesterona, atua diretamente sobre o eixo hipotalâmico-hipofisário iniciando a expressão comportamental do estro (IRELAND, 1987; ALLRICH, 1994). Promovendo uma melhor condução do espermatozoide no trato feminino, uma vez que altera a composição e quantidade de muco cervical, além de atuar na estimulação do miométrio (HAWK, 1983). A expressão do estro exerce influência sobre o pH uterino, otimizando a viabilidade dos espermatozoides até a ovulação (PERRY e PERRY, 2008). O estradiol inicia modificações importantes no ambiente endometrial, como aumento da altura das células epiteliais e do movimento ciliar no oviduto (MURRAY, 1995).

A maior produção de estradiol por folículos pré-ovulatórios é dependente da maior viabilidade das células da teca interna de sintetizarem androstendiona e da maior capacidade das células da granulosa em convertê-la em estradiol. A produção de estradiol também pode ser aumentada pela produção de pregnenolona pelas células da granulosa, que podem ser convertidas em androstendiona pelas células da teca interna, onde serão convertidas em estradiol pelas células da granulosa (FORTUNE, 1986; GINTHER et al., 1996). As altas concentrações e maior exposição ao estradiol durante o proestro e o estro determinam em expressão de glicoproteínas dependentes de estrogênio no oviduto, que têm sido relacionadas a mudanças no transporte de espermatozoides, no ambiente uterino e na fertilização oocitária (BUHI, 2002).

A formação inicial e o posterior desenvolvimento do corpo lúteo também podem depender da secreção folicular do estradiol, pois ao ocorrer uma ovulação prematura de pequenos folículos, com reduzido número de células da granulosa, resultando na formação de corpo lúteo menor, consequentemente reduzidas concentrações de progesterona, potencialmente em decorrência há um comprometimento na proliferação de células da granulosa induzidas pelo estradiol, levando à insuficiência CL (MURDOCH e VAN KIRK, 1998).

Perry et al. (2014) demonstraram correlação positiva entre o diâmetro do folículo ovulatório e as concentrações séricas de estradiol em vacas que expressaram estro, com melhores taxa de prenhez em vacas detectadas em estro.

A expressão de estro, entre a aplicação de PGF2a e o momento da IA, alterou favoravelmente o perfil de expressão gênica em tecidos reprodutivos durante a fase de pré-implantação, promovendo um ambiente mais receptivo ao alongamento, sob estas circunstâncias é provável que levem à função ótima dos tecidos reprodutivos e melhor receptividade embrionária (DAVOODI et al., 2016).

Os resultados de uma meta-análise em 10116 animais em 22 estudos indicaram uma melhoria de 27% nas taxas de concepção a IATF entre animais que expressaram estro em comparação aqueles que não expressaram (RICHARDSON et al., 2016).

A maior expressão de estro em protocolos de IATF melhorou as taxas de ovulação e prenhez, evidenciando que a expressão de estro, pode ser um preditor confiável de fertilidade, sendo uma ferramenta para auxiliar na tomada de decisões estratégicas de reprodução. Animais com maior expressão estro apresentaram maiores concentrações séricas de progesterona 7 dias após a IATF, fornecendo evidências de melhora da função ovariana após a expressão do estro. A melhora na fertilidade em virtude da expressão do estro também foi associada à menor perda gestacional, reforçando a noção de que o ambiente endometrial é significativamente afetado pelos mecanismos que causam maior intensidade do estro (MADUREIRA et al., 2018).

O uso de escore de estro, com auxílio de bastão marcador, em vacas *B. indicus* submetidas a IATF (NOGUEIRA et al., 2016) é uma estratégia útil na identificação de vacas com maior expressão de estro e por conseguinte otimiza as

taxas de prenhez na IATF, possibilitando que as vacas com baixa ou nenhuma expressão de estro sejam conduzidas para tratamentos adicionais visando melhorar prenhez.

A utilização de análogos sintéticos ao GnRH desempenha uma função fisiológica nas fêmeas, induzindo o pico pré-ovulatório de LH (hormônio luteinizante) e consequentemente a ovulação e/ou a luteinização (GOTTSCHELL et al., 2008). Rodrigues et al. (2019) relataram efeito positivo da injeção de GnRH no momento da IATF, naquelas vacas sem expressão de estro (Controle = 36,18% (169/467), GnRH = 45,95% (216/470); $P < 0,0001$). Neste contexto, a utilização de GnRH poderia ser uma alternativa para melhorar as taxas de concepção nas vacas com pouca ou nenhuma expressão de estro.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIEC - Associação brasileira das indústrias exportadoras de carne. Perfil da pecuária no Brasil. 2018. Disponível em: <http://www.abiec.com.br/Sumario.aspx>. Acesso em 09 de setembro de 2018.

ALSEMGEEEST, S. P.; TAVERNE, M. A.; BOOSMAN, R. *et al.* Peripartum acute-phase protein serum amyloid-A concentration in plasma of cows and fetuses. **American Journal of Veterinary Research**, 54, 164–167. 1993.

ANDRIGUETTO, J. M.; PERLY, L.; MINARD, I. A. G.; FLEMMING, J.S.; SOUZA, G. A.; BONA FILHO, A. **Nutrição Animal**. vol. I. As bases e os fundamentos da nutrição animal, os alimentos. São Paulo, Nobel 4ª ed. 395p, 1990.

ANDRIGUETTO, J.M.; PERLY, L.; MINARDI, I. *et al.* **Nutrição Animal**. Nobel. São Paulo. 1984.395 pp.

ARÉCHIGA, C.F.; STAPLES, C.R.; MCDOWELL, L.R. *et al.* Effects of Timed Insemination and Supplemental b-Carotene on Reproduction and Milk Yield of Dairy Cows Under Heat Stress. **J. Dairy Sci.** 81, 390–402. 1998.

ASBIA - 2017. Associação brasileira de inseminação artificial. Index, 20172. Disponível em: http://www.asbia.org.br/wp-content/uploads/2018/10/INDEX-ASBIA-2017_completo.pdf Acesso em: 19 agosto 2018.

BARUSELLI, P.S.; REIS, E.L.; MARQUES, M.O. *et al.* The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 82-83, p. 479-486, 2004.

BAUERNEFEIND, J.C. Carotenoids as Colorants and Vitamin A Precursors. Technological and Nutritional Applications. **Food Science and Technology Monographs**. Academic Press. 1981.

BERGSTEN, C.; GREENOUGH, P. R.; GAY, J. M.; *et al.* Effects of biotin supplementation on performance and claw lesions on a commercial dairy farm. **J. Dairy Sci.**, v.86, n.12, p.3953-3962, 2003.

BERNABUCCI, U.; RONCHI, B.; LACETERA, N. *et al.* Markers of oxidative status in plasma and erythrocytes of transition dairy cows during hot season. **J. of Dairy Sci.**, v. 85, n.9, p. 2173-2179, Sept. 2002.

BIERER, T.L.; MERCHEN, N.R.; ERDMAN, J.W. JR. Comparative absorption and transport of five common carotenoids in preruminant calves. **J. Nutr.** 125:1569-1577. 1995.

BJORNEBOE, A.; GUNN-ELIN, A.; DREVON, C.A. Absorption, transport and distribution of vitamin E. **J. Nutr.** 120:233-242. 1990.

BLAGOJEVIC, B.; ANTIC, D.; DUCIC, M. *et al.* A study of haptoglobin levels in groups of cattle and pigs with and without abnormalities at meat inspection. **Foodborne Pathogens and Disease**, 8, 1119–1124. 2011.

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

- BUTLER, W.R. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. **Anim. Reprod. Sci.**, v.60, p.449–457, 2000.
- CARVALHO, V. S.; ARAÚJO, B. R.; VASCONCELOS, T. C. *et al.* Evolução clínica e avaliação de parâmetros leucocitários e de proteínas de fase aguda na pododermatite infecciosa ovina. **Pesq. Vet. bras.**, 32, 1289–1296. 2012.
- CASALS, R.; CALSAMIGLIA, S. Optimum Vitamin Nutrition in Beef Cattle, **In:** Linden, J. (Ed.), Optimum Vitamin Nutrition in the production of quality animal foods. 5M Publishing, Sheffield, United Kingdom, pp. 309–333. 2012.
- CECILIANI, F.; CERON, J. J.; ECKERSALL, P. D. *et al.* Acute phase proteins in ruminants. **J. Proteom.**, 75, 4207–4231. 2012.
- CHEW, B.P.; WENG, B.B.; KIM, H.W. *et al.* Uptake of β -carotene by ovarian and uterine tissues and effects on steroidogenesis during the estrous cycle in cats. **Am. J. Vet. Res.**, v. 62, n.7, p.1063-1067, July 2001.
- COMBS JR, G.F. The Vitamins. Academic Press, New York. 528 pp. 1992.
- CUTIA, L.; BÓ, G. A. Factores que afectan los resultados en programas de inseminación artificial a tiempo fijo en rodeos de cría utilizando dispositivos con progesterona. **In:** SIMPOSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCIÓN BOVINA, 1.Barquisimeto. **Anais...** Barquisimeto: [s.n], 2004. p. 109-123, 2004.
- DA SILVA, A. G.; PAULINO, M. F.; DETMANN, E. *et al.* Energetic-protein supplementation in the last 60 days of gestation improves performance of beef cows grazing tropical pastures. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, 8: 78. 2017.
- DAKSHINAMURTI, K.; CHAUHAN, J. Regulation of Biotin Enzymes. **Annu. Rev. Nutr.**, v.8, n.1, p.211-233, 1988.
- DE BIE, J.; LANGBEEN, A.; VERLAET, A.A.J. *et al.* The effect of a negative energy balance status on β - carotene availability in serum and follicular fluid of nonlactating dairy cows. **J. Dairy Sci.** 99, 5808–5819. 2016.
- DELUCA, H.F. Evolution of our understanding of vitamin D. **Nutr. Rev.** 66(Suppl 2):573-587. 2008.
- DRACKLEY, J.K. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? **J. Dairy Sci.**, v.82, p.2259-2273, 1999.
- DUNNETT, C.E. Antioxidants in physiology and nutrition of exercising horses. **In:** LYONS, T.P.; JACQUES, K.P. (Editors) “Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries” Nottingham University Press, G.B. Pp. 439-448. 2003.
- EATON J.W.; BRANDT P.; MAHONEY J.R. *et al.* Haptoglobin: a natural bacteriostat. **Science.**, 215: 691-693, 1982.
- ECHTERNKAMP, S.E.; FERRELL, C.L.; RONE, J.D. Influence of pre-and postpartum nutrition on LH secretion in suckled postpartum beef heifers. **Theriogenology**, v.18, p. 283-295, 1982.
- ECKERSALL, P. D.; DUTHIE, S.; TOUSSAINT, M. J. M. *et al.* Standardization of diagnostic assays for animal acute phase proteins. **Advances in Veterinary Medicine**, 41, 643–655. 1999.

ECKERSALL, P.D. Recent advances and future prospects for the use of acute phase proteins as markers of disease in animals. **Rev. Med. Vet.**, v.151, p. 577–584, 2000.

FORTUNE, J.E. Bovine theca and granulosa cells interact to promote androgen production. **Biol Reprod**, v.35, p.292–9, 1986.

GINTHER, O.J.; WILTBANK, M.C.; FRICKE, P.M.; GIBBONS, J.R.; KOT, K. Selection of the dominant follicle in cattle. **Biol Reprod**, v.55, p.1187–94, 1996.

GOTTSCHALL, C. S. et al. Aspectos relacionados à sincronização do estro e ovulação em bovinos de corte. **A Hora Veterinária**, v.164, p.43-48, 2008.

GOUVÊA, V. N.; COLLI, M. H.; JUNIOR, W. A. J. *et al.* The combination of β -carotene and vitamins improve the pregnancy rate at first fixed-time artificial insemination in grazing beef cows. **Livestock Science**. 2018.

GRAVES-HOAGLAND, R.L., HOAGLAND, T.A.; WOODY, C.O. Effect of beta-carotene and vitamin A on progesterone production by bovine luteal cells. **J. Dairy Sci.** v.71, p.1058, 1988.

GRAVES-HOAGLAND, R.L.; HOAGLAND, T.A.; WOODY, C.O. Relationship of plasma beta-carotene and vitamin A to luteal function in postpartum cattle. **J. Dairy Sci.**, v.72, p.1854, 1989.

GRIMARD, B.; HUMBLLOT, P.; PONTER, A.A. *et al.* Influence of postpartum energy restriction on energy status, plasma LH and estradiol secretion and follicular development in suckled beef cows. **J Reprod Fert.**, v.104, p.173-9, 1995.

HATFIELD, D.L.; GLADYSHEV, V.N. How selenium has altered our understanding of the genetic code. **Molecular and cell Biology**, v. 22, p.3565-3576, 2002.

HERDT, T.H.; STOWE, H.D. Fat-soluble vitamin nutrition for dairy cattle. **Vet. Clin. N. Am.**, v.7, p.391-414, 1991.

HOPPE, P.P.; CHEW, B.P.; SAFER, A. *et al.* Dietary beta-carotene elevates plasma steady-state and tissue concentrations of beta-carotene and enhances vitamin A balance in pre ruminant calves. **J. Nutr.**, v.126, p.202-208, 1996.

HORST, R.L.; LITTLEDIKE, E.T.; RILEY, J.L. *et al.* Quantitation of vitamin D and its metabolites and their plasma concentrations in five species of animals. **Anal. Biochem.**, v. 116, p.189, 1981.

HURLEY, W.L., DOANE, R.M. Recent developments in the roles of vitamins and minerals in reproduction. **J. of Dairy Sci.**, v. 72, p. 784–804, 1989.

HUZZEY, J. M.; MANN, S.; NYDAM, D. V. *et al.* Associations of peripartum markers of stress and inflammation with milk yield and reproductive performance in Holstein dairy cows. **Preventive Veterinary Medicine**, v.120, p.291-297, 2015.

JUCHEM, S.O.; SANTOS, F.A.P.; PIRES, A.V. *et al.* Efeito da administração de propilenoglicol e monensina sódica no pré-parto em vacas de alta produção: Produção e composição do leite. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 37, 2000, Viçosa. **Anais...** Viçosa:Gmosis, 2000, CD-ROM.

- KAEWLAMUN, W.; OKOUYIA, M.; HUMBLLOT, P. *et al.* Does supplementing dairy cows with β -carotene during the dry period affect postpartum ovarian activity, progesterone, and cervical and uterine involution? **Theriogenology**, v.75, p.1029–1038, 2011.
- KATOH, N.; OIKAWA, S.; OOHASHI, T. *et al.* Decreases of apolipoprotein B-100 and A-I concentrations and induction of haptoglobin and serum amyloid A in nonfed calves. **Journal of Veterinary Medical Science**, v.64, p.51–55, 2002.
- KAWASHIMA, C.; KIDA, K.; SCHWEIGERT, F.J.; MIYAMOTO, A. Relationship between plasma β -carotene concentrations during the peripartum period and ovulation in the first follicular wave postpartum in dairy cows. **Anim. Reprod. Sci.**, v.111, p.105–111, 2009.
- KIMURA, K.; REINHARDT, T. A.; GOFF, J. P. Parturition and hypocalcemia blunts calcium signals in immune cells of dairy cattle. **J. Dairy Sci.**, v. 89, p.2588–2595, 2006.
- KURASH, J. K.; SHEN, C.N.; TOSH, D. Induction and regulation of acute phase proteins in transdifferentiated hepatocytes. **Experimental Cell Research**, v.292, p.342–358, 2004.
- LALMAN, D.L.; KEISLER, D.H.; WILLIAMS, J.E. *et al.* Influence of postpartum weight and body condition change on duration of anestrus by undernourished suckled beef heifers. **J. Anim. Sci.**, v.75, p. 2003-2008, 1997.
- LAURELL, C. B.; NYMAN, M. Studies on the serum haptoglobin level in hemoglobinemia and its influence on renal excretion of hemoglobin. **Blood**, v.12, p.493–506, 1957.
- LEE, K.J.; K. DABROWSKI. Long-term effects and interactions of dietary vitamins C and E on growth and reproduction of yellow perch, *Perca flavescens*. **Aquaculture**, v.230, p.377-389, 2004.
- LEESON, S.; SUMMERS, J.D. 2001. “Scott’s Nutrition of the Chicken”, fourth edition, University Books, Guelph. DAKSHINAMURTI, K.; CHAUHAN, J. Regulation of Biotin Enzymes. **Annual Review of Nutrition**, v.8, n.1, p.211-233, 1988.
- LOMBORG, S.R.; NIELSEN, L.R.; HEEGAARD, P.M. *et al.* Acute phase proteins as possible markers of stress in cattle. 6th European colloquium on acute phase proteins. Copenhagen. **Proceedings**, p. 72, 2006.
- LYNCH, E. M.; EARLEY, B.; MCGEE, M. *et al.* Characterization of physiological and immunological responses in beef cows to abrupt weaning and subsequent housing. **BMC Veterinary Research**, v.6, p.37, 2010.
- MARTINEZ, N., SINEDINO, L. D. P.; BISINOTTO, R. S. *et al.* Effect of induced subclinical hypocalcemia on physiological responses and neutrophil function in dairy cows. **J. Dairy Sci.**, v.97, p.874–887, 2014.
- MCDOWELL, L.R. 2000. Reevaluation of the metabolic essentiality of the vitamins. Asian-Aust. **J. Anim. Sci.**, v. 13, p.115.
- MCDOWELL, L.R. **Vitamins in Animal Nutrition**. 1st ed. New York: Academic Press. 1989.

MCDOWELL, L.R. **Vitamins in animal nutrition: comparative aspects to human nutrition**. Elsevier, 2012.

MCGOWAN, M.; MCCOSKER, K.; FORDYCE, G. *et al.* Factors affecting the efficiency with which beef cows become pregnant after calving in Northern Australia. **In: PROC. XXVIII WORLD BUIATRICS CONGR. 28TH WORLD BUIATRICS CONGR.**, vol. 1, Cairns, Australia: Australian cattle veterinarians; p. 185-9, 2014.

MURATA, H.; MIYAMOTO, T. Bovine haptoglobin as a possible immunomodulator in the sera of transported calves. **British Veterinary Journal**, v.149, p.277–283. 1993.

MURATA, H.; SHIMADA, N.; YOSHIOKA, M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: An overview. **Veterinary Journal**, v.168, p.28–40. 2004.

NDOU, S. P.; MUCHENJE, V.; CHIMONYO, M. Animal welfare in multipurpose cattle production systems and its implications on beef quality. **African Journal of Biotechnology**, v.10, p.1049–1064, 2011.

NOGUEIRA, E.; OLIVEIRA, L.O.F.; NICACIO, A. C.; *et al.* Nutrição aplicada à reprodução de bovinos de corte. **In: MEDEIROS, S.R.; GOMES, R.C.; BUNGENSTAB, D.J. Nutrição de bovinos de corte – fundamentos e aplicações**. Brasília, DF: Embrapa, 2015.

NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient requirements of dairy cattle. 7. rev. ed. Washington, D.C.: 381p. 2001.

OLSON, J.A. **Vitamin A**. Handbook of vitamins. Third edition, Marcel Dekker, New York. Pp. 1-50. 2001.

PETERSEN, H. H.; NIELSEN, J. P.; HEEGAARD, P. M.H. Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. **Veterinary Research**, v.35, p.163–187, 2004.

PONTES, G. C. S. Etiologia e prevenção de retenção de placenta em vacas leiteiras. 2014. **Dissertação** (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2014. Acesso em: 25 de setembro de 2018.

PÖTZSCH, C.J.; COLLIS, V.J.; BLOWEY, R.W. *et al.* The impact of parity and duration of biotin supplementation on white line disease lameness in dairy cattle. **J. Dairy Sci.**, v.86, p. 2577-2582, 2003.

QUEIROZ, P.J.B.; ÁVILA FILHO, S.H.; FERREIRA, K.D.; *et al.* Suplementação e metabolismo de biotina em bovinos. **Enc. Biosf.**, v. 11, n. 22, p. 2590, 2015.

RAPOPORT, R.; SKLAN, D.; WOLFENSON, D. *et al.* Antioxidant capacity is correlated with steroidogenic status of the corpus luteum during the bovine estrous cycle. **Biochim. Biophys. Acta**, v. 1380, n. 1, p. 133-140, 1998.

REINHARDT, T.A.; HUSTMYER, F.G. Role of vitamin D in the immune system. **J. Dairy Sci.** v.70, p.952, 1987.

- REYNOLDS, C. K.; BEEVER, D. E.; STEINBERG, W. *et al.* Net nutrient absorption and liver metabolism in lactating dairy cows fed supplemental dietary biotin. **Animal**, v.1, n.3, p.375-380, 2007.
- RODRIGUES, W. B.; SILVA, A.S.; SILVA, J.C.B.; ANACHE, N.A.; SILVA, K.C.; CARDOSO, C.J.T.; GARCIA, W.R.; SUTOVSKY, P.; NOGUEIRA, E. Timed artificial insemination plus heat II: gonadorelin injection in cows with low estrus expression scores increased pregnancy in progesterone/estradiol-based protocol. **Animal**, p.1-6, 2019.
- ROSS, A.C.; HARRISON, E.H. Vitamin A: nutritional aspects of retinoids and carotenoids. In: ZEMPLIEN, J.; RUCKER, R.B.; MCCORMICK, D.B. *et al.* (Editors) "Handbook of Vitamins", fourth edition, CRC Press, Boca Raton, FL. Pp. 2-39. 2007.
- ROSSBACHER, J.; WAGNER, L.; PASTERNAK, M. S. Inhibitory effect of haptoglobin on granulocyte chemotaxis, phagocytosis and bactericidal activity. **Scandinavian Journal of Immunology**, v.50, p.399–404, 1999.
- SAS/STAT. **User's guide**. Version 9.1. Cary: SAS Institute, 2002.
- SCHAFHÄUSER, J.; GAEDE, W. Suplementação vitamínica e desmame temporário sobre a atividade reprodutiva em vacas de corte. **Rev Fzva**, Uruguaiana, v. 4, n. 1, p. 93-104, 1997.
- SCHILLO, K.K. Effects of dietary energy on control of luteinizing hormone secretion in cattle and sheep. **J Anim Sci.**, v.70, p.1271-82, 1992.
- SCHWEIGERT, F.J.; KRIEGER, K.; SCHNURRBUSCH, U. *et al.* Effect of dietary β -carotene on the early embryonic development and uterine fluid composition of gilts. **J. of anim. physiol. and anim. nutrition**, v. 86, n. 7-8, p. 265-272, 2002.
- SCHWEIGERT, F.J.; ZUCKER, H. Concentrations of vitamin A, beta-carotene and vitamin E in individual bovine follicles of different quality. **J. Reprod. Fert.**, v. 82, p.575-579, 1988.
- SHRESTHA, H.K.; NAKAO, T.; SUZUKI, T.; AKITA, M.; HIGAKI, T. Relationship between body condition score, body weight, and some nutritional parameters in plasma and resumption of ovarian cyclicity postpartum during pre-service period in high-producing dairy cows in a subtropical region in Japan. **Theriogenology**, v.64, p.855-866, 2005.
- SIES, H.; STAHL, W.; SUNDQUIST, A.R. Antioxidant functions of vitamins: vitamins E and C, beta-carotene and other carotenoids. **Ann. NY Acad. Sci.**, v. 669, p.7-20, 1992.
- SITRIN, M.D.; LIBERMAN, F.; JENSEN, W.E. *et al.* Vitamin E deficiency and neurologic disease in adults with cystic fibrosis. **Ann. Internat. Med.**, v. 107, p.51, 1987.
- SKINNER, J. G.; BROWN, R. A.; ROBERTS, L. Bovine haptoglobin response in clinically defined field conditions. **Veterinary Record**, 128, 147–149. 1991.
- SKLAN, D. Carotene cleavage activity in the corpus luteum of cattle. **Int. J. Vit. Nutr.**, v.53, p.23-26, 1983.

- SOLER, L.; GUTIÉRREZ, A.; MÜLLEBNER, A. *et al.* Towards a better understanding of salivary and meat juice acute phase proteins determination in pigs: Na expression study. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.156, p.91–98, 2013.
- SPORER, K. R. B.; WEBER, P. S. D.; BURTON, J. L. *et al.* Transportation of young beef bulls alters circulating physiological parameters that may be effective biomarkers of stress. **J. Anim. Sci.**, v.86, p.1325–1334, 2008.
- STAHL, W.; SCHWARZ, W.; VON LAAR, J. *et al.* All-trans beta-carotene preferentially accumulates in human chylomicrons and very low density lipoproteins compared with the 9-cis geometrical isomer. **J. Nutr.**, v. 125, p. 2128, 1995.
- STAPLES, C.R.; THATCHER, W.W.; CLARK, J.R. Influence of supplemental fats on reproductive tissues and performance of lactating cows. **J. Dairy Sci.**, v.81, p.856-871, 1990.
- SWANSON, K.S.; MERCHEN, N.R.; ERDMAN JR, J.W. *et al.* Influence of dietary vitamin A content on serum and liver vitamin A concentrations and health in pre-ruminant Holstein calves fed milk replacer. **J. Dairy Sci.**, v. 83, p.2027-2036, 2000.
- TANUMIHARDJO, S.A.; J.A. HOWE. Twice the amount of α -carotene isolated from carrots is as effective as β -carotene in maintaining the vitamin A status of mongolian gerbils. **J. Nutr.**, v. 135, p. 2622-2626, 2005.
- THAFVELIN, B.; OKSANEN, H. E. Vitamin E and linolenic acid content of hays as related to different drying conditions. **J. Dairy Sci.** v.49, p. 282 – 286, 1966.
- TOMLINSON, D. J.; MULLING, C. H.; FAKLER, T. M. Formation of keratins in the bovine claw: roles of hormones, minerals, and vitamins in functional claw integrity. **J. Dairy Sci.**, v.87, n.4, p.797-809, 2004.
- TRABER, M.G. Vitamin E. In: BOWMAN, B.A.; RUSSELL, R.M. (Editors) “Present Knowledge in Nutrition”, ninth edition, ILSI, Washington D.C.Pp. 211-219. 2006.
- VAN VLIET, T.; VAN VLISSINGEN, M.F.; VAN SCHAIK, F. *et al.* Beta-carotene absorption and cleavage in rats is affected by the vitamin A concentration of the diet. **J. Nutr.**, v. 126, p.499, 1996.
- WANG, D., GARCIA, M.; BISINOTTO, R. S.; MARTINEZ, N. *et al.* Effect of supplementing vitamin E and β -carotene to prepartum Holstein cattle on health and reproductive responses. **J. Dairy Sci.**, v. 96 (E-Suppl. 1):W76 (Abstr), 2013.
- WEISS, W. P.; AZEM, E.; STEINBERG, W. *et al.* Effect of feeding 25-hydroxyvitamin D3 with a negative cation-anion difference diet on calcium and vitamin D status of periparturient cows and their calves **J. Dairy Sci.**, v. 98, p.1–13, 2015.
- WILLIAMS, G.L.; TALAVERA, F. PETERSEN, B.J. *et al.* Coincident secretion of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone in early postpartum beef cows: effects of suckling and low-level increases of systemic progesterone. **Biol Reprod.**, v. 29, p. 362-73, 1983.
- YAVAS, Y.; WALTON, J.S. Postpartum acyclicity in suckled beef cows: a review. **Theriogenology**, v.54, p.25-55, 2000.

ZANKER, I.A.; HAMMON, H.M.; BLUM, J.W. Beta-carotene, retinol and alpha-tocopherol status in calves fed the first colostrum at 0-2, 6-7, 12-13 or 24-25 hours after birth. **Int. J. Vitam. Nutr. Res.**, v. 700, p.305-310, 2000.

ZEMPLINI, J.; MOCK, D.M. Biotin biochemistry and human requirements. **J. Nutr. Biochem.**, v. 10, p.128-138, 1999.

CAPÍTULO 2

SUPLEMENTAÇÃO COM BETACAROTENO, VITAMINAS ADE E BIOTINA NA ALIMENTAÇÃO DE VACAS SUBMETIDAS À IATF

SUPPLEMENTATION WITH BETACAROTENE, VITAMINS ADE AND BIOTIN FOR COWS SUBMITTED TO FTAI

Wagner Rodrigues Garcia¹; Camile Sanches Silva²; Nathan Ferreira da Cunha³; Ana Paula Santin³; Aline Gomes da Silva⁵; Ériklis Nogueira^{4*}; Eliane Vianna da Costa e Silva⁵

¹Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, FAMEZ/UFMS E-mail: wagnergarcia2003@yahoo.com.br

²Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, FAMEZ/UFMS:

³Médico Veterinário, Profissional liberal

⁴Embrapa Gado de Corte

⁵Docente da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

A ser submetido ao Periódico: Tropical Animal Health and Production

Resumo: Neste trabalho avaliou-se o efeito da suplementação com betacaroteno e vitaminas (ADE e biotina) no desempenho reprodutivo de vacas zebuínas lactantes submetidas à IATF. O experimento foi conduzido no município de Jaraguari-MS, utilizando-se 395 vacas, distribuídas de acordo com o escore de condição corporal, dosagem de betacaroteno, raça e sexo do bezerro, em dois lotes: Controle (n = 195) e BetaC+Vit (n = 200). Os animais foram mantidos em pastagens e suplementados com mistura mineral (sem adição de vitaminas; 150 g/animal/dia). Para o grupo BetaC+Vit foi fornecido o mesmo produto, acrescido de um premix vitamínico (500 mg β -Caroteno, 70.000 UI Vit. A, 10.000 UI Vit. D3, 500 mg Vit. E e 10 mg Biotina) com consumo estimado de 200 g/animal/dia. O período de suplementação compreendeu 30 dias antes e 60 dias após o início do protocolo de sincronização dos animais (período de 90 dias). Foram realizadas dosagem sérica de retinol e betahidroxibutirato, avaliação ultrassonográfica de ciclicidade, diâmetro do folículo dominante e taxa de prenhez. As análises estatísticas demonstraram que a concentração sérica de betacaroteno foi maior no grupo controle (P = 0,05; Controle: 4,53 vs. BetaC+Vit: 4,27), neste grupo também houve maior taxa de manifestação de cio (P < 0,001; Controle: 89,92% vs. BetaC+Vit: 78,84%). Embora não tenha sido encontrada diferença (P > 0,05) entre os grupos para a taxa de prenhez (Controle: 63,50% vs. BetaC+Vit: 56,92%). Independente de tratamento, houve uma resposta quadrática entre o nível sérico de betacaroteno e o diâmetro do folículo dominante mensurado no momento da inseminação artificial (P = 0,08). Sendo verificado uma interação da taxa de prenhez à IATF com o diâmetro do folículo dominante. A inclusão de betacaroteno e vitaminas ADE e Biotina na suplementação mineral não influenciou a taxa de prenhez na primeira IATF realizada durante o verão em vacas zebuínas lactantes mantidas em pastagem tropical.

Palavras-chaves: bovino de corte, nutrição, reprodução

Abstract: This study evaluated the effect of beta-carotene and vitamin (ADE and biotin) supplementation on the reproductive performance of lactating zebu cows submitted to FTAI. The experiment was conducted in Jaraguari-MS, using 395 cows, distributed according to body condition score, beta-carotene dosage, calf race and sex, in two lots: Control (n = 195) and BetaC + Vit (n = 200). The animals were kept in pastures and supplemented with mineral mixture (without added vitamins; 150 g / animal / day). For the BetaC + Vit group the same product was supplied, plus a vitamin premix (500 mg β -Carotene, 70,000 IU Vit. A, 10,000 IU Vit. D3, 500 mg Vit. E and 10 mg Biotin; g / animal / day). The supplementation period comprised 30 days before and 60 days after the initiation of the animal synchronization protocol (90 days period). Serum retinol and betahydroxybutyrate dosage, ultrasonographic evaluation of cyclicity, dominant follicle diameter and pregnancy rate were performed. Statistical analyzes showed that the beta-carotene serum concentration was higher in the control group ($P = 0.05$; Control: 4.53 vs. BetaC + Vit: 4.27); in this group there was also a higher rate of estrus manifestation ($P < 0.001$; Control: 89.92% vs. BetaC + Vit: 78.84%). Although no difference ($P > 0.05$) was found between groups for pregnancy rate (Control: 63.50% vs. BetaC + Vit: 56.92%). Regardless of treatment, there was a quadratic response between the serum beta-carotene level and the dominant follicle diameter measured at the time of artificial insemination ($P = 0.08$). An interaction of pregnancy rate to FTAI with the dominant follicle diameter was verified. The inclusion of beta carotene and vitamins ADE and Biotin in the mineral supplementation did not influence the pregnancy rate in the first IATF performed during the summer in lactating zebu cows grazing in tropical pasture.

Key-words: beef cattle, nutrition, reproduction

Introdução

A intensificação na utilização de biotecnologias e a identificação de elementos ligados à melhoria do desempenho reprodutivo de fêmeas bovinas tem proporcionado inúmeras pesquisas com resultados promissores. Dentre os fatores que afetam o desempenho reprodutivo de bovinos, a nutrição talvez seja aquela com maior parcela de impacto sobre a eficiência produtiva na bovinocultura (WETTEMANN et al., 2002). Estima-se que 50% das vacas mantidas em sistemas extensivos de produção não recebam manejo nutricional adequado, sendo este um dos principais motivos para baixas taxas de gestação em rebanhos em regiões tropicais (MADUREIRA et al., 2014).

Dadas às condições climáticas do Brasil, destaca-se a importância da utilização de manejos nutricionais que reduzam o impacto negativo das oscilações na disponibilidade e qualidade das forragens ao transcorrer do ano (EUCLIDES et al., 2007), a suplementação estratégica com fontes adicionais de nutrientes é uma

opção viável, uma vez que a sazonalidade da qualidade forrageira é um fator limitante ao melhor desempenho animal (REIS et al., 2012; SILVA et al., 2017).

Fatores nutricionais exercem influência sobre a quantidade de substratos metabólicos que atuam no ambiente uterino, folículos, oócitos e embriões (CLEMENT, 2016). Neste contexto, a exigência de vitaminas é baixa, sendo no entanto, indispensáveis para diversas funções como: crescimento, reprodução e saúde. Carências podem se manifestar em diversos níveis, desde redução na performance reprodutiva até sérios prejuízos à saúde (LEE & DABROWSKI, 2004).

A eficiência da suplementação estratégica com vitaminas em animais mantidos em sistema de pastejo tropical e submetidos à IATF tem sido alvo de pesquisas nos últimos anos (SILVA et al., 2012; BIE et al., 2016; GOUVÊA et al., 2018). De acordo com Bie et al. (2016), a suplementação diária com betacaroteno promove aumento substancial na disponibilidade de betacaroteno e retinol no microambiente oocitário, independente do balanço energético, influenciando positivamente o desenvolvimento folicular, a qualidade do oócito e a fertilidade.

Assim sendo, este estudo teve como objetivo avaliar o efeito da suplementação de betacaroteno e vitaminas (ADE e biotina) na performance reprodutiva de fêmeas Nelore lactantes mantidas em pastagens e submetidas a protocolos de IATF.

Material e Métodos

a) Animais e local do experimento

O estudo foi conduzido durante a estação reprodutiva de dezembro de 2017 a março de 2018, em uma propriedade particular localizada no município de Jaraguari - MS. As vacas foram mantidas sob pastejo alternado em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés, tendo livre acesso à água e suplementação mineral.

Foram utilizadas 395 vacas zebuínas lactantes, pluríparas, com pelo menos 30 dias pós-parto ao início do protocolo (variação máxima de 15 dias). Os lotes foram homogeneizados 30 dias antes (Dia -30) do início da manipulação do ciclo estral (Dia 0), respeitando os seguintes critérios: escore de condição corporal (AYRES et al., 2009); nível sérico betacaroteno; raça da matriz; raça e sexo do

bezerro, estabelecendo-se dois lotes experimentais, quais sejam: Controle (n= 204) e BetaC+Vit (n=201). Por intercorrências no manejo durante o protocolo de IATF, tais como: falhas na contenção, perda de implantes e fuga do lote, houve reajuste do número experimental: Controle (n= 200) e BetaC+Vit (n=195).

b) Suplementação e Pastejo

O grupo controle recebeu suplementação mineral comercial (Fosbovi Reprodução®; DSM Produtos Nutricionais Brasil S.A.), sem a adição de vitaminas, com ingestão média de 150 g/animal/dia. O lote BetaC+Vit recebeu junto ao Fosbovi Reprodução o acréscimo de um premix vitamínico (Rovimix® β-Caroteno; DSM Produtos Nutricionais Brasil S.A.), que consiste em grânulos finamente moídos e de coloração vermelho acastanhado a castanho avermelhado, contendo no mínimo 10% de betacaroteno ($C_{40}H_{56}$) finamente disperso em matriz de gelatina e carboidratos revestidos por amido de milho. Produto em pó (pelo menos 95% < peneira. 20, padrão americano), acrescido de vitaminas A, D, E e biotina. Os níveis de garantia estão apresentados no Quadro 1. Para ambos os grupos a suplementação foi fornecida diariamente em cocho coberto, disponibilizando em acesso duplo, 20 cm lineares por animal.

O período de suplementação iniciou-se 30 dias antes do início dos protocolos de IATF (D-30) e perdurou até o diagnóstico final de gestação (D+60), totalizando 90 dias de suplementação. As sobras de cocho foram monitoradas diariamente para certificar o consumo.

Todos os animais foram mantidos sob as mesmas condições de manejo. A fim de minimizar o efeito dos piquetes sobre os resultados experimentais, os animais foram rotacionados entre os piquetes a cada sete dias.

Quadro 1. Níveis de Garantia do suplemento fornecidos para matrizes bovinas submetidas a IATF.

Níveis de garantia	Tratamentos	
	Controle	BetaC+Vit
Cálcio, g/kg (mín)	111	111
Cálcio, g/kg (máx)	135	135
Fósforo, g/kg (mín)	90	90
Enxofre, g/kg (mín)	18	18
Sódio, g/kg (mín)	141	141
Cobalto, mg/kg (mín)	60	60
Cobre, mg/kg (mín)	1500	1500
Cromo, mg/kg (mín)	20	20
Ferro, mg/kg (mín)	1800	1800
Iodo, mg/kg (mín)	75	75
Manganês, mg/kg (mín)	1800	1800
Selênio, mg/kg (mín)	17	17
Zinco, mg/kg (mín)	4500	4500
Flúor, mg/kg (mín)	900	900
Vitamina A, KIU/kg	-	350
Vitamina D, KIU/kg	-	50
Vitamina E, KIU/kg	-	2500
β - Caroteno, mg/kg	-	2500
Biotina, mg/kg	-	50

c) Protocolos de IATF

Foi utilizado o seguinte protocolo de sincronização de ovulação (Figura 1): Dia 0 (D 0) – inserção do dispositivo intravaginal de progesterona (Fertilcare®- MSD, São Paulo, Brasil), administração intramuscular de 2,0 mg de benzoato de estradiol (Gonadiol® - Zoetis, São Paulo, Brasil); Dia 7 (D 7) - aplicação intramuscular de 0,530 mg de cloprostenol (Sincrocio® - Ouro Fino, São Paulo, Brasil); Dia 9 (D 9) - remoção do dispositivo de progesterona, aplicação intramuscular de 300 UI de

gonadotrofina coriônica equina (Novormon® - Zoetis, São Paulo, Brasil), 1,0 mg de Cipionato de Estradiol (ECP® - Zoetis, São Paulo, Brasil) e marcação na região sacro-caudal com bastões marcadores (Raidl-Maxi®; RAIDEX GmbH, Dettingen/Erms, Alemanha); Dia 11 (D 11) - inseminação artificial em tempo fixo com confirmação de cio pelo escore de marcação com bastão: sem expressão (cio 1), baixa expressão (cio 2) e alta expressão (cio 3), de acordo com Nogueira et al. (2016).

Foram utilizadas doses de sêmen criopreservado de apenas um touro da raça Aberdeen Angus (Capataz da Canaã – St Repro), previamente analisado quanto à viabilidade funcional. O material foi descongelado por método eletrônico a 36°C e todo o procedimento realizado por um único técnico treinado. As vacas foram submetidas a monta natural somente durante o cio de repasse da IATF (Dias 18 a 25 pós inseminação), com proporção de touros Nelore de 1:40.

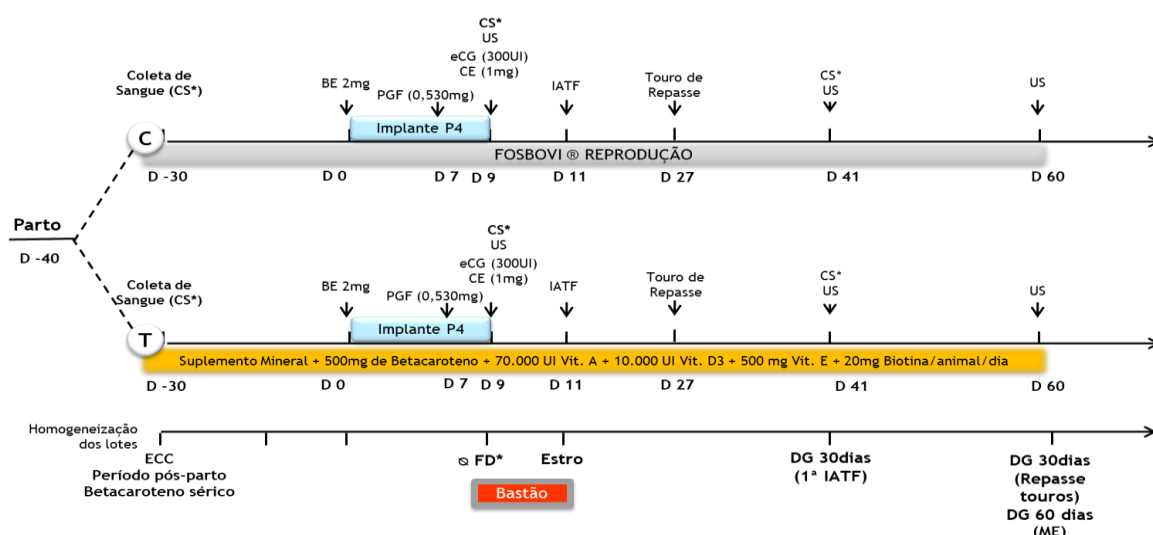


Figura 1. Diagrama experimental do protocolo de sincronização de ovulação de vacas e suplementação com betacaroteno e vitaminas ADE e biotina.

d) Exames Ultrassonográficos

Foi utilizado um aparelho de ultrassom munido com transdutor retal de 6,0 MHz (CTS 900®, SIUI, China). A avaliação ultrassonográfica foi conduzida em momentos distintos: ciclicidade (mensurado no dia 0), mensuração do diâmetro folículo dominante (mm); determinação da taxa de crescimento do folículo dominante (mm / dia; avaliado entre os dias 9 a 11) e trinta dias após à IATF foi realizado o diagnóstico de gestação, sendo considerada prenhe quando visualizada

a vesícula embrionária e confirmados os batimentos cardíacos fetais.

e) Testes sorológicos

Acetonemia - Uma gota de sangue total foi utilizada imediatamente após a coleta, a partir da veia coccígea média, para verificação do nível de Acetonemia. O teste foi realizado no Dia 0 e no Dia 11, com a utilização de um dispositivo portátil eletrônico (OptiumXceed - Abbott Diabetes Care) para determinação do beta-hidroxibutirato (BHBA). O sistema consiste em um medidor de mão eletrônico e tiras de testes eletroquímicos (Free Style Precision β -cetona - Abbott Diabetes Care).

Para as análises de betacaroteno, foi coletado sangue pela veia coccígea média, em tubos do tipo Vacutainer® contendo o anticoagulante EDTA. Realizado no dia - 30 (homogeneização dos lotes) e dia 9. Em seguida, o sangue foi contido em tubos IEx® para avaliação do betacaroteno sérico, utilizando-se o aparelho ICheck®. O betacaroteno foi identificado em espectrofotômetro portátil iCheck (Bio Analyt GmbH, Teltow, Germany) e quantificado no sistema iEx.

f) Análise Estatística

As variáveis contínuas foram testadas quanto à normalidade de resíduos usando o procedimento PROC Univariate, para análise da homogeneidade de variância. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo Proc Glimmix do Sas University 3 (SAS Inst. Inc., Cary, NC). As médias de tratamentos foram comparadas pelo teste t. Para a comparação da taxa de gestação em função do escore de expressão de cio, utilizou-se o teste Tukey. Adicionalmente, os efeitos linear e quadrático dos níveis séricos de betacaroteno sobre o diâmetro folicular foram avaliados por meio de polinômios, sendo para esta análise desprezado o efeito de tratamento. Elaborando uma equação logística da taxa de gestação em função do diâmetro folicular e assumiu-se o nível de significância de 5% para todos os procedimentos estatísticos.

Resultados

No início do protocolo de IATF, não houve diferença quanto a presença de corpo lúteo ($P = 0,81$), entre os grupos BetaC+Vit e controle ($46,91 \pm 3,60\%$ vs $45,73 \pm 3,50\%$), respectivamente. O escore de condição corporal avaliado ao início do protocolo (dia 0) foi similar ($P = 0,23$) entre os grupos BetaC+Vit ($2,72 \pm 0,11$) e controle ($2,70 \pm 0,11$).

Avaliado no momento da retirada do implante (Dia 9), o diâmetro do folículo dominante, foi similar entre os grupos ($P = 0,46$; tabela 1). A mensuração do diâmetro do folículo dominante, aferida ao momento da IATF (dia 11) não apresentou diferenças entre os grupos ($P = 0,52$; tabela 1). De maneira similar, a taxa de crescimento do FD (entre os dias 9 a 11), não foi significativo ($P = 0,31$; tabela 1), entre os grupos BetaC+Vit ($2,49 \pm 0,64$ mm) e controle ($2,28 \pm 0,64$ mm).

Tabela 1. Comparação da condição corporal e crescimento folicular entre vacas suplementadas com Betacaroteno e vitaminas (BetaC+Vit) e não suplementadas submetidas a protocolo de Inseminação artificial em tempo fixo.

Variáveis	Controle	BetaC+Vit	P valor
Nº de animais (n)	200	195	
ECC dia 0	$2,70 \pm 0,11$	$2,72 \pm 0,11$	0,23
Diâmetro do FD dia 9 (mm)	$11,66 \pm 0,66$	$11,44 \pm 0,64$	0,46
Diâmetro do FD dia 11 (mm)	$13,36 \pm 1,20$	$13,17 \pm 1,19$	0,52
Crescimento do FD/ Δ D9 a 11 (mm)	$2,28 \pm 0,64$	$2,49 \pm 0,64$	0,31
Demonstração de cio 3 dia 11 (%)	$89,92 \pm 3,14$	$78,84 \pm 5,44$	< 0,01

Observou-se efeito significativo ($P < 0,01$) no escores de cio 3 no momento da inseminação, sendo observado $78,84 \pm 5,44\%$ e $89,92 \pm 3,14\%$ de manifestação de cio, respectivamente nos grupos BetaC+Vit e controle (Tabela 1). Ao avaliar a expressão de cio, independente dos tratamentos, observou-se correlação positiva com a taxa de prenhez à IATF ($P < 0,01$; Tabela 2).

Tabela 2. Influência da expressão de cio sobre a taxa de prenhez (TxP-IATF), em vacas zebuínas lactantes submetidas à IATF

Expressão de Cio				
	1	2	3	P valor
TxP-IATF	16.80% ^B	32.47% ^B	63.12% ^A	<0.01

Sem expressão (cio 1), baixa expressão (cio 2) e alta expressão (cio 3)

A concentração sanguínea de betacaroteno (tabela 3), mensurada ao início da suplementação (dia - 30), foi semelhante ($P = 0,72$) entre os grupos (BetaC+Vit: $4,04 \pm 0,13$ vs Controle: $4,10 \pm 0,11$). Entretanto, a avaliação realizada no início do protocolo (dia 9), apresentou diferenças ($P = 0,05$) entre os grupos (BetaC+Vit: $4,27 \pm 0,14$ vs Controle: $4,53 \pm 0,14$).

Tabela 3. Comparação da concentração sérica de betacaroteno (dia -30 e 9) e de betahidroxibutirato (dia 0 e 9) entre vacas suplementadas com Betacaroteno e vitaminas e não suplementadas submetidas a protocolo de IATF..

Variáveis	Controle	BetaC+Vit	P valor
Nº de animais (n)	65	55	
Betacaroteno, dia - 30 (mg/L)	$4,10 \pm 0,11$	$4,04 \pm 0,13$	0,72
Betacaroteno, dia 9 (mg/L)	$4,53 \pm 0,14^A$	$4,27 \pm 0,14^B$	0,05
Betahidroxibutirato, dia 0 (mg/dL)	$0,72 \pm 0,19$	$0,78 \pm 0,19$	0,16
Betahidroxibutirato, dia 9 (mg/dL)	$0,54 \pm 0,07$	$0,59 \pm 0,07$	0,07

Independente dos tratamentos, observou-se resposta quadrática entre o nível sérico de betacaroteno e o diâmetro do folículo dominante mensurado no momento da inseminação artificial (Dia 11; figura 2; $P = 0,08$).

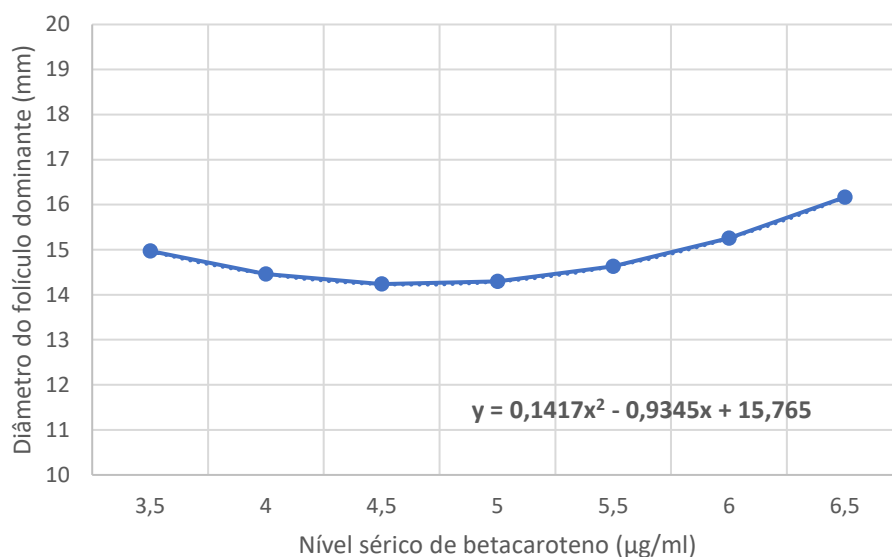


Figura 2. Influência do nível sérico de betacaroteno sobre o diâmetro do folículo dominante

Os valores séricos de betahidroxibutirato (BHB) foram similares tanto no início do protocolo de IATF ($P = 0,16$; BetaC+Vit: $0,78 \pm 0,19$ vs Controle: $0,72 \pm 0,19$) quanto no momento da inseminação ($P = 0,07$; BetaC+Vit: $0,59 \pm 0,07$ vs Controle: $0,54 \pm 0,07$).

Não houve diferença na taxa de prenhez entre os grupos, em ambos os momentos avaliados (figura 3), entretanto foi verificado efeito significativo ($P < 0,05$) entre o diâmetro do folículo dominante (dia 11) e a taxa de prenhez à IATF (Figura 4).

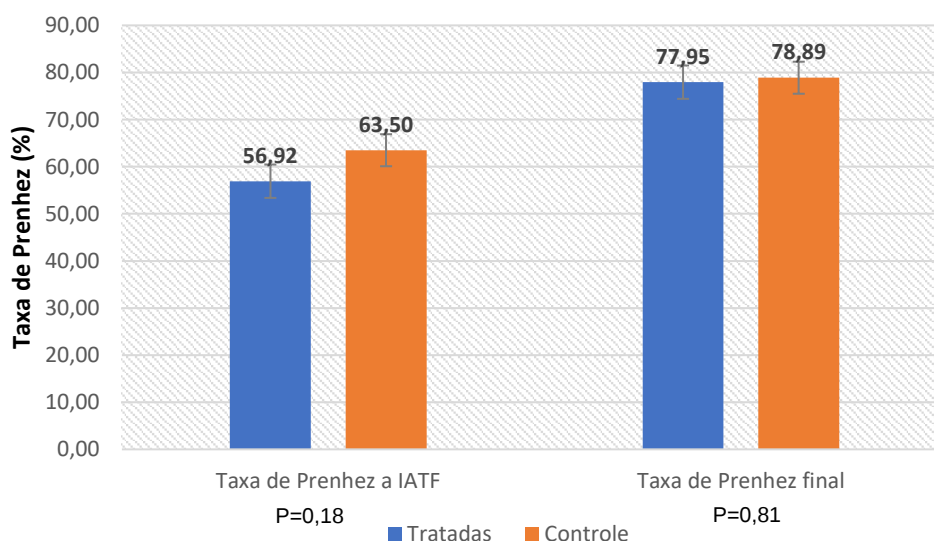


Figura 3. Taxa de prenhez à IATF e acumulativa final entre os grupos experimentais

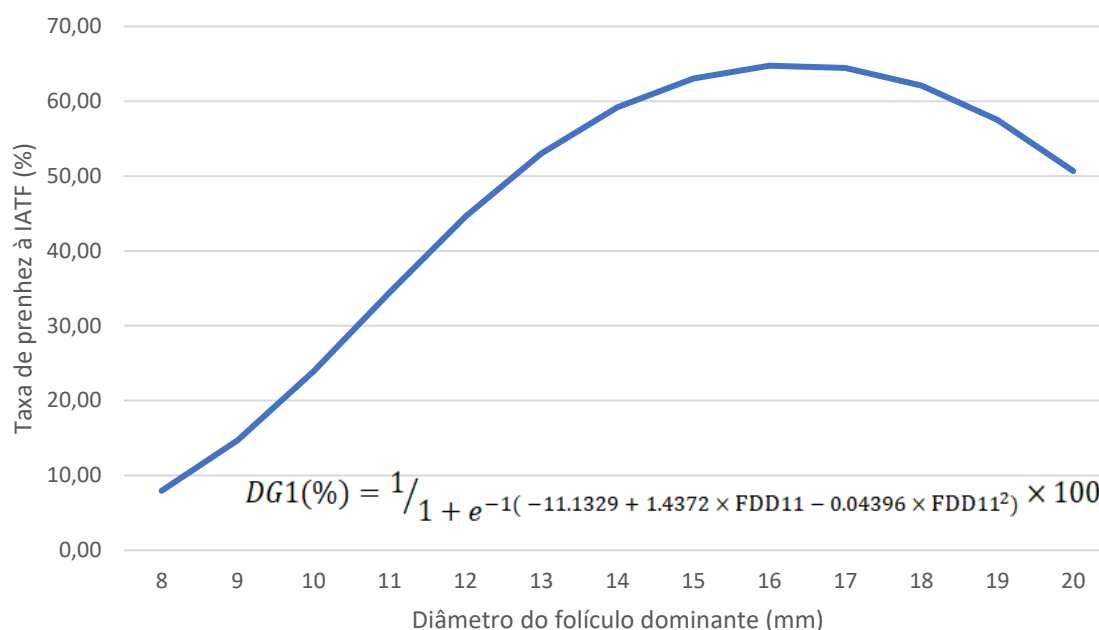


Figura 4. Influência do diâmetro do folículo dominante na taxa de prenhez à IATF

Discussão

Apesar da ampla atividade biológica das vitaminas, são escassas as pesquisas que relacionem sua suplementação com a eficiência reprodutiva em rebanhos de corte mantidos em pastagens. No presente estudo, a suplementação associada de betacaroteno com vitaminas não promoveu incremento na prenhez em vacas submetidas à IATF. Da mesma forma, não foram observadas diferenças na taxa de prenhez ao final da EM.

Ao avaliar pastagens de *Brachiaria brizantha* cv xaraés durante a primavera e verão, Gouvêa et al. (2018) verificaram que a concentração média de betacaroteno em forragem verde foi de 270,5 mg/ kg MS. Embora não tenha sido mensurado, sugere-se que a qualidade das pastagens no período de condução do experimento (verão – quente e chuvoso), caracterizado por apresentar maior quantidade de carotenoides, fazendo com que tais vitaminas deixassem de ser limitantes à reprodução. Ao contrário, durante o período seco (inverno) há uma queda acentuada na disponibilidade e na digestibilidade de carotenoides, sugerindo que a suplementação no período seco ou de transição, poderia potencialmente expressar melhor viabilidade dos parâmetros reprodutivos (ANDRIGUETTO et al., 1990).

Considerando a importância do ECC sobre a taxa de prenhez à IATF (MENEGETTI et al., 2009; SÁ FILHO et al., 2013) e respeitando o critério de homogeneidade dos lotes, não foi verificada diferença na condição corporal das vacas avaliadas no transcorrer do experimento. Neste contexto, foi verificado também a influência do BHB, metabólico clássico que sinaliza a utilização de gordura corporal em situações de maior necessidade energética. Em ambos os grupos, foi observado declínio nas concentrações séricas, indicando ausência na mobilização corporal pós-parto e demonstrando o adequado padrão nutricional em que os animais foram submetidos, pois ao determinar que as elevadas concentrações séricas de BHB sinalizam o balanço energético negativo, com perda de peso e mobilização de reservas corporais pós-parto (GONZÁLEZ, 2009)

Embora não tenha sido encontrada diferença no tamanho do folículo dominante nos dias 9 e no dia da IATF entre os grupos experimentais, foi observada interação entre o tamanho do folículo dominante pré-ovulatório (dia 11) com a taxa de prenhez (BUSCH et al., 2008), uma vez que folículos menores tendem a sintetizar quantidades menores de estradiol no momento da ovulação, devido ao menor número de células da granulosa e da teca interna, podendo influenciar ainda na manutenção da gestação (PEREIRA et al., 2016). Além do aumento da produção endógena de estradiol, outros fatores como competência oocitária, diâmetro do CL e concentração de progesterona no ciclo estral subsequente também resultariam na ovulação de um folículo maior, beneficiando a fertilidade de vacas de corte submetidas à IATF (SÁ FILHO et al. 2010). Estudo recente desenvolvido por Nogueira et al. (2018) demonstrou que vacas Nelore lactantes com folículo de maior diâmetro no momento da IATF manifestaram maior percentual de estro e consequentemente maior taxa de prenhez.

Ao analisar o nível sérico de retinol foi constatado que o grupo BetaC+Vit apresentava dosagem significativamente menor em relação ao grupo controle, apesar de 39 dias de suplementação. Yang et al. (2002) ao suplementarem bovinos a pasto com 2.500 UI de vitamina E, observaram redução plasmática e tecidual de betacaroteno, sinalizando que houve limitação na absorção em virtude da competição entre o tocoferol e o betacaroteno pelo transporte nas lipoproteínas. Além disso, no processo de redução das moléculas de tocoferoxil para tocoferol, os

carotenoides são consumidos no processo.

Independente dos grupos experimentais, foi verificado uma correlação positiva entre o nível sérico de betacaroteno e o diâmetro do folículo dominante no dia 11. Maiores concentrações plasmáticas de caroteno estão associadas à redução de falhas na ovulação pós-parto (KAWASHIMA et al., 2009), apresentam correlação positiva com a função luteal pós-parto (GRAVES-HOAGLAND et al., 1988), possuem efeito antioxidante no folículo, influenciando de maneira positiva o microambiente do oócito na presença de estresse metabólico materno (SCHWEIGERT et al., 1988; DE BIE et al., 2016) e atuam na preservação de células uterinas e embrionárias contra a peroxidação, atuando na implantação e sobrevida embrionária (CHEW et al., 2001; SCHWEIGERT et al., 2002).

A influência da manifestação de cio, independente dos tratamentos, foi expressiva na avaliação da taxa de prenhez à IATF. Ao realizar uma análise mais apurada, o grupo controle apresentou taxa de demonstração de cio significativamente superior ao grupo BetaC+Vit, o que refletiu em melhores taxas de prenhez à IATF. A expressão de cio tem sido um considerável biomarcador para a concentração de estradiol (LARIMORE et al., 2015) e além disso, vacas que expressaram cio demonstram elevação na concentração plasmática de progesterona 7 dias após a inseminação e maior expressão de genes relacionados ao IFNt em conceitos de 15 dias, respostas estas conhecidas por aumentar o sucesso da taxa de prenhez na IATF (COOKE et al., 2019). O maior nível sérico de estradiol promove maior secreção de glicoproteínas do oviduto (BUHI, 2002) e favorecem o ambiente uterino, ao proporcionar maior aporte de nutrientes endometriais essenciais que estão relacionados ao desenvolvimento inicial do conceito (GRAY et al., 2001).

O detalhamento dos efeitos do betacaroteno e vitaminas na reprodução requer a determinação da disponibilidade desses nutrientes na forrageira, dada a sazonalidade produtiva, associada ao ajuste no período de suplementação. Tal afirmação está de acordo com o proposto por DeOndarza et al. (2009) ao verificar que a suplementação com betacaroteno em vacas leiteiras de alta produção suplementadas com betacaroteno não influenciou a taxa de concepção (20 vs. 21% para o controle versus tratamento) durante as primeiras 21 semanas de tratamento,

entretanto, durante as duas últimas semanas experimentais, foi observada uma melhora significativa da concepção no grupo betacaroteno. Tal proposição permite inferir ser necessário período prolongado de suplementação com betacaroteno para que se observe impactos positivos na eficiência reprodutiva.

Conclusão

A inclusão de betacaroteno, vitaminas ADE e Biotina na suplementação mineral para animais sob pastejo, durante o verão não influencia a taxa de prenhez à primeira IATF em vacas zebuínas lactantes mantidas em pastagens tropicais. No entanto, o nível sérico de betacaroteno correlaciona-se positivamente com o diâmetro do folículo dominante.

Referências bibliográficas

ANDRIGUETTO, J. M.; PERLY, L.; MINARD, I. A. G.; FLEMMING, J.S.; SOUZA, G. A.; BONA FILHO, A. **Nutrição Animal**. vol. I. As bases e os fundamentos da nutrição animal, os alimentos. São Paulo, Nobel 4ª ed. 395p, 1990.

AYRES, H., FERREIRA, R.M., DE SOUZA TORRES-JÚNIOR, J.R., DEMÉTRIO, C.G.B., DE LIMA, C.G., BARUSELLI, P.S. Validation of body condition score as a predictor of subcutaneous fat in Nelore (*Bos indicus*) cows. **Livest. Sci.**, v. 123, p. 175–179, 2009.

BIE, J.; LANGBEEN, A.; VERLAET, A.A.J.; FLORIZOONE, F.; IMMIG, I.; HERMANS, N.; FRANSEN, E.; BOLS, P.E.J.; LEROY, J.L.M.R. The effect of a negative energy balance status on β -carotene availability in serum and follicular fluid of nonlactating dairy cows. **J. Dairy Sci.**, v. 99, p. 5808 – 5819, 2016.

BUHI, W.C. Characterization and biological roles of oviduct-specific, oestrogen-dependent glycoprotein. **Reproduction**, v. 123, p.355–362, 2002.

BUSCH, D.C.; ATKINS, J.A.; BADER, J.F.; SCHAFER, D.J.; PATTERSON, D.J.; GEARY, T.W.; SMITH, M.F. Effect of ovulatory follicle size and expression of estrus on progesterone secretion in beef cows. **Journal Animal Science**, v. 86, p.553–563, 2008.

CHEW, B.P.; PARK, J.S. Carotenoid action on the immune response. **J Nutr.**, v.134, p.257S-261S, 2004.

CHEW, B.P.; WENG, B.B.; KIM, H.W. *et al.* Uptake of β -carotene by ovarian and uterine tissues and effects on steroidogenesis during the estrous cycle in cats. **Am. J. Vet. Res**, v. 62, n.7, p.1063-1067, 2001.

CLEMENT F. Multiscale mathematical modeling of the hypothalamo-pituitarygonadal axis. **Theriogenology**, v. 86, p.11-21, 2016.

- COOKE, R. F; POHLER, K.G; VASCONCELOS, J.L.M; CERRI, R.L.A. Estrous expression during a fixed-time artificial insemination protocol enhances development and interferon-tau messenger RNA expression in conceptuses from *Bos indicus* beef cows. **Animal**, p.1-7, 2019.
- DAVOODI, S.; COOKE, R.F.; FERNANDES, A.C.C.; CAPPELLOZZA, B.I.; VASCONCELOS, J.L.M.; CERRI, T.L.A. Expression of estrus modifies the gene expression profile in reproductive tissues on day 19 of gestation in beef cows. **Theriogenology**, v. 85, p.645–655, 2016.
- DE BIE, J.; LANGBEEN, A.; VERLAET, A.A.J. *et al.* The effect of a negative energy balance status on β -carotene availability in serum and follicular fluid of nonlactating dairy cows. **J. Dairy Sci.**, v. 99, p.5808–5819, 2016.
- DE ONDARZA, M.B.; WILSON, J.W.; ENGSTROM, M. Case study: Effect of supplemental β -carotene on yield of milk and milk components and on reproduction of dairy cows. **Profession Anim Sci.**, v.25, p. 510-6, 2009.
- EUCLIDES, V.P.B.; FLORES, R.; MEDEIROS, R.N.; OLIVEIRA, M.P. Deferred pastures of *Brachiaria* cultivars ‘Basilisk’ and ‘Marandu’, in the Cerrados region. **Pesq. Agrop. Bras.**, v.42, n.2, p.273-280, 2007.
- GONZÁLEZ, F.H.D. Ferramentas de diagnóstico e monitoramento das doenças metabólicas. **Ciência Animal Brasileira**, Suplemento 1, 2009.
- GOUVÊA, V. N.; COLLI, M. H.; GONÇALES JUNIOR, W. A. J.; MOTTA, J.C.L.; ACEDO, T.S.; VASCONCELLOS, G.S.F.M.; TAMASSIA, L.F.M.; ELLIFF, F.M.; MINGOTI, R.D.; BARUSELLI, P.S. The combination of β -carotene and vitamins improve the pregnancy rate at first fixed-time artificial insemination in grazing beef cows. **Livestock Sci.**, 2018.
- GRAVES-HOAGLAND, R.L., HOAGLAND, T.A.; WOODY, C.O. Effect of beta-carotene and vitamin A on progesterone production by bovine luteal cells. **J. Dairy Sci.**, v. 71, p.1058, 1988.
- GRAY, C.A.; TAYLOR, K.M.; RAMSEY, W.S.; HILL, JR.; BAZER, F.W.; BARTOL, F.F.; SPENCER, T.E. Endometrial glands are required for preimplantation conceptus elongation and survival. **Biology of Reproduction**, v. 64, p.1608–1613, 2001.
- HALILOGLU, S. *et al.* Vitamin A and β -Carotene Levels in Plasma, Corpus Luteum and Follicular Fluid of Cyclic and Pregnant Cattle. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 37, n. 2, p. 96-99, 2002.
- KAWASHIMA, C.; KIDA, K.; SCHWEIGERT, F.J.; MIYAMOTO, A. Relationship between plasma β -carotene concentrations during the peripartum period and ovulation in the first follicular wave postpartum in dairy cows. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 111, p.105–111, 2009.
- LARIMORE E.L.; AMUNDSON, O.L.; BIRD, S.L.; FUNNELL, B.J.; KRUSE, S.G.; BRIDGES, G.A.; PERRY, G.A. Influence of estrus at fixed-time artificial insemination on early 565 embryonic development in beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 93, p. 2806–2812, 2015.

LEE, K.J.; K. DABROWSKI. Long-term effects and interactions of dietary vitamins C and E on growth and reproduction of yellow perch, *Perca flavescens*. **Aquaculture**, v. 230, p.377-389, 2004.

MADUREIRA, E.D.; MATURANA FILHO, M.; LEMES, K.M.; SILVA, J.C.B.; SANTINI, T. Análise crítica de fatores que interferem na fertilidade de vacas zebuínas. In: Proc of 9th symposium of beef cattle production. Viçosa, Brazil: Universidade Federal de Viçosa. p. 367– 400, 2014.

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

MICHAL, J. J. et al. Modulatory Effects of Dietary β -Carotene on Blood and Mammary Leukocyte Function in Periparturient Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 77, n. 5, p. 1408-1421, 1994.

NOGUEIRA, E.; SILVA, M.R.; SILVA, J.C.B.; ABREU, U.P.G.; ANACHE, N.A.; SILVA, K.C.; CARDOSO, C.J.T.; SUTOVSKY, P.; RODRIGUES, W.B. Timed artificial insemination plus heat I: effect of estrus expression scores on pregnancy of cows subjected to progesterone estradiol based protocols. **Animal**, 2019. doi:10.1017/S1751731119000442.

OLIVEIRA, R. C.; GUERREIRO, B. M.; MORAIS JUNIOR, N. N.; ARAUJO, R. L.; PEREIRA, R. N.; PEREIRA, M. N. Supplementation of prepartum dairy cows with β - carotene. **Journal of Dairy Science**, v.98(9), p.6304–6314, 2015.

PEREIRA, M.H.C.; WILTBANK, M.C.; VASCONCELOS, J.L.M. Expression of estrus improves fertility and decreases pregnancy losses in lactating dairy cows that receive artificial insemination or embryo transfer. **Journal Dairy Science**, v. 99, p. 2237–2247, 2016.

REIS, R.A.; RUGGIERI, A.C.; OLIVEIRA, A.A.; AZENHA, M.V.; CASAGRANDE, O.R. Supplementation as a strategy for the production of the beef quality in tropical pastures. **Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.**, v.13, n.3, p.642-655, 2012.

SÁ FILHO, M.F.; PENTEADO, L.; REIS, E.L.; REIS, T.A.N.P.S.; GALVÃO, K.N.; BARUSELLI, P.S. Timed artificial insemination early in the breeding season improves the reproductive performance of suckled beef cows. **Theriogenology**, v. 79, p.625–632, 2013.

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

SCHWEIGERT, F.J.; KRIEGER, K.; SCHNURRBUSCH, U. *et al.* Effect of dietary β -carotene on the early embryonic development and uterine fluid composition of gilts. **J. of anim. physiol. and anim. nutrition**, v. 86, n. 7-8, p. 265-272, 2002.

SCHWEIGERT, F.J.; ZUCKER, H. Concentrations of vitamin A, beta-carotene and vitamin E in individual bovine follicles of different quality. **J. Reprod. Fert.**, v. 82, p.575-579, 1988.

SILVA, A. G.; PAULINO, M. F.; DETMANN, E.; FERNANDES, H. J.; DA SILVA AMORIM, L.; ORTEGA, R.E.M.; CARVALHO, V. V.; LIMA, J. A. C.; MOURA, F. H.; MONTEIRO, F. H.; BITENCOURT, J. A. Energetic-protein supplementation in the last 60 days of gestation improves performance of beef cows grazing tropical pastures. **J. Anim. Sci. Biotech.**, v. 8, n.78, p.1-9, 2017.

SILVA, F. F.; SÁ, J. F.; SCHIO, A. R.; ÍTAVO, L. C. V.; SILVA, R. R.; MATEUS, R. G. Suplementação a pasto: disponibilidade e qualidade x níveis de suplementação x desempenho. **R. Bras. Zootec.**, v. 38, p. 371 – 389, 2012.

WETTEMANN, R.P.; LENTS, C.A.; CICCIOLO, N.H.; WHITE, F.J.; RUBIO, I. Nutritional and pre-weaning mediated anovulation in beef cows. **J. Anim. Sci.**, v. 81(Suppl 2), p.48 – 59, 2002.

YANG, A. et al. Effect of vitamin E supplementation on α -tocopherol and β -carotene concentrations in tissues from pasture-and grain-fed cattle. **Meat Science**, v. 60, n. 1, p. 35-40, 2002.

CAPÍTULO 3

ANÁLOGO DO GNRH EM VACAS COM BAIXA EXPRESSÃO DE CIO SUBMETIDAS A PROTOCOLOS DE IATF

ANALOG OF GNRH ON COWS WITH LOW ESTRUS EXPRESSION SUBMITTED TO FTAI

Wagner Rodrigues Garcia¹; Camile Sanches Silva²; Nathan Ferreira da Cunha³;
Ana Paula Santin³; Geovani Palhares Benevides⁴; Gustavo Guerino Macedo⁵;
Erikis Nogueira^{5,6*}; Eliane Vianna da Costa e Silva⁵

¹Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, FAMEZ/UFMS E-mail: wagnergarcia2003@yahoo.com.br

²Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, FAMEZ/UFMS

³Médico Veterinário, Profissional liberal

⁴Universidade Anhanguera - Uniderp

⁵Docente da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

⁶Embrapa Gado de Corte

A ser submetido ao Periódico: Tropical Animal Health and Production

RESUMO - O estabelecimento de um efetivo controle endócrino em protocolos de IATF, com intuito de melhorar a taxa de prenhez em todas as categorias é um fator primordial para otimizar a taxa de concepção. Neste sentido, a avaliação do escore de expressão de cio (ESCT) em animais submetidos a IATF demonstrou ser eficaz no incremento na fertilidade. Entretanto, a ausência ou baixa expressão do estro naquelas matrizes submetidas a protocolos de IATF, apresentaram potencial negativo sobre a taxa de concepção. Deste modo, o objetivo do trabalho foi determinar a influência da aplicação de GnRH, em fêmeas com ausência ou pouca expressão de cio no momento da IATF, de acordo com a categoria animal e condição corporal ao início do programa. O protocolo de sincronização de ovulação estabelecido foi com 3 manejos e marcação com bastão de tinta, a expressão de cio foi classificada de acordo com a proporção de remoção de tinta. Os animais que apresentavam ESCT3 constituíram o grupo CIO, enquanto aqueles que apresentavam ESCT1 e ESCT2 foram segregados aleatoriamente em outros dois grupos, de forma que a cada 10 animais, sete recebiam aplicação intramuscular de 250µg de Acetato de Gonadorelina (grupo GnRH). Os dados quantitativos e binários foram analisados pelo procedimento GLIMMIX foram realizadas considerando a matriz como unidade experimental, incluindo no modelo: touro, categoria da matriz, expressão do cio, escore de condição corporal e utilização de GnRH. Os resultados obtidos demonstraram efeito positivo da expressão de cio sobre a taxa de prenhez entre os grupos experimentais: 59,7%, 46,3% e 36,6% (grupo cio, GnRH e controle, respectivamente, $P < 0,01$). O efeito do manejo de

avaliação de cio e aplicação de GnRH sobre a taxa de prenhez foi significativo nas categorias primíparas ($P = 0,02$) e pluríparas ($P < 0,001$). Entretanto, em novilhas e solteiras não houve diferença ($P = 0,98$ e $P = 0,07$, respectivamente). A ocorrência de estro determina maior probabilidade das matrizes, independente da categoria, se tornarem gestantes quando submetidas à IATF. A utilização de análogos de GnRH é uma ferramenta efetiva para aumentar a taxa de prenhez em primíparas e pluríparas com baixa ou nenhuma expressão de estro.

PALAVRAS-CHAVES: nutrição, reprodução, vaca

ABSTRACT – Establishing effective endocrine control in FTAI protocols to improve pregnancy rate in all categories is a key factor in optimizing conception rate. In this sense, the evaluation of estrus expression score (ESCT) in animals submitted to FTAI proved to be effective in increasing fertility. However, the absence or low expression of estrus in those cows submitted to TAI protocols presented negative potential on conception rate. Thus, the objective of this study was to determine the influence of GnRH application in females with no or little estrus expression at the time of TAI, according to the animal category and body condition at the beginning of the program. The ovulation synchronization protocol was established with 3 managements and ink stick marking, the estrus expression was classified according to the proportion of ink removal. The animals with ESCT3 constituted the estrus group, while those with ESCT1 and ESCT2 were randomly segregated into two other groups, so that out of 10 animals, seven received 250 μg of Gonadorelin Acetate (GnRH group) intramuscular application. Quantitative and binary data were analyzed using the GLIMMIX procedure, considering the matrix as an experimental unit, including in the model: bull, matrix category, estrus expression, body condition score and GnRH utilization. The results showed a positive effect of estrus expression on pregnancy rate among experimental groups: 59.7%, 46.3% and 36.6% (estrus group, GnRH and control, respectively, $P < 0.01$). The effect of GnRH application on pregnancy rate was significant in the primiparous ($P = 0.02$) and pluriparous ($P < 0.001$) categories. However, in heifers and no lactating cows there was no difference ($P = 0.98$ and $P = 0.07$, respectively). The occurrence of estrus determines the higher probability of pregnancy, regardless of category, becoming pregnant when submitted to TAI. The use of GnRH analogs is an effective tool for increasing the pregnancy rate in primiparous and multiparous with low or no estrus expression.

KEYWORDS: cow, nutrition, reproduction

Introdução:

A reprodução assistida em bovinos de corte tem sido vastamente utilizada com o objetivo de aumentar a eficiência reprodutiva, já que está associada a produção de bezerros com maior mérito genético, nascimentos em períodos mais

adequados e maior controle sanitário, contribuindo diretamente para o aumento da produtividade em propriedades de cria.

Para tanto, faz-se necessário a adoção de estratégias efetivas que promovam respostas adequadas e otimizem a gestão reprodutiva do rebanho. Entre as biotécnicas disponíveis, destaca-se a manipulação farmacológica do ciclo estral através de protocolos de sincronização de ovulação, que a partir da combinação exógena de hormônios reprodutivos, fornecem resultados consistentes de concepção em matrizes de corte (SALES et al., 2012).

Diversas pesquisas buscam estabelecer um maior controle endócrino em protocolos de IATF, com intuito de melhorar a taxa de prenhez. Ao mensurar a expressão de estro em animais submetidos a IATF, foi constatada melhor taxa de ovulação, maior função luteínica, incremento na fertilidade, melhor desenvolvimento embrionário e maior competência para manutenção da gestação (SÁ FILHO et al., 2011; DAVOODI et al., 2016; PEREIRA et al., 2016; RODRIGUES et al., 2019; NOGUEIRA et al., 2019). A intensidade da expressão do estro avaliada neste período, pode ser realizada com efetivo grau de acurácia através da utilização de bastões marcadores (NOGUEIRA et al., 2016).

Um obstáculo em programas de sincronização de ovulação é a ausência ou baixa expressão do estro naquelas matrizes submetidas a protocolos de IATF. Pesquisas demonstram que este comportamento possui potencial negativo significativo sobre a taxa de concepção à IATF (SÁ FILHO et al., 2010; NOGUEIRA et al., 2016; RODRIGUES et al., 2019). A utilização de análogos sintéticos do GnRH neste grupo de animais induz o pico pré-ovulatório de LH e conseqüentemente a ovulação e/ou a luteinização (GOTTSCHELL et al., 2008), demonstrando ser uma ferramenta viável na otimização das taxas de prenhez à IATF (RODRIGUES et al., 2019).

Deste modo, o objetivo trabalho foi determinar a influência da aplicação de análogos de GnRH, em fêmeas com ausência ou pouca expressão de cio no momento da IATF, de acordo com a categoria animal e condição corporal ao início do programa.

Material e Métodos

Animais e locais do experimento

O estudo foi conduzido em duas estações reprodutivas, em três propriedades localizadas no estado do Mato Grosso do Sul (região Planalto Central Brasileiro), que adotam sistema de criação semiextensivo. Os animais foram mantidos em sistema de pastejo rotacionado, em gramíneas do gênero *Brachiaria*, suplementação mineral (150 g/animal/dia; Fosbovi® reprodução - DSM, São Paulo, Brasil) e fornecimento de água ad libitum.

Foram utilizadas 7138 matrizes, distribuídas em quatro categorias, conforme segue: 24% nulíparas (n = 1706); 11,8% primíparas (n = 848); 51% pluríparas (n = 3640) e 13,2% de vacas não lactantes/solteiras (n = 945). Nas matrizes em lactação, independente da categoria, foi estabelecido um intervalo mínimo de 30 dias pós-parto para o início do protocolo de IATF. Foi determinado como uma exigência imprescindível na formação dos lotes o critério de categoria única, a fim de evitar efeito de dominância e influência de manejo entre os animais.

A avaliação do escore de condição corporal foi realizada no momento início do protocolo de IATF, obedecendo a escala de 1 (caquético) a 5 (obeso; AYRES et al., 2009). Animais com escore de condição corporal abaixo de 2,0 foram excluídos do protocolo.

Manejo Reprodutivo e tratamento

O protocolo de sincronização de ovulação (Figura 1) incluiu: Dia 0 (D0) – inserção do dispositivo intravaginal de 1,2g de progesterona (Fertilcare® - MSD, São Paulo, Brasil), administração intramuscular de 2,0mg de benzoato de estradiol (Fertilcare Sincronização®- MSD, São Paulo, Brasil); Dia 8 (D8) - remoção do dispositivo de progesterona; aplicação intramuscular de 0,530mg de cloprostenol (Sincrocio® - Ouro Fino, São Paulo, Brasil), 300UI de gonadotrofina coriônica equina (Novormon® - Zoetis, São Paulo, Brasil), 1,0mg de Cipionato de Estradiol (Fertilcare Ovulação®- MSD, São Paulo, Brasil) e marcação com bastão de tinta (Raidl-Maxi®; RAIDEX GmbH, Dettingen / Erms, Alemanha) na região sacral. No dia 10 (D10), a expressão de cio foi classificada de acordo com a proporção de

remoção de tinta, conforme descrito por Nogueira et al. (2016), em ESCT1: nenhuma ou pouca remoção (sem expressão de cio); ESCT2: remoção parcial da tinta (baixa expressão de cio); ESCT3: remoção total da tinta (alta expressão de cio). Em seguida, os animais foram submetidos à IATF.

Para fins experimentais, os animais que apresentavam ESCT3 constituíram o grupo CIO, enquanto aqueles que apresentavam ESCT1 e ESCT2 foram segregados aleatoriamente em outros dois grupos, de forma que a cada 10 animais, sete recebiam aplicação intramuscular de 250µg de Acetato de Gonadorelina (GnRH; Gestran Plus® - Tecnopec Ltda, São Paulo, Brasil), formando o grupo GnRH e os outros três animais não recebiam tal aporte hormonal, perfazendo 30% dos animais com pouca ou nenhuma expressão de cio e constituindo desta forma o grupo Controle.

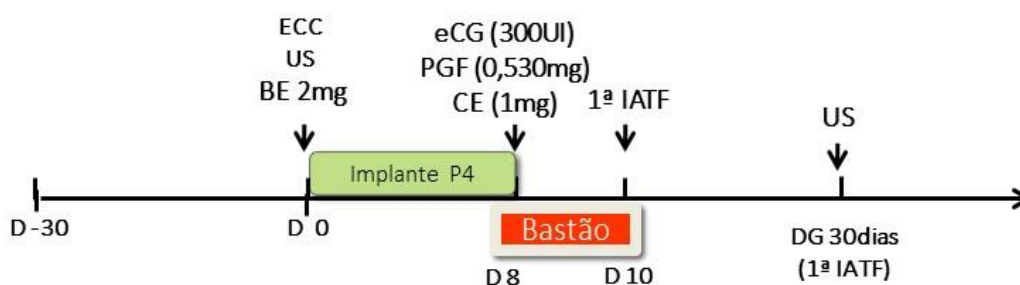


Figura 1. Diagrama experimental do protocolo de sincronização de ovulação.

Sêmen

Foram utilizadas doses de sêmen de 26 touros das seguintes raças: Aberdeen Angus, Nelore e Brangus, previamente analisadas quanto à viabilidade funcional. O material foi descongelado por método eletrônico a 36°C e todo o procedimento realizado por quatro inseminadores treinados.

Ultrassonografia reprodutiva

Ao início do protocolo de IATF (dia 0) todos animais foram examinados com auxílio do ultrassom munido com transdutor linear transretal de 6,0 MHz (A5V, Sonoscape®, Shenzhen, China). A atividade ovariana foi identificada e categorizada, de acordo com a presença de corpo lúteo. Animais identificados com transtornos reprodutivos nesta avaliação, foram considerados insatisfatórios para iniciar a sincronização. O diagnóstico de gestação foi determinado por

ultrassonografia transretal, 30 dias após a IATF.

Análise Estatística

Os dados quantitativos e binários foram analisados pelo procedimento GLIMMIX disponível no SAS (SAS Inst., Inc., Cary, NC). Todas as análises foram realizadas considerando a matriz como unidade experimental, incluindo no modelo: touro, categoria da matriz, expressão do cio, escore de condição corporal e utilização de GnRH. O procedimento LOGISTIC foi usado para gerar o modelo de regressão e determinar os valores de intercepto e inclinação, de acordo com as estimativas de máxima verossimilhança de cada efeito significativo de ordem. Para todas as análises, a significância foi estabelecida em $P \leq 0,05$.

Resultados

Ao início do protocolo de sincronização de ovulação, as matrizes foram avaliadas quanto ao ECC e as médias estabelecidas por grupo experimental, independente da categoria animal (tabela 1). Não houve interação do ECC com o grupo experimental ($P > 0,05$), entretanto, foi observada diferença significativa na taxa de prenhez entre os grupos ($P < 0,01$).

Tabela 1. Média de ECC e Taxa de Prenhez à IATF por grupo experimental.

Grupo experimental	ECC $\pm$ DP	N	Taxa de prenhez
Cio	2,96 $\pm$ 0,49	6035	59,70 ^A
GnRH	2,85 $\pm$ 0,42	755	46,35 ^B
Controle	2,83 $\pm$ 0,38	349	36,68 ^C

Para as variáveis inseminador ($P = 0,56$), tipo de implante utilizado (CIDR[®], DIB[®] e FERTILCARE[®]; $P = 0,96$) e quantidade de utilização do implante (novo, reutilizado ou monodose), não foi observado efeitos sob a taxa prenhez à IATF. Para a variável touro ($n = 26$), houve diferença na taxa de prenhez ($P = 0,02$), entretanto, não houve interação entre touros e tratamento ($P = 0,08$).

Ao avaliar a condição corporal, independente do tratamento, foi evidenciado efeito significativo ($P > 0,01$) sob a taxa de prenhez à IATF em vacas com ECC menor que 2,5 (figura 1). Animais com a mesma condição corporal apresentaram diferença significativa ($P > 0,05$) na taxa de prenhez entre os grupos experimentais (Figura 2).

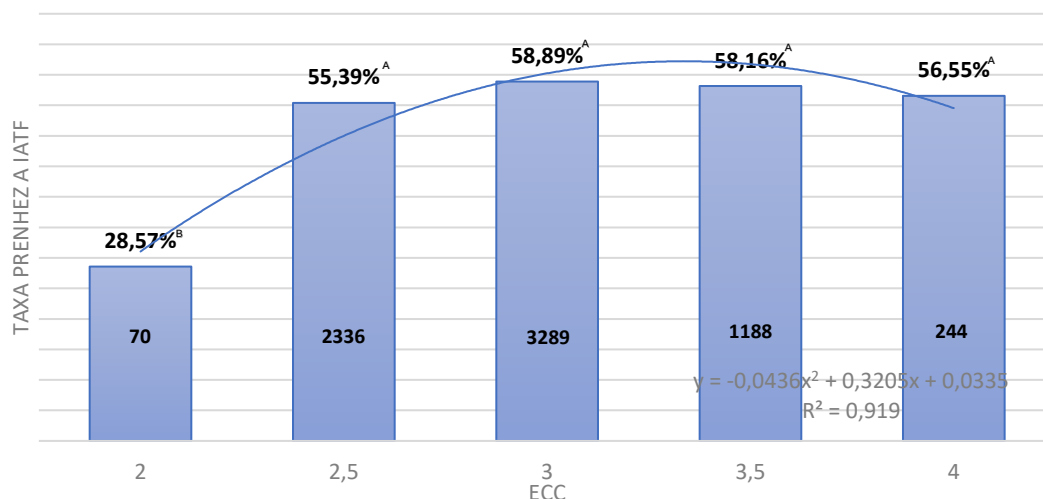


Figura 1. Influência na taxa de prenhez em função do escore de condição corporal para fêmeas bovinas submetidas a programas de IATF.

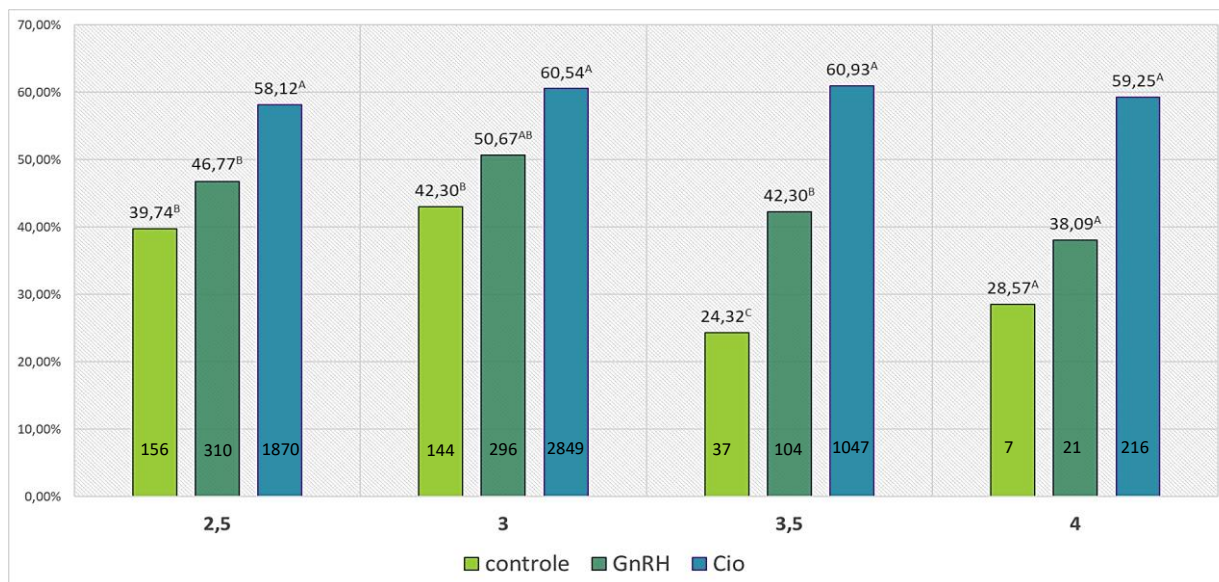


Figura 2. Efeito do escore de condição corporal sobre a taxa de prenhez à IATF em fêmeas bovinas, de acordo com os grupos experimentais.

Considerando a categoria animal, nulíparas e vacas não lactentes apresentaram maior taxa de ciclicidade (96,18% e 74,17%, respectivamente) do

que pluríparas e primíparas (34,11% e 24,52%, respectivamente), correspondendo com a taxa de expressão de cio (ESCT3), entretanto, vacas pluríparas apresentaram maior taxa de prenhez ($P < 0,05$; Figura 3).

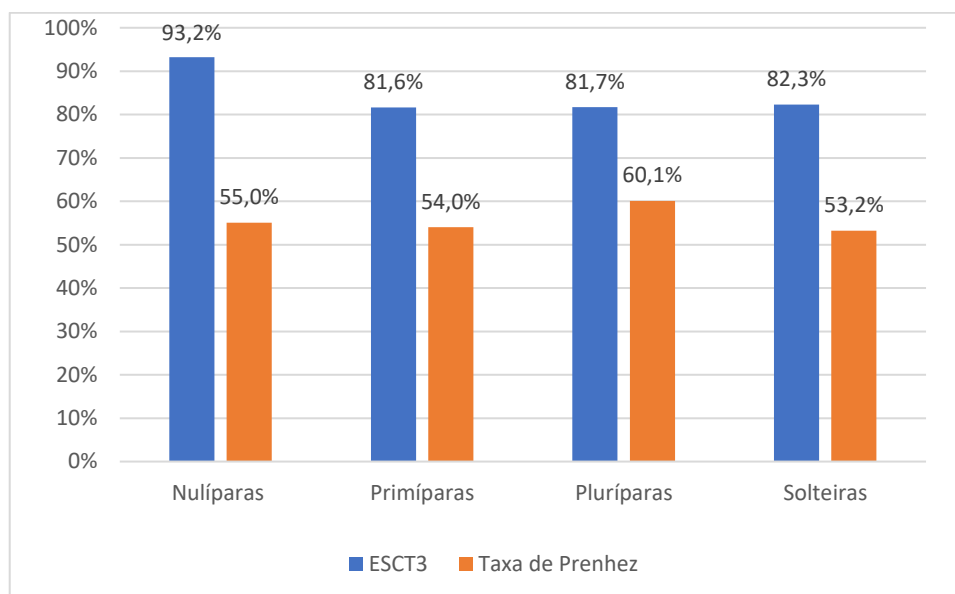


Figura 4. Taxa de observação de cio (escore de tinta 3) e taxa de prenhez a IATF em fêmeas bovinas, de acordo com categorias.

O efeito da expressão de cio sobre a taxa de prenhez (Tabela 2) foi significativo nas categorias primíparas ($P = 0,02$) e pluríparas ($P < 0,001$). Entretanto, em novilhas e solteiras não houve diferença ($P = 0,98$ e $P = 0,07$, respectivamente), conforme demonstrado na tabela 2.

Tabela 2. Taxa de prenhez entre os grupos experimentais, de acordo com animal, em fêmeas bovinas submetidas à IATF

Categoria	Grupos			SE	P
	Controle	GnRH	Cio		
Nulíparas	42,10% (8/19)	43,29% (42/97)	55,91 (889/1590)	0,467	0,989
Primíparas	38,63% ^B (17/44)	43,75% ^{AB} (49/112)	56,64% ^A (392/692)	0,319	0,022
Pluríparas	38,12% ^C (69/181)	47,10% ^B (228/484)	63,56% ^A (1891/2975)	0,157	<0,001
Solteiras	39,04% (41/105)	50,00% (31/62)	55,39% (431/778)	0,212	0,079
Total	38,68% ^C (135/349)	46,35% ^B (350/755)	59,70% ^A (3603/6035)	0,110	<0,001

Grupo CIO = vacas com ESCT 3 e sem tratamento adicional; Grupo controle = ESCT1 e ESCT 2, sem tratamento; Grupo GnRH = ESCT1 e ESCT 2 com aplicação intramuscular de 250µg gonadorelina no momento da IA.

Discussão

De acordo com os resultados apresentados, a expressão de estro foi um sinalizador eficaz da resposta ovariana frente aos estímulos hormonais, influenciando de maneira positiva a taxa de concepção de fêmeas bovinas lactantes ou não, submetidas a protocolos de IATF. Deste modo, a observação da expressão de cio pode ser uma ferramenta empregada estrategicamente para a utilização de sêmen com maior valor agregado, predizendo respostas efetivas do protocolo de IATF, uma vez que fêmeas que manifestam cio apresentam potencialmente maior crescimento do folículo pré-ovulatório, maiores taxas de ovulação, melhor função luteínica e aumento do comprimento ou da expressão de mRNA dos genes relacionados ao interferon-tau em conceptos com 15 dias de desenvolvimento (SÁ FILHO et al., 2011; CIPRIANO et al., 2016; BRANDÃO et al., 2018; RODRIGUES et al., 2018).

Ao exibirem estro, fêmeas bovinas apresentaram maior taxa de prenhez à IATF. Este fato pode ser justificado pela sinalização endócrina resultante do aumento de estradiol sérico, que afeta a maturação e a competência do oócito bovino (POHLER et al., 2012), além de promover a diminuição do pH uterino (PERRY e PERRY, 2008), influenciando positivamente o transporte de espermatozoides (LARIMORE et al., 2015). Em receptoras de embriões, o efeito da expressão de estro também está associado com maiores taxas de prenhez e reduzidas perdas gestacionais na transferência de embrião em tempo fixo (BO e CEDENO, 2018).

A manifestação de cio e a taxa de gestação à IATF, apresentam influência direta no estabelecimento da gestação, através da maior expressão do interferon-tau (COOKE et al., 2019). Nos ruminantes, a fase de reconhecimento materno ocorre entre o 12º e o 26º dia, por ocasião da secreção do interferon-tau, com pico entre os dias 15º e 16º, inibindo a transcrição de receptores de estrógenos e ocitocina no endométrio e a luteólise. (ROBERTS, 1989; SPENCER e BAZER, 1996; CHEN et al., 2006).

Animais com baixa ou nenhuma expressão de cio, nos quais foram administrados GnRH, houve incremento de 7,67% na taxa de prenhez à IATF, corroborando com os resultados encontrados por Rodrigues et al. (2019). Em

experimento similar, Nogueira et al. (2019) demonstraram que a utilização de escore de estro no momento da IATF é uma estratégia simples mas bastante útil, e que a utilização de diferentes indutores de ovulação (benzoato de estradiol ou cipionato de estradiol) apresentam expressão de estro diferentes, mas com taxas de prenhez similares.

Em nulíparas e vacas não lactantes a utilização de GnRH não foi efetiva, demonstrando ser necessário mais estudos nestas categorias. Em novilhas, a utilização de estratégias nutricionais diferenciadas, programas de seleção genética e otimização de protocolos hormonais são ferramentas imprescindíveis para melhorar a eficiência dos sistemas produtivos, permitindo a adequação dos sistemas de produção e, conseqüentemente, garantir melhor retorno econômico ao setor (DAY e NOGUEIRA, 2013).

A interação do ECC com a eficiência reprodutiva pós-parto em vacas de corte é um fator indiscutível e bem relacionado à retomada da fertilidade, sendo necessário um equilíbrio entre nutrição, condição metabólica, produção (carne, leite) e reprodução (D'OCCHIO et., 2018). Fêmeas bovinas com ECC adequado ao parto, tendem a desmamar bezerros mais pesados e mais saudáveis, com implicações importantes nas primíparas, categoria esta que necessita de estratégias nutricionais especiais no terceiro trimestre de gestação, afim de garantir ECC entre 3,0 a 3,5 no parto, prevenindo um período prolongado de anestro pós-parto.

Os resultados obtidos neste experimento demostraram efeito positivo da expressão de cio sobre a taxa de prenhez pós IATF, de forma que animais com ECC <2,5 tiveram menores taxas de prenhez do que vacas com ECC $\geq$ 2,5 no início do protocolo de IATF. Corroborando com o que foi apresentado, a influência da condição corporal da vaca no início da sincronização sobre a expressão de cio (RICHARDSON et al., 2016; RODRIGUES et al., 2019) e a taxa de prenhez (BÓ et al., 2007; MENEGHETTI et al., 2009; SÁ FILHO et al., 2009) têm sido igualmente demonstrada. Assim sendo, abrandar perdas de peso no início da lactação e otimizar estratégias nutricionais durante os períodos pré e pós-parto devem ser metas prioritárias, com intuito de melhorar os índices reprodutivos nos programas de IATF.

Conclusão

A ocorrência de estro, independente da categoria, determina maior probabilidade das matrizes se tornarem gestantes quando submetidas à IATF. A utilização de análogos de GnRH é uma ferramenta efetiva para aumentar a taxa de prenhez em primíparas e pluríparas com baixa ou nenhuma expressão de estro. Demonstrando ser necessário mais pesquisas em nulíparas para evidenciar os resultados no emprego de análogos de GnRH.

Referências bibliográficas

- AYRES, H.; FERREIRA, R.M.; TORRES-JÚNIOR, J.R.S.; DEMÉTRIO, C.G.B.; DE-LIMA, C.G.; BARUSELLI, P.S. Validation of body condition score as a predictor of subcutaneous fat in Nelore (*Bos indicus*) cows. **Livestock Science**, v.123, p.175–9, 2009.
- BÓ, G. A.; CUTAIA, L.; PERES, L. C.; PINCINATO, D.; MARAÑA, D.; BARUSELLI, P. S. Technologies for fixed-time artificial insemination and their influence on reproductive performance of *Bos indicus* cattle. **Society of Reproduction Fertility Supplement**, v. 64, p. 223-236, 2007.
- BÓ, GA; CEDENO, A. Programs for fixed-time artificial insemination in South American beef cattle. **Animal Reproduction**, v. 15, n. 1, p.952-962, 2018.
- BRANDÃO, A.P.; COOKE, R.F.; SCHUBACH, K.M.; MARQUES, R.S.; BOHNERT, D.W.; CARVALHO, R.S.; DIAS, N.W.; TIMLIN, C.L.; CLARK-DEENER, S.; CURRIN, J.F.; JUMP, D.B.; POHLER, K.G.; CERRI, R.L.A.; MERCADANTE, V.R.G. Supplementing Ca salts of soybean oil after artificial insemination increases pregnancy success in *Bos taurus* beef cows. **Journal of Animal Science**, v. 96, p.2838–2850, 2018.
- CHEN, Y; GREEN, J.A.; ANTONIOU, E.; EALY, A.D.; MATHIALAGAN, N.; WAÇKER, A.M.; AVALIE, M.P.; ROSENFELD, C.S.; HEARNE, L.B.; ROBERTS, R.M. Effect of interferon-tau administration on endometrium of nonpregnant ewes: a comparison with pregnant ewes. **Endocrinology**, v.147, n.5, p.2127-2137, 2006.
- CIPRIANO, R.S.; COOKE, R.F.; RODRIGUES, A.D.; SILVA, L.G.T.; BOHNERT, D.W.; MARQUES, R.S.; VASCONCELOS, J.L.M.; PIRES, A.V.; CERRI, R.L.A. Post-artificial insemination supplementation with calcium salts of soybean oil influences pregnancy establishment factors in *Bos indicus* beef cows. **Journal of Animal Science**, v. 94, p. 4892–4902, 2016.
- COOKE, R. F; POHLER, K.G; VASCONCELOS, J.L.M; CERRI, R.L.A. Estrous expression during a fixed-time artificial insemination protocol enhances development and interferon-tau messenger RNA expression in conceptuses from *Bos indicus* beef cows. **Animal**, p.1-7, 2019.

- DAVOODI, S.; COOKE, R.F.; FERNANDES, A.C.C.; CAPPELLOZZA, B.I.; VASCONCELOS, J.L.M.; CERRI, T.L.A. Expression of estrus modifies the gene expression profile in reproductive tissues on day 19 of gestation in beef cows. **Theriogenology**, v. 85, p. 645–655, 2016.
- DAY, M.L.; NOGUEIRA, G.P. Management of age at puberty in beef heifers to optimize efficiency of beef production. *Animal Frontiers*, v.3, p.6-11, 2013.
- D'OCCHIO, M.J.; BARUSELLI, P.S.; CAMPANILE, G. Influence of nutrition, body Condition, and metabolic status on reproduction in female beef cattle: a review. **Theriogenology**, v.125, p.277–284, 2019.
- GOTTSCHALL, C. S. et al. Aspectos relacionados à sincronização do estro e ovulação em bovinos de corte. **A Hora Veterinária**, v.164, p.43-48, 2008.
- GRAY, C.A.; TAYLOR, K.M.; RAMSEY, W.S.; HILL, J.R.; BAZER, F.W.; BARTOL, F.F.; SPENCER, T.E. Endometrial glands are required for preimplantation conceptus elongation and survival. **Biology of Reproduction**, v. 64, p.1608–1613, 2001.
- LARIMORE, E.L.; AMUNDSON, O.L.; BIRD, S.L.; FUNNELL, B.J.; KRUSE, S.G.; BRIDGES, G.A.; PERRY, G.A. Influence of estrus at fixed-time artificial insemination on early 565 embryonic development in beef cattle. **Journal of Animal Science**, v.93, p. 2806–2812, 2015.
- MENEGHETTI, M.; SA FILHO, O.G.; PERES, R.F.; LAMB, G.C.; VASCONCELOS, J.L. Fixed time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows I: basis for development of protocols. **Theriogenology**, v.72, p.179–189, 2009.
- NOGUEIRA, E.; RODRIGUES, W.B.; SILVA, A.S.; BORGES, J.C.; SILVA, K.C.; ANACHE, N.A. et al. GnRH application in cows with low or no estrus expression evaluated with tail-chalk increases the pregnancy rate in beef cows submitted to TAI. **Anim. Reprod.**, v. 13, p.457, 2016.
- NOGUEIRA, E.; SILVA, M.R.; SILVA, J.C.B.; ABREU, U.P.G.; ANACHE, N.A.; SILVA, K.C.; CARDOSO, C.J.T.; SUTOVSKY, P.; RODRIGUES, W.B. Timed artificial insemination plus heat I: effect of estrus expression scores on pregnancy of cows subjected to progesterone– estradiol-based protocols. **Animal**, 2019. doi:10.1017/S1751731119000442
- PEREIRA, M.H.C.; WILTBANK, M.C.; VASCONCELOS, J.L.M. Expression of estrus improves fertility and decreases pregnancy losses in lactating dairy cows that receive artificial insemination or embryo transfer. **Journal Dairy Science**, v. 99, p. 2237–2247, 2016.
- PERRY, G.A. Factors affecting puberty in replacement beef heifers. **Theriogenology**, v. 86, n. 1, p.373-378, 2016.
- PERRY, G.A.; PERRY, B.L. Effect of preovulatory concentrations of estradiol and initiation of standing estrus on uterine pH in beef cows. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 34, p.333–338, 2008.

POHLER, K.G.; GEARY, T.W.; ATKINS, J.A.; PERRY, G.A.; JINKS, E.M.; SMITH, M.F. Follicular determinants of pregnancy establishment and maintenance. **Cell Tissue Research**, v. 349, p.649–664, 2012.

RICHARDSON, B.N.; HILL, S.L.; STEVENSON, J.S.; DJIRA, G.D.; PERRY, G.A. Expression of estrus before fixed-time AI affects conception rates and factors that impact expression of estrus and the repeatability of expression of estrus in sequential breeding seasons. **Animal Reproduction Science**, v.166, p.133–140, 2016.

ROBERTS, R.M.; IMAKAWA, K.; NIWANO, Y.; KAZEMI, M.; MALATHY, P.V.; HANSEN, T.R.; GLASS, A.A.; KRONENBERG, L.H. Interferon production by the pre implantation sheep embryo. **J Interferon Res**, v.9, n.2, p.175-187, 1989.

RODRIGUES, A.D.; COOKE, R.F.; CIPRIANO, R.S.; SILVA, L.G.; CERRI, R.L.; CRUPPE, L.H.; MENEGHETTI, M.; POHLER, K.G.; VASCONCELOS, J.L.M. Impacts of estrus expression and intensity during a timed-AI protocol on variables associated with fertility and pregnancy success in Bos indicus-influenced beef cows. **Journal of Animal Science**, v. 96, p.236–249, 2018.

RODRIGUES, W. B; SILVA, A.S.; SILVA, J.C.B.; ANACHE, N.A.; SILVA, K.C.; CARDOSO, C.J.T.; GARCIA, W.R.; SUTOVSKY, P.; NOGUEIRA, E. Timed artificial insemination plus heat II: gonadorelin injection in cows with low estrus expression scores increased pregnancy in progesterone/estradiol-based protocol. **Animal**, p.1-6, 2019.

SÁ FILHO, M. F.; SANTOS, J. E. P.; FERREIRA, R. M.; SALES, J, N. S.; BARUSELLI, P.S. Importance of estrus on pregnancy submitted to estradiol/progesterone- based timed insemination protocols. **Theriogenology**, v. 76, p.455-463, 2011.

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

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

SALES, J.N.; CARVALHO, J.B.; CREPALDI, G.A.; CIPRIANO, R.S.; JACOMINI, J.O.; MAIO, J.R.; SOUZA, J.C.; NOGUEIRA, G.P.; BARUSELLI, P.S. Effects of two estradiol esters (benzoate and cypionate) on the induction of synchronized ovulations in Bos indicus cows submitted to a timed artificial insemination protocol. **Theriogenology**, v. 78, p.510–516, 2012.

SAS/STAT. **User's guide**. Version 9.1. Cary: SAS Institute, 2002.

SPENCER, T.E.; BAZER, F.W. Ovine interferon tau suppresses transcription of the estrogen receptor and oxytocin receptor genes in the ovine endometrium. **Endocrinology**, v.137, n.3, p.1144- 1147, 1996.

SPENCER, T.E.; BAZER, F.W. Temporal and spatial alterations in uterine estrogen receptor and progesterone receptor gene expression during the estrous cycle and early pregnancy in the ewe. **Biol Reprod**, v.53, p.1527–43, 1996.