UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

DESEMPENHO REPRODUTIVO DE NOVILHAS, VACAS DESMAMADAS E VACAS AMAMENTANDO SUBMETIDAS AO PROTOCOLO DE INSEMINAÇÃO COM DETECÇÃO DE ESTRO E EM TEMPO FIXO (IAETF), SEGUIDO DE RESSINCRONIZAÇÃO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

JESSÉ TURCHIELO GRUNDEMANN

Uruguaiana (RS)

2016

JESSÉ TURCHIELO GRUNDEMANN

DESEMPENHO REPRODUTIVO DE NOVILHAS, VACAS DESMAMADAS E VACAS AMAMENTANDO SUBMETIDAS AO PROTOCOLO DE INSEMINAÇÃO COM DETECÇÃO DE ESTRO E EM TEMPO FIXO (IAETF), SEGUIDO DE RESSINCRONIZAÇÃO

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação Stricto sensu em Ciência Animal da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Guilherme de Medeiros Bastos

Uruguaiana

2016

JESSÉ TURCHIELO GRUNDEMANN

DESEMPENHO REPRODUTIVO DE NOVILHAS, VACAS DESMAMADAS E VACAS AMAMENTANDO SUBMETIDAS AO PROTOCOLO DE INSEMINAÇÃO COM DETECÇÃO DE ESTRO E EM TEMPO FIXO (IAETF), SEGUIDO DE RESSINCRONIZAÇÃO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação Stricto Sensu em Ciência Animal da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciência Animal.

Área de concentração: Reprodução Animal

Dissertação defendida e aprovada em 18 de Agosto de 2016.

Banca examinadora:

_____

Prof. Dr. Fernando Silveira Mesquisa (UNIPAMPA)

_____

Prof. Dr. Ricardo Pedroso Oaigen (UNIPAMPA)

_____

Prof. Dr. Mateus José Sudano (UNIPAMPA)

_____

Prof. Dr. João Batista S. Borges (UFRGS)

_____

Prof. Dr. Guilherme de Medeiros Bastos - Orientador (UNIPAMPA)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a meus pais, Airton e Fatima, por tudo o que fizeram por mim, por me proporcionarem a oportunidade da conclusão do mestrado e sempre incentivar a busca por conhecimento, sei que vocês fizeram o máximo para eu estar aqui. Vocês são meus exemplos de vida.

Agradeço ao meu irmão Wagner e todos os familiares por me incentivarem nas minhas escolhas e por me darem forças por seguir em frente em períodos difíceis.

Agradeço aos amigos, praticamente irmãos, pelo apoio, pela amizade, e por o que fizeram por mim durante o período da graduação, não vou citar nomes mas todos sabem o quanto foram e são importantes pra mim.

Ao meu orientador professor Guilherme de Medeiros Bastos, por todos os ensinamentos e amizade durante o período do mestrado e durante minha formação acadêmica.

A toda a equipe da Estância Principio, em especial ao Dr. Roberto Fernandes e ao Zootecnista Marcio Borin, por conceder a oportunidade de realizar o experimento.

A UNIPAMPA, em especial aos professores do curso do PPGCA, por me proporcionarem o ensino de qualidade e por compartilharem experiências profissionais e pessoais que jamais esquecerei.

RESUMO

Dissertação de Mestrado

Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal

Universidade Federal do Pampa

DESEMPENHO REPRODUTIVO DE NOVILHAS, VACAS DESMAMADAS E VACAS AMAMENTANDO SUBMETIDAS AO PROTOCOLO DE INSEMINAÇÃO COM DETECÇÃO DE ESTRO E EM TEMPO FIXO (IAETF), SEGUIDO DE RESSINCRONIZAÇÃO

AUTOR: JESSÉ TURCHIELO GRUNDEMANN

ORIENTADOR: GUILHERME DE MEDEIROS BASTOS

Data e Local da Defesa: Uruguaiana (RS), 18 de agosto de 2016.

Objetivou-se comparar o desempenho reprodutivo de novilhas, vacas solteiras e vacas com cria ao pé submetidas à ressincronização utilizando o protocolo hormonal de inseminação artificial com detecção de estro e em tempo fixo (IAETF). Foram utilizadas 382 fêmeas bovinas das raças Angus e Brangus, sendo 136 novilhas, 103 vacas solteiras e 143 vacas amamentando (entre 40 e 70 dias pós-parto). No dia 0, todos os animais receberam um dispositivo intravaginal contendo 1,2 g de progesterona (para sincronização de vacas adultas) ou reutilizado (para sincronização de novilhas e na ressincronização de novilhas e vacas adultas) e uma injeção intramuscular (IM) contendo 2 mg de benzoato de estradiol (BE). Na tarde do dia 6, os animais receberam injeção contendo (IM) 300 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG) e 0,15 mg de D-cloprostenol e os bezerros tabuleta nasal por 4 dias (até o dia 10). Na tarde do dia 7, os dispositivos vaginais foram removidos e o estro foi monitorado às 24 e 36 horas após a retirada dos dispositivos. Os animais em estro foram inseminados 12 horas mais tarde e o restante recebeu uma injeção (IM) contendo 0,01 mg de Acetato de Buserelina às 48 horas após a retirada dos dispositivos e foram inseminados em tempo fixo (IATF) 12 a 16 horas após a injeção (dia 10). Na sincronização, o percentual de estro diferiu ($P < 0,05$) entre as três categorias (63,1%, 52.9% e 24,4% para vacas solteiras, novilhas e vacas amamentando, respectivamente). Já na ressincronização, apenas as vacas amamentando demonstraram menor ($P < 0,05$) percentual de cio (25,0%) quando comparadas às novilhas (82,0%) e vacas solteiras (72,7%). Na primeira IA, as novilhas apresentaram maior ($P < 0,05$) percentual de prenhez (71,3%) que as vacas amamentando (58,0%), mas

ambas as categorias não diferiram (P > 0,05) em relação às vacas solteiras (67,9%). Já na ressincronização, o percentual de prenhez das três categorias não diferiu (P > 0,05) entre si (51,2%; 51,5% e 60,0% para novilhas, vacas solteiras e vacas amamentando, respectivamente). Os percentuais de prenhez cumulativos das duas IAETFs (86,0%; 84,4% e 83,2% para novilhas, vacas solteiras e amamentando, respectivamente) e do final da estação reprodutiva após repasse com touros (94,1%; 91,2% e 87,4% para novilhas, vacas solteiras e amamentando, respectivamente) não diferiram (P > 0,05) entre as três categorias. Conclui-se que novilhas, vacas solteiras e vacas amamentando apresentam desempenho reprodutivo semelhante quando submetidas à ressincronização com IAETF, bem como após o repasse com touros.

Palavras-chave: Bovinos de corte, IATF, sincronização de estro, reprodução animal.

ABSTRACT

Dissertation of Master's Degree

Graduate Program in Animal Science

Federal University of Pampa

REPRODUCTIVE PERFORMANCE OF HEIFERS, NONLACTATING AND LACTATING BEEF COWS SUBMITTED TO FIXED TIME AND ESTRUS DETECTION INSEMINATION HORMONAL PROTOCOL, FOLLOWED BY RESYNCHRONIZATION

AUTHOR: JESSÉ TURCHIELO GRUNDEMANN

ADVISOR: GUILHERME DE MEDEIROS BASTOS

Date and Place of Defense: Uruguaiana (RS), august, 18 th, 2016.

The aim of this study was to compare the reproductive performance of heifers, nonlactating and lactating beef cows submitted to fixed time and estrus detection artificial insemination hormonal protocol (FTEAI). A total of 382 bovine females divided in 136 heifers, 103 nonlactating and 143 lactating cows (between 40 and 70 days postpartum) were used. On day 0 all animals received an intravaginal device containing 1.2g of progesterone (used on adult cows) or reutilized (used on heifers synchronization and on heifers and adult cows resynchronization) and an injection (IM) containing 2 mg of estradiol benzoate (EB). In the afternoon of day 6, animals received an injection (IM) containing 300 IU of equine chorionic gonadotropin (eCG) and 0.15 mg of D-cloprostenol and calves a no se tablet for 4 days (until day 10). In the afternoon of day 7, intravaginal devices were removed and estrus was monitored at 24 and 36 h after device removal. Animals detected in estrus were artidicial insemination (AI) 12 h later and the remaining received an injection (IM) containing 0.01mg of Busereline Acetate at 48 h after device removal and were submitted to timed artificial insemination (TAI) 12 to 16 h after the injection (Day 10). In the synchronization, estrus rate differ ($P < 0.05$) among the three categories (63.1%, 52.9% and 24.4% to nonlactating cows, heifers, and lactating cows, respectively). Where as in resynchronization, only lactating cows showed lower ($P < 0.05$) estrus rate (25.0%) when compared for heifers (82.0%) and nonlactating cows (72.7%). In the synchronization heifers showed higher ($P < 0.05$) pregnancy rate (71.3%) than lactating cows (58.0%), but both categories did not differ ($P > 0.05$) in relation to nonlactating cows (67.9%). In resynchronization, pregnancy rate of three

categories did not differ betwem (P > 0.05) each other (51.2%, 51.5% and 60.0% for heifers, nonlactating cows and lactating cows, respectively). The cumulative pregnancy rates from two FTEAI (86.0%, 84.4% and 83.2% for heifers, nonlactating and lactating cows, respectively) and from final reproductive season after breeding with bulls (94.1%, 91.2% and 87.4% to heifers, nonlactating and lactating cows, respectively) did not differ (P > 0.05) among the categories. In conclusion, heifers, nonlactating and lactating cows show similar reproductive performance at the end of breeding season when submitted to resynchronization using FTEAI, as well as after a short-term breeding with bulls.

Key-words: Beef cattle, FTAI, estrus synchronization, animal reproduction.

LISTA DE FIGURAS

Artigo

Figure 1. Schematic representation of the fixed timed and estrus detection artificial insemination (FTEAI) hormonal protocol used for the synchronization and resynchronization of ovulation in heifers, nonlactating and lactating Angus and Brangus cows. D, day; EB, estradiol benzoate; eCG, equine chorionic gonadotropin; IU, international units; P4, progesterone; AI, artificial insemination; FTAI, fixed timed artificial insemination……46

Figure 2. Experimental design used for synchronization and resynchronization (not pregnant at first synchronization) of ovulation to fixed timed and estrus detected artificial insemination (FTEAI) of heifers, nonlactating and lactating Angus and Brangus cows, followed by a short breeding season with bulls. US, transrectal ultrasonography; D, day; NC, nonlactating cows; LC, lactating cows; HE, heifers……47

LISTA DE TABELAS

Artigo

Table 1- Rate of estrus in heifers, nonlactating and lactating beef cattle submitted to first (synchronization) and second (resynchronization) fixed time and estrus detection artificial insemination (FTEAI) hormonal protocol…….....48

Table 2- Rate of conception at the first (synchronization) and second (resynchronization) chance of heifers, nonlactating and lactating beef cattle submitted to the fixed time and estrus detection artificial insemination (FTEAI) hormonal protocol and cumulative final pregnancy rate of the breeding season after breeding with bulls……....49

Table 3- Rates of estrus and conception in heifers, nonlactating and lactating cows submitted to fixed time and estrus detection artificial insemination (FTEAI) hormonal protocol according to their body condition score (BCS) on Day 0…….……50

Table 4- Effect of weight (Day 0; synchronization to first AI only) on estrus and conception rates of heifers submitted to fixed time and estrus detection artificial insemination (FTEAI) hormonal protocol. ……...……51

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO 12

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 15

2.1 Breve históricos e limitações da inseminação artificial convencional em bovinos de corte 15

2.2 Protocolos hormonais para sincronização do estro e ovulação em bovinos de corte 17

2.2.1 Inseminação artificial em tempo fixo (IATF) 17

2.2.2 Protocolo hormonal de inseminação artificial com detecção de estro e em tempo fixo (IAETF)... 20

2.3 Desempenho reprodutivo de diferentes categorias do rebanho de cria quando submetidas a protocolos hormonais visando à inseminação artificial 23

2.4 Ressincronização de estro e da ovulação em bovinos de corte 25

3- OBJETIVOS 28

3.1 Objetivo geral 28

3.2 Objetivos específicos 28

4-ARTIGO CIENTÍFICO 29

Abstract 31

1. Introduction 32

2. Materials and methods 33

3. Results 35

4. Discussion 37

5. Conclusion 41

References 42

5- CONCLUSÕES 52

6- PERSPECTIVAS 53

7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS 54

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é referência mundial na produção agropecuária sendo o segundo maior produtor mundial de alimentos e produtos agrícolas, com projeções de ocupar a primeira posição nos próximos anos (OECD, 2015). O aumento da produtividade e potencial de produção sustentável são os grandes responsáveis pelo país se encontrar neste elevado patamar no cenário mundial (OECD, 2015). Além da grande produção de grãos, o país tem o maior rebanho bovino comercial do mundo com mais de 212 milhões de cabeças (IBGE, 2014). A bovinocultura de corte se destaca nesse cenário, pois em 2015 o país produziu 9,2 milhões de toneladas de carne e, segundo as projeções futuras do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), o crescimento projetado é de 2,1% ao ano, sendo considerado elevado, pois com esse crescimento é possível atender as demandas internas e externas (MAPA, 2015).

O brasileiro consome, em média, 37,4 kg de carne bovina por ano (MAPA, 2015), sendo que grande parte da produção é destinada ao consumo interno e apenas 24% é destinada a exportação (ABIEC, 2015). Mesmo assim, o Brasil se consolidou como o maior exportador de carne bovina do mundo e as exportações brasileiras têm crescido anualmente devido a abertura de novos mercados. No ano de 2015, o país exportou cerca de 1,39 milhões de toneladas de carne bovina e tem previsão para exportar 1,76 milhões de toneladas em 2016, com um faturamento em torno de 7,5 bilhões de dólares (ABIEC, 2015).

Frente ao mercado da carne bovina em franca expansão, faz-se necessário aumentar a produtividade e a qualidade genética dos rebanhos a fim de atender, em quantidade e qualidade, os mercados consumidores mais exigentes. Da mesma forma, se faz necessário ter um maior controle reprodutivo, aliado a redução de custos na produção de terneiros. Nessse contexto uma ferramenta fundamental neste processo é a inseminação artificial (IA).

A IA em gado de corte cresceu 59% no período de 2009 a 2014, enquanto em bovinos leiteiros cresceu 34% no mesmo período (ASBIA, 2014). Em 2014, 11,9% das fêmeas em reprodução no Brasil foram inseminadas (ASBIA, 2014). Apesar de ainda ser pouco utilizada, a IA esta em constante crescimento impulsionada, principalmente, pela inseminação artificial em tempo fixo (IATF). A técnica de IATF dispensa a detecção de estro, que é um dos grandes entraves da IA tradicional (Baruselli *et al.*, 2012; Sá Filho *et al.*, 2012; Patterson *et al.*, 2013), otimizando a mão de obra (Colazo e Mapletoft, 2014). Estudos demonstraram que o

resultado médio de prenhez da IATF em novilhas, vacas desmamadas e vacas amamentando é de 39,6%, 46,1% e 48,5% (Sá Filho *et al*., 2009) respectivamente, variando entre 15% e 65% (Bó *et al*., 2003; Giraldo, 2008; Meneghetti *et al*., 2009; Baruselli *et al*., 2012).

Acredita-se que mesmo com a correta aplicação do protocolo hormonal de IATF, ocorre uma dispersão na sincronização da onda de crescimento folicular. O tempo médio da ovulação é em torno de 73 horas após a retirada dos dispositivos de progesterona, porém em uma parcela dos animais a ovulação ocorre antes das 64 horas e, em outra parcela, após as 80 horas dentro de um mesmo lote (Andrade *et al*., 2012), sendo este intervalo de tempo capaz de justificar, em parte, a variabilidade nos resultados de prenhez (Torres *et al*., 2014).

Visando minimizar esta dispersão nas ovulações, foi desenvolvido o protocolo hormonal de inseminação artificial com detecção de estro e em tempo fixo - IAETF (Bastos *et al.*, 2004) que, atualmente, envolve dois turnos de detecção de estros (24 e 36hs após a remoção dos dispositivos vaginais e concilia IA 12hs após o estro detectado ou IATF (naquelas fêmeas que não manifestaram estro até 48hs após a remoção dos implantes vaginais, momento em que recebem injeção de GnRH) às 60hs após a remoção dos implantes vaginais. O resultado médio de prenhez da IAETF em novilhas (60,1%) e vacas amamentando (63,3%) tem-se mantido, na maioria das vezes, acima de 60% (Souza *et al.*, 2011; Grundemann *et al.*, 2015). Siqueira *et al*. (2008) compararam os percentuais de prenhez em vacas amamentando submetidas à IATF (33,3%) versus IAETF (54,7%), tendo encontrado um acréscimo de 21,4% em prol da IAETF.

Mais recentemente, estudos tem investigado o potencial da ressincronização das fêmeas bovinas que resultam não prenhes na primeira IATF, a fim de aumentar o número de fêmeas prenhes de IA (Baruselli, *et al.*, 2014; Crepaldi *et al*., 2014; Bó *et al*., 2016) incrementando, assim, o melhoramento genético dos rebanhos e reduzindo os custos com touros. Fêmeas *Bos taurus* (68,2%) e *Bos indicus* (74,4%) tem apresentado resultados cumulativos satisfatórios de prenhez com a ressincronização (Marques *et al.*, 2012; Campos *et al*., 2013; Bó *et al.*, 2016). Por outro lado, nenhum estudo investigou, até o momento, o potencial da IAETF seguida de ressincronização das não prenhes sobre o percentual de prenhez cumulativo. Considerando-se que a IAETF geralmente resulta em percentual de prenhez acima de 60%, é razoável pensar que a ressincronização seguida de nova IAETF nas fêmeas não prenhes resulte em prenhez cumulativa acima de 80%. No entanto, esta hipótese deve ser testada nas diferentes categorias que compõe o rebanho de cria (novilhas, vacas

desmamadas e vacas amamentando primíparas e multíparas), assim como nas diferentes raças e sistemas de criação, a fim de se avaliar o real potencial desta metodologia (ressincronização seguida de IAETF) em diferentes sistemas de manejo.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Breve históricos e limitações da inseminação artificial convencional em bovinos de corte

As atividades relacionadas a IA no Brasil iniciaram a partir de 1938 no estado de São Paulo (Severo, 2015). O primeiro curso de IA para médicos veterinários foi realizado em 1943, sendo que um ano mais tarde ocorreu um treinamento para auxiliares na cidade de Bagé no Rio Grande Sul, onde atualmente é a Embrapa Pecuária Sul (Severo, 2015). No ano de 1947 foi criado o Serviço de Fisiopatologia da Reprodução e Inseminação Artificial (SFRIA).

A inseminação artificial com sêmen congelado no Brasil teve seus primeiros produtos nascidos no ano de 1954 (Severo, 2015). A partir deste momento a IA teve uma grande expansão devido a programas governamentais, cooperativas e indústrias voltadas ao setor. Em 1974, o país produziu cerca de um milhão de doses de sêmen e também nesse ano ocorreu à fundação do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA) e a criação da Associação Brasileira de Inseminação Artificial (ASBIA). Após esse período a IA no Brasil evoluiu de forma um pouco mais lenta. Até meados do ano 2.000 a IA era utilizada em menos de 10% das fêmeas bovinas de corte em idade reprodutiva (Severo, 2015).

Atualmente, o uso da IA retomou o padrão de crescimento, onde se estima que em torno de 12% das fêmeas em reprodução no Brasil são inseminadas (ASBIA, 2014). Nas regiões do país onde predominam vacas *Bos indicus* tem se utilizado em larga escala sêmen de touros de raças europeias, normalmente criados na região sul do país, com o objetivo de realizar cruzamento industrial. Um exemplo disto é a raça Angus, que comercializou 1,45 milhões de doses de sêmen no Brasil em 2015, liderando o ranking de venda de sêmen dentre as raças taurinas (ASBIA, 2014). Nos últimos anos tem aumentado à criação de animais de raças sintéticas derivadas do cruzamento de animais *Bos taurus* e *Bos indicus*, como por exemplo, as raças Brangus e Braford. Segundo dados da ASBIA (2014), a comercialização de sêmen da raça Brangus teve um crescimento de 102% no período de 2010 a 2012.

A IA convencional depende da detecção do estro, e este fator é o maior entrave para a implantação desta técnica nas fazendas, devido às falhas na sua detecção (Bó *et al.*, 2007;

Baruselli *et al.*, 2012). Na maioria das propriedades rurais, apenas a categoria de novilhas e vacas desmamadas (solteiras) é que eram submetidas a IA, a qual era realizada envolvendo dois turnos de identificação de estros ao dia, durante 45 dias ininterruptos. A categoria de vacas amamentando (com cria ao pé), em grande parte apresentam anestro pós-parto prolongado devido à subnutrição nas condições extensivas de criação, eram apenas entouradas. Considerando-se que as vacas amamentando representam (ou deveriam representar), em média, 80% do rebanho de cria, a IA ficava limitada a uma pequena parcela do rebanho total de fêmeas. Aliado a isso, o rebanho nacional é composto, em sua maioria, por raças de origem *Bos indicus* (predominantemente da raça Nelore), criadas principalmente nas regiões tropicas que são predominantes no país, pela adaptação ao calor e a umidade (Baruselli *et al.*, 2004; Vasconcelos *et al.*, 2014). Animais da raça Nelore comprovadamente apresentam menor tempo de manifestação estral, estro noturno (cerca de 30%) e maiores dificuldades de manejo para detecção e aparte das fêmeas em estro (Baruselli *et al.*, 2004; Vasconcelos *et al.*, 2014). Sendo assim, houve a necessidade de se investigar alternativas que fossem capazes de reduzir e até eliminar o fator limitante da detecção de estro, visando a disseminação da IA.

O uso da técnica de sincronização de estros utilizando prostaglandina (PGF2α) possibilita a otimização da mão de obra e o encurtamento do período de detecção de estro (Vasconcelos *et al.*, 2009; Patterson *et al.*, 2013; Dill *et al.*, 2015). A aplicação da PGF2α em fêmeas bovinas com a presença de corpo lúteo possibilita que os animais manifestem estro até seis dias após a sua aplicação, com um pico de 48 a 72 horas, facilitando assim a sua detecção (Lamb *et al.*, 2010). O uso da PGF2α foi um dos fatores que impulsionou a IA, pois possibilitou a redução do período de detecção de estro, que normalmente era de 45 dias, para um período de até 5 dias. A PGF2α tem um custo relativamente baixo e possibilita reduzir custos com mão de obra, porém não permite inseminar todos os animais em um mesmo turno, ou seja, em tempo fixo, sendo indispensável a detecção do estro para realizar a IA (Bo *et al.*, 2003).

2.2 Protocolos hormonais para sincronização do estro e ovulação em bovinos de corte

2.2.1 Inseminação artificial em tempo fixo (IATF)

Com o surgimento de novos conhecimentos a respeito da fisiologia do ciclo estral e dos hormônios envolvidos, foi possível desenvolver protocolos hormonais que possibilitam que as fêmeas iniciem uma nova onda folicular de forma relativamente sincronizada, independente da fase do ciclo em que elas se encontram, possibilitando, assim, a sincronização do estro e da ovulação, fazendo com que a maioria dos animais ovulem em um intervalo de tempo relativamente curto (Bo *et al.*, 2003; Lamb *et al.*, 2010; Baruselli *et al.*, 2012).

A partir desses conhecimentos surgiu a inseminação artificial em tempo fixo (IATF), onde 100% dos animais são inseminados em um mesmo turno sem a necessidade de detecção do estro. Isso foi muito importante, principalmente em fêmeas que se encontravam em anestro pós-parto, que por não serem detectadas em estro, não seriam inseminadas no sistema tradicional de IA e também não seriam cobertas por touros, o que diminui significativamente a taxa de serviço do rebanho (Meneghetti *et al.*, 2009). Pursley (1995) desenvolveu o protocolo Ovsynch em vacas leiteiras, que utiliza apenas PGF2α e GnRH. Este foi o primeiro protocolo hormonal que possibilitou que a inseminação artificial fosse realizada em um momento pré-determinado, resultando em taxas aceitáveis de prenhez (55% e 46%).

A primeira injeção de um análogo do GnRH tem a função de induzir a ovulação do folículo dominante e iniciar uma nova onde folicular, 7 dias após é feita a injeção de PGF2α para a lise do corpo lúteo (CL) e 48 horas após a PGF2α é feita uma nova injeção de GnRH para induzir a ovulação. A IA deve ser realizada 12 a 16 horas após a aplicação do ultimo GnRH.

Os resultados do protocolo Ovsynch em gado de corte são muito variáveis e muitas vezes abaixo do esperado (Fernandes *et al.*, 2001; Bó *et al.*, 2003). Após o Ovsynch surgiram outros protocolos hormonais que utilizaram hormônios como a progesterona, os ésteres de estradiol, a prostaglandina F2alfa e a gonadotrofina coriônica equina (eCG) (Baruselli *et al.*, 2004). Desta forma, os protocolos para IATF comumente empregados em gado de corte utilizam progestágenos, estradiol PGF, eCG e GnRH (Menchaca *et al.*, 2013; Colazo e Mapletoft, 2014; Vasconcelos *et al.*, 2014). A progesterona é utilizada principalmente na

forma de dispositivos vaginais de liberação lenta. Podem ser também utilizado implantes auriculares com a mesma finalidade (Belloso *et al.*, 2002; Sá Filho *et al.*, 2010). Juntamente com os dispositivos vaginais (que comumente permanecem por 7 a 9 dias) é feita uma injeção (IM) de benzoato de estradiol (BE) no dia 0 do protocolo hormonal, o que determina a sincronização de uma nova onda folicular. (Baruselli *et al.*, 2004). Os protocolos de IATF com esses hormônios trouxeram muitas vantagens aos rebanhos de corte. Um estudo Edwards *et al.*, (2015) em novilhas comparou a IATF com a IA mediante detecção de estros usando prostaglandina e obtiveram aumento no número de animais prenhes e menor custo por terneiro nascido nas novilhas que foram submetidas à IATF.

Na retirada do dispositivo de progesterona é realizada a aplicação de prostaglandina, o que assegura a lise de um possível corpo lúteo. No protocolo tradicional de IATF com quatro manejos, passadas 24 horas da retirada do dispositivo vaginal é aplicado 1 mg de BE como indutor da ovulação e a IATF é realizada 24 a 32 horas mais tarde (Martínez *et al.*, 2005). Quando se utiliza o cipionato de estradiol (CE) como indutor da ovulação (protocolo hormonal mais recente de três manejos) este é aplicado no momento da retirada do dispositivo e a IATF deve ser realizada 48 a 56 horas mais tarde (Colazo *et al.*, 2003; Meneghetti *et al.*, 2009). O protocolo que utiliza CE como indutor da ovulação tem sido bastante utilizado, principalmente por necessitar de apenas três manejos com os animais (Colazo e Mapletoft, 2014). A maioria dos animais ovula em torno de 73 horas após a retirada dos dispositivos vaginais, porém pode haver uma variação no momento da ovulação, podendo esta ocorrer antes de completar 64 horas em uma parcela dos animais e outra parcela após 80 horas da retirada dos dispositivos (Andrade *et al.*, 2012; Torres *et al.*, 2014).

A aplicação da gonadotropina coriônica equina (eCG) no momento da retirada dos dispositivos de progesterona proporciona um incremento na taxa de prenhez em protocolos de IATF e, ultimamente, é utilizado com sucesso na maioria dos protocolos (Macmillan e Burke, 1996; Bó *et al.*, 2003; Sá Filho *et al.*, 2010; Sales *et al.*, 2011; Costa E Silva Filho *et al.*, 2013). Em vacas com cria ao pé, ou seja, amamentando, a fertilidade em programas de IATF pode ser prejudicada pelo efeito da mamada, o que bloqueia parcialmente a liberação do hormônio liberador de gonadotropinas (GnRH) endógeno (Abeygunawardena e Dematawewa, 2004) e, consequentemente, do hormônio luteinizante (LH) hipofisário. O impacto negativo da mamada sobre os resultados de prenhez de vacas com cria ao pé submetidas à IATF esta diretamente relacionado ao escore condição corporal dos animais (Baruselli *et al.*, 2004). A remoção temporária dos bezerros no período entre a retirada dos dispositivos de progesterona

e a IA possibilita maior liberação de GnRH endógeno, proporcionando um pico pré-ovulatório de LH, melhorando os índices de prenhez (Moraes *et al.*, 2007; Vasconcelos *et al.*, 2014).

Por outro lado, trabalhos recentes tem demonstrado que com a utilização do eCG não é necessário realizar o desmame (Sá Filho *et al.*, 2009; Campos *et al.*, 2013). As taxas de prenhez quando é aplicado o eCG ou realizado o desmame são semelhantes (Bó *et al.*, 2003; Sá Filho *et al.*, 2009). Sendo assim, o eCG pode ser utilizado para aumentar as taxas de prenhez, diminuindo o manejo com os terneiros em um programa de IATF (Bó *et al.*, 2003; Sá Filho *et al.*, 2009; Menchaca *et al.*, 2013). A dose de eCG a ser aplicada no protocolo hormonal também foi alvo de vários estudos (Campos *et al.*, 2013; Menchaca *et al.*, 2013;Mello *et al.*, 2014; Pessoa *et al.*, 2016). Foi demonstrado que a aplicação de 300, 400, ou 500 UI proporcionam diferenças significativas nas taxas de prenhez (Mello *et al.*, 2014; Pessoa *et al.*, 2016). Desta forma, a aplicação de 300 UI ficou relativamente padronizada como dose padrão de eCG nos protocolos de IATF para vacas com cria ao pé. O eCG é um dos hormônios mais caros do protocolo, portanto a redução de 500 para 300 UI de eCG trouxe um uma significativa redução nos custos.

Atualmente, é consenso entre os pesquisadores da área que o resultado médio da IATF é de 50 %, porem há uma grande variação nos resultados dos trabalhos publicados que vão desde 15% a 65% em gado de corte (Bo *et al.*, 2003; Giraldo, 2008; Meneghetti *et al.*, 2009; Baruselli *et al.*, 2012). Apesar dos grandes avanços que ocorreram nos protocolos de sincronização da ovulação nos últimos anos, ainda existe uma variação no momento do estro e, consequentemente, da ovulação dos animais sincronizados (Andrade *et al.*, 2012;;Mello *et al.*, 2014;Torres et al., 2014). A dispersão no momento da ovulação parece ser um dos principais fatores responsáveis pelos índices da IATF ficar em torno de 50% (Menchaca *et al.*, 2013; Vasconcelos *et al.*, 2014). Por esse motivo, foram desenvolvidas técnicas que visam melhorar as taxas de prenhez a partir de sistemas que buscam realizar a IA de cada animal no momento mais apropriado, como é o caso da IAETF (Bastos *et al.*, 2004) e da IATF em blocos (Pfeifer *et al.*, 2015).

2.2.2 Protocolo hormonal de inseminação artificial com detecção de estro e em tempo fixo (IAETF)

A IAETF foi desenvolvida na tentativa de incrementar os resultados médios de prenhez após um programa de IA em vacas amamentando e com baixo escore de condição corporal (ECC) (Bastos *et al.,* 2004). Neste estudo os autores compararam um grupo submetido ao desmame temporário (4 dias) e indução hormonal com o protocolo de IAETF versus um grupo controle apenas submetido ao desmame temporário. O grupo submetido ao protocolo de IAETF apresentou, em média, 47,5% de prenhez enquanto o grupo controle resultou em nenhuma vaca prenhe.

O uso desta técnica foi capaz de melhorar significativamente o desempenho reprodutivo destes animais, o que fez a IAETF se tornar uma importante alternativa para incrementar as taxas de prenhez. O protocolo consiste na inserção de um dispositivo intravaginal de progesterona e uma injeção de 2 mg de BE no dia 0, visando o inicio de uma nova onda de crescimento folicular. Seis dias após é feita a aplicação da eCG e da PGF2α. Quando o protocolo é utilizado em animais amamentando, normalmente os bezerros recebem tabuleta nasal que permanece até o ultimo dia de IA (dia 10). No dia 7 do protocolo, os dispositivos de progesterona são retirados e a base da cauda das fêmeas é pintada para auxiliar na detecção do estro. O estro é observado nas 24 e 36 horas após a retirada dos dispositivos esses animais são inseminados 12 horas mais tarde. Os animais que não demonstraram estro até 36 horas após a remoção dos dispositivos vaginais recebem uma injeção de GnRH 48 horas após a retirada dos dispositivo e são submetidos a IATF 12 a 16 horas mais tarde, ou seja, 60 a 64 horas após a retirada dos dispositivos vaginais. Portanto, com este sistema, cada animal é inseminado apenas uma vez, mas o manejo de inseminação tem duração de 1,5 dias.

Assim como na IATF, igualmente foi pesquisado na IAETF a eficácia da necessidade ou não na aplicação de eCG, assim como a avaliação de diferentes doses deste hormônio em relação aos percentuais de cio e prenhez. Em um estudo recente Bragança *et al.,* (2013) compararam a utilização do protocolo de IAETF com ou sem a utilização do eCG em novilhas entre 12 e 14 meses de idade, em que o grupo eCG apresentou maior taxa de prenhez (45,9%) em relação ao grupo controle (25,0%). Também foi comparada a utilização ou não de eCG no protocolo de IAETF em vacas com cria ao pé, em que as vacas que receberam eCG tiveram maior prenhez (65,2%) do que aquelas que não receberam o eCG (44,7%) (Martins *et al.,*

2011). A dosagem de eCG, (300, 400, ou 500 UI) também foi testada na IAETF e não influenciou na taxa de prenhez (Loguercio, 2005). Sendo assim, convencionou-se que a dose de 300 UI pode ser usada sem comprometer o resultado de prenhez.

Normalmente, 40 a 50% dos animais submetidos à IAEFT apresentam estro e são inseminados 12 horas mais tarde (Loguercio, 2005; Siqueira *et al.*, 2008; Borges *et al.*, 2009). Fêmeas que demonstram estro apresentam maiores taxas de concepção (Pitaluga *et al.*, 2013; Richardson *et al.*, 2016; Loguercio, 2005; Siqueira et al., 2008; Borges et al., 2009; Martins et al., 2011; Souza et al., 2011; Bragança et al., 2013). O sistema de IAETF requer maior número de manejos com os animais (seis manejos), quando comparado aos protocolos de IATF mais usuais que necessitam de três ou quatro manejos. O único estudo que comparou diretamente a IAETF com um protocolo tradicional de IATF de quatro manejos (Siqueira *et al.*, 2008) apontou um acréscimo de 21,4% de prenhez em prol da IAETF. Na sequência, outro estudo (Borges *et al.*, 2009) comparou a IAETF tradicional (dispositivo vaginal por 7 dias) com outro grupo onde a permanência dos dispositivos vaginais foi prorrogada por mais 24hs (dia 8), seguido de IATF na manhã do dia 10, sem detecção de estros, em que não houve diferença significativa no resultado de prenhez entre os dois grupos (57.6% versus 52.3% de prenhez para o grupo IAETF e IATF, respectivamente). Isso sugere que o protocolo de IATEF pode ser adotado com apenas uma modificação pontual que é a prorrogação de sete para oito dias de permanência dos dispositivos vaginais, excluindo a necessidade de detecção de estro e mantendo o mesmo resultado médio de prenhez. Entretanto, há necessidade de se avaliar a repetibilidade dos resultados obtidos por *Borges et al.*, (2009) com um maior número de animais e entre diferentes categorias do rebanho de cria.

Inicialmente, o desmame no protocolo de IAETF era realizado com a separação total dos terneiros das vacas e o estro era detectado em quatro turnos (12, 24, 36 e 48 horas) da retirada dos dispositivos vaginais. Atualmente tem se utilizado a tabuleta nasal nos terneiros, que é uma forma eficiente de desmame, além de facilitar o manejo dos animais e diminuir o estresse das vacas. Na busca por diminuir o manejo também foram extintos dois turnos de detecção de estro (12 e 48 horas), pois nos estudos do nosso grupo de pesquisa raramente animais demonstram estro às 12 horas após a remoção dos dispositivos vaginais de P4, e os animais detectados em estro as 48 serão inseminados 12 horas após, o que coincide com a IATF, ou seja, eles seriam inseminados nesse horário independentemente de terem manifestado estro ou não às 36 horas.

Ainda com o objetivo de diminuir os manejos dentro do protocolo de IAETF, foi realizado um estudo (dados ainda não publicados) que comparou a aplicação de PGF2α e eCG no dia 6 (grupo controle) ou 7 do protocolo, juntamente com a retirada dos dispositivos vaginais (dia 7). Os resultados demostraram que na categoria de vacas com cria ao pé, o grupo controle (injeções dia 6) apresentou 9,5% a mais de prenhez (44,2% versus 34,7%). Já nas novilhas essa diferença no percentual de prenhez foi de 21,9% (58,7% com injeções no dia 6 versus 36,7% com injeções no dia 7), indicando que a aplicação desses hormônios (eCG e PGF2α) no dia 6 do protocolo hormonal de IAETF parece ser um dos aspectos que proporciona, na maioria das vezes, resultados de prenhez acima de 50%. Ainda faz-se necessário repetir este estudo para uma maior acuracia dos dados. Ainda com o intuito de diminuir os manejos no protocolo de IAETF, acredita-se que com a aplicação de eCG seja dispensável a realização do desmame interrompido dos terneiros ou com tabuleta.

Mais recentemente Pfeifer *et al.*, (2015) desenvolveram a metodologia denominada "IATF em blocos", a qual consiste no protocolo tradicional de IATF com 3 manejos, mas no momento em que todas as fêmeas seriam inseminadas em tempo fixo, elas na verdade são submetidas à ultrassonografia dos ovários e o momento exato da IATF é determinado de acordo com o tamanho do maior folículo, gerando quatro turnos de IATF. O estudo comparou esta nova metodologia, cujo raciocínio fisiológico é semelhante ao da IAETF, com um grupo controle submetido à IATF tradicional de 3 manejos. Houve um acréscimo de 14,7% de prenhez no grupo IATF em blocos (63.5,%) em comparação ao grupo controle (48.8%), achados estes que corroboram com aqueles encontrados por Siqueira *et al.*, (2008) quando compararam a IAETF com a IATF de 4 manejos.

Sem dúvidas, faz-se necessários mais estudos com o intuito de avaliar o desempenho reprodutivo de diferentes grupos genéticos, categorias de fêmeas do rebanho e condições de manejo nutricional a que são submetidas frente aos diferentes protocolos hormonais que visam a IATF ou a IAETF, a fim de se estabelecer em que situações um ou outro protocolo hormonal é mais apropriado de ser adotado.

Cabe ser ressaltado, ainda, que a IAETF deve ser implementada apenas em propriedades com infraestrutura e disponibilidade de mão de obra. O sucesso de um protocolo hormonal de sincronização de estros e indução da ovulação depende de vários fatores que devem ser levados em consideração na hora da escolha do protocolo, entre os quais se destacam: a condição nutricional e sanitária dos animais, avaliação da categoria a qual o

protocolo é destinado, disponibilidade de mão de obra e instalações adequadas (Nash *et al.*, 2012; Kasimanickam *et al.*, 2015).

2.3 Desempenho reprodutivo de diferentes categorias do rebanho de cria quando submetidas a protocolos hormonais visando à inseminação artificial

O rebanho de cria é composto por novilhas e vacas amamentando (primíparas, secundíparas e multíparas), sendo que em muitas propriedades ainda existe uma terceira categoria que é a de vacas desmamadas. Estas fêmeas encontram-se em fases diferentes do ciclo produtivo, bem como diferem quanto as exigências nutricionais (Belloso *et al.*, 2002; Sá Filho *et al.*, 2012; Vasconcelos *et al.*, 2014).

A categoria de novilhas normalmente apresenta boa fertilidade ao longo da estação reprodutiva, porém apresenta taxas de prenhez em torno de 40 a 50% quando submetidas à IATF (Bó, 2014; Sá Filho *et al.*, 2009; Vasconcelos *et al.*, 2014). Geralmente, o baixo aporte nutricional que as novilhas recebem desde o desmame até a idade reprodutiva, principalmente nos sistemas extensivos de criação, é um fator prejudicial em programas de IATF. Isso faz com que muitas vezes os animais atinjam idade a puberdade mais tardiamente do que o esperado, e no momento de ingressarem na temporada reprodutiva apresentam peso, condição corporal e desenvolvimento genital insuficiente. Outras vezes até apresentam peso e condição corporal suficientes, mas estão acíclicas, provavelmente devido ao período de privação nutricional na recria (Sá Filho *et al.*, 2012).

Os protocolos para IATF de novilhas são semelhantes aos utilizados nas demais categorias, porém a fisiologia reprodutiva das novilhas exige que os protocolos tenham algumas particularidades (Sá Filho *et al.*, 2012; Bó, 2014; Vasconcelos *el al.*, 2014). Novilhas são mais sensíveis a altos níveis de progesterona (Meneghetti *et al.*, 2009). Portanto, devem ser utilizados dispositivos com baixas concentrações de P4 (dispositivos monodose ou dispositivos reutilizados e/ou a aplicação de PGF2α no momento da inserção do dispositivo (Sá Filho *et al.*, 2012; Bó, 2014).

Está comprovado que o uso de eCG em novilhas aumenta a taxa de prenhez em protocolos de IATF (Sá Filho *et al.*, 2012; Vasconcelos *et al.*, 2014). Portanto, para o bom desempenho de novilhas quando submetidas à sincronização da ovulação visando a IATF, é importante que estas tenham peso adequado (mais de 60% do peso adulto para a raça), boa

condição corporal (≥ 3.0) e o trato genital com tamanho e consistência do útero e ovários com presença de estruturas funcionais (folículos maiores de 8mm e/ou corpo lúteo).

Vacas desmamadas são favorecidas por não estar amamentando. Normalmente são animais que não conceberam na estação reprodutiva anterior, geralmente por condições climáticas adversas e/ou erros de manejo que impuseram baixa condição corporal durante a temporada reprodutiva, aliada a amamentação. Nessa categoria os resultados também tendem a ser bastante variáveis. Quando esta categoria é composta por fêmeas que tinham boa condição nutricional e sanitária durante a temporada reprodutiva anterior, mesmo amamentando, e resultaram não prenhes, a tendência é de que o resultado de prenhez quando submetidas à IATF ou IAETF seja abaixo (Bastos, comunicação pessoal) do esperado.

Vacas amamentando, quando submetidas à IATF, normalmente apresentam resultado de prenhez semelhante às outras categorias. O principal fator que interfere no resultado da IATF nesta categoria é o anestro pós-parto, que tende a ser mais longo em animais *Bos indicus* (Vasconcelos *et al.,* 2009; Sartori *et al.,* 2013). O balanço energético negativo e o efeito da mamada são os principais fatores responsáveis pela falha na liberação do GnRH (Yavas e Walton, 2000). Os protocolos de IATF têm sido focados nesta categoria por ser a mais numerosa do rebanho e pela necessidade de tornarem-se prenhes, o mais brevemente possível, após o parto, visando um parto/vaca/ano (Belloso *et al.*, 2002). Em vacas multíparas, o uso da eCG também foi capaz de aumentar as taxas de prenhez quando utilizado na retirada do dispositivo de P4 em um protocolo de 4 manejos (65,4% com eCG e 53,3% sem eCG) (Menchaca *et al.*, 2013). A eCG parece ter maior efeito benéfico quando aplicado em animais que possuem menor condição corporal (Sales *et al.*, 2011).

Nas primíparas o percentual de anestro pós-parto tende a ser maior que nas multíparas (Baruselli *et al.,* 2004; Sá Filho *et al.,* 2012), devido a maior exigência nutricional desta categoria em comparação às multíparas, uma vez que esses animais ainda estão em fase de crescimento. Quando os animais dessa categoria são mantidos em pastagens com baixa disponibilidade de matéria seca e nutrientes, tem-se a prorrogação do período de anestro pós-parto (Belloso *et al.*, 2002; Sá Filho *et al.*, 2012). Estudos demonstraram que o percentual de prenhez de fêmeas bovinas submetidas à protocolos hormonais visando a IATF é semelhante em fêmeas em anestro pós-parto ou ciclando quando estas se encontram com satisfatório ECC (acima de 3, escala de 1 a 5) (Meneghetti e Vascocelos, 2008; Sá Filho *et al.,* 2012).

Sá Filho *et al.*, (2009) compilou dados de 64.033 fêmeas bovinas de diferentes categorias submetidas à IATF entre 2006 e 2008, em diferentes regiões do Brasil e obteve percentuais de prenhez de 39,6 % em novilhas, 45,2% em vacas primíparas amamentando, 51,8% em vacas multíparas amamentando e 46,1 % em multíparas desmamadas. Em um estudo recente que comparou o desempenho de diferentes categorias submetidas ao protocolo de IAETF, as vacas com cria ao pé multíparas foram as que apresentaram o maior percentual de prenhez (88,5%), seguida das novilhas (72,7%) e, por ultimo, a primíparas (55,6%), indicando que o desempenho reprodutivo é maior em vacas multíparas e novilhas quando submetidas a este sistema de IA (Grundemann *et al.*, 2015).

2.4 Ressincronização de estro e da ovulação em bovinos de corte

Normalmente após a IATF são utilizados touros para o repasse dos animais inseminados. Quando os animais são submetidos à sincronização do estro e ovulação visando a IATF, as fêmeas que não se tornaram prenhes retornam em estro de forma relativamente sincronizada, ou seja, entre 17 e 24 dias após a IATF (Baruselli *et al.*, 2014). Sendo assim, estudos demonstraram que a ideia inicial de que com uma IATF seria possível economizar na aquisição de touros para repasse mostrou-se falsa, uma vez que ocorre concentração de vacas retornando em estro, em média, aos 21 dias após a IATF, fazendo-se necessário manter a mesma proporção touro/vaca que é normalmente utilizada na monta natural (4% de touros) para o repasse.

O rápido e significativo ganho genético proporcionado pela IA é uma das grandes vantagens da técnica, o que faz com que técnicos e produtores busquem o maior numero de bezerros nascidos oriundos da IA. Isso também pode ser proporcionado e maximizado pelo uso da técnica de ressincronização, em que as fêmeas não prenhes da primeira IATF são submetidas a uma segunda (Campos *et al.*, 2013; Sá Filho *et al.*, 2014) e até terceira IATF, o que resulta em percentuais de prenhez satisfatórios dentro de uma temporada reprodutiva (Marques *et al.*, 2012; Crepaldi *et al.*, 2014).

A técnica de ressincronização, antes utilizada apenas em bovinos leiteiros, consiste em realizar uma nova indução de ovulação seguida de IA em uma fêmea já submetida a uma sincronização e IA prévias, antes de repassá-la com touros. Essa técnica traz vantagens como

o maior número de fêmeas prenhes de IA na temporada reprodutiva e a diminuição de touros na propriedade (Chebel *et al.*, 2003; Baruselli, *et al.*, 2014).

O método de ressincronização que tem sido mais utilizado em gado de corte é iniciar o segundo protocolo hormonal no momento do diagnóstico de gestação, ou seja, entre 28 e 32 dias após a primeira IATF, conhecida como ressincronização com 30 dias. Nesse caso, apenas as fêmeas não prenhes (no exame ultrassonográfico) iniciam um novo protocolo de sincronização e são submetidas à segunda IA. Essa técnica é bastante utilizada principalmente por reduzir os custos, já que nesse caso apenas as fêmeas não prenhes iniciam o protocolo hormonal (Marques *et al.*, 2012; Giordano *et al.*, 2013). Nestas circunstâncias, os animais são inseminados aos 40 dias após a primeira IATF (Marques *et al.*, 2012; Doroteu *et al.*, 2015).

Outra alternativa é iniciar o segundo protocolo hormonal entre os dias 19 e 23 após a primeira IATF, ou seja, antes do diagnóstico de gestação, que é usualmente realizado aos 28 dias após a primeira IA (Chebel *et al.*, 2003; Stevenson *et al.*, 2003; Galvão *et al.*, 2007; Campos *et al.*, 2013). Nesse caso, não se sabe se os animais estão prenhes ou não, sendo que todos os animais são submetidos ao protocolo hormonal. A ultrassonografia é feita no dia da retirada dos dispositivos progesterona e da aplicação da PGF2 (dia 8 do protocolo hormonal e dia 28 após a primeria IATF), sendo que as fêmeas não prenhes seguem o protocolo hormonal já iniciado há 8 dias e são submetidas à IATF dois dias mais tarde (dia 10). Nas fêmeas prenhes (da primeira IATF) apenas é feita a retirada do dispositivo vaginal de progesterona. Essa técnica não causa perdas gestacionais nos animais que já estão prenhes e começaram o protocolo (Chebel *et al.*, 2003; Sá Filho *et al.*, 2014).

O uso da ressincronização tem proporcionado resultados animadores de prenhez. Marques (2012) publicaram dados da temporada reprodutiva de 2009-2010 e com significativo número de 9.717 animais avaliados, observaram 56,1% de prenhez na primeira IATF e 39,3% na segunda, o que totalizou um resultado cumulativo de 77,8%. Quando os dados foram analisados de acordo com a categoria, as vacas primíparas e secundíparas apresentaram uma queda na prenhez após a segunda IATF, sendo uma média de 53,1% na primeira e 34,9% na segunda IATF. Já em novilhas e vacas multíparas não houve redução (56,3% e 52,7% na primeira e segunda IATF, respectivamente para vacas multíparas e 58,4 % e 53,6% para novilhas). Em outro estudo mais recente, utilizando a ressincronização nas três categorias (novilhas, primíparas e multíparas), Marques *et al.* (2015) obtiveram percentual de prenhez cumulativa de 85% para novilhas, seguido de 78% para as vacas multíparas e 76%

para as primíparas (as duas ultimas categorias amamentando). Na primeira IATF a taxa de prenhez foi semelhante entre as categorias (57%, 56% e 51% para novilhas, multíparas e primíparas, respectivamente). Porém, na ressincronização, ou seja, na segunda IATF, as primíparas e multíparas apresentaram 53% de prenhez, semelhante à primeira IATF, e a novilhas 66% de prenhez, demonstrando um aumento na segunda IATF. Os autores concluíram que o uso da IATF seguido de ressincronização possibilita obter-se em torno de 75% dos animais prenhes de IA logo no inicio da estação de monta.

Na busca por maior número de vacas prenhes de IA, tem se utilizado até a terceira IATF, ou seja, segunda ressincronização. Com a utilização de três IATFs em sequencia, foi possível alcançar índices de 91,6% de prenhez no resultado cumulativo em vacas multíparas e 86,7 % em vacas primíparas (Marques *et al.*, 2012; Baruselli *et al.*, 2014). Crepaldi *et al.*, (2014) utilizaram três IATFs consecutivas com a técnica de ressincronização de 22 dias, ou seja, sem diagnóstico prévio de gestação e obtiveram 83,1% de prenhez no resultado cumulativo entre todas as categorias (novilhas, primíparas e multíparas). A primeira IATF teve resultado superior em novilhas quando comparado à segunda ou terceira IATF (50,9%; 35,8% e 35,4% para primeira, segunda e terceira IATF, respectivamente, totalizando 78,6% de prenhez geral) e para vacas multíparas (65,4%, 37,4 % e 44,0% para primeira, segunda e terceira IATF, respectivamente, totalizando 87,4% de prenhez geral). Já em vacas primíparas o percentual de prenhez foi semelhante nas três IATFs (44,4%; 38,9% e 46,8% para primeira, segunda e terceira IATF, respectivamente, totalizando 81,8% de prenhez geral) (Baruselli *et al.*, 2014; Crepaldi *et al.*, 2014).

A ressincronização ainda não foi testada com o uso do protocolo de IAETF. Acredita-se que com duas IAETFs seja possível atingir percentual cumulativo de prenhez semelhante aqueles obtidos com três IATFs, ou seja, acima de 80%, nas três categorias que compõem o rebanho de cria.

3- OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Incrementar a proporção de fêmeas bovinas prenhes de inseminação artificial em rebanhos de corte.

3.2 Objetivos específicos

Elucidar o potencial da realização da IAETF e posterior ressincronização de fêmeas de corte Angus e Brangus (*Bos taurus* e *Bos taurus indicus*) criadas e manejadas extensivamente a campo nativo na fronteira oeste do RS.

Comparar o desempenho reprodutivo de novilhas, vacas desmamadas e vacas amamentano Angus e Brangus (*Bos taurus* e *Bos taurus indicus*) quando submetidas à IAETF, seguida de ressincronização das não prenhes e nova IAETF e, por último, repasse com touros.

4-ARTIGO CIENTÍFICO

Os resultados que fazem parte desta dissertação estão apresentados sob a forma de artigo científico. As seções Materiais e Métodos, Resultados, Discussão, Conclusão e Referências Bibliográficas encontram-se no próprio manuscrito. O manuscrito será submetido ao periódico Theriogenology, portanto a sua apresentação está na forma que será submetido ao periódico.

ARTIGO CIENTÍFICO

RESSYNCHRONIZATON OF HEIFERS, NONLACTATING AND LACTATING BEEF COWS USING FIXED TIME AND ESTRUS DETECTION ARTIFICIAL INSEMINATION (FTEAI) HORMONAL PROTOCOL

J.T. Grundemann[1], R.S. Silva[1], P.H.S. Auzani[1], R.D. Rodrigues[1], M.F. Kleinubing[1], R.P. Oaigen[2], M.J. Sudano[3], G.M. Bastos[1,2]*

[1] Laboratory of Animal Reproduction and Obstetrics – REPROPAMPA, Federal University of Pampa (UNIPAMPA), Uruguaiana, RS, Brazil.

[2] Livestock Technology Center – CTPEC, Federal University of Pampa (UNIPAMPA), Uruguaiana, RS, Brazil.

[3] Laboratory of Genetics and Animal Breeding, Federal University of Pampa (UNIPAMPA), Uruguaiana, RS, Brazil.

*Corresponding author. Tel. + 55 (55) 3911 0200 (branch 9512).

*E-mail address: guilhermebastos.unipampa@gmail.com (G.M. Bastos).

Abstract

The aim of this study was to compare the reproductive performance of heifers, nonlactating and lactating beef cows submitted to fixed time and estrus detection artificial insemination hormonal protocol (FTEAI). A total of 382 bovine females divided in 136 heifers, 103 nonlactating and 143 lactating cows (between 40 and 70 days postpartum) were used. On Day 0 all animals received an intravaginal new device containing 1.2g of progesterone adult cows or reutilized on heifers synchronization and on heifers and adult cows resynchronization and an injection (im) containing 2 mg of estradiol benzoate (EB). In the afternoon of Day 6, animals received injection (im) containing 300 IU of equine chorionic gonadotropin (eCG) and 0.15 mg of D-cloprostenol and calves a no se tablet for 4 days. In the afternoon of Day 7, intravaginal devices were removed and estrus was monitored at 24 and 36 h after device removal. Animals detected in estrus were artificial insemination (AI) 12 h later and the remaining received an injection (im) containing 0.01mg of Busereline Acetate at 48 h after device removal and were submitted to timed artificial insemination (TAI) 12 to 16 h after the injection (Day 10). In the synchronization, estrus rate differ ($P < 0.05$) among the three categories (63.1%, 52.9% and 24.4% for nonlactating cows, heifers, and lactating cows, respectively). Where as in resynchronization, only lactating cows showed lower ($P < 0.05$) estrus rate (25.0%) when compared to heifers (82.0%) and nonlactating cows (72.7%). In the synchronization heifers showed higher ($P < 0.05$) pregnancy rate (71.3%) than lactating cows (58.0%), but both categories did not differ ($P > 0.05$) in relation to nonlactating cows (67.9%). In resynchronization, pregnancy rate of three categories did not differ betwem ($P > 0.05$) each other (51.2%, 51.5% and 60.0% for heifers, nonlactating cows and lactating cows, respectively). The cumulative pregnancy rates from two FTEAI (86.0%, 84.4% and 83.2% for heifers, nonlactating and lactating cows, respectively) and from final reproductive season after breeding with bulls (94.1%, 91.2% and 87.4% for heifers, nonlactating and lactating cows, respectively) did not differ ($P > 0.05$) among the categories. In conclusion, heifers, nonlactating and lactating cows show similar reproductive performance at the end of breeding season when submitted to resynchronization using FTEAI, as well as after a short-term breeding with bulls.

Key-words: Bovine, FTAI, estrus synchronization, animal reproduction.

1. Introduction

Artificial insemination (AI) has advantages to beef cattle production systems such as the rapid incorporation of herd genetic merit [1]. Increment in large scale use of AI in beef cattle can be attributed to the timed-artificial insemination (TAI) strategy, due to the lack of need of estrus detection. However, average FTAI-derived pregnancy rate reaches around 50% and may be significantly improved [1 2].

In Brazil, the most commonly used TAI hormonal protocols is based on progesterone and estradiol [2,3]. Most of synchronized animals ovulate around 73 h after device removal, however, it is known that there is a range of variation in the ovulation time (< 64 h to > 80 h) [4,5]. This ovulation window may explain, partially, the average rate of pregnancy around 50% after FTAI. An alternative to minimize the effects of dispersed ovulation is the use of a protocol that associates short-term estrus detection and fixed time AI (FTEAI) [6]. FTEAI associates two moments of estrus detection, followed by AI 12 h after identification of estrus, and also TAI in those females that have not shown estrus, adding up to three moments of AI management. FTEAI has resulted in an average of 60% pregnancy rate in beef cattle.

With the aim of increasing the number of AI pregnant cows in the herd, resynchronization hormonal protocols have been used in the non-pregnant female after first FTAI [7, 8]. Resynchronization of ovulation has allowed pregnancy rates of around 75% after the second TAI [9,10]. Some studies have investigated the potential of two resynchronizations (three sequential TAI) to result in high pregnancy rates exclusively from AI in beef cattle [11]. Previous research demonstrated to be possible to obtain cumulative pregnancy rates between 83.1 % and 91.3% [11,12]. Pregnancy rates above 80% obtained after three rounds of FTAI allow for the exclusion of bulls from the reproductive management, reducing costs to the producer.

The potential of FTEAI hormonal protocol to generate cumulative improved pregnancy rates using resynchronization has not been tested yet. A limited number of experiments [13] and some unpublished results have suggested that FTEAI shows a tendency to improve pregnancy rates in comparison to conventional FTAI strategy. Based on that, it is plausible to hypothesize that the use of FTEAI followed by FTEAI resynchronization is sufficient to obtain cumulative pregnancy rates similar to those obtained after three (two resynchronizations) conventional FTAI.

The aim of this experiment was to evaluate and compare the reproductive performance of heifers, nonlactating and lactating beef cows (*Bos taurus* and *Bos taurus indicus*) submitted to FTEAI followed by FTEAI resynchronization.

2. Materials and methods

2.1 Location, animals and management

The experiment was conducted during the 2015/2016 spring-summer breeding season (October-January) in South America, Brazil, State of Rio Grande do Sul, the so called border west with Argentina and Uruguay, latitude 30º 12' 26" S and longitude 57º 33' 17" W. The climate in this region is tropical, with an average temperature of 19.7 °C and a rainy season. A total of 382 Angus (nº: 212; *Bos taurus*) and Brangus (nº: 169; *Bos taurus indicus*) cows, being 136 heifers 24 mouths, 103 nonlactating multiparous cows and 143 lactating cows (from 40 to 70 days postpartum) from a commercial beef farm, were used. Animals had a mean of body condition score (BCS; range, 1 [emaciated] to 5 [obese] of 3.0, 2.7 and 2.8 to heifers, nonlactating and lactating cows, respectively . All animals were maintained on natural pastures with free access to water and mineralized salt. At the beginning of the first FTEAI protocol, data of body condition score were collected from each animal. For the purpose of analyses of the relationships between BCS and P/AI, animals were classified according to BCS on the first day of the first FTEAI synchronization protocol as having lesser (BCS < 2.50), moderate (BCS = 3.00), or high (BCS ≥ 3.50) BCS.

2.2 Experimental design

All female were submitted to the fixed timed and estrus detected artificial insemination (FTEAI) hormonal protocol previously described [6]. Cows received a new intravaginal device and heifers received once used devices containing 1.2 g of P4 (Fertilcare; Vallé) and administration im of 2 mg estradiol benzoate (Estrogin, Biofarm) on Day 0. On Day 6 females received im 300 UI of eCG (Novormon; Zoetis) and 0.15 mg D-Cloprostenol (Prolise; Agener União). Either on Day 6 calves received a nose tablet by 4 days (from Day 6 to Day 10) to prevent suckling. On Day 7 the device was removed and each female had its tail painted to easier estrus detection, which only was considered when the female was visually

mounted. Estrus was monitored at 24 h and 36 h after device removal. Female detected in estrus were AI 12 h later. Those that did not showed estrus received im 0.01 mg Busereline Acetate (Sincroforte; Ouro Fino) 48 h after device removal and were submitted to FTAI 16-18 h later (approximately 60 h after device removal) on Day 10.

All AI were performed only by one experienced inseminator with thawed semen of seven bulls previously approved by the fast test of termorresistency (TTR), following the guidelines of the Brazilian College of Animal Reproduction [14]. Pregnancy diagnosis was performed by transretal ultrasonography (5 MHz linear transducer, Aloka SSD500, Japan) 30 days after the first FTEAI. At this time nonpregnant female were submitted to resynchronization with the same hormonal protocol using one time used intravaginal devices in both heifers and cows. Ten days after second FTEAI (resynchronization) females were exposed to bulls (heifers by 21 days; nonlactating cows by 47 days and lactating cows by 34 days), using a ratio of 1 bull for each 25 females. All bull were approved a breeding soundness evaluation 46 days before the onset of the breeding season, following the guidelines of the Brazilian College of Animal Reproduction [14]. Only bulls classified as potential satisfactory breeders were used. A second pregnancy diagnoses using ultrasonography was performed 31 days after the second FTEAI. Schematic representation of the FTEAI hormonal protocol and also of the resynchronization treatments is illustrated in the Figure 1 and Figure 2, respectively. Female maintained with bulls were submitted to the third pregnancy diagnoses 31 days after bulls removal.

2.3 Statistical analysis

Dependent data were analyzed by PROC LOGISTIC and PROC GLM on SAS (SAS, Inst. Inc., Cary, NC, EUA). Sources of variation in the model, including breed, category, protocol, bull (semen), BCS and weight, and first order interactions were considered as fixed effects. Animals were considered as a random effect. When ANOVA data were significant, means were contrasted using the probability of individual differences (PDIFF). Data are presented as percentage least-squares means and standard error of mean. The analyses were performed using 5% as the significance level.

3. Results

3.1 Estrus detection

Estrus was monitored at 24 and 36 h after intravaginal device removal. Cows that did not show estrus until 36 h received (im) GnRH (Busereline) and were submitted to TAI 12 h later (morning of Day 10).

In the first FTEAI (synchronization) there were differences ($P < 0.05$) on estrus detection rates among the three female categories evaluated (Table 1). Nonlactating cows have shown the greatest (63.1%) estrus detection rate, followed by heifers (52.9%) and lactating cows (24.1%). In the second FTEAI (resynchronization) rates of estrus did not differ ($P > 0.05$) between nonlactating cows (72.7%) and heifers (82.0%), but were higher ($P < 0.05$) compared with lactating cows (25.0%). Heifers showed significantly lower ($P < 0.05$) estrus rate at synchronization (52.9%) compared to resynchronization (82.0%). Mean results among the three female categories (heifers, nonlactating and lactating cows) demonstrated that the female had shown higher ($P = 0.0073$) estrus rate at resynchronization (53.7%) compared to the synchronization (45.0%).

Regarding to BCS (Table 3), at first FTEAI (synchronization), heifers classified as 2.5 showed lower ($P < 0.05$) estrus rate (35.7%) compared to those with 3.5 to 4.0 (63.8%), however there were no difference ($P > 0.05$) when compared to those with BS 3.0 (54.1%). There were no effects of BCS on estrus rates between nonlactating cows (BCS 2.0 to 2.5 = 62.7% and BCS $\geq$ 3.0 = 64.4%). However, lactating cows with BCS $\geq$ 3.5 showed higher ($P < 0.05$) estrus rate (44.1%) compared to those with BCS 2.0 to 2.5 (14.2%) and BCS 3.0 (23.2%). In heifers, estrus rate was lower ($P < 0.05$) in those classified as $\geq$ 296 kg (38.8%) compared to those with $\leq$ 295 kg (65.6%) (Table 4).

3.2 Conception and pregnancy rates

Conception rates were measured separately in that female who had showed estrus at 24 or 36 h after device removal and then AI 12 h later and either in those that did not showed estrus and were submitted to TAI 12 h after GnRH injection (Day 10). Pregnancy rates were measured as the cumulative result of AI female after estrus detection and those that had not showed estrus and were submitted to TAI (Table 2).

In the first FTEAI (synchronization) conception rates of those AI after estrus detection and either after TAI did not differ ($P > 0.05$) among heifers, nonlactanting and lactating cows. Heifers showed higher ($P < 0.05$) pregnancy rate (71.3%) compared to lactating cows (58.0%), but similar ($P > 0.05$) to nonlactating cows (67.9%).

In the second FTEAI (resynchronization) lactating cows AI after detected estrus showed higher ($P < 0.05$) conception rate (86.6%) compared to heifers (56.2%) and nonlactating cows (54.1%). Pregnancy rates did not differ ($P > 0.05$) among categories.

Heifers showed higher ($P = 0.05$) pregnancy rate in the first (71.3%) compared to second FTEAI (51.2%). Considering the three female categories together, pregnancy rate at first FTEAI (65.4%) was higher ($P = 0.05$) compared to the second one (55.3%).

Cumulative final pregnancy rates of the breeding season (synchronization + resynchronization + bulls) did not differ among the three female categories evaluated, but heifers showed a tendency ($P = 0.07$) to have a higher pregnancy rate (94.1%) compared to lactating cows (87.4%).

Regarding to BCS at the first FTEAI (Table 3), nonlactating cows classified as BCS 2.0 to 2.5 (76.7%) showed higher ($P < 0.05$) pregnancy rate compared to those as BCS ≥ 3.0 (61.0%). As expected, lactating cows classified as BCS ≥ 3.5 showed higher ($P < 0.05$) pregnancy rate (76.4%) compared to those with BCS 3.0 (48.2%), but they did not differ ($P > 0.05$) compared to those with BCS 2.0 to 2.5 (57.1%). There was no significant difference ($P > 0.05$) between the pregnancy rate of heifers classified as < 295 kg (68.7%) and ≥ 296 kg (74.6%), at the first FTEAI (Table 4).

First of all, we analyzed possible statistical difference in rates of estrus, conception and pregnancy between Angus (*Bos taurus*) and Brangus (*Bos taurus indicus*) and no one significant difference was found. So, the breed effect (Angus x Brangus) was not considered on discussion sections.

4. Discussion

This study compared the reproductive performance of heifers, nonlactating and lactating cows submitted to synchronization of estrus and ovulation for FTEAI and resynchronization of those not pregnant for a second FTEAI, followed by a short term bull exposition, in a reproductive season set. Studies involving FTEAI [13,15-17] have not compared the reproductive performance of different bovine female categories. According to our limited [18, 19] and field unpublished data using FTEAI, the rate of estrus seems to differ significantly, but pregnancy rates have shown a tendency to be similar among bovine female categories.

As expected, the results showed that heifers and nonlactating cows have a higher ($P < 0.05$) rate of estrus (52.9% and 82.0% in heifers; 63.1% and 72.7% in nonlactating cows, respectively, in the first and second FTEAI) compared to lactating cows (24.4% and 25.0% respectively, in the first and second FTEAI). In a previous study using FTEAI in heifers and nonlactating cows, heifers also showed a higher rate of estrus (65.9%) than lactating cows (38.6%) [20]. The effect of suckling in reducing the estrus expression and extending the postpartum anestrus period has been widely reported [21,22].

Importantly, the FTEAI protocol used in this study had only two estrus detection period (24 and 36 h after P4 device removal). The original FTEAI protocol [6] had four turns of estrus detection (12, 24, 36 and 48 h after P4 device removal). Previously, using the original FTEAI protocol in lactating cows [13] was obtained an estrus rate of 48.7%. Estrus detection is unnecessary at 12 h after device removal, because at this time female usually did not show estrus. Likewise, also was not used estrus detection at 48 h after P4 device removal, since cows that would be detected in estrus at this time are invariably submitted to TAI in the morning of Day 10. In this case, ovulation induced was by an injection of busereline acetate (GnRH at 48 h after P4 device removal) in those that did not show estrus until 36 h after P4 device removal.

The results of this study also demonstrated that FTEAI protocol made possible to achieve an average pregnancy rate of 62.8% (65.4% and 55.3% for the 1st and 2nd FTEAI, respectively) in the three categories of evaluated. Bovine females that are detected in estrus and AI 12 h later have higher chances of becoming pregnant compared to those submitted TAI [23]. This may explain, in part, to the best reproductive performance of animals when

submitted to FTEAI, because on this hormonal protocol an average of 47.2% (45.0% and 53.7% for the 1st and 2nd FTEAI, respectively) of female (among the three evaluated categories) were detected in estrus and submitted to AI 12 h later. Therefore, even with the use of only one FTEAI (not resynchronization), it has been consolidated as an important tool to increase pregnancy rates at the beginning of the breeding season.

An interesting research [13] compared the reproductive performance of lactating cows submitted to FTEAI hormonal protocol (54.7%) or TAI (33.3%) hormonal protocol with four managements, found greater pregnancy rate (mean of 21.4%) in FTEAI. However, the same research group [16] found no significant difference in pregnancy rate when compared FTEAI hormonal protocol (with conciliates AI after estrus detected and TAI; 57.6%) and TAI hormonal protocol (without estrus detection; 52.3%), where in the TAI group the interval between P4 device removal (Day 8) and the GnRH injection (Day 9) involved 24 hs and TAI occurred 16 h later (morning of Day 10). More comparative studies between FTEAI and TAI are needed in order to elucidate in which management circumstances, category and breed of cows is or not viable to conciliate estrus detected AI and TAI.

In this direction, a recent study [24] evaluated the follicular diameter at the time of P4 device removal in order to determine the most appropriated time to TAI. Nelore cows with a follicular diameter ≥ 15 mm, 13 to 14.9 mm, 10.1 to 12.9 mm and ≤ 10 mm were TAI at 0, 6, 24 and 30 h after P4 device removal, respectively. With this new methodology called FTAI in blocks it was possible to increase up to 14.7% on the average pregnancy rate compared to those submitted traditional three management FTAI, performed at 48 h after P4 device removal.

Although methodological differences between FTEAI and FTAI in blocks, they have in common the attempt to AI each cow in the most appropriated time according to the expected moment to ovulation. May be this is the reason that explains the tendency of the higher pregnancy rate when using FTEAI or FTAI in blocks in comparison to traditional TAI. In South Brazil, where Bos taurus and Bos taurus indicus cattle are largely more predominant than Bos indicus, we consider that FTEAI is more feasible to be accomplished than FTAI in blocks.

The results of this research show that resynchronization using FTEAI hormonal protocol allows to obtain pregnancy rates above 80% in the three categories evaluated (86.0%, 84.4% and 83.2% for heifers, nonlactating and lactating cows, respectively).

Resynchronization has been increasingly used, where the goal of this technique is getting more calves born from AI [2,9]. This can be justified mainly because the average pregnancy rate after one TAI is around 50% [2,25]. Resynchronization of those not pregnant at first traditional TAI allows to achieve a cumulative pregnancy rate around 75% [10,12]. With this result, still it becomes necessary breeding cows with bulls to achieve a cumulative pregnancy rate around 90% at the end of the breeding season. Another alternative is to perform the third TAI, that is, the second resynchronization [10,11], which allows to avoid the use and costs of bulls in the farm [12].

Bovine females of this study, regardless of the category, reached more than 80% of pregnancy rate after resynchronization within 40 days (between the first and second FTEAI) of the breeding season. Therefore, if the first FTEAI is performed on the first day of the breeding season and the second one (resynchronization of those not pregnant) 40 days later, it is possible to obtain more than 80% of pregnancy rate in all categories of cows that make up the herd (heifers, nonlactating and lactating cows). Thus, resynchronization using FTEAI protocol allows shorten the breeding season, improve reproductive efficiency, generate more calves born from AI and reduce costs with the acquisition and maintenance of bulls.

The decrease in the pregnancy rate between synchronization and resynchronization, that is, between first and second FTEAI, found in the category of heifers (71.3% and 51.2% for the first and second FTEAI, respectively) and the overall mean results, including all categories (heifers, nonlactating and lactating cows, 65.4% and 55.3% for the first and second FTEAI, respectively) also has been reported in previous research using resynchronization in TAI protocols [9-11].

It also has been investigated the use of three TAI in sequence [11] and cumulative average pregnancy rate in heifers were 50.9% in the first TAI, 35.8% in the second one and 35.4% in the third one. In multiparous cows also occurred a decrease in the pregnancy rate between sequential TAI (65.4%, 37.4% and 44.0% for the first, second and third TAI, respectively). This study found no decrease in pregnancy rate among the category of primiparous cows (44.4%, 38.9% and 46.0% for the first, second and third TAI, respectively). Another research [10] involving two TAI in heifers, primiparous/secundiparous and multiparous cows found a decrease in pregnancy rates between the first and second TAI only in the category of primiparous/secundiparous (53.1% and 34.9%, for the first and second TAI, respectively). So, there was no decrease in pregnancy rates in the other two categories

evaluated (58.4% and 52.5% in heifers and 55.3% and 52.7% in multiparous cows, for the first and second TAI, respectively).

In a study involving the categories of nonlactating cows and heifers [9] it was found a decrease in the pregnancy rate after resynchronization in nonlactating cows (66.6% and 45.1% for the first and second TAI, respectively), but not in the category of heifers (45.5% and 49.3% respectively for the first and second TAI, respectively). The results of previous studies as well as from the present data show that there is a tendency to occur decrease in pregnancy rate between the first and the next TAI in sequence, but this decrease does not always occur and does not seem to be influenced by category.

In relation to the BCS, the results showed that heifers with BCS 2.5 had lower estrus rate (35.7%) compared to heifers with BCS 3.0 (54.1%) and BCS 3.5 to 4.0 (63.8%). However, it was interesting that there was no difference between the BCS scales with respect to pregnancy rates. These results suggest that heifers properly selected by the subjective examination of the genital tract functionality even with a BCS 2.5 have reproductive performance similar to heifers classified as BCS ≥ 3. This characterizes the importance of subjective female selection to the FTEAI protocol by the reproductive genital tract status. A recent research [26] classified heifers for reproductive genital tract score (RTS) on a scale of 1 to 5 (1 = no palpable structures in the ovaries and 5 = presence of CL) and pregnancy rates increased in proportion to increased RTS (40.7%, 48.3%, 57.6% and 64.6% for RTS 1-2, 3, 4 and 5, respectively).

In nonlactating cows, there was no difference in the estrus rate among BCS 2.0-2.5 (62.7%) and BCS ≥3.0 (64.4%). However, the pregnancy rate was significantly higher ($P < 0.05$) in cows with BCS 2-2.5 (76.7%) compared with those with BCS ≥ 3.0 (61.0%). This result emphasizes the importance of subjective evaluating the genital tract functionality as a tool to select cows that will be submitted to FTEAI protocols.

In lactating cows, estrus rate was higher as increased BCS (14.2%, 23.2% and 44.1% to BCS 2-2.5, 3.0 and > 3.5, respectively). In sequence, we found that lactating cows with BCS ≥ 3.5 had higher pregnancy rate (76.4%) compared to those with BCS 3.0 (48.2%), but those with BCS 2-2.5 (57.1%) did not differ from other BCS scales in this female category. It had already been shown that lactating cows have higher pregnancy rates in TAI protocols as the BCS increases [3, 27]. Nevertheless, in the present investigation, those with BCS 2-2.5 had similar pregnancy rates for cows with BCS 3.0.

The results of estrus and pregnancy rates evaluated according BCS in heifers, nonlactating and lactating cows suggests that female should be selected to FTEAI considering some criteria, but mainly by BCS and genital trait score (although subjectively). Exposition to bulls did not increase significantly the pregnancy rate after two FTEAI (8.1% in heifers, 6.8% for nonlactating cows and only 4.2% for lactanting cows).

According the weight scale of heifers, surprisingly those with higher weight (≥ 296 kg) showed significantly ($P < 0.05$) lower rate of estrus (38.8%) compared to those with lower weight (< 295 kg) that showed (65.6%). May be, this can explained by the fact that higher weight group has been composed for the more Brangus than Angus heifers, and the first one usually is heavier. On the other hand, there was no significant difference in pregnancy rate between both weight groups of heifers.

The lowest pregnancy rate after bull exposition can be partly explained by the short average period that these animals remained together (21, 47 and 34 days for heifers, nonlactating and lactating cows, respectively). Furthermore, a female that had not a satisfactory reproductive performance when subjected to two FTEAI, could has some undiagnosed abnormality. Altogether, the average pregnancy rates above 80% in these three female categories may be allow rule out the use of bulls in the farms, once around 20% of cows should be replaced annually by heifers as herd renovation. Another important factor is that, usually females become pregnant from bulls at the end of the breeding season. As a result, parturition will also occur later in comparison to those that become pregnant from AI at the beginning of the breeding season, reducing the chances of conception in the next reproductive station, and also limiting the genetic gain that would be provided by the pregnancy from AI.

5. Conclusion

In conclusion, FTEAI in *Bos taurus* and *Bos taurus indicus* followed by resynchronization of empty females allow pregnancy rate (from AI) higher than 80% in heifers, nonlactating and lactating cows, within the first forty days of the reproductive season. Heifers, nonlactating and lactating cows show similar reproductive performance after resynchronization followed by FTEAI.

Acknowledgments

The authors thank the staff of the Princípio Farm (Barra do Quarai – RS) for allowing the use of their animals and facilities during this study. J.T. Grundemann was supported by a scholarship from CAPES, Brazil.

References

[1] Baruselli PS, Sales JNdS, Sala RV, Vieira LM, Filho MFdS. History, evolution and perspectives of timed artificial insemination programs in Brazil. Animal Reproduction. 2012;9.

[2] Bó GA, de la Mata JJ, Baruselli PS, Menchaca A. Alternative programs for synchronizing and resynchronizing ovulation in beef cattle. Theriogenology. 2016;86:388-96.

[3] Meneghetti M, Sa Filho OG, Peres RFG, Lamb GC, Vasconcelos JLM. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for Bos indicus cows I: Basis for development of protocols. Theriogenology. 2009;72:179-89.

[4] Andrade BH, Ferraz PA, Rodrigues AS, Loiola MVG, Chalhoub M, Filho AdLR. Eficiência do cipionato de estradiol e do benzoato de estradiol em protocolos de indução da ovulação sobre a dinâmica ovariana e taxa de concepção em fêmeas Nelores inseminadas em diferentes momentos. Archives of Veterinary Science. 2012;17.

[5] Torres JR, Penteado L, Sales JN, Sá Filho MF, Ayres H, Baruselli PS. A comparison of two different esters of estradiol for the induction of ovulation in an estradiol plus progestin-based timed artificial insemination protocol for suckled Bos indicus beef cows. Anim Reprod Sci. 2014;151:9-14.

[6] Bastos GM. Brenner RH, Willke FW, Neves JP, de Oliveira JF, Bragança JF, et al. Hormonal induction of ovulation and artificial insemination in suckled beef cows under nutritional stress. Theriogenology. 2004;62:847-53.

[7] Campos JT, Marinho LSR, Lunardelli PA, Morotti F, Seneda MM. Resynchronization of estrous cycle with eCG and temporary calf removal in lactating Bos indicus cows. Theriogenology. 2013;80:619-23.

[8] Colazo MG, Kastelic JP, Small JA, Wilde RE, Ward DR, Mapletoft RJ. Resynchronization of estrus in beef cattle: ovarian function, estrus and fertility following progestin treatment and treatments to synchronize ovarian follicular development and estrus. Can Vet J. 2007;48:49-56.

[9] Sa Filho MF, Marques MO, Girotto R, Santos FA, Sala RV, Barbuio JP, et al. Resynchronization with unknown pregnancy status using progestin-based timed artificial insemination protocol in beef cattle. Theriogenology. 2014;81:284-90.

[10] Marques M, Júnior MR, Silva RP, Filho MS, Vieira L, Baruselli P. Ressincronização em bovinos de corte. 5ª Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada. Londrina-PR, Brasil 2012. p. 240.

[11] Crepaldi G, Freitas BGd, Vieira L, Filho MFS, Guerreiro B, Baruselli PS. Reproductive efficiency of Nelore females submitted to three consecutive FTAI programs with 32 days of interval between inseminations. In: Reproduction A, editor. 28th Annual Meeting of the Brazilian Embryo Technology Society (SBTE). Jul./Sept. 2014 ed. Natal, RN-Brazil2014. p. 355.

[12] Baruselli PS, Marques M, Júnior MR, Silva RP, Vieira L, Filho MFS. Como otimizar a eficiência reprodutiva de programas de inseminação artificial e de transferência de embriões em bovinos: reprodução de precisão. 6º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada. Londrina, PR, Brasil 2014. p. 192.

[13] Siqueira LC, Oliveira JFCd, Loguércio RdS, Löf HK, Gonçalves PBD. Sistemas de inseminação artificial em dois dias com observação de estro ou em tempo fixo para vacas de corte amamentando. Ciência Rural. 2008.

[14] CBRA. Manual para exame andrológico e e avaliação de sêmen animal. 3 ed. Belo Horizonte, 2013.

[15] Bragança JFM, Bastos GdM, Oliveira JFCd, Borges LFK, Gonçalves PBD. Avaliação do emprego do eCG em um programa hormonal de indução/sincronização de estro e ovulação em novilhas de corte entre 12 e 14 meses de idade. Revista Brasileira de reprodução Animal. jan./mar ed. Belo Horizonte2013.

[16] Borges LFK, Ferreira R, Siqueira LC, Gonçalves PBD. Artificial insemination system without estrous observation in suckled beef cows. Ciência Rural. mar-abr ed. Santa Maria-RS-Brasil 2009.

[17] Loguercio RS. Regulação de receptores esteróides e dinâmica folicular em um sistema de indução hormonal pós-parto em vacas de corte. Santa Maria, RS. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Santa Maria-UFSM; 2005.

[18] Martins LHS, Dranca GdS, Souza APd, Tschonka JM, Portela VM, Neumann M, et al. Inseminação artificial com detecção de estro em em tempo fixo (IAEFT)de vacas Angus com cria ao pé com ou sem a adição de gonadotrofina coriônica equina(eCG) no protocolo hormonal. XX Encontro Anual de Iniciação Científica – EAIC. 20ª ed. Ponta Grossa–PR-Brasil 2011.

[19] Souza APd, Martins LHS, Dranca GdS, Pierobom CC, Quizini SMdC, Neumann M, et al. Desempenho reprodutivo de fêmeas Angus nulíparas e multíparas com cria ao pé, submetidas ao protocolo hormonal de inseminação artificial com detecção de estro e em tempo fixo (IAETF) com CIDR ou Sincrobovi. XX Encontro Anual de Iniciação Científica – EAIC. Ponta Grossa –PR 2011.

[20] Grundemann JT, Pavão VA, Kleinubing MF, Klein W, Silva, Oaigen RP, et al. Desempenho reprodutivo de três categorias de vacas de corte submetidas ao protocolo hormonal de inseminação artificial com detecção de estro e em tempo fixo - IAETF. I Mostra cientifica em buitatria e III workshop em bovinos. 1ª ed. Uruguaiana-RS-Brasil 2015. p. 105.

[21] Bó GA, Baruselli PS, Martínez MF. Pattern and manipulation of follicular development in Bos indicus cattle. Anim Reprod Sci. 2003;78:307-26.

[22] Abeygunawardena H, Dematawewa CM. Pre-pubertal and postpartum anestrus in tropical Zebu cattle. Anim Reprod Sci. 2004;82-83:373-87.

[23] Richardson BN, Hill SL, Stevenson JS, Djira GD, Perry GA. 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. 2016;166:133-40.

[24] Pfeifer LF, Castro NA, Melo VT, Neves PM, Cestaro JP, Schneider A. Timed artificial insemination in blocks: A new alternative to improve fertility in lactating beef cows. Anim Reprod Sci. 2015;163:89-96.

[25] Vasconcelos JLM, de Sa Filho OG, Cooke RF. Impacts of Reproductive Technologies on Beef Production in South America. Current and Future Reproductive Technologies and World Food Production. 2014;752:161-80.

[26] Gutierrez K, Kasimanickam R, Tibary A, Gay JM, Kastelic JP, Hall JB, et al. Effect of reproductive tract scoring on reproductive efficiency in beef heifers bred by timed insemination and natural service versus only natural service. Theriogenology. 2014;81:918-24.

[27] Ayres H, Ferreira RM, Torres-Júnior JR, Demétrio CG, Sá Filho MF, Gimenes LU, et al. Inferences of body energy reserves on conception rate of suckled Zebu beef cows subjected to timed artificial insemination followed by natural mating. Theriogenology. 2014;82:529-36.

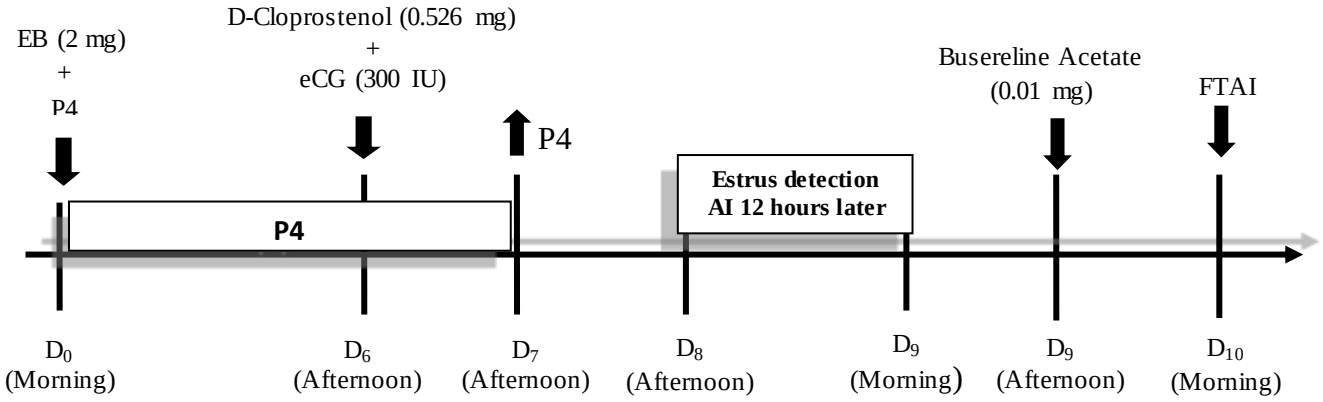

Fig. 1. Schematic representation of the fixed timed and estrus detection artificial insemination (FTEAI) hormonal protocol used for the synchronization and resynchronization of ovulation in heifers, nonlactating and lactating Angus (*Bos taurus*) and Brangus (*Bos taurus indicus*) cows. D, day; EB, estradiol benzoate; eCG, equine chorionic gonadotropin; IU, international units; P4, progesterone; AI, artificial insemination; FTAI, fixed timed artificial insemination.

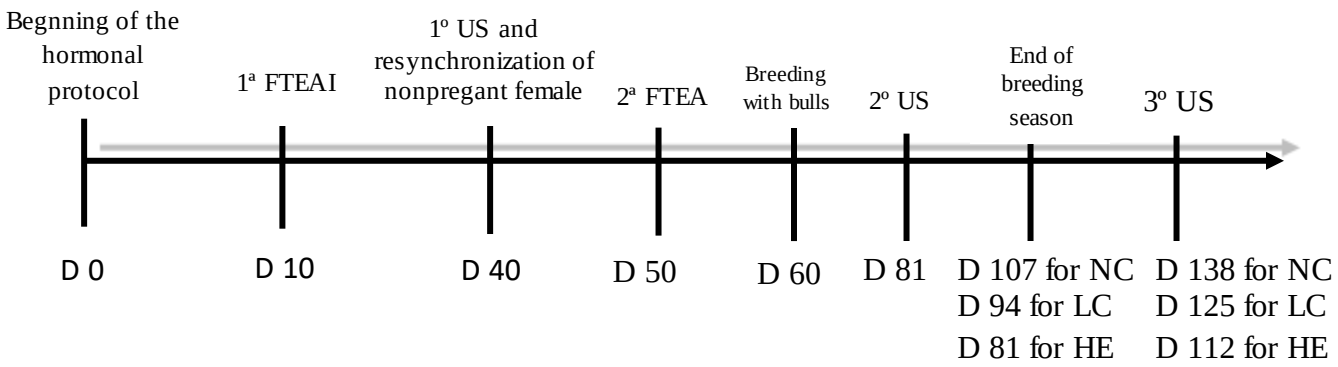

Fig. 2. Experimental design used for synchronization and resynchronization (not pregnant at first synchronization) of ovulation to fixed timed and estrus detected artificial insemination (FTEAI) of heifers, nonlactating and lactating Angus (*Bos taurus*) and Brangus (*Bos taurus indicus*) cows, followed by a short breeding season with bulls. US, transrectal ultrasonography; D, day; NC, nonlactating cows; LC, lactating cows; HE, heifers.

Table 1

Rate of estrus in heifers, nonlactating and lactating beef cattle submitted to first (synchronization) and second (resynchronization) fixed time and estrus detection artificial insemination (FTEAI) hormonal protocol.

Female Category	Estrus at the 1º FTEAI (synchronization) % (N/N)	Estrus at the 2º FTEAI (resynchronization) % (N/N)
Heifers	52.9 (72/136)^{Bb}	82.0 (32/39)^{Aa}
Nonlactating cows	63.1 (65/103)^{A}	72.7 (24/33)^{A}
Lactating cows	24.4 (35/143)^{C}	25.0 (15/60)^{B}
Total	45.0 (172/382)^{b}	53.7 (71/132)^{a}

$^{A-C}$ Rates with different uppercase superscript letters within the same colunn were different ($P < 0.05$).

a-b Rates with different lowercase superscript letters within the same row were significantly different ($P < 0.05$).

Table 2

Rate of conception at the first (synchronization) and second (resynchronization) chance of heifers, nonlactating and lactating beef cattle submitted to the fixed time and estrus detection artificial insemination (FTEAI) hormonal protocol and cumulative final pregnancy rate of the breeding season after breeding with bulls.

		Synchronization			Resynchronization			Cumulative		
Female Category	No. total	Conception with estrus observation and AI, % (N/N)	Conception at the TAI, % (N/N)	Mean pregnancy rate at the 1º FTEAI, % (N/N)[1]	Conception with estrus observation and AI, % (N/N)	Conception at the TAI, % (N/N)	Mean pregnancy rate at the 2º FTEAI, % (N/N)[1]	Mean conception rate at the 1ª + 2ª FTEAI, % (N/N)	Mean conception rate from bulls, % (N/N)	Mean Pregnancy in the breeding season, % (N/N)
Heifers	136	75.0 (54/72)	67.1 (43/64)	71.3 (97/136)[Aa]	56.2 (18/32)[B]	28.5 (2/7)	51.2 (20/39)b	86.0 (117/136)	57.8 (11/19)[A]	94.1 (128/136)
Nonlactating cows	103	72.3 (47/65)	60.5 (23/38)	67.9 (70/103)[AB]	54.1 (13/24)[B]	44.4 (4/9)	51.5 (17/33)	84.4% (87/103)	50.0 (8/16)[AB]	91.2 (94/103)
Lactating Cows	143	74.2 (26/35)	52.7 (57/108)	58.0 (83/143)[B]	86.6 (13/15)[A]	51.1 (23/45)	60.0 (36/60)	83.2 (119/143)	20.8 (5/24)[B]	87.4 (125/143)
Total	382	73.8 (127/172)	58.5 (123/210)	65,4 (250/382)[a]	61.9 (44/71)	47.5 (29/61)	55,3 (73/132)[b]	84,5 (323/382)	40.6 (24/59)	90.8 (347/382)

Abbreviations: AI, artificial insemination. TAI, timed artificial insemination. FTEAI, fixed time and estrus detection artificial insemination.
[1] Includes post-estrus and fixed-time AI.
[A-C] Rates with different uppercase superscript letters within the same colunn were different ($P < 0.05$).
[a-b] Rates with different lowercase superscript letters within the same row and same parameter were different ($P < 0.05$).

Table 3

Rates of estrus and conception in heifers, nonlactating and lactating cows submitted to fixed time and estrus detection artificial insemination (FTEAI) hormonal protocol according to their body condition score (BCS) on Day 0.

Female Category	BCS[1]	Total N	Estrus N (%)	Conception[2] N (%)
Heifers	2.5	28	10 (35.7)^{B}	18 (64.2)
	3.0	72	39 (54.1)^{AB}	49 (68.0)
	3.5 to 4.0	36	23 (63.8)^{A}	30 (83.3)
Nonlactating cows	2.0 to 2.5	43	27 (62.7)	33 (76.7)^{A}
	≥ 3.0	59	38 (64.4)	36 (61.0)^{B}
Lactating cows	2.0 to 2.5	49	07 (14.2)^{B}	28 (57.1)^{AB}
	3.0	56	13 (23.2)^{B}	27 (48.2)^{B}
	≥ 3.5	34	15 (44.1)^{A}	26 (76.4)^{A}

$^{A-C}$ Rates with different uppercase superscript letters within the same column were different ($P < 0.05$).

[1] BCS on Day 0 of the FTEAI hormonal protocol; data from first AI (synchronization).

[2] Cumulative conception rates from estrus detected and timed AI.

Table 4

Effect of weight (Day 0; synchronization to first AI only) on estrus and conception rates of heifers submitted to fixed time and estrus detection artificial insemination (FTEAI) hormonal protocol.

Weight Scale[1]	Total[2] N	Estrus, N (%)	Conception[3], N (%)
< 295	64	42 (65.6)[A]	44 (68.7)
≥ 296	67	26 (38.8)[B]	50 (74.6)
Total	131	68 (51.9)	94 (71.7)

[A-C] Rates with different uppercase superscript letters within the same column were different ($P < 0.05$).

[1] Weight of heifers on Day 0 of the FTEAI hormonal protocol; data from first AI (synchronization).

[2] From a total of 136 heifers, 5 were excluded from this analysis.

[3] Cumulative conception rates from estrus detected and timed first AI.

5- CONCLUSÕES

- Novilhas, vacas desmamadas e vacas amamentando apresentam desempenho reprodutivo semelhante após a ressincronização com IAETF;
- A IAETF seguida de ressincronização possibilita atingir percentuais de prenhez acima de 80% em novilhas, vacas desmamadas e vacas amamentando, em um intervalo de 40 dias de estação de reprodutiva.

6- PERSPECTIVAS

- A IAETF associada a ressincronização poderá ser utilizada em maior escala, principalmente em sistemas de criação que buscam um maior numero de bezerros oriundo da IA;
- A realização de uma terceira IAETF, ou seja, segunda ressincronização deve ser investigada com o intuito de se obter resultados ainda maiores de prenhez e oriundos, exclusivamente, de IA;
- Estudos devem ser realizados com o intuito de diminuir os manejos do protocolo de IAETF sem reduzir significativamente o percentual de prenhez médio proporcionado por este programa de IA.

7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

ABEYGUNAWARDENA, H.; DEMATAWEWA, C. M. Pre-pubertal and postpartum anestrus in tropical Zebu cattle. **Anim Reprod Sci**, v. 82-83, p. 373-87, Jul 2004. ISSN 0378-4320. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15271467 >.

ANDRADE, B. H. et al. Eficiência do cipionato de estradiol e do benzoato de estradiol em protocolos de indução da ovulação sobre a dinâmica ovariana e taxa de concepção em fêmeas Nelores inseminadas em diferentes momentos. **Archives of Veterinary Science**, v. 17, 2012.

Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne-ABIEC. **Relatório Anual**: exportações brasileiras de carne bovina. Período : jan/2015 - dez/2015.

_____.**Relatório**: produção mundial de carne bovina. Período: 2005-2011. Brasil, 2011.

Associação Brasileira de Inseminação Artificial-ASBIA. **Relatório index**: Mercado de sêmen em 2014. Uberaba, MG-Brasil, 2014.

BARUSELLI, P. S. et al. Como otimizar a eficiência reprodutiva de programas de inseminação artificial e de transferência de embriões em bovinos: reprodução de precisão. In: **6º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada**, p. 192. Londrina, PR, Brasil, 2014.

_____. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrous beef cattle in tropical climates. **Anim Reprod Sci**, v. 82-83, p. 479-86, Jul 2004. ISSN 0378-4320. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15271474 >.

_____. History, evolution and perspectives of timed artificial insemination programs in Brazil. **Animal Reproduction**, v. 9, n. 3, p. 139-152, Jul-Sep 2012. ISSN 1806-9614. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000322438300004 >.

BELLOSO, E. S. et al. Improvement of reproductive performance in crossbred zebu anestrous primiparous cows by treatment with norgestomet implants or 96 h calf removal. **Theriogenology**, v. 57, n. 5, p. 1503-1510, Mar 15 2002. ISSN 0093-691X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000175816500010 >.

BORGES, L. F. K. et al. Artificial insemination system without estrous observation in suckled beef cows. **Ciência Rural**.v. 39. Santa Maria-RS-Brasil, 2009.

BRAGANÇA, J. F. M. et al. Avaliação do emprego do eCG em um programa hormonal de indução/sincronização de estro e ovulação em novilhas de corte entre 12 e 14 meses de idade. **Revista Brasileira de reprodução Animal**. Belo Horizonte. v.37, 2013.

BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S.; MARTINEZ, M. F. Pattern and manipulation of follicular development in Bos indicus cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 78, n. 3-4, p. 307-326, Oct 15 2003. ISSN 0378-4320. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000185268900011 >.

_____. IATF en novillas: dificultades y soluciones. In: **6º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada**, p.192, Londrina-PR-Brasil, 2014.

_____. Technologies for fixed-time artificial insemination and their influence on reproductive performance of Bos indicus cattle. **Soc Reprod Fertil Suppl**, v. 64, p. 223-36, 2007. ISSN 1747-3403. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17491150 >.

_____. Alternative programs for synchronizing and resynchronizing ovulation in beef cattle. **Theriogenology**, v. 86, n. 1, p. 388-96, Jul 2016. ISSN 1879-3231. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27180326 >.

CAMPOS, J. T. et al. Resynchronization of estrous cycle with eCG and temporary calf removal in lactating Bos indicus cows. **Theriogenology**, v. 80, n. 6, p. 619-623, Oct 1 2013. ISSN 0093-691X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000323857200009 >.

CHEBEL, R. C. et al. Effect of resynchronization with GnRH on day 21 after artificial insemination on pregnancy rate and pregnancy loss in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v. 60, n. 8, p. 1389-99, Nov 2003. ISSN 0093-691X. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14519461 >.

COLAZO, M. G.; KASTELIC, J. P.; MAPLETOFT, R. J. Effects of estradiol cypionate (ECP) on ovarian follicular dynamics, synchrony of ovulation, and fertility in CIDR-based, fixed-time AI programs in beef heifers. **Theriogenology**, v. 60, n. 5, p. 855-65, Sep 2003. ISSN 0093-691X. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12935863 >.

_____. A review of current timed-AI (TAI) programs for beef and dairy cattle. **Can Vet J**, v. 55, n. 8, p. 772-80, Aug 2014. ISSN 0008-5286. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25082993 >.

COSTA E SILVA FILHO, P. P. et al. Effects of equine chorionic gonadotropin on follicular, luteal and conceptus development of non-lactating Bos indicus beef cows subjected to a progesterone plus estradiol-based timed artificial insemination protocol. **Italian Journal of Animal Science**, v. 12, n. 3, 2013 2013. ISSN 1594-4077.

CREPALDI, G. et al. Reproductive efficiency of Nelore females submitted to three consecutive FTAI programs with 32 days of interval between inseminations. In: REPRODUCTION, A., **28th Annual Meeting of the Brazilian Embryo Technology Society (SBTE)**, 2014, Natal, RN-Brazil. Jul./Sept. 2014. p.355.

BASTOS, G. M. et al. Hormonal induction of ovulation and artificial insemination in suckled beef cows under nutritional stress. **Theriogenology**, v. 62, n. 5, p. 847-53, Sep 2004. ISSN 0093-691X. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15251236 >.

DILL, M. D. et al. Technologies that affect the weaning rate in beef cattle production systems. **Trop Anim Health Prod**, Jun 2015. ISSN 1573-7438. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26048693 >.

DOROTEU, E. M.; OLIVEIRA, R. A. D.; PIVATO, I. Avaliação de diferentes doses de eCG na ressincronização da ovulação em vacas nelore lactantes submetidas à IATF. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**. v. 16, Salvador, Bahia- Brasil, 2015.

EDWARDS, S. A. A. et al. Comparison of the pregnancy rates and costs per calf born after fixed-time artificial insemination or artificial insemination after estrus detection in Bos indicus heifers. **Theriogenology**, v. 83, n. 1, p. 114-120, Jan 1 2015. ISSN 0093-691X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000346218400014 >.

FERNANDES, P. et al. Timed artificial insemination in beef cattle using GnRH agonist, PGF2alpha and estradiol benzoate (EB). **Theriogenology**, v. 55, n. 7, p. 1521-32, Apr 2001. ISSN 0093-691X. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11354711 >.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (2015), OECD-FAO **Agricultural Outlook 2015**. OECD Publishing Paris. Disponível em: http://dx.dai.org/10.1787/agi_outlook-2015-en

GALVÃO, K. N. et al. Evaluation of methods of resynchronization for insemination in cows of unknown pregnancy status. **J Dairy Sci**, v. 90, n. 9, p. 4240-52, Sep 2007. ISSN 1525-3198. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17699043 >.

GIORDANO, J. O. et al. Effect of increasing GnRH and PGF2α dose during Double-Ovsynch on ovulatory response, luteal regression, and fertility of lactating dairy cows. **Theriogenology**, v. 80, n. 7, p. 773-83, Oct 2013. ISSN 1879-3231. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23932174 >.

GIRALDO, J. J. G. Sincronización y resincronización de celos y de ovulaciones en ganado de leche y carne. **Revista Lasallista de Investigacíon**. Colômbia, 2008.

GRUNDEMANN, J. T. et al. Desempenho reprodutivo de três categorias de vacas de corte submetidas ao protocolo hormonal de inseminação artificial com detecção de estro e em tempo fixo - IAETF. In: **I Mostra cientifica em buitatria e III workshop em bovinos**,p.105, Uruguaiana-RS-Brasil. 2015.

IBGE-Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística-IBGE. ISSN 0101-4234. **Produção Pecuária Municipal**. Rio de Janeiro, v. 42, p.1-39, 2014.

KASIMANICKAM, R. et al. Fertility after implementation of long- and short-term progesterone-based ovulation synchronization protocols for fixed-time artificial insemination in beef heifers. **Theriogenology**, v. 83, n. 7, p. 1226-1232, Apr 15 2015. ISSN 0093-691X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000352170900016 >.

LAMB, G. C. et al. Control of the estrous cycle to improve fertility for fixed-time artificial insemination in beef cattle: a review. **J Anim Sci**, v. 88, n. 13 Suppl, p. E181-92, Apr 2010. ISSN 1525-3163. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19783709 >.

LOGUERCIO, R. D. S. **Regulação de receptores esteróides e dinâmica folicular em um sistema de indução hormonal pós-parto em vacas de corte**. 2005. 80 (Doutorado). Curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria-UFSM, Santa Maria, RS.

MACMILLAN, K. L.; BURKE, C. R. Effects of oestrous cycle control on reproductive efficiency. **Animal Reproduction Science**, v. 42, n. 1-4, p. 307-320, Apr 1996. ISSN 0378-4320. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1996UV51500031 >.

MARQUES, M. et al. Ressincronização em bovinos de corte. In: **5ª Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada**,p.240. Londrina-PR, Brasil. 2012.

MARTINS, L. H. S. et al. Inseminação artificial com detecção de estro em em tempo fixo (IAEFT)de vacas Angus com cria ao pé com ou sem a adição de gonadotrofina coriônica equina(eCG) no protocolo hormonal. In: **XX Encontro Anual de Iniciação Científica – EAIC**, 2011, Ponta Grossa–PR-Brasil. 20ª.

MARTÍNEZ, M. F. et al. Effects of oestradiol and some of its esters on gonadotrophin release and ovarian follicular dynamics in CIDR-treated beef cattle. **Anim Reprod Sci**, v. 86, n. 1-2, p. 37-52, Mar 2005. ISSN 0378-4320. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15721658 >.

MELLO, R. R. C. et al. Utilização da gonadotrofina coriônica equina (eCG) em protocolos de sincronização da ovulação para IATF em bovinos: revisão. **Revista Brasileira de Reprodução Animal.** Belo Horizonte-MG-Brasil. 38 2014.

MENCHACA, A. et al. Como mejorar la fertilidad de los tratamientos de IATF en vacas Bos taurus. In: **X Simpósio internacional de reproduccion Animal. IRAC**, 2013, Córdoba, Argentina, p.390.

MENEGHETTI, M. et al. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for Bos indicus cows I: Basis for development of protocols. **Theriogenology**, v. 72, n. 2, p. 179-189, Jul 15 2009. ISSN 0093-691X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000267609200004 >.

MENEGHETTI, M.; VASCOCELOS, J. L. M. D. Mês de parição, condição corporal e resposta ao protocolo de inseminação artificial emtempo fixo em vacas de corte primíparas. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 4, 2008.

Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento-MAPA. **Projeções do Agronegócio:** Brasil 2014/15 a 2024/25, projeções de longo prazo. 6º Edição, Brasil-2015.

MORAES, J. C. F.; JAUME, C. M.; SOUZA, C. J. H. D. Manejo reprodutivo da vaca de corte. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. Belo Horizonte-MG-Brasil, 2007.

NASH, J. M. et al. Comparison of long- versus short-term CIDR-based protocols to synchronize estrus prior to fixed-time AI in postpartum beef cows. **Anim Reprod Sci**, v. 132, n. 1-2, p. 11-6, May 2012. ISSN 1873-2232. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22560859 >.

PATTERSON, D. J. et al. Control of Estrus and Ovulation in Beef Heifers. **Veterinary Clinics of North America-Food Animal Practice,** v. 29, n. 3, p. 591-+, Nov 2013. ISSN 0749-0720. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000327680400010 >.

PESSOA, G. A. et al. Different doses of equine chorionic gonadotropin on ovarian follicular growth and pregnancy rate of suckled Bos taurus beef cows subjected to timed artificial insemination protocol. **Theriogenology**, v. 85, n. 5, p. 792-799, Mar 15 2016. ISSN 0093-691X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000370312100002 >.

PFEIFER, L. F. et al. Timed artificial insemination in blocks: A new alternative to improve fertility in lactating beef cows. **Anim Reprod Sci**, v. 163, p. 89-96, Dec 2015. ISSN 1873-2232. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26481047 >.

PITALUGA, P. C. S. F. et al. Manipulation of the proestrous by exogenous gonadotropin and estradiol during a timed artificial insemination protocol in suckled Bos indicus beef cows. **Livestock Science**, v. 154, n. 1-3, p. 229-234, Jun 2013. ISSN 1871-1413. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000319852200031 >.

PURSLEY, J. R.; MEE, M. O.; WILTBANK, M. C. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2alpha and GnRH. **Theriogenology**, v. 44, n. 7, p. 915-23, Nov 1995. ISSN 0093-691X. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16727787 >.

RICHARDSON, B. N. et al. 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, Mar 2016. ISSN 0378-4320. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000371189400017 >.

SÁ FILHO, O. G. et al. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for Bos indicus cows II: strategies and factors affecting fertility. **Theriogenology**, v. 72, n. 2, p. 210-8, Jul 2009. ISSN 1879-3231. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19344945 >.

SA FILHO, M. F. et al. Equine chorionic gonadotropin and gonadotropin-releasing hormone enhance fertility in a norgestomet-based, timed artificial insemination protocol in suckled

Nelore (Bos indicus) cows. **Theriogenology**, v. 73, n. 5, p. 651-658, Mar 15 2010. ISSN 0093-691X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000276750400013 >.

_____. Manejo reprodutivo estratégico e IATF em novilhas e vacas primíparas zebuínas de corte. In: **5º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada**, 2012, Londrina, PR, Brasil. p.243.

_____. Resynchronization with unknown pregnancy status using progestin-based timed artificial insemination protocol in beef cattle. **Theriogenology**, v. 81, n. 2, p. 284-290, Jan 15 2014. ISSN 0093-691X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000329591400014 >.

SALES, J. N. et al. Fixed-time AI protocols replacing eCG with a single dose of FSH were less effective in stimulating follicular growth, ovulation, and fertility in suckled-anestrus Nelore beef cows. **Anim Reprod Sci**, v. 124, n. 1-2, p. 12-8, Mar 2011. ISSN 1873-2232. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21376482 >.

SARTORI, R. et al. Las diferencias em la fisiologia de la reproduccíon entre Bos Taurus e Bos Indicus. In: **10° Simposio Internacional de Reproducción Animal**, 2013, Córdoba, Argentina. 1ª. p.390.

SEVERO, N. C. História da inseminação artificial no Brasil. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 39, Belo Horizonte, 2015.

SIQUEIRA, L. C. et al. Sistemas de inseminação artificial em dois dias com observação de estro ou em tempo fixo para vacas de corte amamentando. **Ciência Rural**, Santa Maria, Brasil, v. 38, 2008.

SOUZA, A. P. D. et al. Desempenho reprodutivo de fêmeas Angus nulíparas e multíparas com cria ao pé, submetidas ao protocolo hormonal de inseminação artificial com detecção de estro e em tempo fixo (IAETF) com CIDR ou Sincrobovi. In: **XX Encontro Anual de Iniciação Científica – EAIC,** 2011, Ponta Grossa –PR.

STEVENSON, J. S. et al. Resynchronization of estrus in cattle of unknown pregnancy status using estrogen, progesterone, or both. **Journal of Animal Science**, v. 81, n. 7, p. 1681-1692, Jul 2003. ISSN 0021-8812. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000186718100003 >.

TORRES, J. R. et al. A comparison of two different esters of estradiol for the induction of ovulation in an estradiol plus progestin-based timed artificial insemination protocol for suckled Bos indicus beef cows. **Anim Reprod Sci**, v. 151, n. 1-2, p. 9-14, Dec 2014. ISSN 1873-2232. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25308064 >.

VASCONCELOS, J. L. M.; DE SA FILHO, O. G.; COOKE, R. F. Impacts of Reproductive Technologies on Beef Production in South America. **Current and Future Reproductive Technologies and World Food Production**, v. 752, p. 161-180, 2014 2014. ISSN 0065-2598. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000332629700009 >.

_____. Intravaginal progesterone device and/or temporary weaning on reproductive performance of anestrous crossbred Angus x Nelore cows. **Animal Reproduction Science**, v. 111, n. 2-4, p. 302-311, Apr 2009. ISSN 0378-4320. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000263763700015 >.

YAVAS, Y.; WALTON, J. S. Postpartum acyclicity in suckled beef cows: a review. **Theriogenology**, v. 54, n. 1, p. 25-55, Jul 2000. ISSN 0093-691X. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10990346 >.