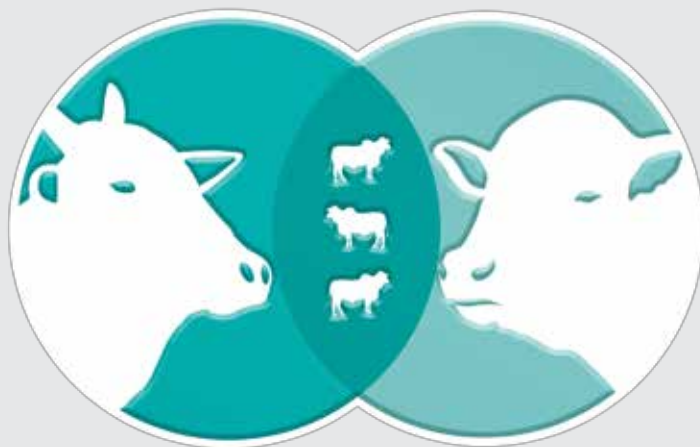




*7º Simpósio Internacional de
Reprodução Animal Aplicada*

O MAIS ESPERADO EVENTO DE REPRODUÇÃO ANIMAL APLICADA DO BRASIL

3 E 4 DE AGOSTO | TEATRO MARISTA | LONDRINA/PR

ORGANIZAÇÃO



COORDENAÇÃO CIENTÍFICA

Prof. Dr. Pietro Sampaio Baruselli
Prof. Dr. Marcelo Marcondes Seneda

PATROCINADOR



MSD é Merck Sharp & Dohme.



SUMÁRIO

1. MARKETING NO AGRONEGÓCIO.....	1
<i>José Luiz Tejon Megido</i>	
2.RENTABILIDADE DA PECUÁRIA BRASILEIRA: SOMOS COMPETITIVOS?.	2
<i>Alcides de Moura Torres Junior</i>	
3. PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS GENÉTICAS DE INTERESSE ECONÔMICO PARA SELEÇÃO DE BOVINOS DE CORTE.....	9
<i>Marcelo Almeida Oliveira</i>	
4. CONTRIBUIÇÃO DA GENÔMICA PARA O MELHORAMENTO GENÉTICO E PRODUTIVO DOS REBANHOS	17
<i>José Fernando Garcia</i>	
5. CUIDADOS SANITÁRIOS COM A MATRIZ E O BEZERRO	25
<i>Amauri Alcindo Alfieri</i>	
6. FISIOLOGIA DA REPRODUÇÃO: DIFERENÇAS ENTRE BOS INDICUS E BOS TAURUS QUE PODEM IMPACTAR A EFICIÊNCIA DAS BIOTECNOLOGIAS DA REPRODUÇÃO.....	34
<i>Marcelo Marcondes Seneda</i>	
7. TECNOLOGIAS PARA MELHORAR O AMBIENTE UTERINO, O DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO E A TAXA DE PRENHEZ EM BOVINOS.....	54
<i>Mario Binelli</i>	
8.PROBLEMAS METABÓLITOS QUE INFLUENCIAM A REPRODUÇÃO.....	68
<i>Roberto Sartori</i>	
9. ESTRATÉGIAS PARA REDUÇÃO DE PROBLEMAS UTERINOS.....	87
<i>Klibs N. Galvão</i>	
10. COMO MELHORAR A EFICIÊNCIA REPRODUTIVA EM VACAS LEITEIRAS.....	106
<i>Milo C. Wiltbank</i>	
11.O TRATAMENTO COM BST: ALÉM DA PRODUÇÃO DE LEITE.....	124
<i>Ricardo C. Chebel</i>	

12. PROTOCOLOS CURTOS PARA SINCRONIZAÇÃO DE BOVINOS: PODEMOS MELHORAR A TAXA DE PRENHEZ NA IATF E NA TETF?.....	140
<i>Gabriel A. Bó</i>	
13. SITUAÇÃO ATUAL, DESAFIOS E PERSPECTIVAS DA REPRODUÇÃO PRAGRAMADA EM BOVINOS DE CORTE E DE LEITE	163
<i>Pietro Sampaio Baruselli</i>	

MARKETING NO AGRONEGÓCIO SIGNIFICA A COMPREENSÃO DE SUAS NOVE TENDÊNCIAS:

José Luiz Tejon Megido

Núcleo de Estudos do Agronegócio da ESPM, São Paulo/SP

- 1 – Consciência de toda cadeia produtiva, indo desde a genética até a análise sensorial do consumidor final.
- 2 – Uma promoção educativa é fundamental para elevar o nível da adoção científica e tecnológica. A venda passa a ser inspiracional.
- 3 – Não estamos mais no negócio de carnes, estamos na era da saúde e nutrição.
- 4 – Ações de comunicação que transcendam à simples ótica da venda, do cliente alvo. Precisamos vender para o cliente do cliente.
- 5 – Diálogo constante e ininterrupto com os meios de comunicação. A construção da percepção de marca é tudo! Produto é o que se faz no campo, marca é o que se faz nas mentes.
- 6 – Profissionais formados independente de suas especialidades, com o conhecimento de estarem numa cadeia produtiva de valor.
- 7 – Pedagogia: Todos os profissionais se transformam em pedagogos, grandes educadores de clientes e de colegas de áreas coligadas.
- 8 – Espírito empreendedor e cooperativista.
- 9 – Saber contar as histórias das empresas, dos produtos, das categorias, das marcas e da sua própria profissão.

Marketing compreende satisfação do cliente com lucro, e no agronegócio o marketing já nasce na própria genética e acompanha o produto até sua percepção final pela sociedade. Entramos então na era da agrossociedade, acima do agronegócio. E, para isso é preciso superar, e superar significa criar valor a partir da sua própria vida, sob quaisquer circunstâncias. Valor quer dizer o bem, o belo e o útil.

Em síntese, a maior venda do mundo não está na venda do produto para o cliente, e sim em vender você para você mesmo. Isso representa aprender, aprender e aprender todos os dias; ensinar, ensinar e ensinar todos os dias... E sabendo fazer, acima de tudo.

A PECUÁRIA, SEUS CONTRASTES TECNOLÓGICOS, SEU RESULTADO E SUA COMPETITIVIDADE

Alcides de Moura Torres Junior

Coordenador das ações gerais da Scot Consultoria, Bebedouro/SP

O processo de tecnificação da pecuária está em curso. A seleção de produtores acontece na medida que o mercado “impede”, naturalmente, que os menos “profissionais” sigam produzindo.

O roteiro é conhecido. Ao longo dos anos, a disponibilidade de bovinos para reposição do rebanho que chegam à fazenda vão diminuindo. A porteira de madeira quebrada vira uma cancela de arame. O barracão sucateado vira um galpão. Por fim, a caminhonete do ano passa para uma seminova. E a venda de uma parte da fazenda para um “lavoureiro bem-sucedido” alivia a situação momentaneamente e garante mais alguns anos de sobrevida na atividade. Mas o ciclo de erros e falta de produtividade persistem, até que mais uma área de pasto vai embora. E assim vai diminuindo a quantidade de pecuaristas que “não levam a atividade a sério”.

Nesse processo, ficam os competentes, os que reverterem a situação, ou que se antecipam a ela.

Simulação 1 – resultado econômico de um sistema melhorado

A pecuária nacional está cheia de “contrastes financeiros”. Antes de considerar o custo de oportunidade, comparando o resultado da atividade com outras opções como a produção de grãos, vender os bois, arrendar a fazenda e ter a impressão de que a pecuária não é um bom negócio, seria importante repensar a operação.

Por exemplo, dois fazendeiros compraram bezerros em junho de 2014, com 210 quilos, pagando o preço da época em São Paulo, R\$1,0 mil por cabeça.

Um deles colocou esse bovino em um sistema que chamaremos de “sistema melhorado”, com suplementação mineral nas águas, suplementação proteica na seca, protocolo sanitário completo com vermifugação, vacina contra clostridiose, além da vacinação contra a febre aftosa. Com um custo médio mensal de R\$48,17/cabeça, o ganho de peso na recria e engorda ficará ao redor de 400g/dia.

Em outubro de 2016, depois de dois anos e três meses de fazenda, o boi estará pesando entre 537 e 552 quilos. Considerando a média deste peso (554,50kg) e

conseguindo 53,0% de rendimento no abate, serão entregues ao frigorífico 19,2@ arrobas de carcaça. Isso significou um custo médio de R\$125,19/@.

Agora, vendendo esse boi gordo por R\$160,00/@, valor que a BM&F Bovespa tem precificado os contratos de outubro, garante um lucro de quase R\$670,00 por cabeça e um retorno sobre o investimento (TIR) de 1,25% ao mês.

Veja a tabela 1. Para completar a simulação, consideramos os custos de arrendamento para eliminar as particularidades com custo fixo de cada propriedade. Na recria, o arrendamento ficou em R\$25,00/cabeça/mês e para engorda em R\$30,00.

Tabela 1.

Simulação de resultado da recria e engorda em São Paulo, com nível médio de tecnologia.

Peso de entrada na fazenda	210
Idade (meses)	7
Preço/cabeça com frete (R\$)	R\$ 1.060,00
Ganho de peso médio (kg)	0,407
Tempo de recria e engorda (meses)	28
Custo médio/mês *	R\$ 48,16
Custo total	R\$ 2.408,49
Peso de abate	544,5
Rendimento de carcaça	53%
Arrobas de carcaça	19,24
Custo/arroba	R\$125,19
Preço da arroba	R\$ 160,00
Receita	R\$ 3.078,24
Lucro	R\$ 669,75
TIR (% ao mês)	1,25%

* *suplementação proteica na seca, suplementação mineral nas águas, protocolo sanitário com vermifugação em maio, julho e setembro e vacinação contra clostridiose, mão de obra de R\$1500,00/colaborador e a proporção de 1 homem para 500 cabeças e arrendamento de R\$25,00 cabeça/mês na recria e R\$30,00/cabeça/mês na engorda.*

Fonte: Scot Consultoria – www.scotconsultoria.com.br

Simulação 2 – sistema menos tecnificado

Agora, o segundo pecuarista. Este colocou o mesmo bovino adquirido por R\$1,00 mil em um “sistema menos tecnificado”, sem suplementação de seca, suplemento mineral durante todo o ano, com uma vermifugação a menos que no sistema melhorado e sem vacinação de clostridiose.

Os demais parâmetros de custo foram mantidos iguais aos da primeira simulação.

Dessa vez, o custo de produção médio mensal, que era de R\$48,16 no sistema melhorado, caiu quase 18,0%, e ficou ao redor de R\$39,00.

Mas, sem proteinado na seca o ganho de peso nesse período foi nulo. Para efeito de simulação, fomos generosos nesse aspecto, já que não é incomum a perda de peso sem suplementação nessa época do ano. Se o ganho de 500 gramas/dia for mantido nas águas, então o desempenho médio de recria e engorda será de 260 gramas/dia.

Tudo isso faz com que esse boi chegue em outubro de 2017 a 18,2 arrobas de carcaça, considerando rendimento de 53,0%. Portanto, com um custo por arroba de R\$144,38.

Aqui vale voltar a tabela 1. Note que no sistema melhorado, mesmo desembolsando mais, com um custo médio mensal maior, a arroba custou 13,0% menos do que a do pecuarista “mais econômico”, sem contar que o abate aconteceu um ano antes e o boi era mais pesado. Ou seja, pode parecer estranho, porém fica claro que mais desempenho é igual a custo menor e mais economia – em insumos - é igual a custo maior.

Por fim, se na data de abate, outubro de 2017, o boi gordo deste sistema “mais fraco” for vendido por um preço 10,0% superior ao de um ano atrás, quando o bovino da simulação 1 foi abatido, o lucro por cabeça fica em R\$574,84 e a taxa de retorno ao mês (TIR) em 0,74%. Veja na tabela 2 a comparação dos resultados.

A última ressalva. A alta de 10,0% entre outubro de 2016 e outubro de 2017, que consideramos neste cálculo, é um cenário otimista, já que acreditamos que, no próximo ano, o mercado do boi gordo deverá entrar em uma fase de baixa do ciclo pecuário. Isso indica que a remuneração subirá menos que a inflação medida pelo IGP-DI, projetada ao redor de 6,0%.

Então, se arroba subir menos, acompanhar o IGP-DI de 6,0% até lá, a TIR será ainda menor para o sistema 2, em 0,53%

Tabela 2.

Comparação entre o resultado dos dois sistemas de produção.

	Sistema 2 menos tecnificado	Sistema 1 melhorado	Comparação (sistema 1 x sistema 2)
Peso de entrada na fazenda (kg)	210	210	-
Idade	7	7	-
Preço/cabeça (R\$)	R\$ 1.060,00	R\$ 1.060,00	-
Ganho de peso médio (kg)	0,260	0,407	56,59%
Tempo de recria e engorda (meses)	40	28	-30,00%
Custo médio/mês	R\$ 39,12 *	R\$ 48,16	23,12%
Custo total	R\$ 2.624,66	R\$ 2.408,49	-8,24%
Peso vivo de abate (kg)	514,50	544,5	5,83%
Rendimento de carcaça	53%	53%	
Arrobas de carcaça	18,18	19,24	5,83%
Mês do abate	Outubro de 2017	Outubro de 2016	1 ano a menos de fazenda
Custo/arroba	R\$144,38	R\$125,19	-13,29%
Preço da arroba	R\$ 176,00	R\$ 160,00	-9,09%
Receita	R\$ 3.199,50	R\$ 3.078,24	-3,79%
Lucro	R\$ 574,85	R\$ 669,75	16,51%
TIR (% ao mês)	0,72%	1,25%	74,21%

* Suplementação mineral o ano todo, protocolo sanitário com vermifugação em maio e setembro, mão de obra de R\$1500,00/colaborador e a proporção de 1 homem para 500 cabeças e arrendamento de R\$25,00 cabeça/mês na recria e R\$30,00/cabeça/mês na engorda.

Fonte: Scot Consultoria – www.scotconsultoria.com.br

Conclusão das simulações

As duas simulações explicam qual é, na maioria das vezes, a origem da falta de competitividade de fazendas “ruins” de pecuária. Primeiro, olhando para o custo mensal quase 20,0% menor no sistema “mais barato”, é comum este ganhar a preferência do pecuarista e isso conduzi-lo, sem que ele saiba, para a exclusão da atividade.

A busca pelo menor custo, pela mínima aplicação de tecnologia, dá a sensação imediata de alívio no bolso, mas penalizará, no final do ciclo de produção, todo o sistema.

O pecuarista “ruim” opta, na hora da compra, por gastar ao redor de R\$6,00/dia/boi com suplementação mineral o ano todo, ao invés de oferecer um produto

adequado à seca que custe quatro vezes mais nestes meses, mesmo que isso lhe garanta um retorno 74,21% maior (TIR - tabela 2). Aliás, este tipo de produtor normalmente não sabe mensurar o ganho em desempenho e em resultado econômico de qualquer tecnologia.

Um estudo recente realizado pela Scot Consultoria, a partir dos dados de consumo de suplemento mineral fornecidos pela Associação Brasileira de Suplementação Mineral (Asbram), chegou a conclusão de que o volume total vendido destes produtos seria suficiente para suplementar, se fosse utilizado a recomendação correta por cabeça, apenas um terço do rebanho bovino nacional.

Embora esse dado trate de um setor específico, o de nutrição, é um indicador de que, de forma geral, há um espaço considerável para aplicação de tecnologia e, portanto, para ganhos de desempenho, produtividade e competitividade.

Rentabilidades

Agora que tratamos da diferença de resultado e competitividade dentro da pecuária, - e não se trata de diferenças regionais ou estaduais, vizinhos de cerca passam por isso, enquanto um é excluído da atividade o outro compra mais terra - vamos subir no mourão esticador mais alto que existe na fazenda e olhar ao redor, para as outras atividades.

Para isso, usaremos as rentabilidades que a Scot Consultoria calcula, desde 2005, ao final de cada ano, para as atividades agrícolas e pecuárias nos doze meses anteriores.

A rentabilidade indica a remuneração do capital investido. Em termos práticos, é obtida dividindo o lucro pela soma de todos o investimento, inclusive o preço da terra.

Para a pecuária, especificamente, desde que criamos o modelo, há mais de dez anos, adotamos dois níveis de tecnologia diferentes, que chamamos de **baixa tecnologia** e **aplicação crescente de tecnologia**, nos sistemas de cria, recria e engorda e ciclo completo.

Adotamos que a diferença entre cada nível tecnológico é, basicamente, a utilização de insumos e isso influencia os índices zootécnicos, como lotação de pastagem, produção de arrobas por hectare, etc..

No nível tecnológico mais alto, por exemplo, em 1,5 mil hectares colocamos 3,22 mil bovinos, uma lotação média no ano de 2,1 UA/ha. No sistema menos tecnificado, a fazenda suporta 750 bovinos na mesma área, lotação de 0,5 UA/ha.

Estes modelos são alimentados, anualmente, com os preços médios de insumos, de terras e de bovinos de São Paulo, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Minas Gerais, referentes ao período analisado.

Para os grãos e cana-de-açúcar, culturas que iremos confrontar os resultados com os da pecuária, já que foram as atividades que mais avançaram sobre as áreas de pastagem, usaremos os custos de produção e a produtividade que são divulgadas pela Companhia Nacional de Abastecimento (Conab), no caso de grãos, e para a cana, os dados da Associação Rural dos Fornecedores e Plantadores de Cana da Média Sorocabana (Assocana).

Os preços de terras com grãos, com cana-de-açúcar e com pastagem é um levantamento da Scot Consultoria.

Veja os resultados acumulados na tabela 3.

Tabela 3.
Rentabilidades.

ÍNDICES / INVESTIMENTOS	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
Poupança	8,16%	9,18%	8,33%	7,70%	7,89%	5,81%	6,90%	7,50%	6,5%	5,8%	7,02%	7,94%
AGRICULTURA												
Agricultura anual - soja e milho	4,38%	3,80%	-4,61%	2,45%	0,48%	3,98%	2,79%	6,30%	7,00%	3,51%	2,49%	3,02%
Arrendamento em regiões de cana	6,50%	5,50%	4,80%	2,17%	1,69%	4,66%	5,83%	7,25%	6,59%	7,62%	4,55%	4,50%
Produção e fornecimento de cana	4,73%	5,20%	3,96%	1,73%	-1,30%	-3,67%	1,41%	7,30%	2,40%	1,27%	-1,39%	-0,35%
PECUÁRIA												
Ciclo completo - baixa tecnologia	1,50%	0,72%	-1,23%	-1,36%	0,62%	0,89%	1,11%	1,45%	1,06%	1,03%	2,25%	2,81%
Ciclo Completo - aplicação crescente de tecnologia	4,70%	2,50%	1,56%	1,84%	3,61%	4,82%	5,76%	6,50%	5,27%	5,32%	8,65%	8,79%
Cria - baixa tecnologia	0,45%	-2,89%	-2,01%	-2,06%	-2,27%	-1,43%	-1,38%	-1,48%	-1,54%	-1,53%	-1,11%	-0,97%
Cria - aplicação crescente de tecnologia	0,80%	-0,24%	-0,31%	-0,02%	0,73%	1,31%	1,62%	1,88%	1,37%	1,41%	2,71%	3,33%
Recria e engorda - baixa tecnologia	4,20%	1,35%	-0,03%	0,10%	-0,42%	-0,39%	-0,01%	0,42%	0,11%	0,12%	0,74%	0,40%
Recria e engorda - aplicação crescente de tecnologia	6,80%	6,11%	3,17%	3,55%	2,75%	3,44%	5,07%	6,53%	5,35%	5,33%	8,45%	6,19%

Fonte: Scot Consultoria – www.scotconsultoria.com.br

Note na tabela o quanto a pecuária, grande transferidora de área para outras culturas nos últimos anos, pode ser competitiva em níveis maiores de produtividade.

Se considerarmos um pecuarista de ciclo completo, que tenha entrado na atividade em 2004, no nível tecnológico mais alto destas simulações, de lá para cá, ele acumula rentabilidade média de 5,23%, a maior dentro deste intervalo apresentado na tabela 3.

O problema de competitividade, de rentabilidade, muitas vezes não está na atividade pecuária, está no pecuarista.

Se for para aprofundar ainda mais na comparação, saindo dos cálculos e entrando nas particularidades, imaginem um cenário de seca forte. A lavoura plantada quebrará. A redução de produtividade vira custo para o agricultor.

Para o pecuarista, que no mesmo ano teve a capacidade de suporte da pastagem reduzida pela metade em função da falta de chuvas, é só vender a boiada. Bom ou ruim, é possível capitalizar. Ou seja, o risco da pecuária é, significativamente, menor.

Final

Diante de todo o exposto é possível ver, entender, e usar números para comprovar que, definitivamente, a atividade pecuária é competitiva, desde que seja trabalhada da mesma forma que o agricultor faz com a lavoura, no mais alto nível tecnológico possível.

PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS GENÉTICAS DE INTERESSE ECONÔMICO PARA SELEÇÃO DE BOVINOS DE CORTE

Marcelo Almeida Oliveira

Msc. Medicina Veterinária, Gerente executivo Cia de Melhoramento, PRO – Produção Profissional, São José do Rio Preto/SP

Introdução

Em se tratando de seleção para características de interesse econômico, é importante que assuma-se como premissa que as características selecionadas, bem como os resultados econômicos decorrentes delas, devam ser tangíveis, portanto mensuráveis. Mesmo atendendo esta pré-condição, existe uma enorme dificuldade de se delinear um modelo econômico capaz de quantificar o impacto econômico de uma única característica, ou a combinação delas (Índices de Seleção), no resultado financeiro de um sistema de produção.

É preciso considerar que diferentes características selecionadas frequentemente apresentam interação, positiva ou negativamente, para efeitos diretos e também para efeitos correlatos. Assim, qualquer avaliação econômica deve manter uma visão holística do sistema de produção. Outro aspecto importante a ser considerado são os inúmeros sistemas de produção encontrados na pecuária nacional. Os sistemas de produção variam do extremo da intensificação ao extensivo extrativista, cujas peculiaridades implicam em biótipos animais específicos.

Na busca pela rentabilidade o produtor mira em alvos móveis. A dinâmica do mercado (Demanda, Oferta, Preço, Tendências) modifica os cenários com velocidade muito superior a sua capacidade de planejamento. Tal comportamento pode ser observado, por exemplo, comparando o intervalo entre gerações do bovino frente as variações no preço da arroba dentro deste período.

Assim, os programas de melhoramento visam resultados a médio e longo prazo, estabelecem linhas de seleção na busca de animais mais eficientes de acordo com a sua própria filosofia de seleção, muitas vezes orientados por um índice de seleção, que embora empírico reúne vivências, experiências e a visão de futuro da atividade. Os aspectos aqui apresentados representam a visão de um grupo de trabalho que utiliza o melhoramento genético animal como ferramenta para incremento dos resultados zootécnicos e financeiros das empresas que o compõem.

Crescimento

O peso é uma expressão de eficiência de crescimento. Certamente, esta é a característica que mais atrai a atenção dos criadores e selecionadores, muito provavelmente pelo sistema de remuneração preponderante e secularmente adotado pela indústria frigorífica em nosso país, completamente pautado no peso da carcaça.

A seleção direta para peso, é inegavelmente eficiente. Uma vez aplicada, os resultados aparecerão, todavia esta característica apresenta uma forte correlação com o tamanho adulto dos animais, cujo efeito direto é o maior consumo de alimentos (McMillan *et al.* 1992) e por conseguinte o aumento no custo de produção. Assim, em uma análise mais detalhada, os benefícios logrados em um determinado período pelo incremento no ganho de peso, podem ser subtraídos pelo maior custo de produção nas gerações subsequentes.

A seleção para crescimento deve considerar o sistema de produção e a disponibilidade de alimentos disponíveis, bem como os gargalos enfrentados em cada ambiente de produção. JENKINS e WILLIAMS (1994) demonstraram em trabalho desenvolvido no Clay Ceter, Nebraska - EUA, uma forte interação genótipo-ambiente, onde a classificação de raças por eficiência biológica (gramas de bezerro desmamado por kg de consumo de matéria seca por vaca exposta por ano), sofreu grande alteração quando raças de diferentes méritos genéticos para peso adulto, taxa de ganho pós desmame, produção de leite e relação de músculo/ gordura na carcaça, foram submetidas a diferentes ambientes, em termos de disponibilidade de alimentos. Em ambientes de baixa disponibilidade de alimentos as raças caracterizadas como moderadas em tamanho e produção leiteira foram mais eficientes. À medida que o ambiente foi alterado para maior disponibilidade de alimentos, as raças comparadas tornaram-se semelhantes em termos de eficiência produtiva.

Diferentes maneiras são utilizadas na expressão dos valores genéticos para crescimento: quilos, dias, alvo (kg). O mais importante é entender o que há por trás destas unidades e as motivações técnicas que justifiquem o seu emprego. Por exemplo, a Diferença Esperada na Progênie (DEP) para peso ao desmame expressa o diferencial em quilos da progênie de um referido animal em relação a uma idade padrão e uma base genética. Portanto, mede a quantidade, enquanto a DEP dias para ganhar 160 Kg, mede a velocidade (tempo) que a progênie de um determinado indivíduo leva para ganhar 160 quilos, a partir do nascimento, isolando inclusive o próprio peso de nascimento. Aparentemente parece haver muita semelhança entre os dois modelos, mas

conceitualmente estamos tratando de metodologias baseadas em modelos distintos, o aritmético (DEP kg) e modelo harmônico (DEP dias).

Como exemplo, suponhamos que no mesmo grupo contemporâneo três progênies para cada um dos dois touros **A** e **B** (Tabela 1). As médias de ganho médio diário no período pós-desmame (GMD) dos dois grupos de progênies são as mesmas e, se todos os outros fatores forem iguais, as DEP's dos dois touros também serão iguais. Transformando-se o GMD em D240, a diferença entre os touros torna-se visível. Para produzir as mesmas unidades de mercado, cada progênie do touro **A** terá que permanecer, em média, 90,5 dias a mais no pasto ou sob suplementação, que as do touro **B**.

Tabela 1. Médias das progênies de dois touros avaliados para ganho diário pós-desmame (GMD) e dias para ganhar 240 kg da desmama ao ponto final (D240).

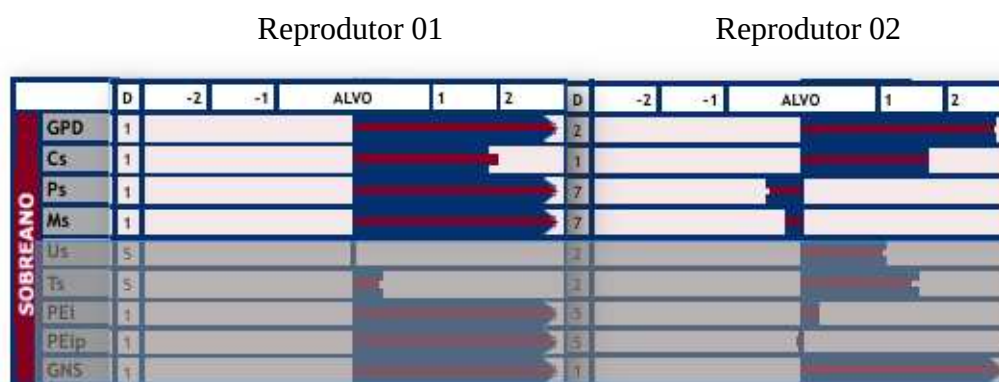
TOUROS	PROGÊNIES			
	GMD	MÉDIA GMD	D240	MÉDIA D240
A	1,100	0,700	218,18	453,68
	0,700		342,86	
	0,300		800,00	
	0,900		266,67	
B	0,700	0,700	342,86	363,18
	0,500		480,00	
B-A		0,000		-90,50

A diferença produtiva entre indivíduos com média aritmética idêntica utilizado no exemplo hipotético por FRIES, (2003) reforça a tese da aplicação de modelos harmônicos como meio para se identificar animais com superioridade genética e progênies uniformes, concordando com esta aplicação de modelos harmônicos temos CARVALHEIRO et al. (2001) e MUNIZ et al. (2001).

Composição de Peso

A informação de peso isoladamente não é capaz de direcionar o biótipo do animal selecionado. Portanto, animais com valores genéticos idênticos podem apresentar uma composição de peso diametralmente opostas, variando do precoce ao tardio, do musculoso ao descarnado. Muito mais do que apenas a diferença no valor genético, esta composição de peso pode limitar o desempenho em determinados ambientes e sistemas de produção.

Figura 1 – Representação gráfica em desvios padrão do valor genético de dois reprodutores, com diferenças extremas para os valores de Precocidade de terminação ao sobreano (Ps) e Musculosidade ao sobreano (Ms).



Em busca da maior eficiência no processo de seleção, priorizando animais com uma melhor composição de peso (maior composição cárnea em relação à estrutura da carcaça), bem como manter ou aprimorar a capacidade de terminação de carcaça da população selecionada, alguns programas de melhoramento genético animal (MGA) utilizam-se de escores visuais. Estes, transformados em valores genéticos, são ferramentas eficientes para coordenação de crescimento e biótipo. A grande maioria dos sistemas de avaliação por escores visuais são derivações e ou modificações do sistema Ankony (LONG, 1973).

Esta metodologia de trabalho não é novidade no MGA. Desde a década de 70, o PROMEBÓ – Associação Nacional de Criadores -Herd Book Collares, já se utilizava de avaliações visuais na avaliação genética de reprodutores. Contudo a popularização do emprego desta informação é mais recente, bem como o uso das informações genéticas para a eleição de recursos genéticos.

A adição de escores visuais pode trazer muita eficiência ao processo seletivo. O próprio ganho de peso pode ser potencializado pela adição de escores de musculatura ao índice de seleção, conforme demonstra KOCH et al., 2004. A precocidade de terminação, por outro lado, além da aplicação direta na qualidade de carcaça. Além disso, apresenta uma ação indireta na idade ao abate, diminuindo o ciclo de terminação, que usualmente opera com elevados custos, e também apresenta uma grande aplicação na moderação do peso adulto, pois animais de alta precocidade de terminação, estão normalmente associados a curvas de crescimento que desaceleram mais rapidamente.

Não por acaso, é uma das características mais importantes na determinação da precocidade sexual de fêmeas.

Precocidade Sexual

Segundo Fries, 2003 não existe desperdício maior na pecuária brasileira do que o trabalho perverso em duas mãos contra a precocidade sexual em fêmeas. Por uma via, elas são recriadas durante uma, duas ou mais estações secas, em altas lotações e em sistemas de mera sobrevivência ou manutenção cíclica do seu peso corporal e sem oportunidade de conceberem e, por outra via, um alto percentual das fêmeas nascidas são destinadas ao abate (talvez por serem de porte médio) sem nenhuma chance de demonstrar ou identificar as de maior precocidade sexual.

Embora *Fries* tenha profetizado há alguns anos, somente após os avanços da Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) é que pôde-se entender e explorar melhor o potencial da precocidade sexual em novilhas Precoces (Parto aos 30 meses) ou Super Precoces (Parto aos 24 meses), de acordo com o sistema de produção de cada rebanho, seja pelo ganho genético ou eficiência reprodutiva:

Ganho Genético – A massificação da Inseminação Artificial pela técnica de IATF possibilitou grande aumento no percentual de filhos de reprodutores provados. Na CIA de Melhoramento, o percentual de filhos de IA cresceu 60% na população em avaliação genética.

Eficiência Reprodutiva – O aperfeiçoamento dos protocolos para novilhas, bem como as estratégias de estimulação de novilhas pré-puberes, a maior aplicação de exames ginecológicos e diagnósticos precoces de gestação auxiliados por ultrassonografia, possibilitaram o aprimoramento do manejo reprodutivo nesta categoria animal. Especialmente, quando trata-se de desafios de precocidade sexual, onde a frequência diária de cios não é alta, o que inviabiliza a observação de cio e a performance dos reprodutores em monta natural não apresentam desempenho previsível. Com a evolução de ganho de peso, ganhos reais em qualidade e composição de carcaça e, principalmente, a massificação do uso reprodutores provados via IATF, a precocidade sexual aflorou nos rebanhos que participam dos programas de melhoramento genético animal e os resultados obtidos são muito promissores. Esta antecipação, aumenta a produção de bezerros na fazenda, pois antecipa o parto de uma categoria até então reprodutivamente improdutivo (Novilhas em recria) e adiciona mais ventres para trabalho, otimizando estrutura de custos já existente.

Atualmente, vários rebanhos operam com taxas de precocidade sexual acima de 50%. Nesta realidade, descortina-se um novo cenário produtivo, no qual a reposição do rebanho será feita apenas com novilhas precoce ou super precoce. Há indícios de que a estação reprodutiva de novilhas aos 24 meses em um futuro próximo será abandonada como sistema de produção, especialmente nas fazendas com esse perfil de trabalho. A característica da precocidade sexual vai ser fixada na população selecionada, pois os trabalhos científicos apontam herdabilidades médias a altas (0,43 a 0,70) para precocidade sexual. Tais valores são superiores àqueles encontrados nas características de crescimento e qualidade de carcaça, conforme descrevem os autores (Brinks, 1989; Eler, 2001; Silva, 2003).

Outro aspecto importante a ser considerado, é o efeito da precocidade sexual sobre a idade do rebanho e do peso médio das matrizes em reprodução. Ao intensificar os resultados de precocidade sexual, os efeitos sobre a idade média do rebanho são diretos e a proporção de fêmeas jovens (até 5 anos de idade) que usualmente representa 35% do rebanho, ultrapassa a marca de 50%.

Ainda no raciocínio de que menos pode ser mais, fêmeas precoce apresentam um efeito negativo, mas desejável, sobre o peso total alojado de matrizes em reprodução. Em média, estas fêmeas são 25% mais leves que as fêmeas em idade adulta, o que aumenta a eficiência do sistema, pois seus bezerros são apenas 8% mais leves que os bezerros filhos de vacas adultas.

Peso ao Nascimento

A diminuição da idade ao primeiro parto, suscita preocupações com o processo de parto. É sabido que nesta categoria a incidência de partos distócicos é maior do que nas demais categorias animais do rebanho, o que torna necessária e cada vez mais importante a observação da característica peso ao nascimento na escolha de reprodutores, especialmente aqueles utilizados sobre novilhas em desafio de precocidade sexual.

Para ter uma real dimensão das opções existentes no mercado, em uma análise de um sumário recém publicado da raça Nelore, entre os 100 primeiros reprodutores ordenados pelo índice Final desta publicação, encontramos:

IFinal	Deca 1 (PN)	Deca 10 (PN)
TOP 10	1	2
TOP 50	1	19
TOP 100	5	27

O todo - Eficiência Reprodutiva

As características ligadas à reprodução possuem o maior impacto econômico no sistema de produção, suplantam com larga vantagem as características de crescimento e qualidade de carcaça. Contudo, o viés frigorífico ocupa a maior parcela dos esforços seletivos empregados.

A percepção do produtor envolvido com a cria é muito maior para o peso do que para o desempenho reprodutivo, embora a maior parcela do resultado financeiro da atividade seja proveniente da eficiência reprodutiva do seu rebanho. Talvez, este seja o maior paradoxo da atividade pecuária.

É importante mencionar que a fertilidade é uma característica de baixa herdabilidade, portanto muito sujeita à condição ambiental, por causa e efeito do processo de lactação. A lactação resulta um dispêndio brutal de energia para a fêmea. Neste quadro de balanço energético desafiador e submetida a condições ambientais restritivas, a performance reprodutiva é diretamente afetada (Frisch & Vercoe, 1977; Taylor et Al., 1986). Em condições da pecuária nacional alguns autores relatam taxas de anestro de 75,5% em fêmeas multíparas de corte lactantes (1332 animais), avaliadas por ultrassonografia (Peres et al., 2011). Em alguns casos, atinge até 85% de não ciclicidade conforme outras publicações (Sales et al., 2011). Estas constatações nos levam a crer que o biótipo ideal de matrizes deverá ser determinado pelas condições ambientais disponíveis e o sistema de produção empregado, equilibrando oferta e demanda de alimentos, sobretudo para salvaguardar a performance reprodutiva do rebanho.

Índices de seleção

Produção e reprodução não estão necessariamente associadas, ou melhor este casamento só acontece por força de seleção. A complexidade do assunto nos conduz a necessidade de adotarmos, índices de seleção cada vez mais elaborados, cuidadosamente delineados, como forma de balancear e agrupar no mesmo animal, características regidas por grupamentos genéticos independentes, maximizando o ganho genético na população.

Referências Bibliográficas:

CARVALHEIRO, R.; MUNIZ, C. A. S. D.; QUEIROZ, S. A.; FRIES, L. A.. Estudo de simulação das relações entre a média aritmética, a média harmônica e o desvio-padrão do ganho médio diário de peso do nascimento ao desmame de bovinos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., 2001, Piracicaba. Anais... Piracicaba: SBZ, 2001. p.627.

FRISCH, J. E., and J. E. VERCOE. 1977. Food intake, eating rate, weight gains, metabolic rate and efficiency of feed utilization in *Bos taurus* and *Bos indicus* crossbred cattle. Anim. Prod. 25:343.-358

JENKINS; T.G.; WILLIAMS, C.B. Performance of different biological types with variable levels of feed availability. In: THE BEEF VANGUARD 1994 INTERNATIONAL CONGRESS, Buenos Aires, Novembro 1994, p. 29-36.

R. M. KOCH, L. V. CUNDIFF, K. E. GREGORY and L. D. Van VLECK. Genetic response to selection for weaning weight or yearling weight or yearling weight and muscle score in Hereford cattle: Efficiency of gain, growth, and carcass characteristics. In: Journal of Animal Science 2004 82: 3: 668-682.

LONG, R.A. El sistema de evaluación de Ankony y su aplicación en la mejora del ganado. Colorado: Ankony Corporation, 20p., 1973.

McMILLAN, W.H.; MORRIS, C.A.; McCALL, D.G. Modeling herd efficiency in live weight-selected and control Angus cattle. **Proceed. New Zealand Soc. Anim. Prod.**, v.52, p.145-147, 1992.

FRIES, L.A. : Genética para um sistema de produção de ciclo curto, I **Simpósio da carne bovina: Da produção ao mercado consumidor, São Borja, UFRGS/Cooperativa Tritícola Samborjense Ltda. 2003**

CONTRIBUIÇÃO DA GENÔMICA PARA O MELHORAMENTO GENÉTICO E PRODUTIVO DOS REBANHOS

José Fernando Garcia

Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal da Faculdade de Medicina
Veterinária, FMVA/UNESP, Araçatuba/SP
jfgarcia@fmva.unesp.br

Apesar do melhoramento genético ter seus fundamentos enraizados nos conceitos clássicos de genética quantitativa, o que permitiu sua correta aplicação de forma massiva em diferentes espécies animais e vegetais nas última décadas, a perspectiva poder acessar diretamente o repertório individual de variações no DNA dos indivíduos, e usar essa informação para selecioná-los de forma mais objetiva, sempre aguçou a mente dos mais progressistas desse setor.

O sufixo “ômico” designa conjunto. **Genômico** portanto significa o conjunto dos genes de um dado indivíduo. Cada **gene** por sua vez é uma região específica localizada dentro de um cromossomo e que carrega a mensagem cifrada nas combinações de nucleotídeos (A, T, C e G) que origina uma proteína com função predeterminada. Desses termos derivam **genoma** (conjunto completo de genes de um indivíduo), **genômica** (área do conhecimento que envolve a análise de todos os genes conjuntamente) e **projeto genoma** (iniciativa para decifrar o genoma de uma espécie).

Pode-se considerar que a genômica teve início em 1990 com o lançamento do **Projeto Genoma Humano** (Human Genome Project - HGP) (http://web.ornl.gov/sci/techresources/Human_Genome/index.shtml). Em 2001, o primeiro rascunho do genoma humano foi publicado (International Human Genome Sequencing Consortium et al., 2001), abrindo novas perspectivas para o desenvolvimento da genômica em praticamente todas as demais espécies biológicas.

No âmbito dos animais, o genoma bovino taurino foi um marco alcançado em 2009, com a publicação do **genoma de referencia** construído a partir de uma fêmea da raça Hereford (“Dominette”) (Elsik et al., 2009).

Desde então, os genomas de referência das principais espécies domésticas foram concluídos ou estão em fase final de conclusão (ovino, caprino, bubalino, equino, suíno, canino, salmonídeos e aves comerciais – frango e peru).

A importância de conhecermos os genomas das espécies de produção reside no fato de que só é possível entender como as variações do DNA afetam as características fenotípicas se possuímos um mapa com a localização detalhada dos genes dentro dos cromossomos. Portanto, o genoma de referência de uma espécie é nada mais nada menos que o mapa genético da mesma, sendo que os indivíduos da mesma espécie compartilham o mesmo mapa porém com pequenas variações que os diferem entre si. A isso se denomina **variabilidade genética**.

Para que fosse possível a leitura fácil, rápida e barata dessas variações entre os indivíduos, foram desenvolvidos os microarranjos de DNA (convencionalmente chamados de “chips de DNA”), que tem a capacidade de determinar o perfil genético individual para centenas de milhares de variações do tipo “single nucleotide polymorphism” (SNP). O primeiro “**SNP chip**” confeccionado para animais foi o BovineSNP50 (http://www.illumina.com/products/bovine_snp50_whole-genome_genotyping_kits.html) que constituiu a base do desenvolvimento da genômica no melhoramento genético, primariamente em bovinos da raça Holandesa e posteriormente em outras raças bovinas.

A **seleção genômica** nas raças leiteiras foi a primeira aplicação concreta do conhecimento genômico na pecuária, tendo sido oficialmente adotada pela raça Holandesa nos EUA em 2009. Os principais motivadores dessa adoção foram:

- i. o **alto custo de manutenção de touros jovens de raças leiteiras** até que as provas de suas filhas fossem produzidas;
- ii. o **alto valor agregado de uma fêmea leiteira**, que comportou os custos da nova tecnologia. Atualmente, grande parte do plantel da raça Holandesa norte americano é submetido a testes genômicos ainda nas fases jovens, o que impactou na velocidade do processo de melhoramento genético por causar diminuição do intervalo entre gerações e aumentar a acurácia na predição dos valores genéticos (PTA).

A incorporação da tecnologia genômica no melhoramento genético na raça Holandesa, imprimiu tanta agilidade e dinamismo no processo de avaliação genética, que permite hoje em dia a geração de PTAs semanalmente, em contraste com o que ocorria no passado, quando as avaliações eram publicadas uma vez ao ano! Atualmente, o Council on Dairy Cattle Breeding (CDCB) dos Estados Unidos leva a cabo o processo

de integração de dados de genealogia, fenotípicos e genotípicos para a geração de avaliações genômicas, o qual teve origem no Animal Improvement Programs Laboratory (AIPL) do USDA – ARS (<https://www.cdcb.us/News/News.htm>).

Diante desse cenário positivo apresentado pelas raças leiteiras taurinas, outras iniciativas para a aplicação da genômica começaram a ser desenvolvidas simultaneamente em bovinos de corte de raças taurinas. A raça Angus foi a primeira a incorporar a informação genômica nas suas avaliações genéticas, através da Angus Genetics Inc., uma subsidiária da American Angus Association (<https://www.angus.org/AGI/>).

A entrada da genômica no Brasil se deu somente a partir de 2013, através da raça Nelore e graças a iniciativas independentes de programas de melhoramento genético tradicionais no Brasil (<http://www.ancp.org.br/pagina/49/dep-auxiliada-pela-gena-mica#.V5fvvfHLOgA> e <http://www.deltagen.com.br/ceip.php>). Atualmente existem projetos visando a implantação da seleção genômica em raças leiteiras zebuínas e cruzadas (Girolando por exemplo), que entretanto ainda encontram-se em fase de testes (<https://www.embrapa.br/gado-de-leite/busca-de-projetos/-/projeto/34922/selecao-genomica-em-racas-bovinas-leiteiras-no-brasil>).

Para atender à crescente demanda de serviços analíticos em genômica, duas grandes empresas globais se estruturaram no Brasil: Pfizer (atualmente Zoetis) e Neogen/GeneSeek (com sua subsidiária brasileira Deoxi Biotecnologia). Essas empresas oferecem distintas ferramentas (“SNP chips” com diversas densidades de marcadores) que permitem a aplicação da genômica em várias frentes de trabalho tais como seleção genômica, testes de paternidade (para registro genealógico e/ou avaliação de touros em rebanhos multitouros), seleção assistida por marcadores, certificação de origem de produto, rastreabilidade individual, genômica funcional, entre outras.

Em resumo, o que se observa na pecuária bovina de corte e de leite no presente momento é a migração dos métodos tradicionais de seleção para aqueles assistidos pela informação genômica. Entretanto, enquanto pode-se afirmar a eficiência e sustentabilidade do uso massivo da genômica nas raças Holandesa e Angus, o mesmo ainda não pode ser dito sobre as demais raças bovinas.

Como razões para a menor massificação do uso da genômica em raças bovinas com menor população e/ou zebuínas e cruzadas, podem-se atribuir:

- i. a **baixa adoção das avaliações genéticas tradicionais** no dia-a-dia dos criadores;
- ii. o **baixo valor agregado individual do bovino de corte** (quando comparado a uma fêmea de leite), tornando o custo do processo genômico proibitivo quando aplicado em larga escala;
- iii. a **falta de informação dos usuários** sobre as possibilidades e os reais riscos, custos e benefícios da adoção da tecnologia.

Recentes desenvolvimentos tecnológicos e descobertas científicas tendem a facilitar a adoção da genômica de forma mais massiva em bovinos a partir de agora:

- iii. **integração das informações genômicas** usadas para paternidade, seleção genômica e assistida por marcadores em um único “SNP chip”;
- iv. **redução do custo da tecnologia** graças a competição entre empresas desenvolvedoras da tecnologia genômica;
- v. **aumento do poder informativo** graças ao uso de “SNP chips” com baixa densidade de marcadores (< 30.000 marcadores) e imputação para densidades maiores (> 700.000 marcadores);
- vi. **maior difusão do conhecimento** sobre as vantagens do uso da genômica;
- vii. desenvolvimento da **genômica funcional** para a seleção e melhoramento de características não avaliadas tradicionalmente em programas de melhoramento genético (qualidade da carne, resistência a parasitas, tolerância ao calor, eficiência alimentar, precocidade sexual, entre outras), através da exploração de dados de GWAS (estudo de associação genômica amplo), ROH (corridas de homozigose), assinaturas de seleção e até mesmo de mutações causais diretamente afetando os fenótipos.

O tripé que sustentará a genômica no campo à partir de agora é constituído por:

- i. **sustentabilidade econômica** (nenhum recurso deve ser investido sem a clareza do retorno do investimento);

- ii. **customização** (a genômica deve se adequar ao sistema produtivo e aos objetivos de cada negócio);
- iii. **diferenciação** (o emprego das ferramentas genômicas deve obrigatoriamente diferenciar o produto final – bezerro, touro, carne ou leite, consequentemente agregando-lhe valor).

Portanto, entendemos que a genômica do futuro em bovinos de corte e leite deverá ir muito além dos atuais modelos de seleção genômica apresentados pelas raças Holandesa e Angus, inserindo-se em diversos níveis da cadeia econômica da pecuária de forma integrada.

Literatura Recomendada:

AJMONE-MARSAN, P.; GARCIA, J. F.; LENSTRA, J. A.; THE GLOBALDIV CONSORTIUM. On the Origin of Cattle: How Arouchs Became Cattle and Colonized the World. *Evolutionary Anthropology*. v.19, p. 148-157, 2010.

BICKHART, D. M.; HOU, Y.; SCHROEDER, S. G.; ALKAN, C.; CARDONE, M. F.; MATUKUMALLI, L. K.; SONG, J.; SCHNABEL, R. D.; VENTURA, M.; TAYLOR, J. F.; GARCIA, J. F.; VAN TASSELL, C. P.; SONSTEGARD, T. S.; EICHLER, E. E.; LIU, G. E. Copy number variation of individual cattle genomes using next-generation sequencing. *Genome Research*, v. 22, p. 778-790, 2012.

BOETTCHER, P. J.; TIXIER-BOICHARD, M.; TORO, M.A.; SIMIANER, H.; EDING, H.; GANDINI, G.; JOOST, S.; GARCIA, D.; COLLI, L.; AJMONE-MARSAN, P.; GARCIA, J. F. Objectives, criteria and methods for using molecular genetic data in priority setting for conservation of animal genetic resources. *Animal Genetics (Print)*, v. 41, p. 64-77, 2010.

BOISON, S. A.; NEVES, H. H. R.; PÉREZ O'BRIEN, A. M.; UTSUNOMIYA, Y. T.; CARVALHEIRO, R.; DA SILVA, M. V. G. B.; SÖLKNER, J.; GARCIA, J. F. Imputation of non-genotyped individuals using genotyped progeny in Nellore, a *Bos indicus* cattle breed. *Livestock Science (Print)*, v. 1, p. 1, 2014.

CARVALHEIRO, ROBERTO; BOISON, SOLOMON A.; NEVES, HAROLDO H. R.; SARGOLZAEI, MEHDI; SCHENKEL, FLAVIO S.; UTSUNOMIYA, YURI T.; O'BRIEN, ANA MARIA PÉREZ; SÖLKNER, JOHANN; MCEWAN, JOHN C.; VAN TASSELL, CURTIS P.; SONSTEGARD, TAD S.; GARCIA, JOSÉ FERNANDO. Accuracy of genotype imputation in Nelore cattle. *Genetics Selection Evolution*, v. 46, p. 69, 2014.

ELSIK, C. G.; TELLAM, R. L.; WORLEY, K. C.; GIBBS, R. A.; MUZNY, D. M.; WEINSTOCK, G. M.; ADELSON, D. L.; EICHLER, E. E.; ELNITSKI, L.; GUIGO, R.; HAMERNIK, D. L.; KAPPES, S. M.; LEWIN, H. A.; LYNN, D. J.; NICHOLAS, F. W.; REYMOND, A.; RIJNKELS, M.; SKOW, L. C.; ZDOBNOV, E. M.; SCHOOK, L.; WOMACK, J.; ALIOTO, T.; ANTONARAKIS, S. E.; ASTASHYN, A.; CHAPPLE, C. E.; CHEN, H. C.; CHRAST, J.; CAMARA, F.; ERMOLAEVA, O.; HENRICHSEN, C. N.; HLAVINA, W.; KAPUSTIN, Y.; KIRYUTIN, B.; KITTS, P.; KOKOCINSKI, F.; LANDRUM, M.; MAGLOTT, D.; PRUITT, K.; SAPOJNIKOV, V.; SEARLE, S. M.; GARCIA, J. F. The Genome Sequence of Taurine Cattle: A Window to Ruminant Biology and Evolution. *Science (New York, N.Y.)*, v. 324, p. 522-528, 2009.

GIBBS, R. A.; TAYLOR, J. F.; VAN TASSELL, C. P.; BARENDSE, W.; EVERSOLE, K. A.; GILL, C. A.; GREEN, R. D.; HAMERNIK, D. L.; KAPPES, S. M.; LIEN, S.; MATUKUMALLI, L. K.; MCEWAN, J. C.; NAZARETH, L. V.; SCHNABEL, R. D.; WEINSTOCK, G. M.; WHEELER, D. A.; AJMONE-MARSAN, P.; BOETTCHER, P. J.; CAETANO, A. R.; GARCIA, J. F.; HANOTTE, O.; MARIANI, P.; SKOW, L. C.; SONSTEGARD, T. S.; WILLIAMS, J. L.; DIALLO, B.; HAILEMARIAM, L.; MARTINEZ, M. L.; MORRIS, C. A.; SILVA, L. O. C.; SPELMAN, R. J.; MULATU, W.; ZHAO, K.; ABBEY, C. A.; AGABA, M.; ARAUJO,

F. R.; BUNCH, R. J.; BURTON, J.; GORNI, C.; OLIVIER, H. O. et al. Genome-Wide Survey of SNP Variation Uncovers the Genetic Structure of Cattle Breeds. *Science* (New York, N.Y.), v. 324, p. 528-532, 2009.

GROENEVELD, L. F.; LENSTRA, J. A.; EDING, H.; TORO, M. A.; SCHERF, B.; PILLING, D.; NEGRINI, R.; FINLAY, E. K.; JIANLIN, H.; GROENEVELD, E.; WEIGEND, S.; GARCIA, J. F. Genetic diversity in farm animals - a review. *Animal Genetics* (Print), v. 41, p. 6-31, 2010.

INTERNATIONAL HUMAN GENOME SEQUENCING CONSORTIUM. Initial sequencing and analysis of the human genome *Nature* 409, 860-921 (15) 2001.

JOOST, S.; COLLI, L.; BARET, P. V.; GARCIA, J. F.; BOETTCHER, P. J.; TIXIER-BOICHARD, M.; AJMONE-MARSAN, P. Integrating geo-referenced multiscale and multidisciplinary data for the management of biodiversity in livestock genetic resources. *Animal Genetics* (Print), v. 41, p. 47-63, 2010.

LENSTRA, J. A.; GROENEVELD, L. F.; EDING, H.; KANTANEN, J.; WILLIAMS, J. L.; TABERLET, P.; NICOLAZZI, E. L.; SÖLKNER, J.; SIMIANER, H.; CIANI, E.; GARCIA, J. F.; BRUFORD, M. W.; AJMONE-MARSAN, P.; WEIGEND, S. Molecular tools and analytical approaches for the characterization of farm animal genetic diversity. *Animal Genetics* (Print), v. x, p. n/a-n/a, 2011.

LUDMILLA B. ZAVAREZ; YURI T. UTSUNOMIYA; ADRIANA S. CARMO; HAROLDO H. R. NEVES; ROBERTO CARVALHEIRO; MAJA FERENCAKOVIC; ANA M. PÉREZ O'BRIEN; INO CURIK; JOHN B. COLE; CURTIS P. VANTASSELL; MARCOS V. G. B. DA SILVA; TAD S. SONSTEGARD; JOHANN SÖLKNER AND JOSÉ F. GARCIA. Assessment of autozygosity in Nellore cows (*Bos indicus*) through high-density SNP genotypes. *Frontiers in Genetics*. v.6. Artigo 5. 2015.

NEVES, HAROLDO H. R.; CARVALHEIRO, ROBERTO; O'BRIEN, ANA M.; UTSUNOMIYA, YURI T.; DO CARMO, ADRIANA S.; SCHENKEL, FLÁVIO S.; SÖLKNER, JOHANN; MCEWAN, JOHN C.; VAN TASSELL, CURTIS P.; COLE, JOHN B.; DA SILVA, MARCOS V. G. B.; QUEIROZ, SANDRA A.; SONSTEGARD, TAD S.; GARCIA, JOSÉ F. Accuracy of genomic predictions in *Bos indicus* (Nellore) cattle. *Genetics Selection Evolution*, v. 46, p. 17, 2014.

PÉREZ O'BRIEN, ANA M.; UTSUNOMIYA, YURI T.; MÉSZÁROS, GÁBOR; BICKHART, DEREK M.; LIU, GEORGE E.; VAN TASSELL, CURTIS P.; SONSTEGARD, TAD S.; DA SILVA, MARCOS V. B.; GARCIA, JOSÉ F.; SÖLKNER, JOHANN. Assessing signatures of selection through variation in linkage disequilibrium between taurine and indicine cattle. *Genetics Selection Evolution*, v. 46, p. 19, 2014.

PÉREZ O'BRIEN, ANA M.; MÉSZÁROS, GÁBOR; UTSUNOMIYA, YURI T.; SONSTEGARD, TAD S.; GARCIA, JOSÉ F.; VAN TASSELL, CURTIS P.; CARVALHEIRO, ROBERTO; DA SILVA, MARCOS V. B.; SÖLKNER, JOHANN. Linkage disequilibrium levels in *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle using medium and

high density SNP chip data and different minor allele frequency distributions. *Livestock Science (Print)* , v. 1, p. 1, 2014.

SANTANA, M. H. A.; UTSUNOMIYA, Y. T.; NEVES, H. H. R.; GOMES, R. C.; GARCIA, J. F.; FUKUMASU, H.; SILVA, S. L.; LEME, P. R.; COUTINHO, L. L.; ELER, J. J.; FERRAZ, J. B. S. Genome-wide association study for feedlot average daily gain in Nellore cattle (*Bos indicus*). *Journal of Animal Breeding and Genetics* (1986),2014.

SANTANA, MIGUEL H. A.; UTSUNOMIYA, YURI T.; NEVES, HAROLDO H. R.; GOMES, RODRIGO C.; GARCIA, JOSÉ F.; FUKUMASU, HEIDGE; SILVA, SAULO L.; OLIVEIRA, GERSON A.; ALEXANDRE, PÂMELA A.; LEME, PAULO R.; BRASSALOTI, RICARDO A.; COUTINHO, LUIZ L.; LOPES, THIAGO G.; MEIRELLES, FLÁVIO V.; ELER, JOANIR P.; FERRAZ, JOSÉ B. S. Genome-wide association analysis of feed intake and residual feed intake in Nellore cattle. *BMC Genetics (Online)* , v. 15, p. 21, 2014.

UTSUNOMIYA, YURI T.; CARMO, ADRIANA S.; NEVES, HAROLDO H. R.; CARVALHEIRO, ROBERTO; MATOS, MÁRCIA C.; ZAVAREZ, LUDMILLA B.; ITO, PIER K. R. K.; PÉREZ O'BRIEN, ANA M.; SÖLKNER, JOHANN; PORTO-NETO, LAERCIO R.; SCHENKEL, FLÁVIO S.; MCEWAN, JOHN; COLE, JOHN B.; DA SILVA, MARCOS V. G. B.; VAN TASSELL, CURTIS P.; SONSTEGARD, TAD S.; GARCIA, JOSÉ F. Genome-Wide Mapping of Loci Explaining Variance in Scrotal Circumference in Nellore Cattle. *Plos One*, v. 9, p. e88561, 2014.

UTSUNOMIYA, YURI T.; DO CARMO, ADRIANA S.; CARVALHEIRO, ROBERTO; NEVES, HAROLDO H. R.; MATOS, MÁRCIA C.; ZAVAREZ, LUDMILLA B.; PÉREZ O'BRIEN, ANA M.; SÖLKNER, JOHANN; MCEWAN, JOHN C.; COLE, JOHN B.; VAN TASSELL, CURTIS P.; SCHENKEL, FLÁVIO S.; DA SILVA, MARCOS V. G. B.; PORTO NETO, LAERCIO R.; SONSTEGARD, TAD S.; GARCIA, JOSÉ F. Genome-wide association study for birth weight in Nellore cattle points to previously described orthologous genes affecting human and bovine height. *BMC Genetics (Online)*, v. 14, p. 52, 2013.

UTSUNOMIYA, YURI TANI; BOMBA, LORENZO; LUCENTE, GIORDANA; COLLI, LÍCIA; NEGRINI, RICCARDO; LENSTRA, JOHANNES ARJEN; ERHARDT, GEORG; GARCIA, JOSÉ FERNANDO; AJMONE-MARSAN, PAOLO. Revisiting AFLP fingerprinting for an unbiased assessment of genetic structure and differentiation of taurine and zebu cattle. *BMC Genetics (Online)*, v. 15, p. 47, 2014.

UTSUNOMIYA, YURI TANI; PÉREZ O BRIEN, ANA MARIA; SONSTEGARD, TAD STEWART; VAN TASSELL, CURTIS PAUL; DO CARMO, ADRIANA SANTANA; MÉSZÁROS, GÁBOR; SÖLKNER, JOHANN; GARCIA, JOSÉ FERNANDO. Detecting Loci under Recent Positive Selection in Dairy and Beef Cattle by Combining Different Genome-Wide Scan Methods. *Plos One*, v. 8, p. e64280, 2013.

CUIDADOS SANITÁRIOS COM A MATRIZ E O BEZERRO

Amauri A. Alfieri; Alice F. Alfieri

Laboratório de Virologia Animal, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva,
Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Londrina – UEL, Londrina/PR.

Na pecuária bovina a reprodução é um dos principais pilares de sustentação da atividade. A produção de bezerros (as) promove a manutenção e, principalmente, a expansão da atividade pecuária seja de corte ou de leite. Além do incremento quantitativo dos rebanhos, sem dúvida a reprodução é a principal ferramenta para o incremento qualitativo dos plantéis por meio do melhoramento genético dos animais sempre em busca de marcadores específicos que privilegiem cada um dos segmentos específicos de produção de proteína animal nobre seja a carne ou o leite e seus derivados.

Tão importante quanto a reprodução são as atividades envolvidas na criação de bezerros. Indubitavelmente, investir em biotécnicas da reprodução e em genética para a obtenção de mais e melhores produtos que após o nascimento são deixados aos cuidados da natureza sem dúvida alguma é no mínimo falta de razoabilidade e de bom senso. Ao nascerem os bezerros deixam um ambiente estéril, representado pelo útero materno, e vão para um ambiente com presença de micro-organismos de diversas classes (bactérias, vírus, fungos, parasitas), muitos dos quais com potencial patogênico. Ou seja, o desafio a que esses animais são submetidos é muito precoce. Agravando essa condição vale lembrar que o potencial de defesa contra micro-organismos patogênicos em animais neonatos ainda é débil. A maturidade do sistema imunológico dos bezerros é gradual atingindo a sua plenitude somente após 3 a 4 meses de idade.

Tanto no âmbito da reprodução quanto na criação de bezerros (as) aspectos relativos ao manejo, nutrição e sanidade são de fundamental importância para o sucesso da atividade pecuária. Nesse espaço iremos abordar reprodução e criação bezerros apenas e, principalmente, sobre a vertente sanidade. Contudo, não podemos deixar de destacar que essas três vertentes (manejo, nutrição e sanidade) são interdependentes e indissociáveis. Falhas de manejo e deficiências nutricionais apresentam reflexos

negativos imediatos e mediatos no perfil sanitário dessas duas categorias animal de rebanhos bovinos. O reverso também é verdadeiro, ou seja, boas práticas de manejo e nutrição impactam em reflexos positivos sobre o sistema imunológico animal.

Sanidade e o trato reprodutivo bovino

Infecções ocasionadas por bactérias e vírus podem comprometer tanto o trato reprodutivo da fêmea e do macho bovino quanto o conceito em qualquer uma das suas fases de desenvolvimento. Endometrites, ooforites, vulvovaginites, assim como balanopostite, são as consequências mais comuns ocasionadas por infecções do trato reprodutivo bovino. Outras possíveis formas de apresentação clínica em decorrência de infecções do trato reprodutivo são de menor frequência porém, são passíveis de ocorrerem.

Porém, as infecções que comprometem o trato reprodutivo da fêmea bovina são mais impactantes para o conceito. Na dependência do estágio gestacional e do agente etiológico pode ocorrer mortalidade embrionária precoce, culminando com repetições de cio a intervalos regulares; mortalidade embrionária tardia e repetição de cio a intervalo irregular; mortalidade fetal, com consequente abortamento, mumificação ou maceração fetal; natimortalidade e mortalidade neonatal. Esses sinais clínicos interferem diretamente na avaliação da eficiência reprodutiva de um rebanho por comprometerem negativamente alguns parâmetros como taxas de concepção, de prenhez aos 30 e aos 60 dias, de nascimento, de abortamento e de descarte por falhas na reprodução entre outros.

Aproximadamente 50% das falhas da reprodução na pecuária bovina podem ser consideradas de origem (etiologia) infecciosa. Infelizmente todas as possíveis formas de apresentação clínica relacionadas anteriormente podem ser comuns a mais de um tipo de micro-organismo. Com isso, a forma de apresentação do problema reprodutivo não possibilita que o diagnóstico clínico determine qual é o agente causador do problema constatado no rebanho. O diagnóstico conclusivo, que somente é possível por meio da determinação do agente etiológico, ou até mesmo de mais de uma etiologia simultaneamente envolvidos no problema, somente pode ser realizado por meio do diagnóstico laboratorial.

As metodologias empregadas em laboratório de diagnóstico podem ser classificadas como métodos ou técnicas de diagnóstico diretas ou indiretas. Os métodos de diagnóstico direto são aqueles nas quais o micro-organismo pode ser identificado por meio do seu isolamento e/ou visualização ou então pela detecção de seus componentes como proteínas ou do seu genoma. O diagnóstico indireto é realizado por meio da detecção de evidências de uma infecção passada ou até mesmo recente e ainda presente. Nesse caso, o objetivo é caracterizar a presença de anticorpos por meio de técnicas de sorologia. Assim como as técnicas de diagnóstico direto podem ser classificadas por meio da forma pela qual são fundamentadas como pela identificação direta do agente ou de partes dos agentes (proteínas / ácido nucléico) o diagnóstico indireto também pode ser classificado em diagnóstico sorológico qualitativo ou quantitativo.

Os métodos de diagnóstico sorológico qualitativo e quantitativo são de grande importância em medicina humana e em medicina veterinária. O médico veterinário deve conhecer as vantagens e desvantagens de cada teste frente às diferentes situações epidemiológicas e infecciosas que são passíveis de ocorrer nos mais variados tipos de rebanhos bovinos. Somente com esses conhecimentos será possível a opção por uma ou por outra estratégia.

As técnicas sorológicas qualitativas são aquelas nas quais os resultados são expressos apenas como positivo (reagente) ou negativo (não reagente), pois identificam a presença ou a ausência de anticorpos específicos contra um determinado antígeno. A outra estratégia de sorologia são os métodos considerados quantitativos. Esses métodos, além de identificarem a presença ou a ausência de um determinado anticorpo específico nas amostras de soros analisadas, possibilitam ainda a definição do título desse anticorpo. Ou seja, nas amostras positivas é possível determinar títulos e classificá-los em títulos basais, intermediários ou até mesmo altos títulos de anticorpos. Cada um desses métodos, seja qualitativo e ou quantitativo, tem os seus méritos e devem ser usados frente a situações específicas.

Para a maioria dos inquéritos soroepidemiológicos realizados em rebanhos bovinos para a definição da ocorrência de doenças infecciosas, particularmente aquelas de caráter endêmico, os métodos de diagnóstico sorológico qualitativo são suficientes. Também inclui-se nessa categoria aquelas doenças em processos de controle e, principalmente, de erradicação. Como exemplo, podemos citar a sorologia para Brucelose Bovina na qual é importante sabermos se o animal é reagente ou não reagente

uma vez que na primeira condição o animal deve ser eliminado do rebanho. Contudo, nas situações que objetivam a realização da avaliação da presença ou da circulação de um determinado micro-organismo em um rebanho a opção deve recair sobre um teste quantitativo, pois a análise dos títulos de anticorpos pode direcionar o diagnóstico para um determinado micro-organismo diferenciando dos títulos já pré-determinados nas situações de infecções endêmicas. Os métodos quantitativos também devem ser a primeira opção quando pretende-se realizar a identificação de anticorpos por meio de sorologia para um determinado agente infeccioso contra o qual o rebanho foi anteriormente vacinado.

Conhecer o perfil sorológico frente aos principais patógenos do trato reprodutivo dos rebanhos bovinos dos quais somos responsáveis pela gestão sanitária é uma condição *sine qua non* para o adequado desempenho da atividade. A avaliação do perfil sorológico pós-vacinal é outra situação onde a sorologia do rebanho, ou de categorias animais específicas que compõem o rebanho, destaca-se como importante ferramenta a ser utilizada no controle sanitário.

Vários micro-organismos patogênicos, incluídos em várias classes (bactérias, vírus, protozoários), podem ser responsáveis por falhas na reprodução na espécie bovina. Considerando principalmente a característica de endemicidade em praticamente todas as regiões geográficas brasileiras, indiferente de condições climáticas, solo, relevo, clima, manejo e tipo de criação (corte / leite) destacam-se três importantes doenças infecciosas da reprodução em bovinos. Duas são de etiologia viral (IBR e BVD) e uma de etiologia bacteriana (Leptospirose). Algumas características biológicas inerentes aos agentes etiológicos são as principais responsáveis pelo estabelecimento e pela manutenção dessas infecções nos rebanhos bovinos de forma endêmica.

Na IBR (*Infectious Bovine Rhinotracheitis* – Rinotraqueíte Infecciosa Bovina) o agente etiológico é o herpesvírus bovino 1. A principal característica biológica desse vírus é o estabelecimento de infecções latentes. Com isso, um animal infectado, mesmo após o desencadeamento de resposta imunológica celular e humoral, não consegue eliminar a infecção uma vez que o vírus (genoma viral) mantém-se de forma latente em células ganglionares. Ou seja, todo bovino infectado pelo herpesvírus bovino 1 deve ser considerado portador do vírus por toda a sua vida e, principalmente, potencial transmissor do vírus devido aos episódios recorrentes de saída de latência e reexcreção viral.

Na BVD (*Bovine Viral Diarrhea* – Diarreia Viral Bovina), o agente etiológico é o vírus da diarreia viral bovina que tem como principal característica de importância epidemiológica da infecção a probabilidade de ocorrência do nascimento de animais persistentemente infectados (PI) pelo vírus. Esses animais, denominados PI, eliminam o vírus por todas as secreções e excreções e, com isso, constituem o principal elo da cadeia epidemiológica da BVD.

Na Leptospirose Bovina, cujo principal agente etiológico é a *Leptospira hardjo*, a principal característica biológica é o estabelecimento de infecções crônicas. Com isso, um animal infectado pode eliminar a leptospira pela urina (leptospirúria), de forma intermitente, por vários meses ou até mesmo anos, sendo fonte de infecção para os outros animais do rebanho.

Em resumo, três características biológicas distintas inerentes aos agentes etiológicos (IBR-latência; BVD-infecção persistente; Leptospirose-infecção renal crônica) fazem com que essas três doenças infecciosas da reprodução estejam disseminadas no rebanho bovino nacional e destaquem-se como importantes doenças infecciosas na pecuária bovina tanto de corte quanto leiteira em todo o território brasileiro.

Considerando os aspectos epidemiológicos dessas três doenças infecciosas da reprodução, já bem caracterizados e até mesmo quantificados nos rebanhos bovinos brasileiros, assim como os fatores de risco envolvidos na ocorrência e/ou disseminação das infecções, o estabelecimento de condutas de controle e profilaxia é um importante passo para podermos atingir parâmetros satisfatórios e desejáveis de eficiência reprodutiva na pecuária bovina.

Contudo, as taxas de infecção por IBR, BVD e Leptospirose podem variar consideravelmente tanto inter-rebanhos quanto intra-rebanhos. Com isso, a determinação do perfil epidemiológico das infecções em rebanhos distintos (inter-rebanhos) e até mesmo em categorias distintas de animais dentro do mesmo rebanho (intra-rebanhos), assim como a análise dos fatores de risco e implementação de medidas de mitigação de risco revestem-se de importância crucial para a avaliação dos resultados de programas de controle e profilaxia.

Entretanto, outras doenças infecciosas como Brucelose, Campilobacteriose, Tricomonose ou Tricomoniase, Neosporose, Micoplasmose, Ureaplasmosse, Histofilose

e Tripanossomose, entre outras de menor ocorrência, além de distúrbios reprodutivos ocasionados por causas não infecciosas como algumas micotoxicoses, e em especial na bovinocultura leiteira a Zearalenona, devem também ser sempre lembradas diante de situações que envolvem problemas reprodutivos de difícil diagnóstico e solução.

Nesta breve revisão os comentários específicos relativos ao trato reprodutivo focaram mais sobre a fêmea bovina. Porém, não podemos esquecer que todos os potenciais patógenos para a fêmea bovina também o são para o macho e, em muitas situações específicas, o touro pode comportar-se como portador assintomático, reservatório e potencial transmissor do micro-organismo para a fêmea, particularmente por meio do sêmen, constituindo-se em infecções venéreas. Nesse sentido, todas as ações de gestão sanitária para o controle e profilaxia de doenças infecciosas da reprodução em fêmeas bovinas devem ser também realizadas nos touros.

Sanidade de Bezerros (as)

Conforme comentamos anteriormente os bezerros recém nascidos são muito precocemente desafiados por uma série de potenciais agentes patogênicos. Ainda imaturos imunologicamente o marco divisor entre saúde e doença em bezerros está alicerçado primeiro na imunidade passiva, ou seja a imunidade que a vaca transfere ao recém-nascido por meio do colostro. A quantidade e a qualidade (título de anticorpos e células de defesa) do colostro ingerido pelo bezerro são as principais características na definição de bezerros com boa imunidade passiva daqueles com falha na transferência passiva. Segundo, o ambiente. Quanto maior a concentração de animais maior a contaminação ambiental e, conseqüentemente, maior o desafio microbiológico a que esses os animais são submetidos.

Com isso, assegurar que o bezerro receba quantidades adequadas de colostro nas primeiras horas após o nascimento é o ponto chave para a boa transferência de imunidade passiva. Entretanto, sabemos que isso é passível de monitoramento em rebanhos leiteiros. Porém, em rebanhos de corte esse manejo fica muito mais difícil e, em algumas situações, até mesmo impossível.

Tendo como premissa em rebanhos de corte a dificuldade em assegurar que o bezerro receba o colostro de forma adequada tanto em termos de quantidade quanto em relação período de tempo transcorrido após o nascimento, por meio da implantação de

um manejo sanitário diferenciado podemos interferir na qualidade do colostro. A vacinação regular de vacas no período de até 30 a 45 dias que antecede o parto utilizando vacinas polivalentes formuladas para a profilaxia dos principais patógenos do trato entérico e também respiratório que comprometem bezerros jovens é a forma mais eficaz de induzirmos aumento no título de anticorpos colostrais. Com esse manejo estamos interferindo indiretamente na imunidade passiva dos bezerros potencializando a resposta imunológica frente aos desafios dos micro-organismos presentes no ambiente que, com certeza, esses animais irão entrar em contato.

A Síndrome Diarreia Neonatal Bovina é sem dúvida a doença endêmica que ocorre com maior frequência em bezerros. Anteriormente, as diarréias eram problemas quase que restritos à pecuária leiteira. O tipo de criação das bezerras em rebanhos leiteiros, que com frequência utiliza sistemas de bezerreiros coletivos ou individuais, facilita a difusão de micro-organismos, bem como dificulta a efetiva realização de processos de desinfecção para redução da contaminação ambiental. Com isso, no Brasil episódios e até mesmo surtos de diarreia neonatal em bezerros sempre foram muito relacionados à atividade da pecuária leiteira.

Entretanto, mais recentemente temos observado a grande difusão da implantação de manejo reprodutivo em períodos cada vez mais curtos em sistemas de estação de monta e a utilização de biotécnicas da reprodução como IA, IATF mesmo em rebanhos comerciais a campo. Em consequência desse manejo reprodutivo os partos também são concentrados. Maior número de vacas parindo em menor período de tempo promove o aumento da população de animais susceptíveis e o risco de contaminação ambiental. O manejo de parto em piquetes de parição aumenta consideravelmente esses dois riscos para o desenvolvimento de diarreia neonatal. Portanto, uma infecção cuja forma de manifestação clínica era diretamente vinculada à atividade de pecuária leiteira atualmente também é muito comum na pecuária bovina de corte até mesmo em rebanhos comerciais.

A infecção por um enteropatógeno acompanhada por sinais clínicos de diarreia, desidratação e desequilíbrio hidroeletrólítico é consequência comum ocasionada por várias classes de micro-organismos como bactérias (*E. coli*), vírus (rotavírus e coronavírus, entre outros) e protozoários (*Cryptosporidium* sp. e *Eimeria* sp.). Clinicamente essas infecções, que geralmente ocorrem na forma de surtos, são indistinguíveis e apenas e tão somente com o uso de técnicas que envolvem o

diagnóstico etiológico específico para cada um desses micro-organismos é possível definir o(s) agente(s) etiológico(s) causadores do surto.

Outra infecção de ocorrência endêmica e muito mais restrita a pecuária bovina leiteira constitui um complexo denominado Doenças Respiratórias Bovinas (DRB). Bezerros de várias faixas etárias, incluindo lactentes e também desmamadas, são susceptíveis. A DRB tem como etiologia primária predominantemente um vírus. Posteriormente, bactérias que compõem a microbiota do trato respiratório superior podem secundariamente alcançar o trato respiratório inferior e causar pneumonias graves que se não tratadas rápida e adequadamente podem levar a morte. Até os 30 a 60 dias de idade uma sólida imunidade passiva é capaz de reduzir o número e intensidade dos episódios respiratórios. Posteriormente, há necessidade de estimular a imunidade ativa por meio de vacinação. Com relação à etiologia o herpesvírus bovino 1, vírus da diarreia viral bovina, parainfluenza 3 e o vírus respiratório sincicial bovino e o coronavírus bovino são os principais vírus que atuam como etiologia primária de DRB. As infecções bacterianas mais importantes são ocasionadas por *Mannheimia haemolytica* e *Pasteurella multocida*. Adicionalmente, *Mycoplasma bovis* e *Histophilus somni* também podem ser encontrados em casos de DRB.

Sem dúvida que a saúde de bezerros pode ser comprometida por outras causas de doenças infecciosas e parasitárias, destacando-se as infecções umbilicais (onfaloflebitis) e suas consequências, o complexo denominado Tristeza Parasitária Bovina (Babesiose / Anaplasmoses), além de infestações por endo e ectoparasitas. Porém, tanto na pecuária leiteira quanto na de corte, sem dúvida as diarreias neonatais e a DRB são responsáveis pelas maiores taxas de morbidade e, principalmente, de mortalidade de bezerros não só no Brasil, mas em todo o mundo.

Considerações finais

Desequilíbrios nutricionais e falhas de manejo comprometem consideravelmente a gestão sanitária dos rebanhos bovinos. O controle de doenças endêmicas e a vigilância para doenças epidêmicas, incluindo aquelas que são emergentes e/ou reemergentes, é condição fundamental para a sustentabilidade da pecuária bovina seja leiteira ou de corte. Com isso, o médico veterinário deve conhecer, avaliar, quantificar e, principalmente, mitigar os riscos sanitários que podem comprometer a cadeia produtiva.

Considerando as necessidades atuais de produção e produtividade com sustentabilidade ambiental novas técnicas de manejo tem sido são introduzidas na pecuária bovina. Em algumas situações essas técnicas aumentam riscos ou constituem-se em desafios sanitários. Porém, considerando todas as vantagens em termos de produtividade passíveis de serem obtidas com essas novas metodologias de criação não há como retroceder. O gestor sanitário deve ter consciência que elas vieram para ficar e, com isso, deve atuar no sentido de reduzir os riscos para conviver com a nova realidade da pecuária bovina brasileira.

***INCT – Leite:**

(Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia para a Cadeia Produtiva do Leite)

MCTI / CNPq / CAPES / Fundação Araucária

Universidade Estadual de Londrina. Londrina / PR

DIFERENÇAS ENTRE *BOS INDICUS* E *BOS TAURUS* QUE PODEM IMPACTAR A EFICIÊNCIA DAS BIOTÉCNICAS DA REPRODUÇÃO

F Morotti, LZ Bergamo, CB, Costa, R Rosenthal, FD Sarapião, NC Silva, E Appolonio, MM Seneda

Laboratório de Biotecnologia da Reprodução Animal (REPROA), DCV, CCA,
Universidade Estadual de Londrina. CEP 86057-970, Londrina/PR, Brasil.
mseneda@uel.br / fabiomorotti@uel.br

Resumo

Atualmente houve um grande interesse da comunidade científica em compreender melhor os aspectos fisiológicos na reprodução dos bovinos. Neste propósito, muitos estudos investigaram as particularidades reprodutivas de animais *Bos indicus* e *Bos taurus*, a população folicular ovariana, bem como a relação das subespécies e da população folicular para com o desempenho reprodutivo e a eficiência das biotécnicas da reprodução. A contagem de folículos antrais (CFA) representa uma estratégia eficiente da população folicular ovariana, sendo altamente variável entre as fêmeas bovinas, mas muito constante na mesma fêmea. Esta variabilidade da CFA tem sido apontada como importante fator de influência no desempenho reprodutivo e na eficiência das biotécnicas. Compreender melhor esta relação entre a CFA e a fertilidade se faz necessário, uma vez que vários estudos em animais *Bos taurus*, claramente correlacionam a fêmea de baixa CFA com vários aspectos negativos relacionados a fertilidade e melhor desempenho para fêmeas de alta contagem. No Brasil, estudos com a produção *in vivo* e *in vitro* de embriões confirmam o melhor desempenho para fêmeas de alta CFA. No entanto, os resultados de taxa de concepção de fêmeas *Bos indicus* submetidas a inseminação artificial em tempo fixo não assinalam para mesma direção dos estudos conduzidos em animais *Bos taurus* fora do Brasil. A presente revisão também faz uma abordagem da relação entre a CFA e as características de mérito genético em novilhas. Portanto, o presente trabalho tem o objetivo de apresentar os principais aspectos relacionados às diferenças fisiológicas de fêmeas *Bos indicus* e *Bos taurus*, ressaltando principalmente a relação entre a CFA e a sua influência com a eficiência das biotécnicas da reprodução.

Introdução

Animais de alto potencial genético podem ser multiplicados de forma eficiente empregando estratégias de manejo reprodutivo, associadas ao uso de biotécnicas da reprodução. Ferramentas reprodutivas, tais como a inseminação artificial (IA), a inseminação artificial em tempo fixo (IATF), a produção *in vivo* embriões (SOV/TE) e a produção *in vitro* de embriões (PIVE) têm alcançado expressivo avanço nos últimos anos, favorecendo em um curto espaço de tempo, a seleção, a multiplicação e a disseminação de animais de alta qualidade genética e com elevado potencial produtivo

(HANSEN, 2014). Adicionalmente, o maior conhecimento da fisiologia do ciclo estral na espécie bovina possibilitou o controle das fases de crescimento folicular através do uso de estratégias farmacológicas específicas (BARUSELLI et al., 2004; LAMB et al., 2010), facilitando o manejo reprodutivo, o emprego das biotécnicas e tornando a produção pecuária mais eficiente e sustentável.

Nos últimos anos houve um número expressivo de estudos aplicados à população folicular ovariana (pré-antral e antral) e a sua influência sobre o desempenho reprodutivo de bovinos, bem como sobre a eficiência das biotécnicas reprodutivas (IRELAND et al., 2011; RICO et al., 2012; BATISTA et al., 2014; SILVA-SANTOS et al., 2014; SANTOS et al., 2016). No entanto, apesar dos frequentes avanços, muitos aspectos relacionados à fisiologia reprodutiva da fêmea permanecem desconhecidos, principalmente aqueles ligados as diferenças entre as subespécies (*Bos taurus* vs. *Bos indicus*), bem como as características relacionadas à população folicular ovariana e sua influência com a fertilidade do rebanho bovino (MOROTTI et al., 2015).

As particularidades fisiológicas de fêmeas *Bos taurus* e *Bos indicus* podem gerar respostas reprodutivas distintas em vários aspectos (BARUSELLI et al., 2007). Um exemplo clássico desta diferença refere-se ao pool de folículos antrais que parece ser maior em fêmeas *Bos indicus* (especialmente em vacas Nelore) do que em *Bos taurus* (SILVA-SANTOS et al., 2011). Neste contexto, tanto a fêmea taurina quanto a zebuína se caracterizam por apresentar uma alta variabilidade no número de folículos antrais/contagem de folículos antrais (CFA; folículos ≥ 3 mm) entre as fêmeas (ERICKSON, 1966; BURNS et al., 2005; SILVA-SANTOS et al., 2014; SANTOS et al., 2016), mas altamente repetível no mesmo indivíduo durante as ondas de crescimento folicular (BURNS et al., 2005; IRELAND et al., 2007; 2008). Portanto, realizando apenas um exame ultrassonográfico para contagem de todos os folículos ≥ 3 mm de diâmetro é possível classificar as fêmeas em grupos de baixa, intermediária ou alta CFA.

Diversos estudos europeus e norte americanos que avaliaram a relação da CFA e a fertilidade em fêmeas *Bos taurus* revelaram que o baixo número de folículos antrais está diretamente relacionado às características de baixa fertilidade, tais como ovários menores, redução da reserva folicular ovariana, menor resposta à superovulação e menor quantidade de embriões transferíveis, menor quantidade de hormônio anti-Mülleriano (AMH) e concentração de progesterona durante o ciclo estral, menor espessura endometrial e maior quantidade de marcadores de células do *cumulus* que se

relaciona aos oócitos de menor qualidade (BURNS et al., 2005; IRELAND et al., 2007; 2008; 2009; 2011; MOSSA et al., 2012; EVANS et al., 2012; WALSH et al., 2014; MARTINEZ et al., 2016).

Estudos conduzidos no Brasil, realizados especificamente com gado *Bos indicus* e *Bos indicus-taurus*, também revelaram que a população de folículos antrais influencia positivamente a produção de embrião tanto no método *in vivo* quanto *in vitro* (SILVA-SANTOS et al., 2014; SANTOS et al., 2016). Nestes estudos, vacas de alta CFA apresentaram melhor desempenho para produção embrionária quando comparadas com vacas de baixa contagem folicular. Entretanto, avaliando a concepção à IATF Rodrigues et al. (2013; 2015) e Santos et al. (2016) revelaram que o número de folículos antrais não exerce influência sobre taxa de concepção de fêmeas Nelore com alta, intermediária ou baixa CFA. De certa forma, estes resultados já se revelaram intrigantes, pois as vacas de baixa CFA, diferentemente dos estudos europeus e norte americanos, não apresentaram um comportamento reprodutivo inferior aos demais grupos como relatado em gado *Bos taurus*. Adicionalmente, outros trabalhos, do mesmo grupo de pesquisa, conduzidos especificamente com fêmeas Nelore revelaram resultados semelhantes ou taxa de concepção superior em fêmeas de baixa CFA (MENDONÇA et al., 2013; SANTOS et al., 2013; MORAES, 2016; MORETTI, 2016).

Questões como o efeito da CFA na fertilidade da fêmea bovina precisam de uma atenção especial, particularmente em animais *Bos indicus* em que esta relação ainda não é bem estabelecida. Além disso, considerando o impacto da seleção de fêmeas com alta CFA e o grande número de descendentes que podem ser produzidos *in vitro* a partir de uma única doadora, esta questão ganha um destaque altamente relevante, pois informações a cerca da relação entre a CFA e às características de mérito genético é muito limitada na literatura científica. Um único estudo sugeriu que a CFA possui herdabilidade de baixa a moderada, podendo ser influenciada pela idade, pelo *status* de lactação e pela qualidade do leite, mas não pelo nível de produção da mãe durante a prenhez (WASLH et al., 2014).

Sob outro aspecto, empregando IATF em gado zebuino de corte, há indícios de que a CFA não influencia a taxa de concepção, e até mesmo de que a baixa CFA é mais vantajosa se comparada às fêmeas de alta contagem. Certamente, muitos aspectos relacionados às particularidades reprodutivas de *Bos indicus* e *Bos taurus*, à população folicular ovariana e a sua relação com a fertilidade precisam de mais compreensão. Portanto, o presente trabalho tem por objetivo apresentar os principais aspectos

relacionados às diferenças fisiológicas na reprodução de fêmeas *Bos indicus* e *Bos taurus*, ressaltando principalmente a relação entre a contagem de folículos antrais e sua influência sobre a eficiência das biotécnicas da reprodução.

Variabilidade e repetibilidade da contagem de folículos antrais (CFA)

O número de folículos antrais é uma característica altamente variável no ovário da fêmea bovina (BURNS et al., 2005; IRELAND et al., 2008; 2011; EVANS et al., 2012), porém existe uma alta repetibilidade no mesmo indivíduo (BURNS et al., 2005; IRELAND et al., 2008; SILVA-SANTOS et al., 2014). Devido à característica de alta repetibilidade, originalmente em rebanho taurino e através do exame ultrassonográfico, foi demonstrado ser possível classificar as fêmeas em baixa, intermediária e alta CFA de acordo com o número de folículos antrais (folículos ≥ 3 mm), independentemente da estação do ano, do número de ondas de crescimento folicular por ciclo, da idade e do *status* lactacional (BURNS et al., 2005).

O mesmo comportamento de alta repetibilidade da CFA foi demonstrado em rebanhos zebuínos cruzados ($r = 0,90$ a $0,92$ em fêmeas *Bos indicus-taurus*), cuja CFA foi monitorada do desmame até o sobreano (SILVA-SANTOS et al., 2014). Portanto, empregando apenas um exame ultrassonográfico de rotina é possível identificar fêmeas com baixa, intermediária ou alta CFA.

CFA e sua relação com a produção embrionária (*in vivo* e *in vitro*)

Há uma grande variabilidade no número de embriões produzidos por doadora, tanto no método *in vivo* quanto *in vitro* (PONTES et al., 2009; 2010; 2011). Esta variabilidade está relacionada principalmente a resposta superovulatória e a eficiência na taxa de recuperação oocitária, fatores que podem afetar o sucesso na produção de embriões (TANEJA et al., 2000; IRELAND et al., 2007; 2011; SILVA-SANTOS et al., 2014; SANTOS et al., 2016) e influenciar a escolha da doadora em uma futura intervenção.

Vários estudos com animais *Bos taurus* demonstraram que a maior CFA está relacionada com benefícios quantitativos para o sucesso da PIV e da SOV (TANEJA et al., 2000; SINGH et al., 2004; IRELAND et al., 2007; 2008). Com o objetivo de comparar a produção embrionária de doadoras *Bos indicus-taurus* (Braford = 3/8 Nelore e 5/8 Hereford) com alta vs. baixa CFA, Silva-Santos et al. (2014) conduziram um estudo empregando tanto a produção *in vivo* (SOV) quanto *in vitro* (OPU/FIV) de

embriões. Neste estudo, os animais foram avaliados por ultrassom seriado desde o desmame (nove meses) até completarem 24 meses de idade, quando foram submetidos às técnicas de produção embrionária. Os dados revelaram que as fêmeas de alta CFA apresentaram melhor desempenho na produção embrionária, tanto na SOV ($6,95 \pm 5,34$ vs. $1,9 \pm 2,13$) quanto na OPU/FIV ($6,10 \pm 4,51$ vs. $0,55 \pm 0,83$ embriões; $P < 0,05$).

Adicionalmente, este estudo constatou que um único exame ultrassonográfico realizado na idade de pré-puberdade (para determinação da CFA) pode ser usado como um preditor para produção embrionária. Portanto, este trabalho reforçou o conceito de que há benefícios quantitativos na produção de embriões conforme a CFA e que o ultrassom pode ser empregado como ferramenta preditora na seleção de doadora de embrião.

Avaliando o desempenho na produção embrionária com base na produção de oócito de doadoras, Santos et al. (2016) realizaram procedimentos de OPU em 66 vacas *Bos indicus* (Nelore) e com base no número de oócitos recuperados classificaram as doadoras em alta ($n = 22$, ≥ 40 oócitos), intermediária ($n = 25$, 18-25 oócitos) e baixa ($n = 19$, ≤ 7 oócitos) produção oocitária. Após procedimento de FIV com sêmen de mesmo touro, a taxa de blastocisto e o número de embriões viáveis foram maiores no grupo de alta recuperação oocitária (41,9% e $18,4 \pm 6,7$ embriões) em relação aos grupos de produção intermediária (32,4% e $6,1 \pm 3,6$) e baixa (13,0% e $0,6 \pm 0,7$; respectivamente; $P < 0,05$). Por outro lado, empregando ovários de abatedouro oriundos de uma amostragem de 356 vacas Nelore (alta CFA > 92 folículos, intermediária 46 a 76 folículos e baixa < 31 folículos), Rosa (2015) não constatou o mesmo desempenho de taxas embrionárias para o grupo de alta CFA como reportado em trabalhos de campo. Neste estudo, não houve diferença ($P > 0,05$) na taxa de clivagem (76,6%, 77,5% e 79,5%) e nem na taxa de blastocisto (40,6%, 36,3% e 38,6%) para os grupos de alta, média e baixa CFA, respectivamente. Todavia, cabe ressaltar que os limites numéricos de folículos que estabelecem os grupos de CFA foram bem maiores do que os de trabalhos de campo previamente discutidos. Tal variabilidade da CFA entre os estudos, bem como a ausência de reprodutibilidade entre os resultados reforçam a complexidade do tema e ressaltam a necessidade de mais investigações.

Uma melhor resposta da doadora para a OPU/FIV ou SOV ainda não é completamente compreendida, e certamente a CFA não é a única variável que interfere quantitativamente na produção de embriões. Apesar das variações individuais conforme a técnica utilizada é consenso considerar a vantagem quantitativa das doadoras de alta

CFA. Desta forma, a variação da CFA entre as doadoras é um fator muito importante para os programas comerciais de produção de embriões, sendo comum fazer uma avaliação ultrassonográfica prévia como método de seleção das doadoras potenciais. As doadoras selecionadas geralmente são aquelas com alta CFA ou com elevado número de oócitos viáveis (MOROTTI et al., 2015), uma vez que o impacto no número final de prenhez apresenta grande variação conforme ilustrado na Tabela 1.

Tabela 1 - Desempenho de doadoras Nelore (*Bos indicus*; n= 317) para produção de oócitos, embriões e prenhez conforme o número de oócitos recuperados por seção de OPU/PIV (n = 656). Os valores estão expressos em média $\pm$ desvio padrão.

Doadoras conforme N° de oócitos	N° oócitos viáveis	N° embriões viáveis	N° prenhez com 30 dias	N° prenhez com 90 dias
Elevada (n = 78)	47,06 $\pm$ 1,6 ^a	15,06 $\pm$ 0,86 ^a	5,62 $\pm$ 0,54 ^a	5,52 $\pm$ 0,81 ^a
Alta (n = 80)	24,95 $\pm$ 0,33 ^b	9,17 $\pm$ 0,63 ^b	3,63 $\pm$ 0,36 ^b	3,32 $\pm$ 0,33 ^b
Intermediário (n= 79)	15,57 $\pm$ 0,26 ^c	6,00 $\pm$ 0,39 ^c	2,10 $\pm$ 0,21 ^c	1,92 $\pm$ 0,20 ^b
Baixa (n = 80)	6,31 $\pm$ 0,38 ^d	2,42 $\pm$ 0,25 ^d	0,92 $\pm$ 0,13 ^d	0,85 $\pm$ 0,13 ^c

a-d Valores médios sobrescritos dentro de uma coluna diferem estatisticamente ($P \leq 0,05$). Adaptado de Pontes et al. (2011).

Apesar da inquestionável vantagem quantitativa (maior número de embriões) em selecionar a doadora com base na alta CFA, o impacto deste critério sobre outros aspectos da fertilidade e da produtividade em bovinos de corte e de leite ainda não é bem conhecido, particularmente nos animais *Bos indicus*. Desta forma, até que mais estudos sejam realizados, a escolha da doadora pela CFA deve ser considerada após a avaliação prévia do seu mérito genético (MOROTTI et al., 2015).

CFA e sua relação com o hormônio anti-Mülleriano (AMH)

O AMH é uma glicoproteína 140 kDa que pertence à família do fator transformador do crescimento (TGF- β), sendo produzido pelas células da granulosa de folículos saudáveis em crescimento e expresso somente nas gônadas (VIGIER et al., 1984; CATE et al., 1986; TAKAHASHI et al., 1986; LEE et al., 1996; MONNIAUX et al., 2008). Sua expressão é alta nas células da granulosa de folículos antrais pequenos e diminui durante o crescimento folicular, inibindo o recrutamento de folículos primordiais para o pool de folículos em crescimento, além de reduzir a responsividade dos folículos em crescimento à ação do FSH (DURLINGER et al., 1999; 2001; 2002). Portanto, o AMH é considerado um ótimo marcador endócrino para o número de folículos em crescimento.

As altas concentrações de AMH estão positivamente associadas com o tamanho da população folicular ovariana em ratas, mulheres e vacas (VISSER et al., 2006; KWEE et al., 2008; RICO et al., 2009; 2012). Na fêmea bovina, a concentração de AMH foi correlacionada com a CFA e o número de oócitos saudáveis, sendo considerado um bom marcador endócrino da população de folículos antrais e para fertilidade nesta espécie (IRELAND et al., 2011; BATISTA et al., 2014, BARUSELLI et al., 2015). Em rebanho taurino, fêmeas com alta CFA (> 25 folículos) apresentam maiores concentrações de AMH em comparação com fêmeas de baixa CFA (< 15 folículos; $P < 0,01$). Adicionalmente, uma alta correlação foi encontrada entre a concentração média de AMH e a média de CFA ($r = 0,88$, $P < 0,001$; IRELAND et al., 2008).

Comparando animais taurinos vs. zebuínos (de corte e de leite), a concentração de AMH também tem sido positivamente correlacionada com a CFA de fêmeas zebuínas (Nelore, variação de 0,56 a 0,68) e taurinas (Holandês, variação de 0,73 a 0,90). Independentemente do grupo genético, fêmeas com alta CFA apresentaram maior concentração de AMH (*Bos taurus* 0,57 e *Bos indicus* 1,20 ng/mL) do que fêmeas com baixa CFA (0,06 e 0,78 ng/mL, respectivamente). Além disso, há evidências de que a CFA em gado *Bos indicus* (baixa = 28 e alta = 48 folículos) é maior do que a de *Bos taurus* (baixa = 13 e alta = 34 folículos; BATISTA et al., 2014).

Atualmente, o AMH é reconhecido como um marcador fidedigno para identificar fêmeas com melhor resposta ovariana à superovulação, melhor potencial para produção oocitária, além de estar associado a várias características relacionadas à fertilidade (BARUSELLI et al., 2015). Portanto, a determinação das concentrações de AMH em vacas doadoras pode ajudar a prever a resposta folicular e ovulatória para tratamentos gonadotróficos (RICO et al., 2009). Em estudo com vacas Holandesas ao longo de um ano revelou que as concentrações de AMH são constantes e fortemente correlacionadas com a CFA. As doadoras com concentrações de AMH abaixo de 87 pg/mL apresentam menos de 15 folículos grandes por ciclo estral e baixa eficiência na produção de embriões. Deste modo, a determinação da concentração de AMH no plasma pode ser considerada um procedimento regular antes da OPU/FIV e SOV, para identificação das doadoras com melhor potencial de produção embrionária (RICO et al., 2012).

CFA e sua relação com a concentração de progesterona

A produção de progesterona em bovinos tem sido vinculada à atividade fisiológica do corpo lúteo (CL), a funcionalidade do ovário e útero e ao desenvolvimento embrionário e prenhez (DISKIN; MORRIS, 2008). Portanto, a baixa concentração de progesterona proporciona uma alta taxa de mortalidade embrionária, menor quantidade e qualidade de oócitos, bem como menor desenvolvimento endometrial (DISKIN; MORRIS, 2008; EVANS et al., 2012).

Um estudo que avaliou a relação do número de folículos antrais com a progesterona em fêmeas taurinas revelou que a baixa CFA proporciona menor concentração de progesterona durante o ciclo estral, cerca de 30 a 50% menor em comparação com fêmeas de alta contagem folicular (JIMENEZ-KRASSEL et al., 2009). Neste estudo, as menores concentrações circulantes de progesterona em vacas com baixa CFA foram atribuídas principalmente à função reduzida do CL devido à alteração na capacidade de resposta das células luteínicas ao LH, uma redução na proteína de regulação aguda da esteroidogênese (STAR) no CL, a capacidade de resposta diminuída da granulosa e células luteais ao 25-hidroxicoesterol, bem como uma menor responsividade das células da granulosa do folículo dominante em sofrer luteinização. Portanto, sugeriu-se que alta CFA influencia positivamente a espessura do endométrio favorecendo melhor fertilidade.

CFA e sua relação com características de fertilidade em novilhas e vacas

O baixo número de folículos antrais em fêmeas taurinas com aptidão para produção de leite (raça Holandesa) tem sido associado com várias características relacionadas à baixa fertilidade, tais como ovários menores (IRELAND et al., 2008), reduzida capacidade de resposta ao tratamento de SOV, menor número de embriões viáveis (SINGH et al., 2004; IRELAND et al., 2007), menores concentrações circulantes de progesterona e AMH (IRELAND et al., 2011; EVANS et al., 2012), reduzida espessura do endométrio (JIMENEZ-KRASSEL et al., 2009), menor chance de prenhez ao final da estação reprodutiva (MOSSA et al., 2012), maior intervalo entre o parto e a concepção e menor expressão do estro (MARTINEZ et al., 2016). Neste contexto, animais com alta CFA têm se mostrado superiores em todos os aspectos mencionados, de modo que pelo menos para fêmeas taurinas na Europa e América do Norte parece haver uma correlação linear positiva entre o alto número de folículos antrais e importantes aspectos relacionados à eficiência reprodutiva.

Tal contexto tem sido pouco estudo em animais zebuínos (corte e leite) e não há relato de estudo em rebanho Holandês conduzido no Brasil. Vários estudos realizados com animais zebuínos e cruzamentos revelaram que a baixa CFA não está necessariamente associada ao menor desempenho reprodutivo (SANTOS et al., 2013; MENDONÇA et al., 2013; RODRIGUES et al., 2013; MOROTTI et al., 2014; RODRIGUES et al., 2015; SANTOS et al., 2016; MORAES, 2016; MORETTI, 2016). Estudos preliminares com dinâmica folicular ovariana em gado *Bos indicus-taurus* (Braford; SANTOS et al., 2012) e *Bos indicus* (Nelore; MOROTTI et al., dados não publicados) revelaram que os maiores diâmetros de folículo dominante (na IATF e o folículo ovulatório estimado) não foram encontrados em fêmeas de alta CFA.

Considerando a relação da CFA com a taxa de concepção após a IATF, quatro estudos do nosso grupo de pesquisa foram conduzidos em fêmeas *Bos indicus* (Nelore), os quais revelaram achados diferentes de trabalhos europeus e norte americanos. Estes estudos foram conduzidos em novilhas cíclicas de 24 meses (estudo I) e em vacas multíparas no pós-parto (estudo II a IV). As fêmeas foram avaliadas por ultrassonografia no dia 0 ou dia 8 do protocolo de IATF para classificação dos grupos de alta, média ou baixa contagem segundo a CFA média $\pm$ um desvio padrão. Posteriormente, a taxa de concepção foi avaliada por ultrassonografia transretal 30 dias após a IATF. Os dados, resumidos na Tabela 2, não demonstram haver influência da CFA sobre a concepção nos estudos I a III, mas no estudo IV a concepção foi melhor para o grupo de baixa CFA.

Tabela 2 - Taxa de concepção de fêmeas Nelore (*Bos indicus*) com alta, média e baixa contagem de folículos antrais (CFA) após inseminação artificial em tempo fixo

Estudo/Categoria (Autor)	Alta (n)	Intermediária (n)	Baixa (n)	Total/Média (n)
I / Novilhas (Mendonça et al., 2013)	30 folículos (38)	13-29 folículos (143)	≤ 12 folículos (27)	(208)
CFA (M ± DP)	37,7 ± 7,0 ^a	19,2 ± 4,2 ^b	10,5 ± 2,1 ^c	21,4 ± 9,4 ^b
Taxa concepção (%)	44,7	43,3	51,8	44,7
II / Vacas (Santos et al., 2016)	≥ 25 folículos (183)	11-24 folículos (183)	≤ 10 folículos (181)	(547)
CFA (M ± DP)	30,7 ± 6,5 ^a	18,6 ± 1,6 ^b	7,8 ± 2,4 ^c	17,6 ± 10,7 ^b
Taxa concepção (%)	51,9	48,6	58,5	53,0
III / Vacas (Moraes, 2016)	≥ 30 folículos (119)	11-29 folículos (314)	≤ 10 folículos (303)	(736)
CFA (M ± DP)	37,5 ± 12,3 ^a	17,7 ± 3,4 ^b	7,6 ± 2,6 ^c	16,8 ± 11,7 ^b
Taxa concepção (%)	47,9	50,0	57,4	52,7
IV / Vacas (Moretti, 2016)	≥ 45 folículos (167)	20-40 folículos (295)	≤ 15 folículos (144)	(606)
CFA (M ± DP)	51,9 ± 6,2 ^a	29,4 ± 6,0 ^b	11,4 ± 2,8 ^c	30,1 ± 15,1 ^b
Taxa concepção (%)	49,3 ^b	54,2 ^b	67,1 ^a	56,6

a-c Valores sobrescrito dentro de uma linha diferem estatisticamente ($P \leq 0,05$). Os dados são apresentados como média (M) ± desvio padrão da média (DP).

Apesar destes estudos não esclareceram completamente a influência da CFA sobre a fertilidade no gado zebuino, é valido ressaltar que nesta subespécie a relação da CFA e a fertilidade (concepção a IATF) não parece seguir o mesmo padrão descrito para fêmeas taurinas. Enquanto os estudos I (novilha cíclicas com 24 meses), II e III (vacas multíparas no pós-parto) revelaram não haver influência, o estudo III (vacas multíparas no pós-parto) mostrou melhor taxa de prenhez para as vacas de baixa CFA, o que foge totalmente o comportamento reprodutivo descrito em rebanho *Bos taurus* com aptidão leite fora do Brasil, em que nitidamente as fêmeas de baixa CFA são classificadas como sendo de fertilidade reduzida.

Certamente estabelecer comparação de estudos norte americanos e europeus com estudos brasileiros é muito desafiador, considerando as diferenças de rebanhos e de sistemas de produção. Por exemplo, as clássicas diferenças entre as subespécies (*Bos taurus* vs. *Bos indicus*) e aptidão de produção (leite vs. corte) constituem um dos aspectos mais críticos para se estabelecer um consenso entre os trabalhos. Além disso, a

alta variabilidade da CFA entre os indivíduos avaliados, diferenças nas práticas de manejo adotadas entre os rebanhos amostrados, bem como a falta de padronização dos limites numéricos de CFA para se estabelecer os grupos de alta, intermediária e baixa contagem folicular contribuem fortemente para falta de conformidade entre os estudos. Na tabela 3, encontra-se um resumo das diferentes CFAs utilizadas em alguns trabalhos como critério para divisão dos grupos experimentais.

Tabela 3 - Número limite de folículos antrais utilizados na classificação dos grupos de alta, intermediária e baixa contagem folicular antral (CFA) em fêmeas *Bos taurus* e *Bos indicus* de diferentes estudos.

Autor	Subespécie	CFA média	Grupos		
			Alta	Intermediária	Baixa
Burns et al., 2005	<i>Bos taurus</i>	21,5	≥ 25	16 a 20	≤ 15
Ireland et al., 2011	<i>Bos taurus</i>	21,5	≥ 25	16 a 24	≤ 15
Mossa et al., 2012	<i>Bos taurus</i>	$18,5 \pm 9,0$	≥ 25	16 a 24	≤ 15
Santos et al., 2013	<i>Bos indicus</i>	$17,93 \pm 8,45$	≥ 25	11 a 24	≤ 10
Rodrigues et al., 2015	<i>Bos indicus</i>	$44,27 \pm 0,89$	≥ 48	32 a 48	≤ 32
Rosa, 2015	<i>Bos indicus</i>	$61,14 \pm 30,43$	≥ 92	46 a 76	≤ 31
Martinez et al., 2016	<i>Bos taurus</i>	25,7	≥ 30	21 a 29	≤ 20
Santos et al., 2016	<i>Bos indicus</i>	$19,6 \pm 10,7$	≥ 25	16 a 20	≤ 10
Martinez, 2016	<i>Bos indicus</i>	$16,8 \pm 11,7$	≥ 30	11 a 29	≤ 10
Moraes, 2016	<i>Bos indicus</i>	$16,8 \pm 11,7$	≥ 30	11 a 29	≤ 10
Moretti, 2016	<i>Bos indicus</i>	$30,1 \pm 15,1$	≥ 45	20 a 40	≤ 15

A grande variabilidade das CFAs entre os estudos, os diferentes tipos de rebanhos e categorias de fêmeas, as distintas práticas de manejo, e principalmente, a falta de uma padronização nos critérios de classificação dos grupos tornam ainda mais desafiador o pleno conhecimento da CFA sobre a fertilidade da fêmea bovina.

CFA e sua relação com a nutrição e a saúde materna

Uma vez que os folículos primordiais são estabelecidos durante o segundo trimestre de gestação nos bovinos (ERICKSON, 1966), há indícios de que o tamanho da reserva folicular ovariana pode ser influenciado pelo ambiente uterino em que o feto é formado. Neste contexto, o estado nutricional e a saúde materna durante a gestação têm sido apontados como importantes fatores de influência sobre o número de folículos primordiais formados ainda durante a vida fetal (IRELAND et al., 2011; EVANS et al., 2012).

Mossa et al. (2009) avaliaram vacas que receberam alimentação de manutenção ou foram submetidas à restrição alimentar (0,6 das necessidades energéticas de manutenção) imediatamente antes da concepção até os primeiros 110 dias de gestação.

Posteriormente, a CFA e a concentração de AMH das bezerras (com diferentes idades 7, 18 e 35 semanas), cujas vacas foram submetidas à restrição alimentar, foram em média 60% menor do que a das bezerras do grupo das vacas que receberam alimentação de manutenção.

Também há evidências indicando que o comprometimento da saúde materna durante a gestação possa reduzir o tamanho da reserva folicular ovariana. Vacas com alta contagem de células somáticas no leite, o que é indicativo de infecção da glândula mamária, pariram bezerras que apresentaram concentração de AMH quase 50% menor em comparação às bezerras nascidas de vacas com baixa contagem de células somáticas ($0,01 \pm 0,075$ vs. $0,13 \pm 0,03$ ng/mL; $P < 0,05$; IRELAND et al., 2011; EVANS et al., 2012).

CFA e sua relação com as características de mérito genético

Apesar de conhecer a influência da nutrição e da saúde materna sobre a CFA da prole, o papel que as características genéticas e os fatores ambientais exercem sobre a variabilidade da população folicular antral é pouco compreendido, principalmente devido à escassez de trabalhos sobre este assunto. Um estudo conduzido por Waslh et al. (2014) em vacas ($n = 445$) e novilhas ($n = 522$) da raça Holandesa, avaliou a herdabilidade da CFA, uma possível associação entre características de mérito genético e a CFA, bem como se o *status* lactacional e os níveis de produção durante a gestação poderiam afetar CFA das filhas. Neste estudo, a CFA apresentou uma herdabilidade de $0,31 \pm 0,14$ e $0,25 \pm 0,13$ para vacas e novilhas, respectivamente. A CFA apresentou uma correlação negativa com mérito genético para concentração de gordura no leite, ou seja, para o aumento de uma unidade na porcentagem de gordura há uma redução de 0,4 folículos na CFA. Além disso, vacas em lactação proporcionaram bezerras com maior CFA ($19,2 \pm 0,6$) do que vacas que não estavam em lactação ($15,9 \pm 1$; $P < 0,01$). Portanto, este estudo sugeriu que ao menos em fêmeas da raça Holandesa, a CFA apresenta traços genéticos de herdabilidade baixa a moderada, sendo que a CFA pode ser influenciada pela concentração de gordura no leite e *status* lactacional durante a prenhez.

Em novilhas *Bos indicus-taurus* (Braford, $n = 270$), pertencentes a um programa de melhoramento genético, Morotti et al. (2015) avaliaram a correlação das características fenotípicas e genotípicas com a CFA das novilhas através de 4 modelos estatísticos diferentes. O modelo 1 incluiu o efeito do grupo contemporâneo, a idade, o

peso no desmame e as características de conformação no desmame. O modelo 2 incluiu o efeito do grupo contemporâneo, a idade, o peso no sobreano e as características de conformação no sobreano. O efeito, variáveis e co-variáveis do modelo 1 e 2 foram combinadas para formar o modelo 3. O modelo 4 incluiu os mesmos parâmetros do modelo 3 adicionado do efeito paterno. Neste estudo, todos os modelos apresentaram baixo coeficiente de determinação com a CFA: 0,072, 0,056, 0,082 e 0,172 para os modelos 1, 2, 3 e 4, respectivamente. No entanto, o efeito paterno elevou para 17% o coeficiente de determinação do modelo 3 (8%). Além disso, a variável escore de precocidade no desmame apresentou uma correlação linear negativa com CFA, ou seja, para o aumento de um ponto no escore de precocidade no desmame tem-se a redução de cerca de 3 folículos antrais.

Este estudo foi interessante, pois embora a precocidade no desmame demonstrou influenciar a CFA, e parece haver alguma relação com efeito paterno, às características de mérito genético utilizadas em programa de melhoramento de bovinos de corte apresentaram baixa correlação com o número de folículos antrais. Certamente, estes achados são favoráveis à estratégia da indústria de produção de embrião que já selecionam as doadoras com maior CFA previamente ao procedimento de OPU ou SOV, devido às vantagens quantitativas desta doadora. Portanto, havendo uma baixa correlação não há risco de o mérito genético estar sendo comprometido pelo uso da CFA como ferramenta.

Considerações finais

O número de folículos antrais é uma característica reprodutiva marcante nos bovinos que é altamente variável entre as fêmeas, mas muito estável no mesmo indivíduo. Esta variabilidade da CFA está intimamente relacionada ao desempenho reprodutivo e a eficiência das biotécnicas da reprodução. Neste contexto, os estudos mais recentes sugerem uma clara correlação entre a alta CFA e melhor desempenho reprodutivo em fêmeas *Bos taurus* na Europa e América do Norte. No Brasil, a alta CFA também tem apresentado superioridade pelo menos na produção *in vivo* e *in vitro* de embriões, independentemente da subespécie. No entanto, estudos recentes com fêmeas *Bos indicus* apontam desempenho reprodutivo diferente dos estudos norte americanos e europeus. Surpreendentemente, há relatos de melhor taxa de concepção à IATF para vacas com baixa contagem folicular. Adicionalmente, mesmo havendo

vantagens quantitativas da doadora com alta CFA, há recomendações de priorizar o mérito genético na escolha da matriz previamente a contagem folicular.

Certamente, muitos aspectos relacionados a presente revisão necessitam de mais investigações, e apesar dos muitos estudos sobre população folicular, as razões para as diferenças no número de folículos antrais em bovinos e a sua relação com a fertilidade e com a eficiência das biotécnicas ainda não são totalmente compreendidas. Poderá haver um tipo de CFA mais adequado para cada biotécnica reprodutiva? Infelizmente essa é uma questão que ainda não tem resposta. Várias lacunas precisam ser preenchidas para melhor compreensão da CFA e das características reprodutivas de *Bos indicus* e *Bos taurus*, a fim de permitir ajustes no manejo dos rebanhos e melhorar a eficiência das biotécnicas reprodutivas.

Referências

Baruselli, P.S.; Reis, E.L.; Marques, M.O.; Nasser, L.F.; Bo, G.A. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrous beef cattle in tropical climates. **Animal Reproduction Science**, v.82-83, p.479-486, 2004.

Baruselli, P.S.; Gimenes, L.U.; Sales, J.N.S. Reproductive physiology of *Bos taurus* and *Bos indicus* females. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.31, p.205-211, 2007.

Baruselli, P. S., Batista, E. O. S., Vieira, L. M., E Souza, A. H. Baruselli, P. S. Relationship between follicle population, AMH concentration and fertility in cattle. **Animal Reproduction**, v.12, n. 3, p.487-497, 2015.

Batista, E.O.; Macedo, G.G.; Sala, R.V.; Ortolan, M.D.; Sa Filho, M.F.; Del Valle, T.A.; Jesus, E.F.; Lopes, R.N.; Rennó, F.P.; Baruselli, P.S. Plasma antimüllerian hormone as a predictor of ovarian antral follicular population in *Bos indicus* (Nelore) and *Bos taurus* (Holstein) heifers. **Reproduction in Domestic Animals**, v.49, p.448-52, 2014.

Burns, D.S.; Jimenez-Krassel, F.; Ireland, J.L.H.; Knight, P.G.; Ireland, J.J. Numbers of antral follicles during follicular waves in cattle: evidence for high variation among animals, very high repeatability in individuals, and an inverse association with serum follicle-stimulating hormone concentrations. **Biology of Reproduction**, v.73, p.53-62, 2005.

Cate, R.L.; Mattaliano, R.; Hession, C.; Tizard, R.; Farber, N.M.; Cheung, A.; Ninfa, E.G.; Frey, A.Z.; Gash, D.J.; Chow, E.P.; Fisher, R.A.; Bertonis, J.M.; Torres, G.; Wallner, B.P.; Ramachandran, K.L.; Ragin, R.C.; Manganaro, T.F.; Maclaughlin, D.T.; Donahoe, P.K. Isolation of the bovine and human genes for Müllerian inhibiting substance and expression of the human gene in animal cells. **Cell**, v.45, p.685-698, 1986.

Durlinger, A.L.; Kramer, P.; Karels, B.; De Jong, F.H.; Uilenbroek, J.T.; Grootegoed, J.A.; Themmen, A.P. Control of primordial follicle recruitment by anti-Müllerian hormone in the mouse ovary. **Endocrinology**, v.140, p.5789-5796, 1999.

Durlinger, A.L.; Gruijters, M.J.; Kramer, P.; Karels, B.; Kumar, T.R.; Matzuk, M.M.; Rose, U.M.; De Jong, F.H.; Uilenbroek, J.T.; Grootegoed, J.A.; Themmen, A.P. Anti-Müllerian hormone attenuates the effects of FSH on follicle development in the mouse ovary. **Endocrinology**, v.142, p.4891-4899, 2001.

Durlinger, A.L.; Gruijters, M.J.; Kramer, P.; Karels, B.; Ingraham, H.A.; Nachtigal, M.W.; Uilenbroek, J.T.; Grootegoed, J.A.; Themmen, A.P. Anti-Müllerian hormone inhibits initiation of primordial follicle growth in the mouse ovary. **Endocrinology**, v.143, p.1076-1084, 2002.

Erickson, B.H. Development and senescence of the postnatal bovine ovary. **Journal of Animal Science**, v.25, p.800-805, 1966.

Evans, A.C.O.; Mossa, F.; Walsh, S.W.; Scheetz, D.; Jimenez-Krassel, F.; Ireland, J.L.H.; Smith, G.W.; Ireland, J.J. Effects of maternal environment during gestation on ovarian folliculogenesis and consequences for fertility in bovine offspring. **Reproduction in Domestic Animals**, v.47, p.31-37, 2012.

Hansen P. **Current and future assisted reproductive technologies for mammalian farm animals**. In: Lamb, G.C.; DiLorenzo, N. editors. *Current and Future Reproductive Technologies and World Food Production*: Springer New York; p.1-22, 2014.

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

Ireland, J.J.; Ward, F.; Jimenez-Krassel, F.; Ireland, J.L.H.; Smith, G.W.; Lonergan, P.; Evans, A.C.O. Follicle numbers are highly repeatable within individual animals but are inversely correlated with FSH concentrations and the proportion of good-quality embryos after ovarian stimulation in cattle. **Human Reproduction**, v.22, p.1687-1695, 2007.

Ireland, J.L.H.; Scheetz, D.; Jimenez-Krassel, F.; Themmen, A.P.N.; Ward, F.; Lonergan, P.; Smith, G.W.; Perez, G.I.; Evans, A.C.O.; Ireland, J.J. Antral follicle count reliably predicts number of morphologically healthy oocytes and follicles in ovaries of young adult cattle. **Biology of Reproduction**, v.79, p.1219-1225, 2008.

Ireland, J.J.; Zielak, A.E.; Jimenez-Krassel, F.; Folger, J.; Bettgowda, A.; Scheetz, D.; Walsh, S.; Mossa, F.; Knight, P.G.; Smith, G.W.; Lonergan, P.; Evans, A.C.O. Variation in the ovarian reserve is linked to alterations in intrafollicular oestradiol production and ovarian biomarkers of follicular differentiation and oocyte quality in cattle. **Biology of Reproduction**, v.80, p.954-964, 2009.

Ireland, J.J.; Smith, G.W.; Scheetza, D.; Jimenez-Krassel, F.; Folgera, J.K.; Ireland, J.L.H.; Mossa, F.; Lonergan, P.; Evans, A.C.O. Does size matter in females? An overview of the impact of the high variation in the ovarian reserve on ovarian function and fertility, utility of anti-Müllerian hormone as a diagnostic marker for fertility and causes of variation in the ovarian reserve in cattle. **Reproduction, Fertility and Development**, v.23, p.1-14, 2011.

Jimenez-Krassel, F.; Folger, J.K.; Ireland, J.L.; Smith, G.W.; Hou, X.; Davis, J.S.; Lonergan, P.; Evans, A.C.; Ireland, J.J. Evidence that high variation in ovarian reserves of healthy Young adults has a negative impact on the corpus luteum and endometrium during estrous cycles in cattle. *Biology of Reproduction*, v.80, p.1272-1281, 2009.

Kwee, J.; Schats, R.; McDonnell, J.; Themmen, A.P.; De Jong, F.H.; Lambalk, C.B. Evaluation of AMH as test for the prediction of ovarian reserve. **Fertility and Sterility**, v.90, p.737-743, 2008.

Lamb, G.C.; Dahlen, C.R.; Larson, J.R.; Marquezini, G.; Stevenson, J.S. Control of the estrous cycle to improve fertility for fixed-time artificial insemination in beef cattle: a review. **Journal of Animal Science**, v.88, p.181-192, 2010.

Lee, M.M.; Donahoe, P.K.; Hasegawa, T.; Silverman, B.; Crist, G.B.; Best, S.; Hasegawa, Y.; Noto, R.A.; Schoenfeld, D.; Maclaughlin, D.T. Mullerian inhibiting substance in humans: normal levels from infancy to adulthood. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v.81, p.571-576, 1996.

Martinez, M.F.; Sanderson, N.; Quirke, L.D.; Lawrence, S.B.; Juengel, J.L. Association between antral follicle count and reproductive measures in New Zealand lactating dairy cows maintained in a pasture-based production system. **Theriogenology**, v.85, p.466-75, 2016.

Mendonça, H.G.R.; Santos, G.M.G.; Silva-Santos, K.C.; Barreiros, T.R.R.; Blaschi, W.; Morotti, F.; Moraes, F.L.Z.; Seneda, M.M. Pregnancy rates following FTAI of Nelore heifers (*Bos indicus*) with high, intermediate and low numbers of antral follicles. **Animal Reproduction**, v.10, p.452. 2013 (abstract).

Monniaux, D.; Di Clemente, N.; Touzé, J.L.; Belville, C.; Rico, C.; Bontoux, M.; Picard, J.Y.; Fabre, S. Intrafollicular steroids and anti-Mullerian hormone during normal and cystic ovarian follicular development in the cow. **Biology of Reproduction**, v.79, p.387-396, 2008.

Moraes, Fábio Lucas Zito. **Influência da contagem de folículos antrais na taxa de concepção de vacas inseminadas em tempo fixo**. 2016. 44f. Dissertação (Mestrado em saúde e produção de ruminantes: Produção animal) - Universidade do Norte do Paraná e Universidade Estadual de Londrina, Londrina 2016.

Moretti, Rogério. **Influência da contagem de folículos antrais sobre as taxas de concepção e prenhez em vacas nelore (*Bos indicus*) submetidas à sincronização da ovulação**. 2016. 28f. Dissertação (Mestrado em saúde e produção de ruminantes: Produção animal) - Universidade do Norte do Paraná e Universidade Estadual de Londrina, Londrina 2016.

Morotti, F.; Barreiros, T.R.R.; Machado, F.Z.; González, S.M.; Marinho, L.S.R.; Seneda, M.M. Is the number of antral follicles an interesting selection criterium for fertility in cattle? **Animal Reproduction**, v.12, p.479-486, 2015.

Morotti, F.; Santos, G.M.G.; Koetz Júnior, C.; Silva-Santos, K.C.; Seneda, M.M. Correlation between phenotype, genotype and antral follicle population in *indicus-taurus* heifers. **Animal Reproduction**, v.12, p.576, 2015, (abstract).

Morotti, F.; Santos, G.M.G.; Silva-Santos, K.C.; Moritz, Y.; Marcantonio, T.N.; Seneda, M.M. Follicular dynamics in Nelore females (*Bos indicus*) with high or low numbers of antral follicles. **Animal Reproduction**, v.11, p.352, 2014, (abstract).

Mossa, F.; Kenny, D.; Jimenez-Krassel, F.; Smith, G.W.; Berry, D.; Butler, S.; Fair, T.; Lonergan, P.; Ireland, J.J.; Evans, A.C.O. Undernutrition of Heifers during the First Trimester of Pregnancy Diminishes Size of the Ovarian Reserve in Female Offspring. **42nd Annual Meeting of the Society for Study of Reproduction**. Pittsburg, PA. v.135, p.77. 2009, (Abstract).

Mossa, F.; Walsh, S.W.; Butler, S.T.; Berry, D.P.; Carter, F.; Lonergan, P.; Smith, G.W.; Ireland, J.J.; Evans, A.C.O. Low numbers of ovarian follicles ≥ 3 mm in diameter are associated with low fertility in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.95, p.2355-2361, 2012.

Pontes, J.H.F.; Silva, K.C.F.; Basso, A.C.; Rigo, A.G.; Ferreira, C.R.; Santos, G.M.G.; Sanches, B.V.; Porcionato, J.P.F.; Vieira, P.H.S.; Faifer, F.S.; Sterza, F.A.M.; Schenk, J.L.; Seneda, M.M. Large-scale *in vitro* embryo production and pregnancy rates from *Bos taurus*, *Bos indicus*, and *indicus-taurus* dairy cows using sexed sperm. **Theriogenology**, v.74, p.1349-1355, 2010.

Pontes, J.H.F.; Melo-Sterza, F.A.; Basso, A.C.; Ferreira, C.R.; Sanches, B.V.; Rubin, K.C.P.; Seneda, M.M. Ovum pick up, *in vitro* embryo production, and pregnancy rates from a large-scale commercial program using Nelore cattle (*Bos indicus*) donors. **Theriogenology**, v.75, p.1640-1646, 2011.

Pontes, J.H.F.; Nonato-Junior, I.; Sanches, B.V.; Ereno-Junior, J.C.; Uvo, S.; Barreiros, T.R.R.; Oliveira, J.A.; Hasler, J.F.; Seneda, M.M. Comparison of embryo yield and pregnancy rate between *in vivo* and *in vitro* methods in the same Nelore (*Bos indicus*) donor cows. **Theriogenology**, v.71, p.690-697, 2009.

Pontes, J.H.F.; Silva, K.C.F.; Basso, A.C.; Rigo, A.G.; Ferreira, C.R.; Santos, G.M.G.; Sanches, B.V.; Porcionato, J.P.F.; Vieira, P.H.S.; Faifer, F.S.; Sterza, F.A.M.; Schenk, J.L.; Seneda, M.M. Large-scale *in vitro* embryos production and pregnancy rates from *Bos taurus*, *Bos indicus*, and *indicus-taurus* dairy cows using sexed sperm. **Theriogenology**, v.74, p.1349-1355, 2010.

Rico, C.; Fabre, S.; Médigue, C.; Di Clemente, N.; Clément, F.; Bontoux, M.; Touzé, J.L.; Dupont, M.; Briant, E.; Rémy, B.; Beckers, J.F.; Monniaux, D. Antimüllerian hormone is an endocrine marker of ovarian gonadotropin responsive follicles and can help to predict superovulatory responses in the cow. **Biololy of Reproduction**, v.80, p.50-59, 2009.

Rico, C.; Drouilhet, L.; Salvetti, P.; Dalbiès-Tran, R.; Jarrier, P.; Touzé, J-L.; Pillet, E.; Ponsart, C.; Fabre, S.; Monniaux, D. Determination of anti-Müllerian hormone concentrations in blood as a tool to select Holstein donor cows for embryo production: from the laboratory to the farm. **Reproduction Fertility and Development**, v.24, p.932-44, 2012.

Rodrigues, A. S.; Oliveira, S. N.; Ferraz, P. A.; Loiola, M. V. G.; Coutinho, T. P.; Santos, M. M.; Chalhoulb, M. Antral follicle counts in Nellore females with different reproductive parameters and body condition score. **Animal Reproduction**, v. 10, p. 395, 2013.

Rodrigues, A.S.; Oliveira, S.N.; Loiola, M.V.G.; Ferraz, P.A.; Chalhoub, M.; Bittencourt, R.F; Araujo, E.A.B.; Bittencourt, T.C.B.S.C.; Ribeiro Filho, A.L. Contagem de folículos antrais em fêmeas Nelore submetidas a inseminação artificial em tempo fixo. **Ciência Rural**, v.45, p.711-717, 2015.

Rosa, Camila Oliveira. **Comparação da produção *in vitro* de embriões entre fêmeas Nelore (*Bos indicus*) de alta vs. média vs. baixa quantidade de folículos antrais.** 2015. 66f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2015.

Santos, G.M.G.; Silva-Santos, K.C.; Barreiros, T.R.R.; Blaschi, W.; Morotti, F.; Silva, C.B.; Moraes, F.L.Z.; Giudicissi, D.P.L.; Seneda, M.M. Conception rates following FTAI of Nelore cows (*Bos indicus*) with high, intermediate and low numbers of antral follicles. **Animal Reproduction**, v.10, p.451, 2013, (abstract).

Santos, G.M.G.; Silva-Santos, K.C.; Siloto, L.S.; Morotti, F.; Marcantonio, T.N.; Marinho, L.S.R.; Thasmo, R.L.O.; Koetz, J.R.C.; Cintra, D.M.L.; Seneda, M.M. Dinâmica folicular em fêmeas bovinas de alta, média e baixa contagem de folículos antrais: resultados preliminares. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.40, p.422, 2012, (abstract).

Santos, G.M.G.; Silva-Santos, K.C.; Barreiros, T.R.R.; Morotti, F.; Sanches, B.V.; Moraes, F.L.Z.; Blaschib, W.; Seneda, M.M. High numbers of antral follicles are positively associated with in vitro embryo production but not the conception rate for FTAI in Nelore cattle. **Animal Reproduction Science**, v.165, p.17-21, 2016.

Silva-Santos, K.C.; Santos, G.M.G.; Siloto, L.S.; Hertel, M.F.; Andrade, E.R.; Rubin, M.I.B.; Sturion, L.; Sterza, F.A.M.; Seneda, M.M. Estimate of the population of preantral follicles in the ovaries of *Bos taurus indicus* and *Bos taurus taurus* females. **Theriogenology**, v.76, p.1051-1057, 2011.

Silva-Santos, K.C.; Santos, G.M.G.; Koetz Júnior, C.; Morotti, F.; Siloto, L.S.; Marcantonio, T.N.; Urbano, M.R.; Oliveira, R.L.; Lima, D.C.M.; Seneda, M.M. Antral Follicle Populations and Embryo Production – *In Vitro* and *In Vivo* – of *Bos indicus-taurus* Donors from Weaning to Yearling Ages. **Reproduction in Domestic Animals**, v.49, p.228-32, 2014.

Singh, J.; Dominguez, M.; Jaiswal, R.; Adams, G.P. A simple ultrasound test to predict the superstimulatory response in cattle. **Theriogenology**, v.62, p.227-243, 2004.

Taneja, M.; Bols, P.E.; Van De Velde, A.; Ju, J.C.; Schreiber, D.; Tripp, M.W.; Levine, H.; Echelard, Y.; Riesen, J.; Yang, X. Developmental competence of juvenile calf oocytes *in vitro* and *in vivo*: influence of donor animal variation and repeated gonadotrophin stimulation. **Biology of Reproduction**, v.62, p.206-213, 2000.

Takahashi, M.; Hayashi, M.; Manganaro, T.F.; Donahoe, P.K. The ontogeny of Mullerian inhibiting substance in granulosa cells of the bovine ovarian follicle. **Biology of Reproduction**, v.35, p.447-453, 1986.

Vigier, B.; Picard, J.Y.; Tran, D.; Legeai, L.; Josso, N. Production of anti- Müllerian hormone: another homology between Sertoli and granulosa cells. **Endocrinology**, v.114, p.1315-1320, 1984.

Visser, J.A.; De Jong, F.H.; Laven, J.S.; Themmen, A.P. Anti-Müllerian hormone: a new marker for ovarian function. **Reproduction**, v.131, p.1-9, 2006.

Walsh, S.W.; Mossa, F.; Butler, S.T.; Berry, D.P.; Scheetz, D.; Jimenez-Krassel, F.; Tempelman, R.J.; Carter, F.; Lonergan, P.; Evans, A.C.; Ireland, J.J. Heritability and impact of environmental effects during pregnancy on antral follicle count in cattle. **Journal of Dairy Science**, v.97, p.4503-4511, 2014.

TECNOLOGIAS PARA MELHORAR O AMBIENTE UTERINO, O DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO E A TAXA DE PRENHEZ EM BOVINOS

Mario Binelli; Guilherme Pugliesi; Emiliana de O. S. Batista; Thiago Martins; Beatriz Cardoso

Laboratório de Fisiologia e Endocrinologia Molecular, Departamento de Reprodução Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga/SP, Brasil
binelli@usp.br

Resumo

Em bovinos de corte, ocorre significativa mortalidade embrionária durante as três primeiras semanas de gestação. Durante esse período, o desenvolvimento de zigoto a conceito depende exclusivamente das secreções tubáricas e uterinas. A qualidade dessas secreções é modulada pela exposição sequencial do trato reprodutivo ao estradiol (E2) durante o proestro/estro e à progesterona (P4) durante o diestro inicial. Estratégias visando a otimização da qualidade uterina para o desenvolvimento embrionário são discutidas e incluem o gerenciamento do crescimento do folículo pré-ovulatório, a suplementação de E2 no proestro, a suplementação de P4 no diestro inicial e combinações entre elas.

Palavras-chave: fertilidade; estradiol; progesterona; útero; conceito

1. Introdução

Em sistemas de produção de bezerros de corte, a taxa de mortalidade embrionária que ocorre nas três primeiras semanas de gestação chega a 40-50% e impacta negativamente a rentabilidade da cadeia da carne bovina. Durante esse período, o crescimento do conceito depende exclusivamente de secreções do oviduto e do útero, nos ambientes tubárico e uterino. Por limitação de espaço, no contexto do presente trabalho abordaremos apenas o ambiente uterino, apesar de ser notória a contribuição do ambiente tubárico para o desenvolvimento embrionário inicial. Trabalhamos com a hipótese central que a composição bioquímica das secreções uterinas define a qualidade do ambiente uterino e, conseqüentemente, determina a sobrevivência ou morte do embrião. As secreções uterinas são produto do funcionamento uterino, ou seja, das atividades celulares e moleculares desse órgão. Tais atividades consistem na síntese e degradação seletiva e no transporte de moléculas oriundas do sangue e produzidas no próprio tecido uterino para o lúmen uterino, onde o conceito se desenvolverá. A

programação do funcionamento uterino é complexa. Há tanto estímulos endócrinos, pelos esteroides sexuais estradiol e progesterona, quanto parácrinos, por fatores produzidos pelo próprio útero, como as prostaglandinas, e por fatores produzidos pelo concepto, como o interferon-tau. O objetivo do presente trabalho é reportar sobre estratégias para manipular o funcionamento uterino de maneira a favorecer o desenvolvimento embrionário e a fertilidade de vaca de corte. Dividiremos tais estratégias de acordo com o momento de seu emprego, ou seja, antes ou após a ovulação.

2. Estratégias aplicadas antes da ovulação

Durante os estágios que antecedem (proestro/estro) e sucedem (metaestro/diestro inicial) a ovulação em bovinos, importantes mudanças nas concentrações circulantes de hormônios sexuais ocorrem e definem o perfil endócrino periovulatório (PEP). Modificações no PEP compreendem variações nas concentrações pré-ovulatórias de estradiol (E2) e pós-ovulatórias de progesterona (P4). Tais variações estão positivamente associadas com o crescimento do folículo pré-ovulatório (POF) e do corpo lúteo (CL) resultante da sua ovulação (BINELLI et al., 2014; VASCONCELLOS et al., 2001). Desta maneira, POF maiores promovem maiores concentrações circulantes de E2 no proestro/estro e resultam em maiores CLs e concentrações de P4 no diestro em vacas de corte (PERES et al., 2009; VASCONCELLOS et al., 2001; MESQUITA et al., 2014). O PEP afeta a fertilidade, já que fêmeas de corte com maior diâmetro de POF no momento da IATF (>11,0 mm) apresentam maiores taxas de prenhez (PERRY et al., 2005; PERRY et al., 2007; SÁ FILHO et al., 2010). Efeitos na fertilidade podem ocorrer através de alterações nos tecidos-alvo como o endométrio, que expressa receptores de P4 e E2 e cujas funções moduladas por esses esteroides incluem a produção de secreções (i.e., o histotrofo) (ROBINSON et al., 2001; BAZER and SLAYDEN, 2008). A distribuição espacial e temporal dos receptores de E2 (ESR) e P4 (PGR) no útero é crítica para o estabelecimento da gestação em bovinos (BAZER et al., 2010; SHIMIZU et al., 2010). Desta forma, inadequações temporais ou de concentrações de esteroides sexuais bem como da expressão tecidual dos respectivos receptores em torno da ovulação podem afetar a função endometrial e influenciar negativamente o crescimento do concepto e, conseqüentemente, o sucesso da gestação (OKUMU et al., 2010). Resumidamente, durante o PEP o tecido endometrial está sob influência de eventos endócrinos sequenciais, caracterizados principalmente pelo

desenvolvimento folicular e luteal, e das secreções de E2 e P4, as quais podem interferir com o status receptivo do útero (MILLER and MOORE, 1976; MESQUITA et al., 2014).

Para elaborar estratégias visando estimular o crescimento do POF no momento da IATF, pode-se reduzir as concentrações de P4 durante o desenvolvimento folicular (DIAS et al., 2009; MENEGHETTI et al., 2009; PERES et al., 2009) e aumentar a duração do período entre a regressão do CL e a ovulação (i.e., o proestro) (BRIDGES et al., 2008; BRIDGES et al., 2010; RIBEIRO et al., 2012). A redução das concentrações de P4 aumenta a frequência pulsátil de secreção de LH (KINDER et al., 1996; KOJIMA et al., 2003), que estimula o desenvolvimento folicular (KOJIMA et al., 2003). Fêmeas de corte com um CL funcional durante o protocolo de sincronização da ovulação podem apresentar maiores concentrações de P4 nesse período. Para esses animais, a antecipação da regressão do CL durante o protocolo de sincronização pode proporcionar maiores taxas de prenhez (DIAS et al., 2009; MENEGHETTI et al., 2009; PERES et al., 2009).

Mecanismos que controlam a maior fertilidade em vacas com POF maiores estão provavelmente relacionados a um ambiente uterino mais receptivo, gerado pela exposição sequencial à maiores concentrações de E2 no proestro e de P4 no diestro (BRIDGES et al., 2013; JINKS et al., 2013). Para aumentar a compreensão desses mecanismos, Mesquita et al. (2014) validaram um modelo em vacas Nelore cíclicas que estavam entre os dias 5 e 9 do diestro para formação dos grupos: Folículos Grandes (FG; diâmetro médio do POF: $13,2 \pm 0,3$ mm) e Folículos Pequenos (FP; diâmetro médio do POF: $10,8 \pm 0,3$ mm). O grupo FG foi gerado pelo tratamento com prostaglandina (PGF) no momento da inserção do dispositivo de P4 para redução das concentrações de P4 durante o desenvolvimento folicular. Além disso, no grupo FG houve aumento do período de proestro através da retirada antecipada do dispositivo de P4, i.e. 42 a 60 h antes da indução da ovulação com GnRH. Em contraste, os animais do grupo FP não receberam PGF e a retirada do implante só ocorreu 12 a 24h depois. A fertilidade desse modelo para gerar POF pequenos ou grandes através da redução das concentrações circulantes de P4 durante o desenvolvimento folicular foi testada por Pugliesi et al. (2016) em vacas de corte em lactação. Neste estudo, foi observado no grupo FP comparado ao grupo FG, menores taxas de ovulação (74,5% [41/55] vs. 90,9% [50/55]), expressão de estro (24% [5/21] vs. 82% [23/28]) e prenhez (30,9% [17/55] vs. 56,4% [31/55]). Fundamentalmente, esses estudos demonstraram que baixas

concentrações de E2 no proestro e de P4 no diestro favorecem um fenótipo de baixa fertilidade, portanto, independente da categoria de vaca a ser trabalhada deve-se priorizar obter um ambiente endócrino similar ao proporcionado por um FG.

Uma estratégia amplamente usada para estimular o crescimento do POF é pela administração da gonadotrofina coriônica equina (eCG) no final do protocolo de sincronização. Devido às suas ações gonadotróficas (MURPHY and MARTINUK, 1991), sua aplicação estimula o desenvolvimento folicular final, resulta em maior taxa de ovulação, tamanho do CL e taxa de prenhez (Dias et al., 2009; Peres et al., 2009; Sá Filho et al., 2010a e 2010b). Para revisão recente sobre esse tópico ver Bó et al. (2013, 2016).

Finalmente, a adição de fonte exógena de E2 ao fim do protocolo de sincronização além de estimular a liberação de GnRH e a ovulação, serve para prover importante estímulo estrogênico ao útero sem influenciar a progesteronemia pós ovulação. A importância de maiores concentrações de E2 nesse momento do protocolo para a fertilidade de bovinos de corte e leite já foi amplamente demonstrada (SÁ FILHO et al., 2011; JINKS et al., 2013; PEREIRA et al., 2013 e 2016). A adição de uma fonte exógena de E2 (e.g., cipionato de E2) favorece a expressão de estro e as taxas de prenhez (PERES et al., 2009; SÁ FILHO et al., 2011; PEREIRA et al., 2016). Adicionalmente, Jinks et al. (2013) e Pereira et al. (2013), observaram efeitos benéficos do tratamento com E2 exógeno sobre a taxa de prenhez de vacas que apresentaram POFs pequenos no momento da IATF. Realmente, houve aumento de 36% no tamanho do conceito em vacas que expressaram estro comparado à fêmeas que não expressaram na IATF (DAVOODI et al., 2016). Contudo, visando-se mimetizar farmacologicamente os efeitos fisiológicos da ovulação de um FG, juntamente com o uso da fonte exógena de E2 no proestro preconiza-se a suplementação de P4 no diestro inicial em programas de IATF. De fato, Pugliesi et al. (2016) verificaram que a suplementação com 150 mg de P4 injetável 4 dias após IATF aumentou a taxa de prenhez no grupo FP (sem P4: 30,9% [17/55] vs. com P4: 44,7% [25/56]) mas não no grupo FG (sem P4: 56,4% [31/55] vs. com P4: 51,8% [28/54]). Adicionalmente, os autores também observaram efeito benéfico dessa suplementação em vacas Nelore multíparas lactantes, sincronizadas com protocolo convencional a base de E2/P4, que apresentaram CLs menores ou iguais a 0,9 cm² no dia 4 pós IATF (sem P4: 40,4% [21/52] vs. com P4: 57,9% [22/38]). Em conjunto, esses dados suportam a ideia de que um ambiente uterino deficiente gerado por baixas concentrações de E2 no proestro e de P4 no diestro, causado por exemplo

pela indução da ovulação de um folículo pequeno, pode ser uma importante causa de falhas gestacionais.

Em resumo, evidências se acumulam em suporte ao efeito positivo do aumento da disponibilidade e do período de exposição ao E2 durante o proestro/estro e da P4 no metaestro/diestro sobre a fertilidade de protocolos de sincronização. Tais incrementos podem ser determinados por modificações na função endometrial que estimulam o crescimento e sobrevivência do conceito. Apesar de associações entre o PEP e a preparação da receptividade endometrial em bovinos terem sido reportadas, os mecanismos exatos envolvidos na maior receptividade uterina ainda são desconhecidos. Entretanto, usando o modelo proposto por Mesquita et al. (2014) para modulação do PEP com base no desenvolvimento diferencial do POF foi possível estudar o impacto do PEP em diversas vias importantes envolvidas nos ambientes uterino em vacas de corte. Tais manipulações induziram alterações na expressão endometrial de receptores de esteroides sexuais, proliferação celular, metabolismo oxidativo e síntese de eicosanoides no útero, sem, no entanto, alterar o transporte de glicose para o lúmen uterino (FRANÇA et al., 2014; RAMOS et al., 2014; MESQUITA et al., 2014; 2015; OLIVEIRA et al., 2015). Mesquita et al. (2015) demonstraram que o PEP gerado pelo FG (altas concentrações de E2 e P4) programou o endométrio para que se tornasse biossinteticamente e metabolicamente mais permissivo ao estabelecimento da gestação.

3. Estratégias aplicadas após a ovulação

A mortalidade embrionária entre os dias 8 e 16 do diestro é uma das principais causas de falha reprodutiva em bovinos, sendo responsável por até 40% das perdas embrionárias (DISKIN and SREENAN, 1980; DISKIN and MORRIS, 2008). Provavelmente, grande parte dessa mortalidade ocorre por falhas durante o período de reconhecimento materno da gestação. Nesse momento, dias 15 a 17 pós estro, a ocorrência de luteólise deve ser bloqueada pela liberação de interferon-tau (IFN- τ) pelo conceito (para revisão, veja BINELLI et al., 2001), permitindo assim a manutenção da gestação. Postula-se que a competência do conceito em produzir suficiente IFN- τ depende de estímulos uterinos. De fato, nos primeiros 7 dias pós estro, a P4 estimula a expressão de alguns genes relacionados com a síntese de histotrofo e metabolismo energético (FORDE et al., 2009), que favorece o desenvolvimento embrionário (GARRETT et al., 1988; CARTER et al., 2008) e a produção de IFN- τ pelo conceito no momento adequado (O'HARA et al., 2014a). Neste sentido, já é bem reportado que a

taxa de prenhez é menor em novilhas (DISKIN and MORRIS, 2008) e vacas (STARBUCK, 1999; STRONGE et al., 2005) com reduzida concentração de P4 no início do diestro. Baixas concentrações de P4 neste período reduzem o tamanho do concepto no dia 16 e consequentemente podem resultar em baixa secreção de IFN- τ , comprometendo a manutenção da prenhez (MANN and LAMMING, 2001). Desta forma, estratégias pós-ovulatórias que promovam um aumento das concentrações de P4 no início do diestro podem favorecer o estabelecimento da gestação e consequentemente aumentar as taxas de prenhez, independente dos efeitos prévios da exposição dos tecidos reprodutivos ao E2 no proestro/estro.

Diversas estratégias para incremento das concentrações de P4 durante o diestro podem ser utilizadas, e incluem: 1) estimular o funcionamento do CL original (i.e., capacidade de produzir P4; MAILLO et al., 2014); 2) formar um CL acessório no diestro (ROSSETTI et al., 2011; NASCIMENTO et al., 2013); 3) empregar dispositivos intravaginais de P4 (STEVENSON and MEE, 1991; O'HARA et al., 2014a; MONTEIRO et al., 2015); 4) suplementar P4 de formulação injetável por aplicações diárias (GINTHER, 1970; BELTMAN et al., 2009; FRIEDMAN et al., 2012); ou pelo uso de uma formulação de P4 injetável de longa ação (PUGLIESI et al., 2014; PUGLIESI et al., 2016). A administração de hCG entre os dias 3 e 4 pós estro aumentam o tamanho de tecido luteal e as concentrações de P4 circulante por volta dos dias 7 e 9 pós-estro (MAILLO et al., 2014). Já a administração de GnRH ou LH (MARTINEZ et al., 1999) ou mais comumente o tratamento com hCG entre os dias 5 e 7 do diestro (ROSSETTI et al., 2011; NASCIMENTO et al., 2013) induzem a ovulação de um folículo dominante e a formação de CL acessório. Essa estratégia, permite um aumento de P4 que é lento e gradual (~3 dias) em comparação à liberação de P4 oriunda de um dispositivo de P4, que permite um aumento já nas primeiras horas após a inserção (NASCIMENTO et al., 2013). Similarmente ao dispositivo, o tratamento com P4 injetável, favorece o aumento rápido das concentrações de P4 mas se torna uma estratégia mais prática devido à necessidade de manejar os animais apenas uma vez (PUGLIESI et al., 2014). Além disso, os efeitos positivos da P4 no endométrio parecem estar associados ao seu aumento rápido e transitório na circulação durante o diestro inicial. De fato, Yan et al. (2015) confirmaram recentemente em estudo de meta-análise com 19.040 vacas que os efeitos benéficos da P4 sobre a fertilidade estão associados ao aumento em sua concentração circulante entre os dias 3 e 7 do diestro.

Quanto ao local de ação da P4 administrada após a ovulação, sabe-se que a

administração de P4 injetável (GARRETT et al., 1988) ou o uso de dispositivo intravaginal de P4 (CARTER et al., 2008) no início da prenhez eleva as concentrações de P4 e está associado positivamente ao tamanho do conceito no dia 14 (GARRETT et al., 1988) e 16 (CARTER et al., 2008) da gestação. Neste contexto, estudos foram realizados na tentativa de esclarecer se o efeito da P4 logo após a concepção é mediado por um efeito direto no embrião ou envolve mudanças no ambiente uterino. Muitas das ações da P4 são mediadas através da sua ligação ao seu receptor nuclear (PGR). Clemente et al. (2009) observaram mRNA para PGR em embriões bovinos, indicando que possivelmente haja um efeito da P4 diretamente no embrião. No entanto, neste mesmo estudo foi observado que a elevação nas concentrações de P4 anterior à transferência de embriões no D7 resultou em aumento no comprimento do conceito no dia 14. Desta forma, parece que a presença do embrião não é necessária durante o período de altas concentrações de P4 para se ter um avanço na elongação do conceito (CLEMENTE et al., 2009). Portanto, o efeito da P4 parece ocorrer não devido ao efeito direto no embrião, mas devido a mudanças no ambiente uterino em que o embrião irá se desenvolver. Adicionalmente, também não foi observado um efeito da P4 em meio de cultivo *in vitro* de embriões na proporção de zigotos desenvolvendo-se a blastocistos ou na qualidade do blastocisto (RINGS et al., 2007; CLEMENTE et al., 2009).

Apesar do positivo efeito embriotrófico, a suplementação de P4 no diestro inicial pode apresentar um efeito antagônico ao sucesso gestacional, já que em algumas condições resulta em maior incidência de luteólise precoce (O'HARA et al., 2014a; PUGLIESI et al., 2014). Esses efeitos podem ser mais ou menos intensos dependendo da combinação entre momento, via, dose e fonte de P4 administrada (MANN and LAMMING, 1999). Dessa forma, O'Hara et al. (2014a) observaram que a inserção de dispositivo intravaginal de P4 no dia 3 (dia 0: estro) aumentou o desenvolvimento do conceito mas também a incidência de luteólise precoce. Por outro lado, o início do tratamento no dia 5 amenizou a incidência de luteólise precoce mas não afetou o desenvolvimento do conceito. Similarmente, Pugliesi et al. (2014) trabalhando com vacas Nelore observaram que o aumento da dose de P4 injetável, de 150 mg para 300 mg, e/ou a antecipação da administração de P4, de 3 para 2 dias após a ovulação, causou uma maior ocorrência de luteólise precoce.

A regressão antecipada do CL observada em animais tratados com P4 injetável pode ter pelo menos duas explicações: a inibição na formação de um CL funcional e/ou o desencadeamento prematuro do processo luteolítico no útero. O'Hara et al. (2014b),

sugeriram que falhas no desenvolvimento luteal, provavelmente causada pela menor frequência pulsátil de LH, podem estar envolvidas no processo de antecipação da luteólise. A suplementação com P4 injetável (100 mg) nos dias 1 ou 4, ou nos dias 3 a 5 pós-estro com dispositivos intravaginais de P4 (1,55g) resultou em menores concentrações de P4 nos dias subsequentes ao fim da suplementação com P4, comparado ao grupo não tratado, indicando uma redução na funcionalidade do CL (GARRETT et al., 1988; O'HARA et al., 2014a). No entanto, em trabalho realizado por Pugliesi et al. (2014), a suplementação com P4 injetável de longa ação (150 ou 300 mg) no dia 3 pós-ovulação não afetou o tamanho e vascularização do CL nem as concentrações plasmáticas de P4 durante o desenvolvimento luteal. Entretanto, a luteólise ocorreu em média 3 dias antes em comparação aos animais não suplementados com P4. Para verificar a possibilidade de que haja um efeito direto da P4 promovendo a liberação precoce de pulsos luteolíticos de $\text{PGF}_2\alpha$ endometrial, Batista e colaboradores (2016, dados não publicados) trataram vacas Nelore com 0 ou 300 mg de P4 injetável no dia 3 pós-ovulação. Amostras de células endometriais foram coletadas transcervicalmente nos dias 3, 5, 7, 9, 11, 13 e 16 utilizando-se escovas citológicas ("cytobrush") para posterior análise de mRNA para os genes que codificam o receptor de P4 (PGR; associado à habilidade do endométrio em inibir a luteólise) e o receptor de ocitocina (OXTR; associado à liberação de pulsos luteolíticos de PGF). Observou-se uma maior proporção de animais com luteólise estrutural antecipada (luteólise até dia 16 pós-ovulação; $P = 0.03$) no grupo que recebeu P4 injetável (50%) em relação ao grupo controle (8,3%). Embora tenha sido observada uma abundância de transcritos similar ao longo do tempo para o gene PGR, vacas do grupo que recebeu P4 injetável e que apresentaram luteólise antecipadamente mostraram aumento precoce na abundância de transcritos para o gene OXTR. Uma vez que tal evento precede a liberação de pulsos luteolíticos de PGF endometrial, sugere-se que a regressão precoce do CL de animais tratados com P4 injetável seja causada por sua ação no útero.

Em resumo, os resultados de fertilidade obtidos pela suplementação com P4 dependem de um equilíbrio entre seus efeitos embriotróficos e luteolíticos, ambos exercidos provavelmente no útero. Mais estudos são necessários para que se defina se tais efeitos são manipuláveis, mas já se sabe que são dependentes do momento, dose e via de administração da P4 suplementar. Um ponto final para consideração quando se visa incrementar o sucesso gestacional pela suplementação de P4 é a exposição a concentrações adequadas de E2 durante o proestro/estro, como comentado na seção

anterior. O E2 está envolvido no controle de processos fisiológicos que contribuem para o estabelecimento da prenhez, incluindo efeito nas células foliculares, oócitos, transporte de gametas e preparação do ambiente uterino (POHLER et al., 2012). Desta forma, estratégias para aumentar a quantidade de E2 durante o proestro/estro, como o estímulo ao crescimento do POF ou suplementação exógena de E2, aliado a suplementação com P4 no início do diestro, podem resultar em maiores taxas de prenhez. Mais importante, o papel do E2 durante o proestro/estro pode ser determinante para o sucesso da estratégia de suplementação de P4 pós-ovulação.

4. Conclusão e perspectivas

Em programas de IATF em vacas de corte, procura-se mimetizar farmacologicamente os eventos ovarianos de modo a se obterem ovulações sincronizadas, tendo sido pouco priorizados os efeitos uterinos dessas práticas. Um ambiente uterino propício ao desenvolvimento do conceito é condicionado pela correta exposição do trato reprodutivo materno aos esteroides sexuais no período peri-ovulatório. Apresentaram-se acima estratégias para entregar ao trato reprodutivo os esteroides sexuais E2 e P4 em quantidades adequadas e nos momentos corretos em relação à ovulação visando estimular o crescimento do conceito e o sucesso gestacional. As estratégias incluem: (1) o gerenciamento do crescimento do folículo dominante pré-ovulatório visando aumentar as concentrações de E2 no proestro/estro e de P4 no diestro inicial, (2) a suplementação de E2 no proestro, (3) a suplementação de P4 no diestro inicial e (4) combinações dessas estratégias. Contudo, a obtenção da máxima eficiência de tais estratégias depende do aprofundamento da compreensão dos mecanismos de ação do E2 e da P4 no útero bovino.

REFERÊNCIAS

- BAZER, F. W., and O. D. SLAYDEN. 2008. Progesterone-induced gene expression in uterine epithelia: a myth perpetuated by conventional wisdom. *Biology of Reproduction*. 79: 1008-1009.
- BAZER, F.W., G. WU, T. E. SPENCER, G. A. JOHNSON, R. C. BURGHARDT, and K. BAYLESS. 2010. Novel pathways for implantation and establishment and maintenance of pregnancy in mammals. *Molecular Human Reproduction*. 16: 135-152.
- BELTMAN, M. E., J. F. ROCHE, P. LONERGAN, N. FORDE, and M. A. CROWE. 2009. Evaluation of models to induce low progesterone during the early luteal phase in cattle. *Theriogenology*. 72: 986-992.
- BINELLI, M., G. PUGLIESI, V. V. HOECK, M. SPONCHIADO, R. S. RAMOS, M. L. OLIVEIRA, M. R. FRANÇA, F. L. D'ALEXANDRI, F. S. MESQUITA, and C. M. B. MEMBRIVE. 2014. The role of proestrus on fertility and postovulatory uterine function in the cow. *Anim. Reprod.* 11: 246–253.
- BINELLI, M., W. W. THATCHER, R. MATTOS, and P. S. BARUSELLI. 2001. Antiluteolytic strategies to improve fertility in cattle. *Theriogenology* 56:1451–1463.
- BÓ, G. A., P. S. BARUSELLI, and R. J. MAPLETOFT. 2013. Synchronization techniques to increase the utilization of artificial insemination. *Animal Reproduction*. 10: 137-142.
- BÓ, G. A., J. J. DE LA MATA, P. S. BARUSELLI, and A. MENCHACA. 2016. Alternative programs for synchronizing and resynchronizing ovulation in beef cattle. *Theriogenology*. 86: 388-396.
- BRIDGES, G. A., M. L. DAY, T. W. GEARY, and L. H. CRUPPE. 2013. Triennial Reproduction Symposium: Deficiencies in the uterine environment and failure to support embryonic development. *J. Anim. Sci.* 91:3002–3013.
- BRIDGES, G. A., L. A. HELSER, D. E. GRUM, M. L. MUSSARD, C. L. GASSER, and M. L. DAY. 2008. Decreasing the interval between GnRH and PGF₂ from 7 to 5 days and lengthening proestrus increases timed-AI pregnancy rates in beef cows. *Theriogenology* 69:843–851.
- BRIDGES, G. A., M. L. MUSSARD, C. R. BURKE, and M. L. DAY. 2010. Influence of the length of proestrus on fertility and endocrine function in female cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 117:208–215.
- CARTER, F., N. FORDE, P. DUFFY, M. WADE, T. FAIR, M. A. CROWE, A. C. O. EVANS, D. A. KENNY, J. F. ROCHE, and P. LONERGAN. 2008. Effect of increasing progesterone concentration from Day 3 of pregnancy on subsequent embryo survival and development in beef heifers. *Reprod. Fertil. Dev.* 20:368–375.
- CLEMENTE, M., J. DE LA FUENTE, T. FAIR, A. AL NAIB, A. GUTIERREZ-ADAN, J. F. ROCHE, D. RIZOS, and P. LONERGAN. 2009. Progesterone and conceptus elongation in cattle: A direct effect on the embryo or an indirect effect via the endometrium? *Reproduction* 138:507–517.
- DAVOODI, S., R. F. COOKE, A. C. D. C. FERNANDES, B. I. CAPPELLOZZA, J. L. M. VASCONCELOS, and R. L. A. CERRI. 2016. Expression of estrus modifies the gene expression profile in reproductive tissues on Day 19 of gestation in beef cows. *Theriogenology*. 85: 645-655.
- DIAS, C. C., F. S. WECHSLER, M. L. DAY, and J. L. M. VASCONCELOS. 2009. Progesterone concentrations, exogenous equine chorionic gonadotropin, and timing of prostaglandin F₂ α treatment affect fertility in postpuberal Nelore heifers. *Theriogenology* 72:378–385.
- DISKIN, M. G., and D. G. MORRIS. 2008. Embryonic and early foetal losses in cattle

- and other ruminants. *Reprod. Domest. Anim.* 43:260–267.
- DISKIN, M. G., and J. M. SREENAN. 1980. Fertilization and embryonic mortality rates in beef heifers after artificial insemination. *J. Reprod. Fertil.* 59:463–468.
- FORDE, N., F. CARTER, T. FAIR, M. A CROWE, A C. O. EVANS, T. E. SPENCER, F. W. BAZER, R. MCBRIDE, M. P. BOLAND, P. O’GAORA, P. LONERGAN, and J. F. ROCHE. 2009. Progesterone-regulated changes in endometrial gene expression contribute to advanced conceptus development in cattle. *Biol. Reprod.* 81:784–794.
- FRANÇA, M.R., F. S. MESQUITA, E. LOPES, G. PUGLIESI, V. VAN HOECK, M. R. CHIARATTI, C. B. MEMBRIVE, P. C. PAPA, and M. BINELLI. 2015. Modulation of periovulatory endocrine profiles in beef cows: Consequences for endometrial glucose transporters and uterine fluid glucose levels. *Domest. Anim. Endocrinol.* 50: 83–90.
- FRIEDMAN, E., Z. ROTH, H. VOET, Y. LAVON, and D. WOLFENSON. 2012. Progesterone supplementation postinsemination improves fertility of cooled dairy cows during the summer. *Journal of dairy science.* 95: 3092-3099.
- GARRETT, J. E., R. D. GEISERT, M. T. ZAVY, and G. L. MORGAN. 1988. Evidence for maternal regulation of early conceptus growth and development in beef cattle. *J. Reprod. Fertil.* 84:437–446.
- GINTHER, O. 1970. Effect of progesterone on length of estrous cycle in cattle. *American journal of veterinary research.* 31: 493-496.
- JINKS, E. M., M. F. SMITH, J. A. ATKINS, K. G. POHLER, G. A. PERRY, M. D. MACNEIL, A. J. ROBERTS, R. C. WATERMAN, L. J. ALEXANDER, and T. W. GEARY. 2013. Preovulatory estradiol and the establishment and maintenance of pregnancy in suckled beef cows. *J. Anim. Sci.* 91:1176–1185.
- KINDER, J. E., F. N. KOJIMA, E. G. M. BERGFELD, M. E. WEHRMAN, and K. E. FIKE. 1996. Progestin and Estrogen Regulation of Pulsatile LH Release and Development of Persistent Ovarian Follicles in Cattle. *J. Anim. Sci.* 74:1424–1440.
- KOJIMA, F. N., E. G. M. BERGFELD, M. E. WEHRMAN, A. S. CUPP, K. E. FIKE, D. V. MARISCAL-AGUAYO, T. SANCHEZ-TORRES, M. GARCIA-WINDER, D. T. CLOPTON, A. J. ROBERTS, and J. E. KINDER. 2003. Frequency of luteinizing hormone pulses in cattle influences duration of persistence of dominant ovarian follicles, follicular fluid concentrations of steroids, and activity of insulin-like growth factor binding proteins. *Anim. Reprod. Sci.* 77:187–211.
- MAILLO, V., P. DUFFY, L. O’HARA, C. DE FRUTOS, A. KELLY, P. LONERGAN, D. RIZOS. 2014. Effect of hCG administration during corpus luteum establishment on subsequent corpus luteum development and circulating progesterone concentrations in beef heifers. *Reprod. Fertil. Dev.* 26: 367-374.
- MANN, G. E., and G. E. LAMMING. 1999. The Influence of Progesterone During Early Pregnancy in Cattle. *Reprod. Domest. Anim.* 34:269–274.
- MANN, G., and G. LAMMING. 2001. Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. *Reproduction.* 121: 175-180.
- MARTINEZ, M. F., G. P. ADAMS, D. R. BERGFELT, J. P. KASTELIC, and R. J. MAPLETOFT. 1999. Effect of LH or GnRH on the dominant follicle of the first follicular wave in beef heifers. *Anim. Reprod. Sci.* 57:23–33.
- MENEGHETTI, M., O. G. S. FILHO, R. F. G. PERES, G. C. LAMB, and J. L. M. VASCONCELOS. 2009. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows I: Basis for development of protocols. *Theriogenology* 72:179–189.
- MESQUITA, F. S., G. PUGLIESI, S. C. SCOLARI, M. R. FRANÇA, R. S. RAMOS, M. OLIVEIRA, P. C. PAPA, F. F. BRESSAN, F. V MEIRELLES, L. A. SILVA, G. P.

- NOGUEIRA, C. M. B. MEMBRIVE, and M. BINELLI. 2014. Manipulation of the periovulatory sex steroidal milieu affects endometrial but not luteal gene expression in early diestrus Nelore cows. *Theriogenology* 81:861–869.
- MESQUITA, F. S., R. S. RAMOS, G. PUGLIESI, S. C. S. ANDRADE, V. VAN HOECK, A. LANGBEEN, M. L. OLIVEIRA, A. M. GONELLA-DIAZA, G. GASPARIN, H. FUKUMASU, L. H. PULZ, C. M. MEMBRIVE, L. L. COUTINHO, and M. BINELLI. 2015. The Receptive Endometrial Transcriptomic Signature Indicates an Earlier Shift from Proliferation to Metabolism at Early Diestrus in the Cow. *Biol. Reprod.* 93:52–52.
- MILLER, B. G., and N. W. MOORE. 1976. Effects of progesterone and oestradiol on RNA and protein metabolism in the genital tract and on survival of embryos in the ovariectomized ewe. *Aust J. Biol Sci.* 29: 565-573.
- MONTEIRO, P. L. J., A. B. NASCIMENTO, G. C. S. PONTES, G. O. FERNANDES, L. F. MELO, M. C. WILTBANK, and R. SARTORI. 2015. Progesterone supplementation after ovulation: Effects on corpus luteum function and on fertility of dairy cows subjected to AI or ET. *Theriogenology* 84:1215–1224.
- MURPHY, B. D., and S. D. MARTINUK. 1991. Equine chorionic gonadotropin. *Endocr. Rev.* 12:27–44.
- NASCIMENTO, A. B., A. H. SOUZA, J. N. GUENTHER, F. P. D. COSTA, R. SARTORI, and M. C. WILTBANK. 2013. Effects of treatment with human chorionic gonadotrophin or intravaginal progesterone-releasing device after AI on circulating progesterone concentrations in lactating dairy cows. *Reprod. Fertil. Dev.* 25:818–824.
- O'HARA, L., N. FORDE, F. CARTER, D. RIZOS, V. MAILLO, A. D. EALY, A. K. KELLY, P. RODRIGUEZ, N. ISAKA, A. C. O. EVANS, and P. LONERGAN. 2014a. Paradoxical effect of supplementary progesterone between day 3 and day 7 on corpus luteum function and conceptus development in cattle. *Reprod. Fertil. Dev.* 26:328–336.
- O'HARA, L., N. FORDE, P. DUFFY, F. RANDI, A. K. KELLY, A. VALENZA, P. RODRIGUEZ, and P. LONERGAN. 2014b. Effect of combined exogenous progesterone with luteotrophic support via equine chorionic gonadotrophin (eCG) on corpus luteum development, circulating progesterone concentrations and embryo development in cattle. *Reprod. Fertil. Dev.*:269–277.
- OKUMU L. A., N. FORDE, A. G. FAHEY, E. FITZPATRICK, J. F. ROCHE, M. A. CROWE, and P. LONERGAN. 2010. The effect of elevated progesterone and pregnancy status on mRNA expression and localisation of progesterone and oestrogen receptors in the bovine uterus. *Reproduction*. 140: 143-153.
- OLIVEIRA, M. L., F. L. D'ALEXANDRI, G. PUGLIESI, V. VAN HOECK, F. S. MESQUITA, C. M. MEMBRIVE, J. A. NEGRÃO, C. E. WHEELLOCK, and M. BINELLI. 2015. Peri-ovulatory endocrine regulation of the prostanoid pathways in the bovine uterus at early dioestrus. *Reproduction, Fertility and Development*. <http://dx.doi.org/10.1071/RD15269>
- POHLER, K. G., T. W. GEARY, J. A. ATKINS, G. A. PERRY, E. M. JINKS, and M. F. SMITH. 2012. Follicular determinants of pregnancy establishment and maintenance. *Cell and tissue research*. 349:649-664.
- PEREIRA, M. H. C., A. D. P. RODRIGUES, T. MARTINS, W. V. C. OLIVEIRA, P. S. A. SILVEIRA, M. C. WILTBANK, and J. L. M. VASCONCELOS. 2013. Timed artificial insemination programs during the summer in lactating dairy cows: Comparison of the 5-d Cosynch protocol with an estrogen/progesterone-based protocol. *J. Dairy Sci.* 96:6904–6914.
- PEREIRA, M. H. C., M. C. WILTBANK, and J. L. M. VASCONCELOS. 2016. Expression of estrus improves fertility and decreases pregnancy losses in lactating dairy

- cows that receive artificial insemination or embryo transfer. *J. Dairy Sci.* 99:2237–2247.
- PERES, R. F. G., I. C. JÚNIOR, O. G. S. FILHO, G. P. NOGUEIRA, and J. L. M. VASCONCELOS. 2009. Strategies to improve fertility in *Bos indicus* postpubertal heifers and nonlactating cows submitted to fixed-time artificial insemination. *Theriogenology* 72:681–689.
- PERRY, G. A., M. F. SMITH, M. C. LUCY, J. A. GREEN, T. E. PARKS, M. D. MACNEIL, A. J. ROBERTS, and T. W. GEARY. 2005. Relationship between follicle size at insemination and pregnancy success. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 102:5268–5273.
- PERRY, G. A., M. F. SMITH, A. J. ROBERTS, M. D. MACNEIL, and T. W. GEARY. 2007. Relationship between size of the ovulatory follicle and pregnancy success in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 85:684–689.
- PUGLIESI, G., M. L. OLIVERIA, S. C. SCOLARI, E. LOPES, F. V. PINAFFI, B. T. MIAGAWA, Y. N. PAIVA, J. R. G. MAIO, G. P. NOGUEIRA, and M. BINELLI. 2014. Corpus luteum development and function after supplementation of long-acting progesterone during the early luteal phase in beef cattle. *Reprod. Domest. Anim.* 49:85–91.
- PUGLIESI, G., F. B. SANTOS, E. LOPES, É. NOGUEIRA, J. R. G. MAIO, and M. BINELLI. 2016. Improved fertility in suckled beef cows ovulating large follicles or supplemented with long-acting progesterone after timed-AI. *Theriogenology* 85:1239–1248.
- RAMOS, R.S., M. L. OLIVEIRA, A. P. IZAGUIRRY, L. M. VARGAS, M. B. SOARES, F. S. MESQUITA, F. W. SANTOS, and M. BINELLI. 2015. The periovulatory endocrine milieu affects the uterine redox environment in beef cows. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 13:39. doi:10.1186/s12958-015-0036-x
- RIBEIRO, E. S., A. P. A. MONTEIRO, F. S. LIMA, H. AYRES, R. S. BISINOTTO, M. FAVORETO, L. F. GRECO, R. S. MARSOLA, W. W. THATCHER, and J. E. P. SANTOS. 2012. Effects of presynchronization and length of proestrus on fertility of grazing dairy cows subjected to a 5-day timed artificial insemination protocol. *J. Dairy Sci.* 95:2513–22.
- RINGS, F., F. CARTER, M. HÖLKER, A. KUZMANY, U. BESENFELDER, V. HAVLICEK, D. TESFAYE, K. SCHELLANDER, and P. LONERGAN. 2007. Effect of elevated circulating progesterone concentration on development of in vitro produced bovine zygotes in vivo. *Reproduction, Fertility and Development.* 20:147–148.
- ROBINSON R. S., G. E. MANN, G. E. LAMMING and D. C. WATHES. 2001. Expression of oxytocin, oestrogen and progesterone receptors in uterine biopsy samples throughout the oestrous cycle and early pregnancy in cows. *Reproduction.* 122: 965–979.
- ROSSETTI, R. C., A. PERDIGÃO, F. S. MESQUITA, M. SÁ FILHO, G. P. NOGUEIRA, R. MACHADO, C. M. B. MEMBRIVE, and M. BINELLI. 2011. Effects of flunixin meglumine, recombinant bovine somatotropin and/or human chorionic gonadotropin on pregnancy rates in Nelore cows. *Theriogenology* 76:751–758.
- SÁ FILHO, M. F., H. AYRES, R. M. FERREIRA, M. O. MARQUES, E. L. REIS, R. C. P. SILVA, C. A. RODRIGUES, E. H. MADUREIRA, G. A. BÓ, and P. S. BARUSELLI. 2010a. Equine chorionic gonadotropin and gonadotropin-releasing hormone enhance fertility in a norgestomet-based, timed artificial insemination protocol in suckled Nelore (*Bos indicus*) cows. *Theriogenology* 73:651–658.
- SÁ FILHO, M. F., A. M. CRESPILO, J. E. P. SANTOS, G. A. PERRY, and P. S. BARUSELLI. 2010. Ovarian follicle diameter at timed insemination and estrous response influence likelihood of ovulation and pregnancy after estrous synchronization

- with progesterone or progestin-based protocols in suckled *Bos indicus* cows. *Anim. Reprod. Sci.* 120:23–30.
- SÁ FILHO, M. F., J. E. P. SANTOS, R. M. FERREIRA, J. N. S. SALES, and P. S. BARUSELLI. 2011. Importance of estrus on pregnancy per insemination in suckled *Bos indicus* cows submitted to estradiol/progesterone-based timed insemination protocols. *Theriogenology* 76:455–463.
- SÁ FILHO, M. F., J. R. S. TORRES-JÚNIOR, L. PENTEADO, L. U. GIMENES, R. M. FERREIRA, H. AYRES, L. A. C. E PAULA, J. N. S. SALES, and P. S. BARUSELLI. 2010b. Equine chorionic gonadotropin improves the efficacy of a progestin-based fixed-time artificial insemination protocol in Nelore (*Bos indicus*) heifers. *Anim. Reprod. Sci.* 118:182–187.
- SHIMIZU, T., S. KREBS, S. BAUERSACHS, H. BLUM, E. WOLF, and A. MIYAMOTO. 2010. Actions and interactions of progesterone and estrogen on transcriptome profiles of the bovine endometrium. *Physiol. Genomics* 42:290–300.
- STARBUCK, G. 1999. The importance of progesterone during early pregnancy in the dairy cow. *Cattle Practice*. 7: 397–400.
- STEVENSON, J. S., and M. O. MEE. 1991. Pregnancy Rates of Holstein Cows After Postinsemination Treatment with a Progesterone-Releasing Intravaginal Device. *J. Dairy Sci.* 74:3849–3856.
- STRONGE, A., J. M. SREENAN, M. G. DISKIN, J. F. MEE, D. A. KENNY, and D. G. MORRIS. 2005. Post-insemination milk progesterone concentration and embryo survival in dairy cows. *Theriogenology*. 64: 1212–1224.
- VASCONCELOS J. L M, SARTORI R., OLIVEIRA H.N., GUENTHER J.G., and WILTBANK M.C. 2001. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. *Theriogenology Elsevier Sci.* 56:307–314.
- YAN, L., R. ROBINSON, Z. SHI, and G. MANN. 2016. Efficacy of progesterone supplementation during early pregnancy in cows: A meta-analysis. *Theriogenology*. 85: 1390–1398.

PROBLEMAS METABÓLICOS QUE INFLUENCIAM A REPRODUÇÃO

Roberto Sartori, Jéssica Nora Drum, Louise Helen de Oliveira

Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ, Universidade de São Paulo, Piracicaba/SP, Brasil - 13418-900

robertosartori@usp.br

RESUMO

Diversos eventos metabólicos em vacas no pré e pós parto podem influenciar a fertilidade. Estudos contemporâneos têm trazido novas perspectivas e informações mais detalhadas desta relação, permitindo manipulações de dietas e manejo com o propósito de aumentar a produção e a reprodução em bovinos. As alterações de escore de condição corporal (ECC), doenças no pré e pós-parto e as alterações nos hormônios metabólicos para vacas de corte e vacas leiteiras são alguns dos principais fatores que exercem impacto expressivo na eficiência reprodutiva. Nesse sentido, este artigo tem a proposta de apresentar e discutir resultados de alguns trabalhos relevantes sobre o tema, principalmente aqueles relacionados à influência do metabolismo sobre a reprodução de fêmeas bovinas.

Introdução

A nutrição pode afetar diretamente aspectos da fisiologia e eficiência reprodutiva da fêmea bovina. Dentre os fatores relacionados à diminuição da fertilidade estão: distúrbios metabólicos, infecções uterinas pós-parto, perdas embrionárias precoces e condições anovulatórias (Walsh *et al.*, 2011).

A queda da fertilidade em vacas leiteiras muitas vezes pode estar associada à nutrição e ao metabolismo, sendo as causas potenciais: o balanço energético negativo (BEN), evidenciado pela queda no escore de condição corporal (ECC) pós-parto, além dos efeitos deletérios de dietas altamente energéticas (Wiltbank *et al.*, 2006; Santos *et al.*, 2008a; Santos *et al.*, 2008b).

Além disto, bovinos de corte também podem ter sua fertilidade comprometida, sobretudo quando criados em sistemas de pastagens de baixa qualidade (Barreiros *et al.*,

2014), uma vez que a restrição do consumo de alimentos se refletirá em perda acentuada de ECC e consequentemente, anestro (Mackey *et al.*, 1999).

Por outro lado, o excesso de nutrientes principalmente quando fornecido para fêmeas doadoras de ovócitos e embriões também pode comprometer a reprodução. Este fato pode estar relacionado ao efeito negativo da elevada concentração sanguínea dos hormônios metabólicos na produção e qualidade embrionária (Surjus *et al.*, 2013) ou mesmo pelo maior fluxo sanguíneo ao fígado e, consequente, “clearance” de hormônios esteroides cujas concentrações circulantes são diminuídas (Parr *et al.*, 1993, Sangsritavong *et al.*, 2002; Vasconcelos *et al.*, 2003).

Neste contexto, ainda há muita controvérsia sobre os efeitos do “flushing” nutricional ou incremento na ingestão de matéria seca (IMS) sobre a fertilidade e produção embrionária em ruminantes (Diskin & Morris 2008; Leroy *et al.*, 2008; Santos *et al.*, 2008b; Sartori *et al.*, 2012).

Muitos pesquisadores têm direcionado especial atenção às relações diretas e indiretas existentes entre a nutrição e a reprodução. Desta forma, pela grande quantidade de informações sobre o tema em questão, a proposta principal deste artigo é apresentar alguns estudos que abordem a relação nutrição/metabolismo e fertilidade, destacando-se sobretudo, trabalhos realizados por nosso grupo de pesquisa.

Balanço energético negativo (BEN) e fertilidade

O período de transição é definido como o período que vai de 3 semanas antes do parto até 3 semanas após o parto (Grummer, 1995). Esse período é marcado por dramáticas mudanças fisiológicas associadas ao parto e início da lactação, além de alterações de manejo e alimentação (Grummer & Rastani, 2004).

A IMS diminui em aproximadamente 50% 14 dias anteriores ao parto, atingindo o nadir 1 dia antes do parto (Grummer *et al.*, 2004). E, embora aumente imediatamente após o parto (Gummen *et al.*, 2005), vacas leiteiras de alta produção passam por um período variável de BEN devido à insuficiente ingestão de alimentos para atender às necessidades de produção de leite (Butler & Smith, 1989).

Durante o BEN ocorre intensa mobilização de ácidos graxos do tecido adiposo e consequentemente, aumento das concentrações de ácidos graxos não esterificados (AGNE) no sangue (Bertics *et al.*, 1992), além de supressão da imunidade (Burton *et al.*, 2001). A mobilização excessiva resulta ainda em desordens do metabolismo lipídico como lipidose hepática e cetose. Além disso, elevadas concentrações de AGNE na

corrente sanguínea, além de outras desordens metabólicas no pré-parto estão associadas a outras complicações como retenção de placenta e deslocamento de abomaso no pós-parto (Cameron *et al.*, 1998).

Vacas em BEN apresentam diminuição do fluxo de nutrientes necessários para a ciclicidade reprodutiva (Leroy *et al.*, 2008). Desta forma, ocorre redução na frequência de pulsos de hormônio luteinizante (LH), diminuição das concentrações séricas de glicose, insulina, fator de crescimento semelhante a insulina do Tipo 1 (IGF1), redução na produção de estradiol (E2) no folículo dominante (FD), com consequente diminuição dos índices de ovulação (Butler, 2000).

A evolução do ECC nas primeiras semanas pós-parto, exerce influência sobre hormônios metabólicos como IGF1, insulina, glicose, AGNE e tiroxina. Ciccioli *et al.* (2003) relataram que primíparas cruzadas (Angus X Hereford) que receberam dietas de alta ou moderada ingestão no pós-parto, apresentaram estes parâmetros metabólicos aumentados. Os mesmos autores relataram ainda que, vacas que mantem ou perdem condição corporal durante a lactação, tem maior intervalo entre o parto e a primeira demonstração de estro, além de menor fertilidade (Ciccioli *et al.*, 2003). Para cada 0,5 ponto de aumento no ECC (escala de 0 a 5), a taxa de ciclicidade se eleva em 22,4% ($P < 0,01$) (Garcia *et al.*, 2003).

No estudo conduzido por Houghton *et al.* (1990), vacas de corte *Bos taurus* cruzadas (Charolês X Angus) mantidas a pasto, com ECC > 3 ao parto, apresentaram menor período de anestro pós-parto, enquanto vacas com ECC ≤ 3 atrasaram em mais de 80 dias o intervalo entre o parto e a primeira ovulação. Corroborando estes resultados, outros trabalhos com gado taurino também demonstraram que vacas com moderado a bom ECC no momento do parto, tiveram melhores taxas de retorno a ciclicidade (Withman *et al.*, 1975; Graham, 1982). De fato, em gado de corte, vacas com menor perda de ECC antes do parto tiveram menos dias em aberto e maiores taxas de prenhez (Selk *et al.*, 1988).

Em gado leiteiro, Carvalho *et al.* (2014) utilizaram 1887 vacas lactantes, sincronizadas com Duplo-Ovsynch para o 1º serviço para estudar o efeito da perda de ECC pós-parto sobre a fertilidade. As vacas foram avaliadas em relação à perda de ECC entre o parto e 21 DEL e divididas em três grupos: vacas que perderam (41,8%; 789/1887), as que mantiveram (35,8%; 675/1887) e as que ganharam ECC (22,4%; 423/1887). A prenhez por IA (P/IA) aos 70 dias pós inseminação foi muito menor para as vacas que perderam ECC, intermediária para vacas que mantiveram ECC, e maior

para as vacas que ganharam ECC pós-parto [22,8% (180/789), 36,0% (243/675), e 78,3% (331/423), respectivamente; $P < 0,001$].

Santos *et al.* (2009), em estudo com 6396 vacas leiteiras, observaram associação entre menor ECC ao parto, assim como no momento da IA às maiores taxas de condição anovulatória aos 65 dias pós-parto. Entretanto, este efeito parece ser mais pronunciado em primíparas e vacas consideradas magras ($ECC < 2,75$) no momento da IA, cujo ECC diminuiu mais acentuadamente em relação ao parto, uma vez que apresentaram mais de 30% de condição anovulatória.

Impacto de doenças no pós-parto sobre a eficiência reprodutiva

As intensas mudanças no metabolismo durante o pós-parto causadas principalmente pelo aumento da produção de leite, resultam em doenças metabólicas e infecciosas nos primeiros meses de lactação, em 45 a 71% das vacas em diferentes níveis de produção, raças ou sistemas de manejo. Doenças estas que impactam a reprodução (Santos *et al.*, 2010; Ribeiro *et al.*, 2013, 2016). De fato, a fertilidade em vacas lactantes frequentemente vem sendo relatada como muito inferior (P/IA de 25-40%) em comparação às novilhas (P/IA de 60-65%) ou vacas secas (60-65%) (Sartori *et al.*, 2002; Wiltbank *et al.*, 2011).

Santos *et al.* (2010a), avaliando grandes rebanhos leiteiros nos EUA, observaram que, em média, 14,6%, 16,1% e 20,8% das vacas após o parto apresentaram distocia, metrite e endometrite clínica, respectivamente. Aquelas que manifestavam ao menos uma das doenças mencionadas, apresentaram de 50 a 63% menos chance de retorno à ciclicidade até o final do período de espera voluntário (PEV) e de 25 a 38% menos chance de se tornarem prenhes após a primeira IA no pós-parto, em relação às vacas saudáveis. Além disso, vacas com distocia ou endometrite clínica possuem, respectivamente, 67 e 55% mais chances de perda gestacional durante os primeiros 60 dias de gestação em comparação a vacas saudáveis.

Ribeiro *et al.* (2016) observaram que doenças inflamatórias antes da IA, tanto de origem uterina quanto não-uterina, reduziram as taxas de fecundação e desenvolvimento embrionário até estágio de mórula, como também comprometeram o desenvolvimento inicial do conceito até a fase de alongamento, secretando menos IFN τ no lúmen uterino. O mesmo trabalho mostrou ainda que doenças causam mudanças no transcriptoma das células do conceito, aumentando o risco de perda gestacional, reduzindo a P/IA e taxa

de nascimento. Esses efeitos negativos das doenças no período antes da IA, podem ainda comprometer o desempenho reprodutivo durante os 4 meses subsequentes.

Em estudo realizado nos Estados Unidos, utilizando análises retrospectivas de vários trabalhos, embriões de 5 a 6 e de 15 a 16 dias foram coletados de vacas com ovulação única para determinar se doenças no periparto estavam associadas com pior qualidade e desenvolvimento embrionário em vacas lactantes. Embriões/oócitos colhidos de 419 vacas no dia 5 a 6 após IA foram avaliados quanto à fecundação, clivagem inicial e grau de qualidade. Em média, 33% dos blastocistos viáveis não conseguiram se alongar e estabelecer prenhez viável em vacas leiteiras. Além disso, conceptos de vacas com histórico de doença coletados entre os dias 15 e 16 pós IA de 198 vacas que tiveram a ovulação sincronizada obtiveram semelhante P/IA, no entanto, atraso no desenvolvimento em relação àqueles de vacas saudáveis. Fica evidente que vacas acometidas por pelo menos uma doença clínica apresentaram reduzida taxa de fecundação, qualidade embrionária comprometida e piora no desenvolvimento embrionário inicial (Ribeiro *et al.*, 2016).

Retenção de placenta é outra condição observada no pós-parto que impacta a fertilidade, cuja etiologia está associada ao pré-parto. Neste contexto, o estudo conduzido por nosso grupo de pesquisa (Pontes *et al.*, 2015) revelou que 52,2% das 890 vacas estudadas apresentaram inadequada (abaixo de 3,0 µg/mL; Weiss *et al.*, 1997) concentração sérica de α -tocoferol (Vitamina E) desde o pré-parto, refletindo-se em 2,8 vezes mais chance de desenvolvimento de retenção de placenta. Observamos ainda que, as vacas suplementadas com Vitamina E injetável (n = 449), apresentaram menor incidência de retenção de placenta (13,5% vs. 20,1%; P = 0,007) e de natimorto (6,8% vs. 14,9%; P = 0,001) em comparação ao grupo controle não tratado (n = 441). Ao considerarmos todas as inseminações até 200 DEL, o grupo tratado apresentou maior (P = 0,01) P/IA aos 60 dias (32,8% vs. 26,9%) e menor (P = 0,03) taxa de abortos (14,5% vs. 21,1%). Além disto, o tratamento com Vit E tendeu a aumentar (P = 0,08) a taxa de prenhez a cada 21 d (19,3% vs. 16,7%). Esses resultados ainda nos permitiram afirmar que, por meio de uma curva de sobrevivência, vacas tratadas com Vit. E se tornaram prenhes mais rapidamente (P = 0,03) do que as do grupo controle, resultando em redução média de 11 dias em aberto. Da mesma forma, vacas sem retenção de placenta, tenderam a se tornar prenhes mais rapidamente (P = 0,09) ocasionando redução dos dias em aberto de, em média, 27 dias (Pontes *et al.*, 2015).

A hipocalcemia subclínica também é um fator de suma importância, com prevalência de 25 a 47% em primíparas e múltiparas, respectivamente (Reinhardt *et al.*, 2011) e está associada à cetose subclínica (Ribeiro *et al.*, 2013). Sabe-se que a hipocalcemia subclínica prejudica a função imune dos animais no pós parto. De fato, a mudança na concentração sérica de Ca ($P < 0.05$) afetou o risco relativo de desenvolvimento de metrite, onde houve redução de 22% para cada mg/dL de aumento em Ca, nos primeiros 3 dias pós parto (RRA = 0.78, IC 95% = 0.67 a 0.92). Além disso, vacas com hipocalcemia tendem ($P = 0.06$) a ter maior intervalo parto-concepção (Normocalcemia = 109 d [IC 95% = 82 a 126]); Hipocalcemia subclínica = 124 d [IC 95% = 111 a 145]; Martinez *et al.*, 2012).

Outro problema reprodutivo no pós-parto que compromete a fertilidade é a alta taxa de condição anovulatória (Bamber *et al.*, 2009). Vacas anovulares submetidas a protocolos de IATF, como o Ovsynch, apresentam menor P/IA em relação às cíclicas (Santos *et al.*, 2010). Quando se compararam vacas em lactação que emprenharam com as que ficaram vazias, observaram-se que o fator determinante é a concentração de P4 antes da IA (Folman *et al.*, 1973, Erb *et al.*, 1976, Meisterling & Dailey, 1987). Com base nisto, estudos utilizando suplementação de progesterona (P4) em vacas anovulares mostraram resultados semelhantes em P/IA entre vacas anovulares e vacas cíclicas e, ambos os tratamentos, apresentaram 17 pontos percentuais a mais em P/IA quando comparadas às vacas anovulares não tratadas (Bisinotto *et al.*, 2013).

A estimativa de incidência de diferentes tipos de condição anovulatória foi realizada, observando-se e estimando-se o diâmetro do maior folículo. Das 316 vacas lactantes avaliadas, apenas uma apresentou condição anovulatória com ausência de folículo dominante e a maioria das vacas (~60%) apresentou folículos de 15 a 25 mm de diâmetro. Cerca de 20% apresentavam folículos dominantes de tamanho reduzido, com o maior folículo entre 9 e 14 mm de diâmetro. Além disso, cerca de 19% apresentaram cistos (>25 mm). Com isso, conclui-se que a condição anovulatória mais comum em vacas lactantes é aquela com folículos grandes (de 15 a 24 mm) que não são capazes de ovular (Gumen *et al.*, 2003).

Nosso grupo de pesquisa conduziu recentemente um estudo cujo objetivo foi avaliar a incidência e os fatores de risco para condição anovulatória em fazendas brasileiras. Foram utilizadas 942 vacas em lactação, sendo 357 primíparas e 585 múltiparas, com produção média de $43,6 \pm 11,0$ kg/d e ECC médio de $2,9 \pm 0,3$. As ultrassonografias foram realizadas com intervalo de 15 dias (35 ± 3 e 49 ± 3 DEL), no

momento da primeira e segunda dose de PGF2 α do protocolo de Presynch. Vacas sem corpo lúteo (CL) nas duas avaliações foram consideradas anovulares e classificadas quanto ao tamanho do maior folículo presente no ovário (4-8 mm, 9-14 mm, 15-24 mm ou ≥ 25 mm). A incidência de condição anovulatória foi de 29% (268/942), das quais 60% (160/268) apresentaram condição anovulatória com presença de folículos grandes (15-24 mm). Ainda, com os dados obtidos até então, foi possível observar que vacas com uma ou mais doenças no pós parto, apresentaram 2 ou 3 vezes maior risco de serem diagnosticadas como vacas anovulares (Monteiro Jr *et al.*, 2016). Quando se agrupa dentro do rebanho, vacas que apresentam dificuldade de parto, partos gemelares, deslocamento de abomaso e cetose subclínica na primeira semana após o parto são as que apresentam maior risco de serem diagnosticadas como anovulatórias (Walsh *et al.*, 2007).

Estes dados em conjunto, indicam que as doenças e condições anovulatórias durante o início da lactação têm um profundo impacto sobre a fertilidade de vacas leiteiras. Manter a saúde metabólica para minimizar o risco de problemas clínicos e subclínicos é fundamental para se obter eficiência reprodutivas satisfatória.

Metabolismo de hormônios esteróides

Vacas em lactação apresentam alta IMS e consequente elevado fluxo sanguíneo hepático, o que potencialmente aumenta o metabolismo de hormônios esteroides. Vacas lactantes antes mesmo da alimentação, apresentaram valores de fluxo sanguíneo hepático maiores (1561 ± 57 L/h) quando comparadas a vacas não-lactantes de tamanho e idades semelhantes (747 ± 47 L/h). Ainda, a partir do início da alimentação, houve um aumento agudo tanto no fluxo sanguíneo hepático quanto no metabolismo de estradiol (E2) e P4, em ambas as categorias animais. Entretanto, para vacas lactantes o aumento foi 2.3 vezes maior do que para vacas não lactantes. Estes resultados indicam que, mesmo com um nível semelhante de produção hormonal, vacas em lactação apresentam concentrações hormonais circulantes inferiores as vacas não lactantes (Sangsritavong *et al.*, 2002).

Em estudo conduzido por Lopez *et al.* (2004), em que se avaliou a associação entre níveis de produção de leite e comportamento de estro, menor duração (6,2 vs. 10,9 horas) e intensidade (6,3 vs. 8,8 aceites de monta) de estro foi observada nas vacas de maior produção ($> 39,5$ kg/dia) comparado às de menor produção ($< 39,5$ kg/dia) de leite. Assim como Nebel *et al.* (1997), outros estudos com HeatWatch em vacas de alta

produção de leite também observaram menos montas por estro e curta duração de estro em vacas lactantes mantidas em free-stalls (Dransfield *et al.*, 1998; At-Taras & Spahr, 2001) ou a pasto (Dransfield *et al.*, 1998; Xu *et al.*, 1998). Trabalhando com novilhas holandesas nulíparas, Stevenson *et al.* (1998) relataram médias de 10 horas de estro e 17 aceites de monta por estro. Essas diferenças de comportamento estral entre categorias distintas de animais dentro da mesma raça parecem estar relacionadas a menores concentrações circulantes de E2 em vacas lactantes comparado às novilhas (Sartori *et al.*, 2002a; 2004) e menor E2 em vacas de maior produção de leite comparado a vacas de menor produtividade, como demonstrado por Lopez *et al.* (2004). Neste estudo, vacas de alta produção (47 kg/d) produziram folículos maiores ($18,6 \pm 0,3$ vs $17,4 \pm 0,2$ mm de diâmetro), mas menores concentrações circulantes de E2 ($6,8 \pm 0,5$ vs $8,6 \pm 0,5$ pg/mL) em comparação a vacas de menor produção (32 kg/d). A duração do estro apresentou correlação positiva com concentrações ao pico de E2 ($r = 0,57$) e negativa com a produção de leite ($r = -0,51$).

Hiperinsulinemia e resistência à insulina

O início da lactação está associado com aumento das concentrações circulantes do hormônio de crescimento que conduz a partição de nutrientes (principalmente no fígado e tecido adiposo) para dar suporte à produção de leite. Devido ao BEN, as concentrações de insulina permanecem baixas, o que impede o aumento da expressão de receptores do hormônio de crescimento no fígado e com isso, diminuição da secreção de IGF1, caracterizando um desacoplamento do eixo somatotrópico (Lucy, 2008). Isso afeta negativamente a reprodução, já que a insulina, bem como o IGF1 atuam sinergicamente com as gonadotrofinas nas células do ovário e, com a diminuição destes, há o impedimento da ovulação do folículo dominante, atrasando o reinício da ciclicidade. Por outro lado, as vacas que têm maior concentração plasmática de IGF1 durante as 2 primeiras semanas pós-parto têm aumento da probabilidade de um intervalo mais curto entre o parto e o início da atividade luteal (Patton *et al.*, 2007). Da mesma forma, a porcentagem de vacas ovulando dentro de 50 dias após o parto aumentou em 55-90% quando mantidas em dieta rica em amido, o que promoveu maior secreção de insulina em resposta à alimentação (Gong *et al.*, 2002).

Enquanto que o aumento da insulina promovida pela dieta tem o potencial de acelerar o início da ciclicidade após o parto, existem algumas evidências de que a manutenção de vacas em dieta hiperinsulinêmica pode ter efeitos deletérios sobre as

taxas de sobrevivência embrionária (Fouladi -Nashta *et al.*, 2005). A insulina quando em excesso, pode reduzir a qualidade ovocitária (Gong *et al.*, 2002). Ou seja, apesar de seus aspectos positivos importantes no pós-parto, o desequilíbrio no fornecimento de dietas muito insulinogênicas pode interferir direta ou indiretamente na fertilidade.

Mollo *et al.* (2007) relataram que após tratamentos dietéticos por 9 semanas, novilhas superalimentadas (1,7 M; n = 20) apresentaram menores respostas superestimulatórias ($24,0 \pm 1,1$ vs. $48,4 \pm 1,6$ folículos ≥ 6 mm; $P < 0,001$) e superovulatórias ($15,7 \pm 0,9$ vs. $33,6 \pm 1,4$ CLs; $P < 0,0001$) em comparação àquelas em dieta restrita (0,7 M; n = 19). Além disso, a quantidade de embriões/oócitos recuperados ($6,7 \pm 0,9$ vs. $10,5 \pm 0,6$; $P = 0,0003$) e embriões transferíveis ($3,8 \pm 0,4$ vs. $5,7 \pm 0,6$; $P = 0,01$) também foram inferiores para as novilhas submetidas à alta ingestão nutricional. Maiores concentrações de insulina circulantes no momento do primeiro tratamento com FSH ($14,3 \pm 1,7$ vs. $3,0 \pm 0,8$ $\mu\text{UI/mL}$; $P < 0,001$) parece comprometer as respostas superestimulatória e superovulatória e as quantidades de embriões totais e transferíveis. Da mesma forma, as mesmas respostas parecem ser comprometidas pelas maiores concentrações de insulina circulantes no momento do primeiro tratamento com FSH ($14,3 \pm 1,7$ vs. $3,0 \pm 0,8$ $\mu\text{UI/mL}$; $P < 0,001$). Pequena variação da resposta superestimulatória ($14,6 \pm 1,6^a$ vs. $12,6 \pm 1,4^b$ vs. $13,6 \pm 1,5^{ab}$ folículos > 6 mm; $P < 0,05$) também foi verificado em vacas não lactantes (n = 32) mantidas em dietas de manutenção (M; 1,2% MS/kg/PV), restrita (0,7M; 0,84% MS/kg/PV) e superalimentadas (1,5M; 1,8% MS/kg/PV) durante 42 dias de tratamento, em um delineamento experimental arranjado em crossover (Surjus *et al.*, 2012).

Além do quadro de hiperinsulinemia, resistência à insulina potencialmente promove diminuição na qualidade ovocitária (Jungheim & Moley, 2008) e no desenvolvimento embrionário pré-implantacional manifestado por altos índices de morte celular apoptótica em ratas (Pinto *et al.*, 2002). Estudos em humanos, ratos e em ruminantes jovens ou adultos indicaram baixa responsividade dos ruminantes à insulina em tecidos periféricos. Apesar da escassez de dados relativos à resistência à insulina em bovinos, os mecanismos de ação da insulina em ruminantes são semelhantes aos de outras espécies (Sasaki, 2002), mediados principalmente por diferenças na cascata de receptores da insulina, reduzindo a fosforilação dos substratos dos receptores da insulina 1 (IRS1) e induzindo a uma reduzida atividade do fosfoinositídeo 3-kinase (Saltiel & Kahn, 2001).

Em recente estudo realizado pelo nosso grupo de pesquisa, Oliveira *et al.* (2016) testaram a hipótese de que vacas leiteiras se tornam cada vez mais resistentes à insulina à medida em que a lactação avança. O teste de tolerância à glicose (TTG) foi realizado em vacas de alta produção em diferentes DEL: 50 ($51,5 \pm 3,7$; $n = 30$; 38,0 Kg de leite/dia; ECC 2,8), 100 ($102,3 \pm 9,4$; $n = 30$; 38,6 kg de leite/dia; ECC 3,0) e 150 ($154,5 \pm 18,9$; $n = 30$; 34,2 kg de leite/dia; ECC 3,0). Ao TTG, para todas as variáveis relacionadas à glicose circulante, não houve diferença entre os grupos (por exemplo, o pico de glicose = $203,3 \pm 7,2$; $208,8 \pm 6,3$ e $194,3 \pm 5,9$ mg/dL). Apesar disso, vacas aos 150 dias em lactação apresentaram maiores concentrações basais de insulina ($8,8 \pm 0,9^a$; $8,8 \pm 0,8^a$ e $11,9 \pm 0,8^b$ μ UI/mL), bem como maior pico de insulina ($61,9 \pm 6,2^a$; $69,1 \pm 5,7^a$ e $89,0 \pm 6,1^b$ μ UI/mL), Δ max insulina ($51,1 \pm 5,5^a$; $59,4 \pm 5,0^a$ e $73,5 \pm 5,4^b$ μ UI/mL) e AUC 5-60 ($1874,8 \pm 171,0^a$; $2189,5 \pm 157,8^a$ e $2610,5 \pm 174,0^b$ μ UI/mLxmin) em comparação aos 50 e 100 DEL. Desta forma, a hipótese de que vacas desenvolvem resistência à insulina com o aumento dos dias em lactação foi confirmada. Potencialmente, vacas em estágio avançado de lactação também podem sofrer os efeitos negativos da resistência à insulina por passarem por um longo período de alta ingestão alimentar antes de conseguirem conceber, tornando-se em seguida, repetidoras de serviço. Estudos também constataram queda na qualidade de embriões produzidos in vivo (Bastos *et al.*, 2009; Sartori *et al.*, 2016) ou in vitro (Sales *et al.*, 2015), após um longo período (> 5 a 8 semanas) sob alta ingestão de matéria seca/energia. Em praticamente todos os casos, os animais apresentavam hiperinsulinemia. Um dos primeiros estudos a relatar que a hiperinsulinemia em vacas está associada à redução na qualidade ovocitária foi conduzido por Adamiak *et al.* (2005). No referido estudo, foram avaliados os efeitos da condição corporal baixa ou alta no início do experimento e da dieta com concentração de energia baixa ou moderadamente alta. A dieta com alto nível de energia melhorou o desenvolvimento embrionário de animais que iniciaram o estudo em condição corporal baixa, mas, por outro lado, reduziu o desenvolvimento dos embriões de animais que iniciaram a avaliação com condição corporal intermediária.

Considerações Finais

O metabolismo apresenta impactos na eficiência reprodutiva por afetar direta ou indiretamente os aspectos da fisiologia da fêmea bovina. A queda acentuada de ECC no pós-parto, bem como doenças reprodutivas comprometem o desempenho reprodutivo.

Similarmente, a alta IMS/energia também pode exercer efeitos negativos sobre a fertilidade bovina, por estar associada ao metabolismo elevado dos hormônios esteroides e aumento nas concentrações circulantes de insulina e IGF1, refletindo em um possível comprometimento na qualidade oocitária/embrionária e menores P/IA ou P/ET e maiores perdas gestacionais.

Referências Bibliográficas

- Adamiak, S.J.; Mackie, K.; Watt, R.G.; Webb, R.; Sinclair, K.D. Impact of nutrition on oocyte quality: Cumulative effects of body composition and diet leading to hyperinsulinemia in cattle. *Biol. Reprod.*, Champaign, 73, 918-926, 2005.
- At-Taras, E.E; Spahr, S.L. Detection and characterization of estrus in dairy cattle with an electronic heatmount detector and an electronic activity tag. *J. Dairy Sci.* 84, 792–798, 2001.
- Barreiros, T.R.R.; Blaschi, W.; Santos, G.M.G.; Morotti, F.; Andrade, E.R.; Baruselli, P.S.; Seneda, M.M. Dynamics of follicular growth and progesterone concentrations in cyclic and anestrous suckling Nelore cows (*Bos indicus*) treated with progesterone, equine chorionic gonadotropin, or temporary calf removal. *Theriogenology*, 8, 651–656, 2014.
- Baruselli, P.S.; Reis, E.L.; Masques, M.O.; Nasser, L.F.; Bó, G.A. The use of treatments to improve reproductive performance of anestrous beef cattle in tropical climates. *Anim. Reprod. Sci.*, 82-83, 479-486, 2004.
- Bastos, M.R.; Ramos, A.F.; Driessen, K.; Martins, A.C.; Rumpf, R.; Sartori, R. Influência da alta ingestão de matéria seca na resposta superovulatória em vacas mestiças. *Ci. Anim. Bras.*, 10, 1066-1073, 2009.
- Bamber, R.L.; Shook, G.E.; Wiltbank, M.C.; Santos, J.E.P.; Fricke, P.M. Genetic parameters for anovulation and pregnancy loss in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 92, 5739-5753, 2009.
- Bauman, E.D.; Currie, W.B. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: A review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *J. Dairy Sci.*, 63, 1514-1529, 1980.
- Bertics, S.J.; Grummer, R.R.; Cadorniga-Valino, C.; LaCount, D.W.; Stoddard, E.E. Effect of prepartum dry matter intake on liver triglyceride concentration and early postpartum lactation. *J. Dairy Sci.*, 75, 1914-1922, 1992.
- Bisinotto, R.S.; Ribeiro, E.S.; Lima, F.S.; Martinez, N.; Greco, L.F.; Barbosa, L.; Bueno, P.P.; Scagion, L.F.S.; Thatcher, W.W.; Santos, J.E.P. Targeted progesterone supplementation improves fertility in lactating dairy cows without a corpus luteum at the initiation of the timed artificial insemination protocol. *J. Dairy Sci.*, 96, 2214-2225, 2013.

- Burton, J.L.; Madsen, S.A.; Yao, J.; Sipkowski, S.S.; Coussens, P.M. An immunogenetic approach to understanding immunosuppression and mastitis susceptibility in dairy cows. *Acta Vet. Scand.*, 42, 407-424, 2001.
- Butler, W.R.; Smith, R.D. Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 72, 767-783, 1989.
- Butler, W.R. Review: Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 81, 2533-2539, 1998.
- Butler, W.R. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, 60, 449-457, 2000.
- Cameron, R.E.; Dyke, P.B.; Herdt, T.H.; Kaneene, J.B.; Mileer, R.; Buckholz, H.F.; Liesman, J.S.; Vandehaar, M.J.; Emery, R.S. Dry cow diet, management, and energy balance as risk factors for displaced abomasum in high producing dairy herds. *J. Dairy Sci.*, 81, 132-139, 1998.
- Carvalho, P.D.; Souza, A.H.; Amundson, M.C.; Hackbart, K.S.; Fuenzalida, M.J.; Herlihy, M.M.; Ayres, H.; Dresch, A. R.; Vieira, L.M.; Guenther, J. N.; Grummer, R.R.; Fricke, P.M.; Shaver, R.D.; Wiltbank, M.C. Relationships between fertility and postpartum changes in body condition and body weight in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 97, 3666-3683, 2014.
- Diskin, M.G.; Morris, D.G. Embryonic and early foetal losses in cattle and other ruminants. *Reprod. Dom. Anim.*, 43(Suppl. 2), 260-267, 2008.
- Dransfield, M.G.B.; Nebel, R.L.; Pearson, R.E.; Warnick, L.D. Timing of insemination for dairy cows identified in estrus by a radiotelemetric estrus detection system. *J. Dairy Sci.*, 81, 1874-1882, 1998.
- Erb, R.E.; Garverick, H.A.; Randel, R.D.; Brown, B.L.; Callahan, C.J. Profiles of reproductive hormones associated with fertile and nonfertile inseminations of dairy cows. *Theriogenology*, 5, 227-242, 1976.
- Folman, Y.; Rosenber, M.; Herz, Z.; Davidson, M. Relationship between plasma progesterone concentration and conception in postpart dairy cows maintained on 2 levels of nutrition. *J. Reprod. Fertil.*, 34, 267-278, 1973.
- Fouladi-Nashta, A.A.; Campbell, K.H.S. Dissociation of oocyte nuclear and cytoplasmic maturation by the addition of insulin in cultured bovine antral follicles. *Reproduction*, 131(3), 449-460, 2006.

- Gong, J.G.; Armstrong, D.G.; Baxter, G.; Hogg, C.O.; Gransworthy, P.C.; Webb, R. The effect of dietary intake on superovulatory response to FSH in heifers. *Theriogenology*, 57, 1591-1602, 2002.
- Graham, J.F. The effect of body condition of beef cows at calving and post calving nutrition on calf growth rate and cow fertility. *Proc. Aust. Soc. Anim. Prod.* 14, 309, 1982.
- Grummer, R.R. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. *J. Anim. Sci.*, 73, 2820-2833, 1995.
- Grummer, R.R.; Mashek, D.G.; Hayirli, A. Dry matter intake and energy balance in the transition period. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 20, 447-470, 2004.
- Grummer, R.R.; Rastani, R.R. Why reevaluate dry period length? *J. Dairy Sci.*, 87, 77-85, 2004.
- Gumen, A; Guenther, J.N.; Wiltbank, M.C. Follicular size and response to Ovsynch versus detection of estrus in anovular and ovular lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 86, 3184-3194, 2003
- Gümen, A; Rastani, R.R.; Grummer, R.R.; Wiltbank, M.C. Reduced dry periods and varying prepartum diets alter postpartum ovulation and reproductive measures. *J. Dairy Sci.*, 88, 2401-2411, 2005.
- Houghton, P.L.; Lemenager, R.P.; Horstman, L.A.; Hendrix, K.S.; Moss, G.E. Effects of body composition, pre-and postpartum energy level and early weaning on reproductive performance of beef cows and preweaning calf gain. *J. Anim. Sci.*, 68, 1438-1446, 1990.
- Jungheim, E.S.; Moley, K.H. The impact of type 1 and type 2 diabetes mellitus on the oocyte and the preimplantation embryo. *Seminars in Reproductive Medicine*, 26, 186-195, 2008.
- Leroy, J.L.; Opsomer, G.; Van Soom, A.; Goovaerts, I.G.; Bols, P.E. Reduced fertility in high-yielding dairy cows: are the oocyte and embryo in danger? Part I. The importance of negative energy balance and altered corpus luteum function to the reduction of oocyte and embryo quality in high-yielding dairy cows. *Reprod. Dom. Anim.*, 43, 612-622, 2008.
- Lopez, H.; Satter, L.D.; Wiltbank, M.C. Relationship between level of milk production and estrous behavior of lactating dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.*, 81, 209-223, 2004.

- Lopez, H; Sartori, R; Wiltbank, M.C. Reproductive hormones and follicular growth during development of one or multiple dominant follicles. *Biol. Reprod.*, 72, 788-795, 2005
- Lucy, M.C. ADSA Foundation Scholar Award - Reproductive loss in high-producing dairy cattle: Where will it end? *J. Dairy Sci.*, 84, 1277-1293, 2001.
- Lucy, M. C. Functional differences in the growth hormone and insulin-like growth factor axis in cattle and pigs: implications for post-partum nutrition and reproduction. *Reprod. Dom. Anim.*, 43(s2), 31-39, 2008.
- Mackey, D.R.; Sreenan, J.M.; Roche, J. F.; Diskin, M.G. Effect of acute nutritional restriction on incidence of anovulation and periovulatory estradiol and gonadotropin concentrations in beef heifers. *Biol. Reprod.*, 61, 1601-1607, 1999.
- Martinez, N.; Risco, C.A.; Lima, F.S.; Bisinotto, R.S.; Greco, L.F.; Ribeiro, E.S.; Maunsell, F.; Galvão, K.; Santos, J.E.P. Evaluation of peripartal calcium status, energetic profile, and neutrophil function in dairy cows at low or high risk of developing uterine disease. *J. Dairy Sci.*, 95, 7158-7172, 2012.
- Meisterling, E.M.; Dailey, R.A. Use of concentrations of progesterone and estradiol-17-beta in milk in monitoring postpartum ovarian function in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 70, 2154-2161, 1987.
- Mollo, M.R.; Rumpf, R.; Martins, A.C.; Mattos, M.C.C.; Lopes Jr, G.; Carrijo, L.H.D.; Sartori, R. Função ovariana em novilhas Nelore submetidas a baixa ou alta ingestão alimentar. *Acta Sci. Vet.*, 35, 958, 2007.
- Monteiro Jr, P.L.J.; Gonzales, B; Drum, J.N.; Prata, A.B.; Soriano, S.; Santos J.E.P.; Wiltbank, M.C.; Sartori, R. Incidence, risk factors and fertility related to anovulation in dairy cows. *Resumo ADSA, J. Dairy Sci.* 2016. No prelo.
- Nebel, R.L.; Jobst, S.M.; Dransfield, M.B.G.; Pandolfi, S.M.; Bailey, T.L. Use of a radiofrequency data communication system, Heat Watch, to describe behavioral estrus in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 80, 151, 1997.
- Oliveira, L.H.; Nascimento, A.B.; Monteiro Jr, P.L.J.; Guardieiro, M.M.; Wiltbank, M.C.; Sartori, R. Development of well-defined insulin resistance in dairy cows by 150 days of lactation does not alter oocyte quality in smaller follicles. *J. Dairy Sci.*, 2016. No prelo.
- Parr, R.A.; Davis, I.F.; Miles, M.A.; Squires, T.J. Liver blood flow and metabolic clearance rate of progesterone in sheep. *Res. Vet. Sci.*, 55, 311-316, 1993.

- Patton, J.; Kenny, D.A.; McNamara, S.; Mee, J. F.; O'mara, F. P.; Diskin, M. G.; Murphy, J. J. Relationships among milk production, energy balance, plasma analytes, and reproduction in Holstein-Friesian cows. *J. Dairy Sci.*, 90, 649-658, 2007.
- Pedernera, M.; Garcia, S.C.; Horagadoga, A.; Barchia, I.; Fulkerson, W. J. Energy balance and reproduction on dairy cows fed to achieve low or high milk production on a pasture-based system. *J. Dairy Sci.*, 91, 3896-3907, 2008.
- Pinto, A.B.; Schlein, A.L.; Moley, K.H. Preimplantation exposure to high insulin-like growth factor I concentrations results in increased resorption rates in vivo. *Human Reprod.*, 17, 457-462, 2002.
- Pontes, G.C.S.; Monteiro Jr, P.L.J.; Prata, A.B.; Guardieiro, M.M.; Pinto, D.A.M.; Fernandes, G.O.; Wiltbank, M.C.; Santos, J.E.P.; Sartori, R. Effect of injectable vitamin E on incidence of retained fetal membranes and reproductive performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 98, 2437-2449, 2015.
- Ribeiro, E.S.; Lima, F.S.; Greco, L.F.; Bisinotto, R.S.; Monteiro, A.P.; Favoreto, M.; Ayres, H.; Marsola, R.S.; Martinez, N.; Thatcher, W.W.; Santos J.E.P. Prevalence of periparturient diseases and effects on fertility of seasonally calving grazing dairy cows supplemented with concentrates. *J. Dairy Sci.*, 96, 5682-5697, 2013.
- Ribeiro, E.S.; Gomes, G.; Greco, L.F.; Cerri, R.L.A.; Vieira-Neto, A.; Monteiro Jr, P.L.J.; Lima, F.S.; Bisinotto, R.S.; Thatcher, W.W.; Santos, J.E.P. Carryover effect of postpartum inflammatory diseases on developmental biology and fertility in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 99, 2201-2220, 2016.
- Sales, J.N.S.; Iguma, L.T.; Batista, R.I.T.P.; Quintão, C.C.R.; Gama, M.A.S.; Freitas, C.; Pereira, M.M.; Camargo, L.S.A.; Viana, J.H.M.; Souza, J.C.; Baruselli, P.S. Effects of a high-energy diet on oocyte quality and in vitro embryo production in *Bos indicus* and *Bos taurus* cows. *J. Dairy Sci.*, 98, 3086-3099, 2015.
- Sangsritavong, S.; Combs, D.K.; Sartori, R.; Armentano, L.E.; Wiltbank, M.C. High feed intake increases liver blood flow and metabolism of progesterone and estradiol 17 beta in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 85, 2831-2842, 2002.
- Santos, J.E.P.; Amstalden, M. Effects of nutrition on bovine reproduction. *Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS*, 26, 1-51, 2008.
- Santos, J.E.P.; Curi, R.L.A.; Sartori, R. Nutritional management of the donor cow. *Theriogenology*, 69, 88-97, 2008.

- Santos, J.E.P.; Rutigliano, H.M.; Sá Filho, M.F. Risk factors for resumption of postpartum estrous cycles and embryonic survival in lactating dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.*, 110, 207-221, 2009.
- Santos, J.E.P.; Bisinotto, R.S.; Ribeiro, E.S.; Lima, F.S.; Greco, L.F.; Staples, C.R.; Thatcher, W.W. Applying nutrition and physiology to improve reproduction in dairy cattle. *Soc. Reprod. Fertil. Suppl.*, 67, 387-403, 2010a.
- Santos, J.E.; Narciso, C.D.; Rivera, F.; Thatcher, W.W.; Chebel, R.C. Effect of reducing the period of follicle dominance in a timed artificial insemination protocol on reproduction of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 93, 2976-88, 2010b.
- Sartori, R.; Guardieiro, M.M.; Mollo, M.R.; Surjus, R.S. Feed intake and reproduction in cattle. In: P. C. Garnsworthy; J. Wiseman. (Org.). *Recent Advances in Animal Nutrition*. 1ed. Nottingham: Nottingham University Press, 2012, 1, 21-36, 2012.
- Sartori, R.; Haughian, J.M.; Shaver, R.D.; Rosa, G.J.M.; Wiltbank, M.C. Comparison of ovarian function and circulating steroids in estrous cycles of Holstein heifers and lactating cows. *J. Dairy Sci.*, 87, 905-920, 2004.
- Sartori, R.; Rosa, G.J.M.; Wiltbank, M.C. Ovarian structures and circulating steroids in heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in winter. *J. Dairy Sci.*, 85, 2813-2822, 2002.
- Sartori, R.; Surjus, R.S.; Prata, A.B.; Monteiro Jr, P.L.J.; Mattos, M.C.C.; Mattos, F.C.S.Z.; Mourão, G.B.; Santos F.A.P. In vivo production, quality and pregnancy of bovine embryos from cows with high or low intake of dry matter or energy. *J. Dairy Sci.*, 2016 (no prelo).
- Saltiel, A.R.; Kahn, C.R. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature*, 414, 799-806, 2001.
- Sasaki, S.I. Mechanism of insulin action on glucose metabolism in ruminants. *Anim. Sci. J.*, 73, 423-433, 2002.
- Selk, G.E.; Wettemann, R.P.; Lusby, K.S.; Oltjen, J.W.; Mobley, S.L.; Rasby, R.J.; Garmendia, J.C. Relationships among weight change, body condition and reproductive performance of range beef cows. *J. Anim. Sci.*, 66, 3153-3159, 1988.
- Stevenson, J.S.; Lamb, G.C.; Kobayashi, Y.; Hoffman, D.P. Luteolysis during two stages of the estrous cycle: subsequent endocrine profiles associated with radiotelemetrically detected estrus in heifers. *J. Dairy Sci.*, 81, 2897-2903, 1998.

- Stevenson, J.L.; Dalton, J.C.; Santos, J.E.P.; Sartori, R.; Ahmadzadeh, A.; Chebel, R.C. Effect of synchronization protocols on follicular development and estradiol and progesterone concentrations of dairy heifers. *J. Dairy Sci.*, 91, 3045-3056, 2008.
- Surjus, R.S.; Prata, A.B.; Borsato, M.; Martins Da Silveira, M.C.; Mattos, M.C.C.; Mattos, F.C.S.Z.; Monteiro Jr, P.L.G.; Mourao, G.B.; Santos, F.A.P.; Sartori, R. Influence of high or low intake of dry matter and energy on in vivo production of bovine embryos. *Reprod. Fertil. Devel.*, 24, 227, 2012.
- Surjus, R.S. Produção de embriões e fisiologia ovariana em vacas Nelore sob diferentes níveis nutricionais. Dissertação de Mestrado, ESALQ/USP, 2013.
- Vasconcelos, J.L.M.; Sangsritavong, S.J.; Tsai, S.J.; Wiltbank, M.C. Acute reduction in serum progesterone concentrations after feed intake in dairy cows. *Theriogenology*, 60, 795-807, 2003.
- Walsh, R.B.; Walton, J.S.; Kelton, D.F.; LeBlanc, S.J.; Leslie, K.E.; Duffield, T.F. The effect of subclinical ketosis in early lactation on reproductive performance of postpartum dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 90, 2788-2796, 2007.
- Walsh, S.W.; Williams, E.J.; Evans, A.C.O. A review of the causes of poor fertility in high milk producing dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.*, 123, 127-138, 2011.
- Webb, R.; Garnsworthy, P.C.; Gong, J.G.; Armstrong, D.G. Control of follicular interactions and nutritional influences. *J. Anim. Sci.*, 82, 63-74, 2004.
- Weiss, W.P.; Hogan, J.S.; Todhunter, D.A.; Smith, K.L. Effect of vitamin E supplementation in diets with a low concentration of selenium on mammary gland health of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 80, 1728-1737, 1997.
- Wiltbank, M.C.; Gumen, A.; Sartori, R. Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. *Theriogenology*, 57, 21-52, 2002.
- Wiltbank, M.C.; Lopez, H.; Sartori, R.; Sangsritavong, S.; Gumen, A. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. *Theriogenology*, 65, 17-29, 2006.
- Wiltbank, M.C.; Souza, A.H.; Carvalho, P.D.; Bender, R.W.; Nascimento, A.B. Improving fertility to timed artificial insemination by manipulation of circulating progesterone concentrations in lactating dairy cattle. *Reprod. Fertil. Dev.*, 24, 238-243, 2011.
- Wiltbank, M.C.; Souza, A.H.; Carvalho, P.A.; Cunha, A.P.; Giordano, J.O.; Fricke, P.M.; Baez, G.M.; Diskin, M.G. Physiological and practical effects of progesterone on reproduction in dairy cattle. *Animal*, 8, 70-81, 2014.

Whitman, R. W. Weight change, body condition and beef-cow reproduction. Ph.D. Dissertation. Colorado State Univ. Fort Collins. 1975.

Xu, Z.Z.; McKnight, D.J.; Vishwanath, R.; Pitt, C.J.; Burton, L. J. Estrus detection using radiotelemetry or visual observation and tail painting for dairy cows on pasture. J. Dairy Sci., 81, 2890-2896, 1998.

STRATEGIES TO REDUCE UTERINE PROBLEMS

Klibs N. Galvão

Department of Large Animal Clinical Sciences, College of Veterinary Medicine,
University of Florida – Gainesville, FL 32610.

Introduction

The transition to lactation (3 weeks before to 3 weeks after calving) is a challenging period for a high producing dairy cow. This period is characterized by a sharp decrease in immune function (Kehrli and Goff, 1989; Gilbert et al., 1993; Cai et al., 1994). At the same time, physical barriers such as the cervix are breached at parturition, which allows rapid colonization of the uterus by bacteria (Sheldon and Dobson, 2004). The immune system needs to recognize and eliminate pathogenic bacteria from the uterus in order to prevent disease. Nonetheless, with the decrease in immune function and the large bacterial challenge, the system is overwhelmed, and uterine diseases such as metritis, clinical endometritis, and subclinical endometritis are established in a large proportion of cows in early postpartum. These diseases are highly prevalent in high producing dairy cows and have been associated with decreased pregnancy per artificial insemination (AI), extended interval to pregnancy, increased culling, and economic losses (Bartlett et al. 1986; Sheldon and Dobson 2004; Gilbert et al. 2005). Metritis affects about 20.0% of lactating dairy cows, with the incidence ranging from 8 to > 40% in some farms (Curtis et al. 1985; Galvão et al. 2009a; Goshen and Shpigel 2006; Hammon et al. 2006; Huzzey et al. 2007). Clinical endometritis also affects about 20.0% of lactating dairy cows, with the prevalence ranging from 5.0 to >30% in some herds (Galvão et al. 2009; LeBlanc et al. 2002; McDougall et al. 2007). Subclinical endometritis is the most prevalent of all uterine diseases; it affects ~30% of lactating dairy cows, with the prevalence ranging from 11 to >70% in some herds (Barlund et al. 2008; Galvão et al. 2009; Gilbert et al. 2005; Hammon et al. 2006; Kasimanickam et al. 2004).

Retention of fetal membranes is a condition in which the cow fails to release the placenta 12 or 24 hours after calving. Although retention of fetal membranes is not a

disease per se, many researchers have tried to treat (systemically or intrauterine) this condition because it is a major risk factor for metritis (Drillich et al. 2006; Goshen and Shpigel 2006; Risco and Hernandez 2003). Although treatment has been found to prevent metritis (Risco and Hernandez 2003), it has not been found to improve fertility or milk yield (Drillich et al. 2006; Goshen and Shpigel 2006; Risco and Hernandez 2003); therefore, it will not be emphasized in this paper. Pyometra is characterized by a pus-filled uterus in the presence of a corpus luteum (CL) and a closed cervix (Sheldon et al. 2006). Pyometra can be considered a subset of endometritis in which cows ovulate in the presence of a contaminated uterus. Common treatment is administration of prostaglandin F_{2α} (PGF_{2α}), but because the underlying cause is endometritis, antimicrobial therapy would also be advisable.

The causes for uterine disease are multifactorial. Of the three components of the disease triangle, there is good evidence for the susceptibility of the host and for the role of pathogenic bacteria. There is less evidence for the effect of the environment (Sheldon and Dobson, 2004), although it cannot be disregarded (Cheong et al., 2011). Therefore, this review will focus on the effect of systemic and cellular indicators of energy balance on immune function and the effect of calcium status on immune function and susceptibility to uterine diseases, the identification of uterine diseases, and the treatment of uterine diseases.

2. The role of glucose and Ca²⁺ on neutrophil function and innate immunity

Neutrophils are the main leukocyte cells involved in clearing bacteria after uterine infection (Hussain, 1989); however, during the transition into lactation, dairy cows experience a reduction in neutrophil function, including reduced phagocytosis and killing capacity (Kehrli and Goff, 1989; Cai et al., 1994; Gilbert et al., 1993). The transition into lactation is a period of energy and mineral deficiency in which cows have to rely on their energy stores for their normal functions (Goff and Horst, 1997; Vasquez-Anon et al., 1994; Bicalho et al., 2014). This period is characterized by a decrease in dry-matter intake (DMI), leading to a sharp decrease in glucose and minerals, especially calcium, and an increase in body fat mobilization in the form of nonsterified fatty acids (NEFA) to meet the energy demands for maintenance, growth and milk production, which results in accumulation in the liver of products of incomplete oxidation of NEFA, such as beta-hydroxybutyrate (BHBA) (Goff and Horst,

1997; Vasquez-Anon et al., 1994; Bicalho et al., 2014). Therefore, innate immunity may be negatively affected by the limited supply of glucose and calcium required for neutrophil activation, chemotaxis, phagocytosis, and oxidative burst or by the immunosuppressive effects of fatty acids and their metabolites on immune cells. Concentrations of BHBA similar to those of cows with subclinical ketosis impaired neutrophil phagocytosis, extracellular trap formation, and killing of bacteria (Hoeben et al., 1997; Grinberg et al., 2008). Others have shown that addition of NEFA to the culture medium affected proliferation of peripheral blood mononuclear cells and oxidative burst of neutrophils (Ster et al., 2012). The mechanism by which NEFA and BHBA affect the immune system has not been elucidated. Nonetheless, recent research has found that BHBA is a main ligand for the nicotinic acid (Niacin) receptors HM74A (GPR109a) and HM74 (GPR109b) (Taggart et al., 2005; Blad et al., 2012), and that activation of these receptors, especially HM74A has widespread anti-inflammatory effects including reduction in leukocyte migration and generation of reactive oxygen species, which has been shown to be beneficial for prevention of atherosclerosis and cardiac disease (Vosper, 2009; Wu et al., 2010) but may be a predisposing factor to uterine disease if a proper inflammatory response is not mounted.

Neutrophils rely on hexose carbon to generate ATP through glycolytic pathways. Neutrophils depend mainly on extracellular glucose to generate ATP for chemotaxis, but they also can store and use glycogen when supply of extracellular glucose is limited. On the other hand, neutrophils depend primarily on intracellular glycogen to generate glucose for phagocytosis and intracellular killing of pathogens (Kuehl and Egan, 1980; Weisdorf et al., 1982; Weisdorf et al., 1982). Chemotactic stimuli accelerated glucose uptake by neutrophils, whereas phagocytic stimuli by opsonized zymosan particles failed to increase glucose uptake, but increased glycogenolysis (Weisdorf et al., 1982; Weisdorf et al., 1982). Therefore, the decline in blood glucose in early lactation, observed in cows suffering from more severe negative energy balance, might impair neutrophil chemotaxis and could lead to decreased cytosolic glycogen stores, which might lead to suppressed cell function and predispose cows to disease. We recently demonstrated that neutrophil glycogen content was reduced in cows developing metritis compared with healthy cows on the day of calving and at 7 and 42 days postpartum. Cows with subclinical endometritis (SCE) had lower PMN glycogen content than healthy cows at 7, 28, and 42 days postpartum (Galvão et al., 2010). The key observation was that a decrease in neutrophil glycogen stores was observed before the

development of the disease (metritis was diagnosed at 7 ± 4 days postpartum and SCE at 42 days postpartum), which indicates that low neutrophil glycogen is a risk factor for the development of uterine diseases. Furthermore, once the disease is established, glucose metabolism and glycogenesis may be affected. Exposure to bacterial LPS has been found to affect both glucose and glycogen synthesis by decreasing the activity of phosphoenolpyruvate carboxykinase, which is involved in gluconeogenesis (Jones and Titheradge, 1993), and glycogen synthase, which is the primary enzyme in glycogenesis (McCallum and Berry, 1973). Pro-inflammatory cytokines also have been shown to alter glycogen metabolism. In rat hepatocytes, IL-6 and IL-1 β lessened or completely abolished the increase of glycogen deposition when cells were stimulated with insulin (Lee et al., 1993; Kanemaki et al., 1998). These cytokines inhibited activity of glycogen synthase and stimulated glycogen phosphorylase activity, thereby attenuating the effects of insulin on these enzymes. Kanemaki et al. (1998) demonstrated that IL-6 was very effective, as it decreased glycogen increase by 30% within 1 h and nearly abolished its increase within 4 h of cytokine treatment, whereas IL-1 β showed no significant effects until 4 h (Kanemaki et al., 1998).

Recent work at the University of Florida demonstrated that cows with subclinical hypocalcemia have neutrophils in blood that are less capable of phagocytizing and killing pathogenic bacteria in vitro (Martinez et al., 2012; Martinez et al., 2014). It was suggested that neutrophil function in cows with subclinical hypocalcemia is compromised by reducing cytosolic ionized calcium (Ca^{2+}) required for initiation of phagocytosis, although this process is not exclusively Ca-dependent (Sayeed, 2000). In addition, Ca^{2+} is necessary to control the fusion of secondary granules with the phagosomal membrane (Jaconi et al., 1990) during the bactericidal activity. Inadequate concentrations of Ca^{2+} in blood are likely to influence the availability for cellular function. Blood mononuclear cell cytosolic Ca^{2+} was reduced around parturition, and the reduction was greater in cows with hypocalcemia compared with those that were capable of restoring blood calcium concentrations quickly after calving (Kimura et al., 2006). Neutrophil activation involves the binding of soluble inflammatory mediators to receptors on the cell neutrophil surface, followed by activation of cytosolic components such as phospholipase C, protein kinase C and inositol 1,4,5-triphosphate. This transduction mechanism releases Ca^{2+} from the endoplasmic reticulum to increase cytosolic Ca^{2+} up to 10-fold its basal concentration (Brechard and Tschirhart, 2008). An adequate cytosolic Ca^{2+} is critical for activation of

NADPH oxidase to produce reactive oxygen species (ROS) to effectively kill phagocytized pathogens (Brechard and Tschirhart, 2008). Also, once Ca^{2+} is released from the endoplasmic reticulum, receptors localized in the endoplasmic reticulum signal the plasma membrane to open Ca^{2+} membrane channels in a retrograde process called store-operated Ca^{2+} entry. This additional Ca^{2+} entry from the extracellular space helps replenish Ca^{2+} stores in endoplasmic reticulum (Burgos et al., 2011). Based on previous work, it is hypothesized that cows with subclinical hypocalcemia have less endoplasmic reticulum Ca^{2+} to increase cytosolic concentrations and are unable to replenish the intracellular Ca^{2+} because of the reduced concentrations in blood (Kimura et al., 2006; Ducusin et al., 2003). Impairing the rise in cytosolic Ca^{2+} reduces activation of neutrophils and generation of ROS, which could be reflected into decreased phagocytosis and killing activities. In a recent study at University of Florida, it was observed that inducing subclinical hypocalcemia compromised leukocyte function (Martinez et al., 2014), and spontaneous subclinical hypocalcemia resulted in an increased incidence of metritis (Martinez et al., 2012). In fact, the probability of metritis markedly increased as serum Ca concentrations decreased in the first 3 days postpartum (**Figure 1**) (Martinez et al., 2012). A 1 mg/dL decline in serum Ca between calving and the lowest value in the first 3 days postpartum increased the risk of metritis in 28% (adjusted risk ratio = 1.28; 95% CI = 1.10 to 1.49) (Martinez et al., 2012). Therefore, it seems that a major component of the underlying mechanism for development of metritis in dairy cows is the inadequate concentrations of Ca^{2+} and glucose (hence glycogen) in early lactation that compromise immune function and allow utero-pathogenic bacteria to thrive in the uterus, thereby causing disease.

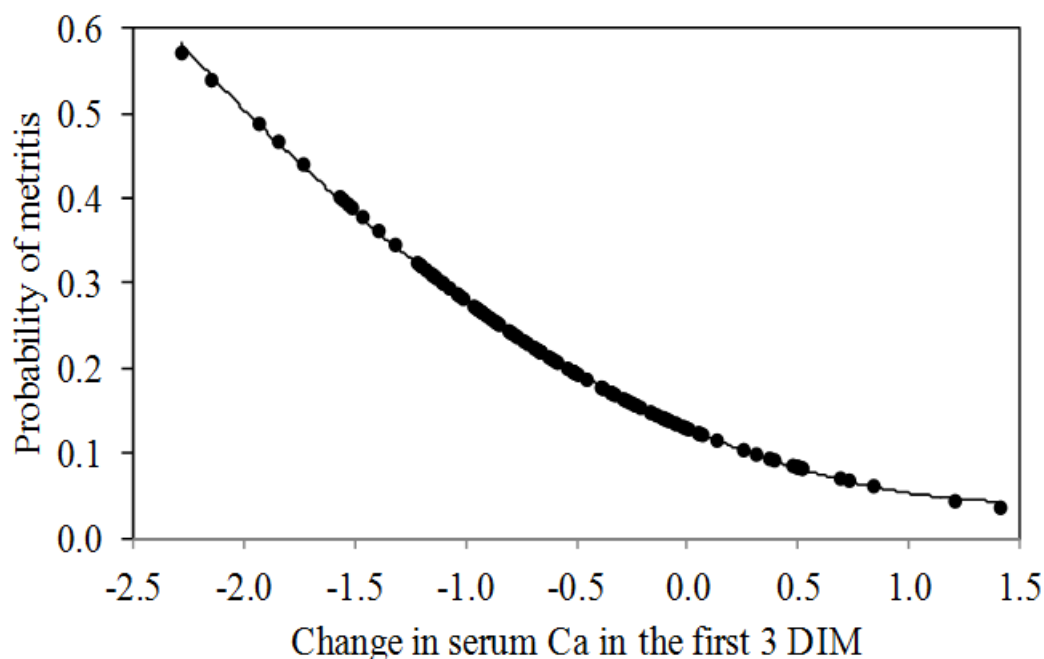


Figure 1. Probability of metritis relative to the change in serum Ca concentrations between the day of calving and the lowest serum Ca concentration within the first 3 d postpartum. Adapted from Martinez et al., 2012.

Identification

2.1 Metritis

Puerperal metritis is characterized by the presence of an abnormally enlarged uterus, a fetid watery red-brownish uterine discharge associated with signs of systemic illness, and fever ($> 39.4^{\circ}\text{C}$) within 21 days in milk (DIM). Animals without systemic signs but with an enlarged uterus and a fetid uterine discharge within 21 DIM may be classified as having clinical metritis (Sheldon et al. 2006). Metritis is diagnosed by a complete physical examination of the cow including attitude, hydration status, rectal temperature, and palpation of the uterus per rectum to evaluate uterine discharge.

Evaluation of rectal temperature should be performed before palpation per rectum. A Florida study (Benzaquen et al. 2007) observed that a high proportion (~60%) of cows did not have a fever ($> 39.4^{\circ}\text{C}$) at the time puerperal metritis was diagnosed, indicating that this condition is not always accompanied by a fever. This finding suggests that diagnosis and treatment consideration for puerperal metritis should include the character of the uterine discharge (fetid or not) and the attitude of the cow, besides measurement of rectal temperature. Cows diagnosed with metritis without a

fever were just as likely to later develop clinical endometritis as cows with metritis and a fever. This suggests that metritis without a fever might have the same negative effects on fertility as metritis with a fever (Benzaquen et al. 2007).

Cows diagnosed with metritis (puerperal or clinical) should be evaluated for concurrent metabolic or infectious diseases (ketosis, displaced abomasum, mastitis, pneumonia, etc.) since these conditions are associated (Curtis et al. 1985). Although not performed on a routine basis, vaginal examination can be performed to aid in diagnosis if a cow has a fever of unknown origin and no uterine discharge can be produced after palpation of the uterus per rectum. Care should be taken to wash the vulva with antiseptic solution (e.g., iodine scrub) and to use a clean, well-lubricated palpation sleeve (Williams et al. 2005). Dairies should have a clear standard operating procedure on when to evaluate cows for metritis and how to identify them. Metritis can occur at any time after calving, even after 21 DIM; however, most of the cases (~95%; 709/753) occur in the first 14 DIM with a peak around 5-7 DIM (**Figure 2**).

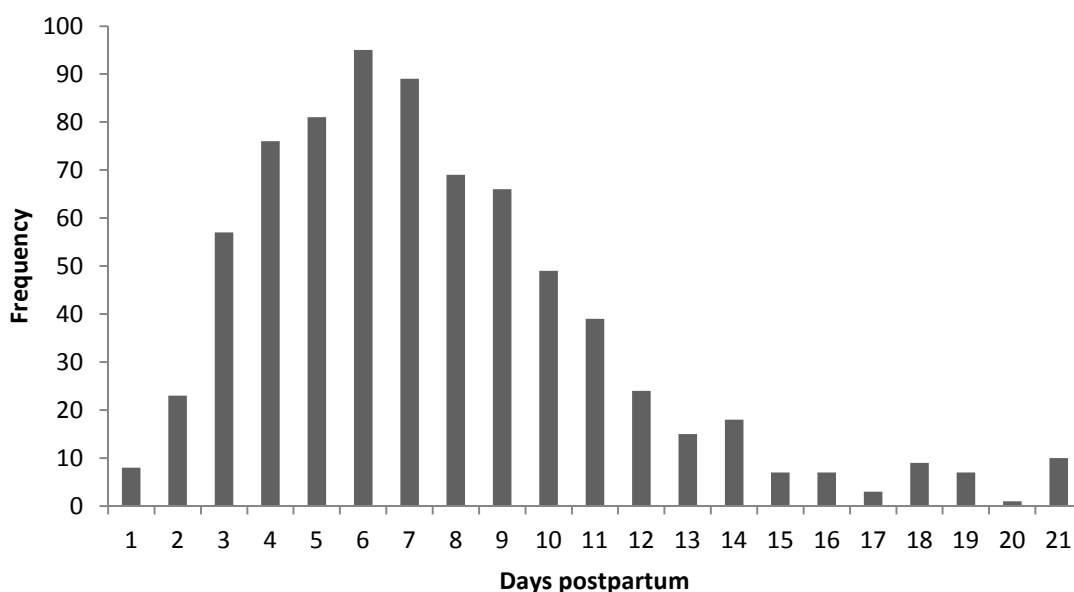


Figure 2. Frequency distribution of metritis incidence by days postpartum in a sample of 753 metritis cases that occurred over a one-year period in dairies in Ohio, New York, and California.

Because of this concentration in incidence of metritis in the first 14 DIM, and in an effort to target monitoring of cows, different strategies have been proposed by the pharmaceutical industry and by academia to diagnose and manage metritis: Pfizer (Pfizer Animal Health, New York, NY) devised what is called the 100-day contract for

health and reproductive management. Part of that program includes daily monitoring of fresh cows in the first 10 DIM. Although monitoring cows in the first 10 DIM would be sufficient to diagnose most of the cows, a substantial proportion (~20%; 140/753) would be missed. At the University of Florida Dairy Research Unit, a combination of targeted monitoring of all cows at 4, 7, and 12 DIM in combination with physical examination of cows with milk deviation of more than 12% or failure to increase milk yield at least 4% (primiparous) or 7% (multiparous) per day in the first 20 DIM have proven very efficacious in diagnosing cows with metritis and metabolic diseases (ketosis and displaced abomasum). Although the system has proven effective, it requires individual daily milk weights. Others have targeted the first 13 (Benzaquen et al. 2007) or 14 DIM (Galvão et al. 2009a) for daily monitoring. Regardless of the monitoring regimen adopted, compliance with the protocol and skill of the evaluator are paramount to the success of the monitoring program.

2.2 Endometritis

Clinical endometritis is characterized by the presence of purulent (> 50%) uterine discharge after 21 DIM or mucopurulent (50% pus, 50% mucus) after 26 DIM (Sheldon et al. 2006). Clinical endometritis is usually diagnosed by evaluation of uterine discharge detected in the vagina with the aid of a speculum (LeBlanc et al. 2002), the Metrichheck tool (McDougall et al. 2007), or a gloved hand (Williams et al. 2005). When using either one of these methods, care should be taken to clean the vulva, to avoid introduction of contaminants into the vagina, and to use lubrication. When using vaginoscopy, the speculum should be introduced into the vagina up to the level of the external os of the cervix, and inspection of the discharge is performed with the aid of a flashlight. When using the Metrichheck tool (Metrichheck, Simcro, New Zealand), the device should be introduced into the vagina up to the level of the external os of the cervix and the discharge should be scooped for evaluation after exteriorization of the device. When using a gloved hand, the hand should be introduced into the vagina up to the level of the external os of the cervix and the discharge should be scooped for evaluation after exteriorization of the hand.

In the absence of clinical endometritis, subclinical endometritis is defined by the presence of >18% neutrophils (PMN) in uterine cytology samples collected between 21 and 33 DIM or > 10% PMN between 34 and 47 DIM (Sheldon et al. 2006). Uterine cytology samples can be collected using the cytobrush (Kasimanickam et al. 2004) or

the low-volume uterine lavage (Gilbert et al. 2005) technique. For the cytobrush, a Pap smear cytology brush is attached to a metal rod that is fitted through a metal pipe similar in diameter to an insemination pipette (**Figure 3**). The tool is protected with a plastic sheath protector during insertion into the vagina, and then is exposed for passing through the cervix. At the uterine body, the cytobrush is exposed and the body wall is pressed slightly against the cytobrush while the cytobrush is rolled two or three times. After that, the tool is exteriorized, and the cytobrush is smeared onto a glass slide and air dried before staining using Diff-Quick stain.

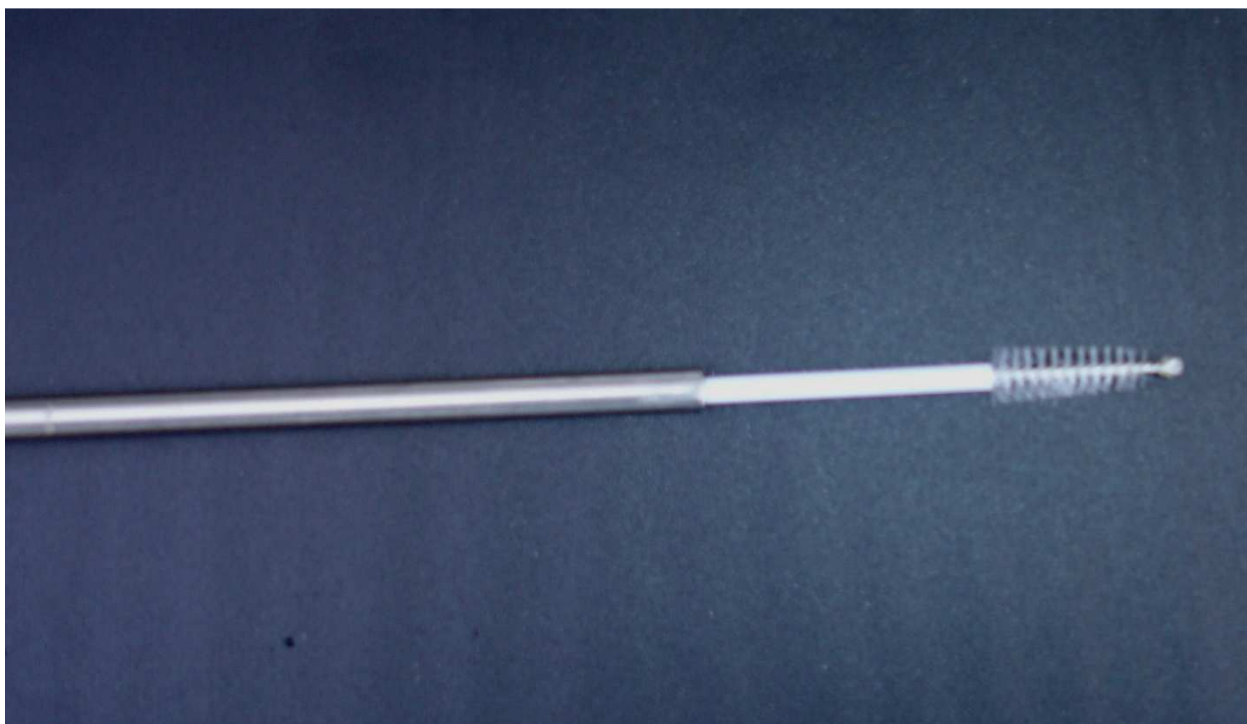


Figure 3. Cytology tool with cytobrush attached.

For the low-volume uterine lavage, an infusion pipette is protected with a sanitary chemise, which is punctured before the pipette is passed through the cervix. At any place in the uterus, 10-20 ml of sterile saline solution is infused, the uterus is then massaged and a portion (≥ 5 ml) is harvested. A folley catheter can also be used to perform a low volume lavage in a manner similar to embryo flushing (Galvão et al. 2009). After collection, the sample needs to be centrifuged in a conventional or cytospin centrifuge. If using a conventional centrifuge, most of the supernatant needs to be discarded and one drop of the remaining fluid is smeared onto a glass slide. For the cytospin, ~ 150 μ l of the collected sample is loaded in the cytospin container and centrifuged at 700 g for 5 min. Then, slides are air dried and stained using Diff-Quick.

After staining, all cells, including epithelial cells but excluding erythrocytes, are counted under the microscope, and the proportion of PMN out of a total of 200 cells is calculated.

Endometritis has been diagnosed by detection of fluid in the uterus using ultrasonography (Kasimanickam et al., 2004); nonetheless, this method was found to be less sensitive than endometrial cytology (Barlund et al. 2008).

Prevention

The main risk factors for uterine disease include dystocia, twins, retained placenta (RP), stillbirth, abortion, prolapsed uterus, ketosis, and hypocalcemia. The risk factors for uterine disease can be divided in factors that affect the host innate defense mechanisms or that facilitates or increase bacterial contamination of the uterine tract. Some risk factors such as dystocia probably do both. Therefore, prevention should be focused on reducing the incidence of risk factors. Dystocia can be reduced with breeding of heifers of appropriate size and the use of sires with good calving ease, and the use of sexed semen. The incidence of twins is higher in high producing cows (> 45 kg of milk/d) in early lactation (Lopez et al., 2005); therefore, the incidence of twins can be reduced by breeding high producing cows after 70 days in lactation. Retained placenta is caused by a defect in immune function (Kimura et al., 2002); therefore, the underlying problem should be addressed. Very little is known about the causes of stillbirth but mineral supplementation has been shown to reduce its incidence (Machado et al., 2013). Abortion is another multifactorial problem that is often associated with uterine disease (Santos et al., 2011; Ribeiro et al., 2013); therefore, preventing uterine disease should decrease abortions. Prolapsed uterus is associated with dystocia and hypocalcemia; therefore, preventing dystocia and hypocalcemia should reduce the incidence of prolapsed uterus. Decrease in dry matter intake (DMI) postpartum is associated with increased BHBA and NEFA concentrations in blood (Hammon et al., 2006); therefore, maintaining dry matter intake is essential for preventing immunosuppression. The use of rumen-protected choline (RPC), which helps with fat metabolism in the liver and monensin have been to improve the metabolic state during transition to lactation (Zahra et al., 2006). Cows that received RPC produced 1.2 kg/d more milk in the first 60 d of lactation, but this effect was attributable to an increase in milk production of 4.4 kg/d among cows with a body condition score > or =4 at 3 wk before calving; fat cows that received RPC ate 1.1 kg of DM/d more from wk 3 before

calving through wk 4 after calving (Zahra et al., 2006). Monensin supplementation significantly increased serum concentrations of glucose and urea, lowered concentrations of beta-hydroxybutyric acid and aspartate aminotransferase in the peripartum period, and increased liver glycogen content at 3 wk into lactation (Zahra et al., 2006). In another experiment, morbidity was reduced when RPC was fed to cows before and after calving but increased morbidity when it was fed only before calving to primigravid cows. Therefore, both RPC and monensin can be used to improve the metabolic state during transition; however, RPC should be fed both before and after calving, particularly to fat cows. Several studies have tried to supplement Ca postpartum to prevent hypocalcemia; however, the results have been mixed. Previous studies that supplemented 33 to 100 g of Ca as calcium chloride or calcium propionate observed an increase in blood Ca concentrations that peaked 30 min after administration and lasted for approximately 4 to 6 h (Goff and Horst, 1993; Queen et al., 1993; Goff and Horst, 1994). Nonetheless, blood Ca concentrations were unaffected ≥ 24 hours after treatment (Goff et al., 1996; Hernandez et al., 1999; Melendez et al., 2002).

Interestingly, in one study, blood Ca concentrations were actually decreased in cows with dystocia supplanted with 100 g of Ca propionate (Benzaquen et al., 2015). It is possible that Ca supplementation and the accompanied transient increase in blood Ca concentrations could interfere with the normal increase in PTH when Ca concentrations are decreased at calving; thus delaying or dampening the activation of Ca homeostatic mechanisms such as increased renal tubular Ca reabsorption, increase in osteoclastic bone resorption, and increase in renal production of the active form of vitamin D (Goff et al., 2014). The supplementation with Ca as a Ca bolus containing calcium chloride and calcium sulfate has been shown to increase milk yield in cows with above average milk production in the previous lactation (Oetzel and Miller, 2012; Martinez et al., 2016a); however, supplementation of primiparous cows actually increased the incidence of metritis (Martinez et al., 2016b); therefore, supplementation should be restricted to multiparous cows with milk yield above average. In summary, uterine disease or any other disease cannot be eliminated with dietary supplements. The implementation of management practices that prevent immunosuppression and decrease bacterial contamination of the uterine tract may yield the best results.

Treatment

4.1 Metritis

The most common method of treatment is either intrauterine (Galvão et al. 2009; Goshen and Shpigel 2006; Kasimanickam et al. 2005; LeBlanc et al. 2002; Thurmond et al. 1993) or systemic (Chenault et al. 2004) antibiotic administration. Currently, in the United States, there is no approved antibiotic for intrauterine administration in dairy cows. There are only three approved antibiotics for systemic administration for treatment of metritis in dairy cows: ceftiofur hydrochloride (Excenel®, Pfizer Animal Health, Madison, NJ), and ceftiofur crystalline-free acid (Excede®, Pfizer Animal Health, Madison, NJ), which are broad-spectrum third-generation cephalosporins, and Liqueamycin LA-200 (Pfizer Animal Health) a long-acting oxytetracycline. Because of the long withhold time for milk (4 days) and meat (28 days) for Liqueamycin, Excenel® (no withhold for milk and 3 days for meat) is the treatment of choice. Excede® also has no withhold for milk but has a 13 day withhold for meat; therefore, its adoption is still uncertain. The advantage of Excede® would be the treatment regimen; two doses 72 h apart compared to daily injection for 5 days for Excenel®. The recommended dose for treatment of metritis in postpartum dairy cows using Excenel® is 2.2 mg/kg (2 ml/100 lbs) of body weight intramuscularly, and for Excede® is 6.6 mg/kg (1.5 ml/100 lbs) of body weight given in the middle third or the base of the ear. It is recommended to alternate ears.

Although systemic administration of Excenel® improves clinical signs of metritis (Chenault et al. 2004), the effects on fertility and milk yield have not been evaluated. A recent study in Argentina showed that treatment of metritis with Excede® eliminated the negative effects of metritis on fertility but did not improve milk production (Piccardi et al., 2016). On the other hand, intrauterine treatment with 5 g chlortetracycline twice weekly for 2 weeks prevented the negative effects of metritis on fertility and milk yields in multiparous cows (Goshen and Shpigel 2006); however, this treatment is not approved in the United States and would lead to long milk withdrawals. Assuming that the treatment would cost \$10 and milk would be discarded for 21 d, the overall cost would be \$ 199 (60 lbs x 21 x \$15.00 cwt = 189 + 10 = \$199). Cows that received this treatment regimen produced 1,438 lbs more milk and conceived 29 d sooner; therefore, the return would be \$273.70 ((1438/100 x 15) + (29 x \$2 per additional day open)), and the net profit would be \$74.70.

4.2 Endometritis

A formulation containing 500 mg of cephalixin benzathine in 19 g emulsifier (Metricure[®], Intervet, Boxmeer, The Netherlands) is approved for treatment of clinical endometritis by intrauterine administration in Canada, Europe, New Zealand, Australia, and other countries around the world. Intrauterine infusion of Metricure[®] improved reproductive performance of cows with clinical endometritis (LeBlanc et al. 2002; Denis-Robichaud and Dubuc, 2015). In the study by LeBlanc et al. (2002), treatment with prostaglandin F2 α (PGF2 α) was found to be intermediate. A large clinical trial found that PGF2 α did not improve fertility in cows with clinical endometritis (Dubuc et al. 2011). Treatment with Metricure[®] was also found to improve fertility in cows with a history of retained fetal membranes, stillbirths, or a vulval discharge after 13 DIM (McDougall 2001). Nonetheless, a formulation containing 125 mg of ceftiofur hydrochloride in 10 mL oil-based sterile suspension (Spectramast LC, Pfizer Animal Health, New York, NY) labeled for treatment of clinical mastitis was shown to reduce the bacterial contamination of dairy cows with clinical endometritis; however, it did not improve fertility (Galvão et al. 2009a).

Although there is no approved treatment for subclinical endometritis, Metricure[®] was found to improve reproductive performance of cows with subclinical endometritis (Kasimanickam et al. 2005). Interestingly, in that study, PGF2 α had a similar beneficial effect (Kasimanickam et al. 2005). The benefit from PGF2 α administration is believed to arise from induction of estrus in cows having a PGF2 α -responsive corpus luteum; the estrus leads to physical expulsion of bacterial contaminants and inflammatory products as well as a possible improvement in the uterine defenses under low progesterone (Kasimanickam et al. 2005). It is generally agreed that a high-progesterone environment suppresses cervical mucus production, myometrial contractility, uterine-gland secretion, and the phagocytic activity of uterine neutrophils (Frank et al. 1983; Hussain 1989; Bondurant 1999), and is therefore permissive to uterine infection. PGF2 α is not only luteolytic but also appears to have pro-inflammatory actions that might enhance neutrophil function (Lewis 2004). Because there is increased concern about bacterial acquisition of antibiotic resistance, PGF2 α would provide an efficacious method of treatment of endometritis. Nonetheless, later studies found no beneficial effect of PGF2 α for treatment of subclinical endometritis (Galvão et al. 2009b; Dubuc et al. 2011); therefore, the combined literature suggests that PGF2 α is not an efficacious method to treat subclinical endometritis.

5. Conclusions

Uterine diseases are prevalent in high producing dairy cows and require prompt diagnosis and treatment. Uterine disease or any other disease cannot be eliminated with dietary supplements. The implementation of management practices that prevent immunosuppression and decrease bacterial contamination of the uterine tract may yield the best results. Metritis can be successfully treated either by systemic or intrauterine antibiotic treatment. Ceftiofur hydrochloride (Excenel[®]) intramuscularly or ceftiofur crystalline-free acid (Excede[®]) subcutaneously are effective in treating metritis. Excede[®] has been shown to abrogate the negative effect of metritis on fertility but not on milk yield. Intrauterine oxytetracycline is effective in abrogating the negative effects of metritis on milk yield and fertility. Intrauterine administration of cephalixin benzathine (Metricure[®]) is an effective treatment for clinical and subclinical endometritis, although not approved in the United States. Administration of PGF2 α does not seem effective for the treatment of clinical or subclinical endometritis.

References

- Barlund C.S., T.D. Carruthers, C.L. Waldner, and C.W. Palmer. "A comparison of diagnostic techniques for postpartum endometritis in dairy cattle." *Theriogenology*, 69 (2008),714-23.
- Bartlett P.C., J.H. Kirk, M.A. Wilke, J.B. Kaneene, and E.C. Mather. "Metritis complex in Michigan Holstein-Friesian cattle: incidence, descriptive epidemiology and estimated economic impact." *Prev. Vet. Med.* 4 (1986),235-248.
- Benzaquen M.E., C.A. Risco, L.F. Archbald, P. Melendez, M.J. Thatcher, and W.W. Thatcher. "Rectal temperature, calving-related factors, and the incidence of puerperal metritis in postpartum dairy cows." *J. Dairy Sci.* 90 (2007),2804-14.
- Benzaquen M1, Galvão KN2, Coleman AE1, Santos JE3, Goff JP4, Risco CA1. Effect of oral mineral and energy supplementation on blood mineral concentrations, energetic and inflammatory profile, and milk yield in dairy cows affected with dystocia. *Vet J.* 2015 May;204(2):186-91.
- Bicalho ML, Lima FS, Ganda EK, Foditsch C, Meira EB,Jr, Machado VS, Teixeira AG, Oikonomou G, Gilbert RO, Bicalho RC. Effect of trace mineral supplementation on selected minerals, energy metabolites, oxidative stress, and immune parameters and its association with uterine diseases in dairy cattle. *J Dairy Sci* 2014.
- Blad CC, Tang C, Offermanns S. G protein-coupled receptors for energy metabolites as new therapeutic targets. *Nat Rev Drug Discov* 2012; 11: 603-619.
- Brechard S, Tschirhart EJ. Regulation of superoxide production in neutrophils: role of calcium influx. *J Leukoc Biol* 2008; 84: 1223-1237.
- Burgos RA, Conejeros I, Hidalgo MA, Werling D, Hermosilla C. Calcium influx, a new potential therapeutic target in the control of neutrophil-dependent inflammatory diseases in bovines. *Vet Immunol Immunopathol* 2011; 143: 1-10.
- BonDurant R.H. "Inflammation in the bovine female reproductive tract." *J Anim Sci.* 77 (Suppl 2) (1999), 101-10.
- Cai TQ, Weston PG, Lund LA, Brodie B, McKenna DJ, Wagner WC. Association between neutrophil functions and periparturient disorders in cows. *Am J Vet Res* 1994; 55: 934-943.
- Curtis C.R., H. N. Erb, C.J. Sniffen, R.D. Smith, and D.S. Kronfeld. "Path analysis of dry period nutrition, postpartum metabolic and reproductive disorders, and mastitis in Holstein cows." *J. Dairy Sci.* 68 (1985),2347-60.
- Chenault J. R., J. F. McAllister, S. T. Chester Jr, K. J. Dame, F. M. Kausche, and E. J. Robb. "Efficacy of ceftiofur hydrochloride sterile suspension administered parenterally for the treatment of acute postpartum metritis in dairy cows." *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 224 (2004),1634-1639.
- Denis-Robichaud J, Dubuc J. Randomized clinical trial of intrauterine cephalixin infusion in dairy cows for the treatment of purulent vaginal discharge and cytological endometritis. *J Dairy Sci.* 2015 Oct;98(10):6856-64.
- Drillich M., U. Reichert, M. Mahlstedt, W. and Heuwieser. "Comparison of two strategies for systemic antibiotic treatment of dairy cows with retained fetal membranes: preventive vs. selective treatment." *J. Dairy Sci.* 89 (2006),1502-8.
- Dubuc J., T.F. Duffield, K.E. Leslie, J.S. Walton, and S.J. Leblanc. "Randomized clinical trial of antibiotic and prostaglandin treatments for uterine health and reproductive performance in dairy cows." *J Dairy Sci.* 94 (2011),1325-38.
- Ducusin RJ, Uzuka Y, Satoh E, Otani M, Nishimura M, Tanabe S, Sarashina T. Effects of extracellular Ca²⁺ on phagocytosis and intracellular Ca²⁺ concentrations in polymorphonuclear leukocytes of postpartum dairy cows. *Res Vet Sci* 2003; 75: 27-32.

- Frank T., K.L. Anderson, A.R. Smith, H.L. Whitmore, and B.K. Gustafsson. "Phagocytosis in the uterus: A review." *Theriogenology* 20 (1983),103-10.
- Galvão K.N., L.F. Greco, J.M. Vilela, M.F. Sá Filho, and J.E.P. Santos. "Effect of Intrauterine Infusion of Ceftiofur on Uterine Health and Fertility in Dairy Cows." *J. Dairy Sci.* 92 (2009a),1532-42.
- Galvão K.N., M. Frajblat, S.B. Brittin, W.R. Butler, C.L. Guard, and R.O. Gilbert . "Effect of prostaglandin F2alpha on subclinical endometritis and fertility in dairy cows." *J. Dairy Sci.* 92 (2009b), 4906-13.
- Galvão KN, Flaminio MJ, Brittin SB, Sper R, Fraga M, Caixeta L, Ricci A, Guard CL, Butler WR, Gilbert RO. Association between uterine disease and indicators of neutrophil and systemic energy status in lactating Holstein cows. *J Dairy Sci* 2010; 93: 2926-2937.
- Gilbert RO, Grohn YT, Miller PM, Hoffman DJ. Effect of parity on periparturient neutrophil function in dairy cows. *Vet Immunol Immunopathol* 1993; 36: 75-82.
- Gilbert R.O., S.T. Shin, C.L. Guard, H.N. Erb, and M. Frajblat. Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology* 64 (2005),1879-88.
- Goff, J.P., Horst, R.L., 1993. Oral administration of calcium salts for treatment of hypocalcemia in cattle. *Journal of Dairy Science* 76, 101-108.
- Goff, J.P., Horst, R.L., 1994. Calcium salts for treating hypocalcemia: carrier effects, acid-base balance, and oral versus rectal administration. *Journal of Dairy Science* 77, 1451-1456.
- Goff, J.P., Horst, R.L., Jardon, P.W., Borelli, C., Wedam, J., 1996. Field trials of an oral calcium propionate paste as an aid to prevent milk fever in periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science* 79, 378-383.
- Goff JP, Horst RL. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *J Dairy Sci* 1997; 80: 1260-1268.
- Goff, J.P., Liesegang, A., Horst R.L., 2014. Diet-induced pseudohypoparathyroidism: A hypocalcemia and milk fever risk factor. *Journal of Dairy Science* 97, 1520-1528.
- Goshen T., and N.Y. Shpigel. "Evaluation of intrauterine antibiotic treatment of clinical metritis and retained fetal membranes in dairy cows." *Theriogenology*. 66 (2006),2210-2218.
- Grinberg N, Elazar S, Rosenshine I, Shpigel NY. Beta-hydroxybutyrate abrogates formation of bovine neutrophil extracellular traps and bactericidal activity against mammary pathogenic *Escherichia coli*. *Infect Immun* 2008; 76: 2802-2807.
- Hammon D.S., I.M. Evjen, T.R. Dhiman, J.P. Goff, and J.L. Walters. "Neutrophil function and energy status in Holstein cows with uterine health disorders." *Vet. Immunol. Immunopathol.* 113 (2006),21-9.
- Hernandez, J., Risco, C.A., Elliott, J.B., 1999. Effect of oral administration of a calcium chloride gel on blood mineral concentrations, parturient disorders, reproductive performance, and milk production of dairy cows with retained fetal membranes. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 215, 72-76.
- Hoeben D, Heyneman R, Burvenich C. Elevated levels of beta-hydroxybutyric acid in periparturient cows and in vitro effect on respiratory burst activity of bovine neutrophils. *Vet Immunol Immunopathol* 1997; 58: 165-170.
- Hussain, A. M. "Bovine uterine defense mechanism: a review." *J. Vet. Med. B.* 36 (1989),641-51.
- Huzzey J.M., D.M. Veira, D.M. Weary, and M.A. von Keyserlingk. "Prepartum behavior and dry matter intake identify dairy cows at risk for metritis." *J. Dairy Sci.* 90 (2007),3220-33.

- Jaconi ME, Lew DP, Carpentier JL, Magnusson KE, Sjogren M, Stendahl O. Cytosolic free calcium elevation mediates the phagosome-lysosome fusion during phagocytosis in human neutrophils. *J Cell Biol* 1990; 110: 1555-1564.
- Jones CG, Titheradge MA. The effect of treatment of the rat with bacterial endotoxin on gluconeogenesis and pyruvate metabolism in subsequently isolated hepatocytes. *Biochem J* 1993; 289 (Pt 1): 169-172.
- Kanemaki T, Kitade H, Kaibori M, Sakitani K, Hiramatsu Y, Kamiyama Y, Ito S, Okumura T. Interleukin 1beta and interleukin 6, but not tumor necrosis factor alpha, inhibit insulin-stimulated glycogen synthesis in rat hepatocytes. *Hepatology* 1998; 27: 1296-1303.
- Kasimanickam R., T.F. Duffield, R.A. Foster, C.J. Gartley, K.E. Leslie, J.S. Walton, and W.H. Johnson. "The effect of a single administration of cephalixin or cloprostenol on the reproductive performance of dairy cows with subclinical endometritis." *Theriogenology* 63 (2005),818-30.
- Kehrli ME,Jr, Goff JP. Periparturient hypocalcemia in cows: effects on peripheral blood neutrophil and lymphocyte function. *J Dairy Sci* 1989; 72: 1188-1196.
- Kimura K, Reinhardt TA, Goff JP. Parturition and hypocalcemia blunts calcium signals in immune cells of dairy cattle. *J Dairy Sci* 2006; 89: 2588-2595.
- Kuehl FA,Jr, Egan RW. Prostaglandins, arachidonic acid, and inflammation. *Science* 1980; 210: 978-984.
- Kasimanickam R., T.F. Duffield, R.A. Foster, C.J. Gartley, K.E. Leslie, J.S. Walton, and W.H. Johnson. "Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows." *Theriogenology* 62 (2004),9-23.
- LeBlanc S.J., T.F. Duffield, K.E. Leslie, K.G. Bateman, G.P. Keefe, J.S. Walton , and W.H. Johnson. "Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows." *J. Dairy Sci.* 85 (2002),2223-36.
- Lee JD, Cho SW, Hwang O. Interleukin 1 beta regulates glycogen metabolism in primary cultured rat hepatocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 191: 515-522.
- Lewis G.S. "Steroidal regulation of uterine immune defenses." *Anim. Reprod. Sci.* 82-83 (2004),281-94.
- Lima FS1, Sá Filho MF, Greco LF, Santos JE. Effects of feeding rumen-protected choline on incidence of diseases and reproduction of dairy cows. *Vet J.* 2012 Jul;193(1):140-5.
- Lopez H, Caraviello DZ, Satter LD, Fricke PM, Wiltbank MC. Relationship between level of milk production and multiple ovulations in lactating dairy cows. *J Dairy Sci.* 2005 Aug;88(8):2783-93.
- Martinez N, Risco CA, Lima FS, Bisinotto RS, Greco LF, Ribeiro ES, Maunsell F, Galvão K, Santos JE. Evaluation of periparturient calcium status, energetic profile, and neutrophil function in dairy cows at low or high risk of developing uterine disease. *J Dairy Sci.* 2012 Dec;95(12):7158-72.
- Martinez N, Sinedino LD, Bisinotto RS, Ribeiro ES, Gomes GC, Lima FS, Greco LF, Risco CA, Galvão KN, Taylor-Rodriguez D, Driver JP, Thatcher WW, Santos JE. Effect of induced subclinical hypocalcemia on physiological responses and neutrophil function in dairy cows. *J Dairy Sci.* 2014 Feb;97(2):874-87.
- Martinez, N., L. D. P. Sinedino, R. S. Bisinotto, R. Daetz, C. A. Risco, K. N. Galvão, W. W. Thatcher, and J. E. P. Santos. 2016a. Effects of oral calcium supplementation on productive and reproductive performance in Holstein cows. *J Dairy Sci. In Press*
- Martinez, N., L. D. P. Sinedino, R. S. Bisinotto, R. Daetz, C. A. Risco, K. N. Galvão, W. W. Thatcher, and J. E. P. Santos. 2016b. Effects of oral calcium supplementation on

mineral and acid-base status, energy metabolites, and health of postpartum dairy cows. *J Dairy sci. In Press*.

Machado VS1, Bicalho ML, Pereira RV, Caixeta LS, Knauer WA, Oikonomou G, Gilbert RO, Bicalho RC. Effect of an injectable trace mineral supplement containing selenium, copper, zinc, and manganese on the health and production of lactating Holstein cows. *Vet J*. 2013 Aug;197(2):451-6.

McCallum RE, Berry LJ. Effects of endotoxin on gluconeogenesis, glycogen synthesis, and liver glycogen synthase in mice. *Infect Immun* 1973; 7: 642-654.

McDougall S. "Effect of intrauterine antibiotic treatment on reproductive performance of dairy cows following periparturient disease." *N. Z. Vet. J.* 49 (2001),150-8.

McDougall, S., R. Macaulay, and C. Compton. "Association between endometritis diagnosis using a novel intravaginal device and reproductive performance in dairy cattle." *Anim. Reprod. Sci.* 99 (2007),9-23.

Melendez, P., Donovan, G.A., Risco, C.A., Hall, M.B., Littell, R., Goff, J.P., 2002.

Metabolic responses of transition Holstein cows fed anionic salts and supplemented at calving with calcium and energy. *Journal of Dairy Science* 85, 1085-1092.

Oetzel, G.R., Miller, B.E., 2012. Effect of oral calcium bolus supplementation on early-lactation health and milk yield in commercial dairy herds. *Journal of Dairy Science* 95, 7051-7065.

Piccardi, M., G. Romero, G. Veneranda, E. Castello, D. Romero, M. Balzarini, G.A. Bó. 2016. "Effect of puerperal metritis on reproductive and productive performance in dairy cows in Argentina." *Theriogenology*. 85:887-93.

Queen, W.G., Miller, G.Y., Masterson, M.A., 1993. Effects of oral administration of a calcium-containing gel on serum calcium concentration in postparturient dairy cows. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 202, 607-609.

Ribeiro, E. S., F. S. Lima, L. F. Greco, R. S. Bisinotto, A. P. Monteiro, M. Favoreto, H. Ayres, R. S. Marsola, N. Martinez, W. W. Thatcher, and J. E. Santos. 2013. Prevalence of periparturient diseases and effects on fertility of seasonally calving grazing dairy cows supplemented with concentrates. *J. Dairy Sci.* 96:5682-5697.

Risco, C.A., and J. Hernandez. "Comparison of ceftiofur hydrochloride and estradiol cypionate for metritis prevention and reproductive performance in dairy cows affected with retained fetal membranes." *Theriogenology* 60 (2003), 47-58.

Santos, J.E.P., R. S. Bisinotto, E. S. Ribeiro, F. S. Lima, L. F. Greco, C. R. Staples, and W. W. Thatcher. 2011. Applying nutrition and physiology to improve reproduction in dairy cattle. In: *Reproduction in Domestic Ruminants VII*, Eds. M. C. Lucy, J. L. Pate, M. F. Smith, and T. E. Spencer. Nottingham University Press, Nottingham, UK, pp. 387-404.

Sayeed MM. Exuberant Ca(2+) Signaling in Neutrophils: A Cause for Concern. *News Physiol Sci* 2000; 15: 130-136.

Sheldon, I.M., and H. Dobson. H. 2004. "Postpartum uterine health in cattle." *Anim. Reprod. Sci.* 82-83(2004),295-306.

Sheldon, I.M., G.S. Lewis, S. LeBlanc, and R.O. Gilbert. "Defining postpartum uterine disease in cattle." *Theriogenology* 65 (2006),1516-30.

Ster C, Loiselle MC, Lacasse P. Effect of postcalving serum nonesterified fatty acids concentration on the functionality of bovine immune cells. *J Dairy Sci* 2012; 95: 708-717.

Taggart AK, Kero J, Gan X, Cai TQ, Cheng K, Ippolito M, Ren N, Kaplan R, Wu K, Wu TJ et al. (D)-beta-Hydroxybutyrate inhibits adipocyte lipolysis via the nicotinic acid receptor PUMA-G. *J Biol Chem* 2005; 280: 26649-26652.

- Thurmond M. C., C. M. Jameson, and J. P. Picanso. "Effect of intrauterine antimicrobial treatment in reducing calving-to-conception interval in cows with endometritis." *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 203 (1993),1576-1578.
- Vazquez-Anon M, Bertics S, Luck M, Grummer RR, Pinheiro J. Peripartum liver triglyceride and plasma metabolites in dairy cows. *J Dairy Sci* 1994; 77: 1521-1528.
- Vosper H. Niacin: a re-emerging pharmaceutical for the treatment of dyslipidaemia. *Br J Pharmacol* 2009; 158: 429-441.
- Weisdorf DJ, Craddock PR, Jacob HS. Granulocytes utilize different energy sources for movement and phagocytosis. *Inflammation* 1982; 6: 245-256.
- Weisdorf DJ, Craddock PR, Jacob HS. Glycogenolysis versus glucose transport in human granulocytes: differential activation in phagocytosis and chemotaxis. *Blood* 1982; 60: 888-893.
- Williams, E.J., D.P. Fischer, D.U. Pfeiffer, G.C. England, D.E. Noakes, H. Dobson, and I.M. Sheldon. "Clinical evaluation of postpartum vaginal mucus reflects uterine bacterial infection and the immune response in cattle." *Theriogenology* 63 (2005),102-17.
- Wu BJ, Yan L, Charlton F, Witting P, Barter PJ, Rye KA. Evidence that niacin inhibits acute vascular inflammation and improves endothelial dysfunction independent of changes in plasma lipids. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2010; 30: 968-975.
- Zahra LC1, Duffield TF, Leslie KE, Overton TR, Putnam D, LeBlanc SJ. Effects of rumen-protected choline and monensin on milk production and metabolism of periparturient dairy cows. *J Dairy Sci.* 2006 Dec;89(12):4808-18.

OPTIMIZING REPRODUCTIVE MANAGEMENT PROGRAMS FOR LACTATING DAIRY CATTLE

Milo C. Wiltbank¹, Roberto Sartori², Paul M. Fricke², Pedro L. J. Monteiro²

¹Department of Dairy Science, University of Wisconsin – Madison, WI, USA

²Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, Brasil - 13418-900

1. Introduction

Efficient reproductive management has important economic implications for dairy cattle operations. In the USA, we generally measure overall efficiency of reproductive management programs by using the 21-day pregnancy rate. The 21-day pregnancy rate is defined as: Percentage of eligible cows that become pregnant during a 21-day period. An eligible cow is a cow that the producer wants to get pregnant (not a “Do Not Breed” cow), is past the voluntary waiting period (VWP), and is not pregnant. Using computer programs it is evaluated during every 21-day period (Figure 1). Farm 1 was breeding earlier but was achieving only a 16% 21-day pregnancy rate, whereas, Farm 2 had double the pregnancy rate of Farm 1 with an average of a 32% pregnancy rate during this same time period but started AI at 76 days in milk (DIM).

Farm 1; VWP= 40 DIM

Date	Breeding Eligible	Bred	Service Rate, %	Pregnancy Eligible	Pregnant	21-day Preg Rate
5/1/2014	195	111	57%	192	24	12%
5/22/2014	204	106	52%	199	30	15%
6/12/2014	233	110	47%	230	32	14%
7/03/2014	241	122	51%	237	35	15%
7/24/2014	269	158	59%	263	56	21%
8/14/2014	266	122	46%	261	35	13%
9/04/2014	305	173	57%	294	55	19%
9/25/2014	283	147	52%	279	64	23%
10/16/2014	265	127	48%	224	21	9%
11/6/2014	262	139	53%	0	0	0
TOTAL	2,261	1,176	52%	2,179	352	16%

Farm 2; VWP= 76 DIM

Date	Breeding Eligible	Bred	Service Rate, %	Pregnancy Eligible	Pregnant	21-day Preg Rate
5/1/2014	136	92	68%	131	46	35%
5/22/2014	117	76	65%	114	27	24%
6/12/2014	127	84	66%	126	41	33%
7/03/2014	112	73	65%	111	32	29%
7/24/2014	102	65	64%	101	30	30%
8/14/2014	96	68	71%	94	29	31%
9/04/2014	93	56	60%	93	27	29%
9/25/2014	103	73	71%	101	35	35%
10/16/2014	115	83	72%	114	49	43%
11/6/2014	92	62	67%	92	29	32%
TOTAL	1,093	732	67%	1,077	345	32%

Figure 1. A comparison of the Service Rate and 21-day Pregnancy Rate for 2 farms during the same time period that were approximately the same size and similar milk production (~42 kg/cow/day for all cows in lactation).

To compare the economics for reproduction on these two farms, we have used a value for pregnancy rate using the Tools from Victor Cabrera, University of Wisconsin – Madison (Figure 2). This table provides a comparison of the value of changing the 21-day pregnancy rate on a farm. If we calculate the value of moving from a 16% to a 30% rate (32% rate has not been calculated on this table) it is a value of \$212/cow during the current lactation. This value comes from increased milk production, improved culling practices, and increased number of calves. It assumes that reproduction costs are similar so any changes that are needed to produce these effects (hormones, veterinary costs, labor) must be subtracted from this value. For a 500 cow farm, the overall value is: 500 cows X \$212/cow = \$106,000. This is based on standard costs and values on a dairy farm in the state of Wisconsin in the USA. Thus, the 21-day pregnancy rate has substantial variability between farms and is of tremendous economic value. In the USA herds currently are trying to be 30:30 herds, 30%-21day pregnancy rate and 30,000 lb rolling herd average (~13,600 kg/lactation).

Table 1. Value (\$/cow/year) of improving 21-d PR from Current to a Goal¹

		Current 21-d PR (%)																												
		10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29									
Goal 21-d PR (%)	11	32																												
	12	62	30																											
	13	90	58	28																										
	14	117	85	55	26																									
	15	141	110	80	51	25																								
	16	165	133	103	75	48	23																							
	17	187	155	125	97	70	45	22																						
	18	207	176	145	117	91	66	43	21																					
	19	227	195	165	137	110	85	62	40	19																				
	20	245	213	183	155	128	103	80	58	38	18																			
	21	262	230	200	172	145	121	97	75	55	35	17																		
	22	278	246	216	188	162	137	113	91	71	51	33	16																	
	23	293	261	231	203	177	152	128	106	86	66	48	31	15																
24	307	276	246	217	191	166	143	121	100	81	62	45	29	14																
25	321	289	259	231	204	179	156	134	113	94	76	59	43	28	13															
26	333	302	272	243	217	192	169	147	126	107	89	71	55	40	26	13														
27	345	313	283	255	229	204	181	159	138	119	100	83	67	52	38	25	12													
28	357	325	295	266	240	215	192	170	149	130	112	95	78	63	49	36	23	11												
29	367	335	305	277	251	226	202	180	160	140	122	105	89	74	60	46	34	22	11											
30	377	345	315	287	261	236	212	190	170	150	132	115	99	84	70	56	44	32	21	10										

¹Calculated with the “Dairy Reproductive Economic Analysis” Tool ([DairyMT.info](http://dairymgt.info) → Tools → Reproduction), a monthly Markov model for nine lactations, using \$15/cwt milk price, \$10/cwt dry matter feed cost, \$600 cow salvage value, \$1200 heifer replacement value, Wisconsin lactation curves, standard culling rates, and assuming same reproductive costs for different levels of PR. For additional information and the interactive online tool, please visit: <http://dairymgt.info/markov/reader.php>.

The major objective of this manuscript is to provide some insight into how a dairy farm can move from a 16% 21-day pregnancy rate to a 30% pregnancy rate. The four key ideas to consider are provided below. Incorporation of these steps into a consistent reproductive management and health program will allow producers to improve the efficiency of reproductive management on their dairy farms. As shown in Figure 1, Farm 2 has a much better service rate (heat detection rate) than Farm 1, 67% vs. 52%. However, Farm 2 uses no heat detection, they only used fixed time AI (FTAI) for their reproductive management program. Farm 1 uses both heat detection and FTAI but has not produced as efficient of a program as on Farm 2.

The third major rate to consider, in addition to 21-day pregnancy rate and service rate, is the Percentage Pregnant per AI (P/AI; sometimes called the conception rate). Table 2 shows a comparison between Farm 1 and Farm 2 for all of the major values that should be calculated when starting to evaluate reproductive performance on a farm. As shown, P/AI at first service is 57.7% in Farm 2 but only 32.3% on Farm 1. This generally indicates that Farm 2 is using a “fertility program”, in other words a FTAI program that is optimized and therefore gives higher fertility than AI to estrus. At second and later AI, Farm 2 is also over 10% higher in P/AI than Farm 1. This is due to

use of procedures that result in high fertility after the diagnosis of non-pregnant has been determined. Although Farm 2 has more pregnant cows than Farm 1, they have many fewer breedings. This results in a substantial savings in costs for straws of semen. Nevertheless, as outlined below, Farm 2 is spending more on hormones in order to achieve this phenomenal reproductive performance.

The first thing to consider is how the farm does First AI to achieve such high fertility and how this may be achieved in Brazil. The second thing to consider is when and how to do pregnancy diagnosis and then what program should be used to achieve good fertility at Resynch breedings. Finally, the design of the complete program is clear once the above ideas are decided.

Table 2. Overall comparison of reproductive values in Farm 1 and Farm2 and the Goals for reproductive performance that we attempt to achieve on dairy farms in Wisconsin.

Item	Farm 1	Farm 2	Goals
21-d Preg Rate	16%	32%	>25%
Service Rate	52%	67%	>60%
First Service Pregnant/AI	32.3% (146/452)	57.7% (205/355)	>44%
2 ⁺ Service Pregnant/AI	33.0% (210/637)	43.7% (164/375)	>36%

2. Programs for First AI

One major factor that can contribute to cows either not receiving AI or having suboptimal P/AI is the prevalence of anovulation in dairy herds. The term anovulation is used to identify a situation in which a cow fails to ovulate, usually measured at about 60 to 80 d after calving. Cows that are in the anovulatory condition can be identified by sequential ultrasound exams or measurements of P4. However, in some field situations where the estimation of cyclicity depends on occasional palpation of ovaries per rectum and detection of estrus, cows that are not detected in estrus are sometimes assumed to be anovular. Unfortunately, there are many physiological and environmental reasons

why a cow may not show standing estrus even though she has an LH surge and ovulates. The term “anestrus” will not be used in this manuscript because it does not clearly define whether cows are not cycling or simply are not displaying estrus.

Time to first postpartum ovulation averaged 33 d in U.S. Holsteins in a compilation of 10 studies reported by Ferguson (1996). Studies at the University of Wisconsin-Madison, with high-producing Holstein cows observed intervals to first postpartum ovulation of 36 d [n = 13; (Haughian et al., 2002)] and 51 d (range of 12 to 166 d; n = 266; Lopez et al., unpublished). Similar results have been observed in other countries. For example, a study from Brazil (Meschiatti and Sartori, unpublished) with Holstein (n = 13) or crossbred Holstein x Jersey (n = 38) cows (grazing with supplementation in summer; confined in winter) observed 18% anovular cows at 60 days postpartum, with ovular cows having an average time to first postpartum ovulation of 23 d (range of 9 to 52 d).

Another way to think about the anovular problem is to determine the percentage of cows that are anovular near the end of the voluntary waiting period, or at about 60 to 70 d after calving. For example, a previous collaboration between a number of reproductive physiologists and a dairy geneticist, Dr. George Shook, evaluated prevalence and heritability of anovulation using data from 13 different studies with a total of 5,818 lactating dairy cows (Bamber et al., 2009). It was found that incidence of anovulation at ~65 d after calving was 23.3% using transrectal ultrasound of ovaries and measurements of circulating P4. This study also found a heritability of 0.171, a fairly high heritability value for a reproductive trait (generally about ~0.05), but much lower than the heritability of milk production and milk component traits. Table 3 summarizes the results from a number of different studies that have evaluated anovulation at 60 to 70 DIM in high-producing lactating dairy cows. Thus, in studies evaluating over 17,000 lactating dairy cows, there are, on average, 23.6% of the cows that are anovular at the time breeding programs are initiated. There is substantial variability among farms in percentage of cows that are anovular. It should be noted that the final study by Monteiro Jr. et al., 2016 is a study that we have recently completed in Brazil. In Brazilian dairy cattle, there were 28.5% of the cows at 60 days after calving that are still not ovulating. Thus, most dairy producers, including dairy producers and veterinarians in Brazil, should assume that 20 to 25% of lactating dairy cows are anovular at the time programs for first AI are initiated.

Table 3. Incidence of anovulation in lactating dairy cattle on dairy farms in the USA and Brazil.

Reference	Anovular cows at 50-70 d postpartum, % (n/n)
Wiltbank et al. (2006) – Summary of 6 studies	26.1 (726/2,783)
Stevenson et al. (2008)	25.5 (270/1,060)
Bamber et al. (2009) – Summary of 19 studies	23.3 (1,356/5,818)
Bisinotto et al. (2010) – Summary of 8 studies	22.6 (1,267/5,607)
Herlihy et al. (2012)	24.7 (92/373)
Colazo et al. (2013)	17.6 (107/608)
Veira-Neto et al. (2014)	22.2 (348/1,569)
Monteiro Jr. et al. (2016)	28.5 (268/942)
Total	23.6 (4,434/18,760)

The first key to remember is to AI cows as soon after the voluntary waiting period (VWP) as possible. However, this does not mean that programs should begin early in lactation. As shown in Figure 1, Farm 1 began their program very early but did not have outstanding success. Farm 2 began their program later but was very aggressive after initiation of the breeding program and therefore achieved a service rate of 67%.

Ovsynch is the classical program that is utilized in the USA for FTAI. However, this program only results in about 32% P/AI. A large meta-analysis has shown that AI to Ovsynch is similar to AI to an estrus (Rabiee et al., 2005). Generally when Ovsynch is implemented in a commercial cattle operation, cows will be at a random stage of the estrous cycle. One of our early studies demonstrated that response to Ovsynch differed by stage of the estrous cycle when the cow received the first GnRH treatment of Ovsynch (Vasconcelos et al., 1999). For example, GnRH treatment on d 1-4 of the estrous cycle rarely resulted in ovulation, whereas GnRH treatment on d 5-9 caused ovulation in almost all cows. Thus, cows that were on d 1-4 had an older and larger follicle that ovulated to the second GnRH treatment (19.2 mm) than cows that began Ovsynch on d 5-9 (16.8 mm). Cows that began Ovsynch on d 5-9 also had greater circulating P4 at the time of the PGF treatment (3.6 ng/mL), probably due to the presence of two CL, than cows that initiated Ovsynch on d 1-4 (2.5 ng/mL). In contrast, cows in the later estrous cycle at Ovsynch initiation (d 12-21) also had lower P4 but due to early regression of the CL, prior to the PGF treatment in some cows. Some cows in the later estrous cycle, that did not ovulate to the first GnRH treatment had ovulation

prior to the second GnRH treatment. The cows that initiated Ovsynch in the later estrous cycle and did have synchronized ovulation, ovulated a larger follicle than cow on d 5-9. Of particular importance, cows expected to ovulate larger follicles (Ovsynch initiated on d 1-4 or 14-21) had lower fertility (25% at 98 d pregnancy diagnosis) than cows expected to ovulate smaller follicles (36%; Ovsynch initiated on d 5-13). Another study also observed that dairy cows that initiated Ovsynch on d 5-9 had greater fertility than cows that initiated Ovsynch on other days of the cycle (Keith et al., 2005). These results and other similar results in heifers (Moreira et al., 2000), provided the physiological basis for subsequent presynchronization methods that attempted to maximize the number of cows at a more optimal stage of the estrous cycle at Ovsynch initiation.

A presynchronization strategy that utilized two treatments with PGF (Presynch-12) was published from the laboratory of Dr. William Thatcher (Moreira et al., 2001). This study utilized a 2 X 3 experimental design with the first main effect being whether cows received or did not receive the Presynch strategy (PGF-14d-PGF-12d-Ovsynch). The second main effect was bST initiation on 63, 73, or 147 d in milk. There was an interaction of bST and Presynch ($P < 0.01$) with bST only showing an effect when cows received Presynch and not in non-Presynch cows. A calculation from the presented results shows that fertility is better in Presynch ($113/264 = 42.8\%$ at 74 d pregnancy diagnosis) than cows that were bred to Ovsynch without Presynch ($80/272 = 29.4\%$). Presynch only improved fertility in cows that were cyclic and not in anovular cows, as might be expected with a Presynch strategy that only utilized PGF treatments.

Numerous pre-synchronization studies have now been performed. Three of the most commonly utilized presynchronization strategies are illustrated in Figure 5 and will be briefly discussed below. Subsequent studies confirmed that the Presynch strategy using 2 PGF treatments 10 to 14 d prior to Ovsynch improved fertility compared to Ovsynch alone (Ei-Zarkouny et al., 2004, Navanukraw et al., 2004). A single PGF treatment 12 d before Ovsynch and first AI was not effective (Cordoba and Fricke, 2001, LeBlanc and Leslie, 2003), however, a single PGF treatment 12 d before Resynch (PGF on d 34 after previous AI and 12 d later Ovsynch initiation) did increase fertility (Silva et al., 2007). A shorter interval from the second PGF of Presynch improved fertility compared to a longer interval (11d = 36.4% vs. 14d = 30.2%; (Galvao et al., 2007)).

One of the most common adaptations of Presynch-Ovsynch is with the use of detection of estrus after the second PGF treatment and subsequent enrollment of all cows that were not detected in estrus into the Ovsynch protocol (Fricke, 2013). Use of detection of estrus during Presynch has reduced fertility to the Ovsynch/timed AI and overall fertility in all enrolled cows in one study (49.2 vs. 33.3%) (Gumen et al., 2012), although the effect was not significant in another study (31.1 vs. 25.3%) (Chebel and Santos, 2010). Since Ovsynch produces fertility that is similar to AI after an estrus in high-producing cows, and since Presynch before Ovsynch increases fertility compared to Ovsynch alone, it is logical that Presynch-Ovsynch could be a “fertility program”, that could allow increased fertility compared to AI after an estrus. The Pursley laboratory recently tested this idea (Strickland and Pursley, unpublished) and found that fertility was greater with Presynch-Ovsynch ($293/651 = 45\%$) than in cows bred after a standing estrus ($219/706 = 31\%$). Thus, Presynch-Ovsynch, with all cows being bred to a timed AI, may be considered a “fertility program” and not just a program for improving service rate in high-producing, lactating dairy cows.

A presynchronization protocol, now known as G6G or G7G, was developed by the Pursley laboratory using a single PGF followed 2 d later by GnRH with subsequent initiation of Ovsynch 6 or 7 d later (Peters and Pursley, 2002, Bello et al., 2006). This protocol appears to be effective in synchronizing more cows to a stage of the estrous cycle that can respond to the first GnRH of Ovsynch (Peters and Pursley, 2002, Bello et al., 2006, Bello and Pursley, 2007, Yilmaz et al., 2011). The percentage of cows that ovulated to the first GnRH of Ovsynch increased when cows were treated on d 6 (85%) compared to d 4 (56%) or d 5 (67%) after the GnRH of G6G (PGF-2d-GnRH) (Bello et al., 2006). In a separate study ovulation was greater on d 6 (94%) than d 7 (82%) or d 8 (73%) (Pursley et al., unpublished).

A third presynchronization strategy, originally developed in the Wiltbank laboratory, is termed Double-Ovsynch (Souza et al., 2008). This protocol uses an Ovsynch protocol (GnRH-7d-PGF-3d-GnRH) followed 7 d later by Ovsynch. In theory anovular cows should be induced to cycle and cycling cows should be synchronized so that Ovsynch begins on d 7 of the estrous cycle. Use of Double-Ovsynch compared to Presynch-12 increased percentage of cows with CL at the time of the first GnRH treatment ($343/366 = 93.7\%$ vs. $281/373 = 75.3\%$) and percentage of cows with elevated P4 at PGF (88 % vs. 76%) (Herlihy et al., 2012, Ayres et al., 2013). There was

also an increase in fertility with Double-Ovsynch compared to Presynch-12 in the first study (Souza et al., 2008) and in a more recent study ($383/837 = 46.3\%$ vs. $349/850 = 38.2\%$; $P = 0.01$) (Herlihy et al., 2012). There was also an increase in fertility with Double-Ovsynch compared to Ovsynch alone as a Resynch procedure (Giordano et al., 2012b). A recent study compared Double-Ovsynch to Presynch-10 before a 5 d Cosynch protocol (GnRH and timed AI given together at either 58 or 72 h after the PGF treatment) (Ribeiro et al., 2012). Fertility was very high in all treatments ($> 50\%$ pregnant/AI) and not affected by presynchronization method. However, the cows treated with Double-Ovsynch had reduced pregnancy losses as compared to Presynch-10 cows ($38/501 = 7.6\%$ vs. $58/515 = 11.3\%$; $P = 0.03$). The lack of an effect of Double-Ovsynch on overall fertility compared to Presynch in this last study could be due to differences in grazing cattle compared to cows in conventional-TMR environments or may be due to the use of a shorter, and potentially higher fertility, Presynch program in the grazing study (Presynch-10) compared to our study (Presynch-12). In general, Double-Ovsynch appears to be another “fertility program” with increased fertility compared to traditional Ovsynch and, at times, in comparison to Presynch-Ovsynch programs.

There are other presynchronization strategies that have been tested including a single GnRH treatment 7 d before Ovsynch (Dewey et al., 2010, Alkar et al., 2011, Mendonca et al., 2012, Bruno et al., 2013, Chebel et al., 2013, Lopes et al., 2013) or a P4 intravaginal device before Ovsynch (Chebel et al., 2006, Bicalho et al., 2007, Rutigliano et al., 2008). Extensive comparisons of the various presynchronization strategies are still needed. A recent large study ($n = 1870$) by the Pursley laboratory (Pursley et al., unpublished) found that ovulation to the first GnRH treatment of Ovsynch was greater for Double-Ovsynch (90%) than for G6G (85%) or Presynch-11 (80%) but that overall fertility was excellent and similar for all three of the programs in lactating dairy cows. Matching the use of presynchronization programs with the facilities, goals, and expertise is probably most critical for achieving success with these programs in specific dairy farms. In particular, producers that use Presynch programs, such as a single GnRH, PGF, or Double-Ovsynch, need to consider the potential reduction in detection of estrus (Mendonca et al., 2012, Chebel et al., 2013, Lopes et al., 2013) and the potential increase in interval between breedings (Giordano et al., 2012a, Giordano et al., 2012b, Giordano et al., 2013). Before first AI the length of the

presynchronization program may not be a major issue on some dairies and therefore costs, fertility, and farm situation are greater considerations. However, the length of synchronization programs is a major issue during Resynch programs, potentially increasing the interval between breedings. In conclusion, use of timed AI programs can be used not only to increase the service rate, as shown in our original Ovsynch trials, but also to improve fertility, in some herds.

Farm 1 was using the Double Ovsynch program to achieve such high fertility (Souza et al., 2008, Giordano et al., 2012b). In addition, they gave a second PGF, the day after the first PGF, in the breeding Ovsynch which increases fertility (Pereira et al., 2015, Wiltbank et al., 2015).

As discussed above, the GnRH-based programs such as Ovsynch utilize a first GnRH to synchronize the preovulatory follicular wave and to synchronize luteal function by ovulating a follicle. Thus, induction of an LH/FSH surge followed by a prolonged FSH surge leads to a new follicular wave (Bodensteiner et al., 1996, Haughian et al., 2013) and a dominant follicle at the time of the second GnRH treatment, which is used to synchronize the time of ovulation allowing effective timed AI. In Brazil, an alternative method to remove the dominant follicle is utilized to inhibit gonadotropin secretion by treatment with E2 in the presence of elevated circulating P4 (Baruselli et al., 2012b). Treatment of dairy cows with 2 mg of E2-benzoate (EB) reduced circulating LH and FSH to nadir concentrations about 30 min after treatment with a subsequent FSH surge at 3 to 4 d after EB (Cavalieri et al., 2003). The time from EB until follicular wave emergence was independent of stage of the follicular wave at EB treatment (Kim et al., 2007). The dose and type of E2 were critical for timing of follicular wave emergence after E2 treatment (Burke et al., 2003, Colazo et al., 2005, Martinez et al., 2005). The circulating E2 profiles are very different for different types of E2 products (Souza et al., 2005). Interestingly, in lactating dairy cows the time to wave emergence after 2 mg of EB was shorter (Souza et al., 2009) in cows with high milk production (3.8 d) than cows with lower milk production (4.5 d) perhaps due the increased E2 metabolism with increasing milk production (Sangsritavong et al., 2002, Wiltbank et al., 2006).

These protocols generally use an E2 injection at the end of the protocol to induce ovulation. Unfortunately, complete synchronization is a problem in E2-P4 protocols in lactating dairy cows due to lack of regression of the dominant follicle, lack of ovulation

to the final estrogen treatment, and lack of complete regression of the CL (Diskin et al., 2002, Souza et al., 2009, Pereira et al., 2013, Monteiro et al., 2015). In beef cattle, complete synchronization with E2-P4 protocols seems to be more efficient (Diskin et al., 2002, Baruselli et al., 2012a, Sales et al., 2012). Thus, there are now two major systems that are used for synchronization of ovulation and timed AI. One system emerged from our research and the research of many others and uses GnRH to synchronize the emergence of the preovulatory follicular wave and to synchronize ovulation. The other system developed from the original work of James Wiltbank, Gabriel Bo, Reuben Mapletoft, Pietro Baruselli and many others that evaluated the use of estrogens to synchronize the delayed emergence of a follicular wave and subsequently to induce ovulation of the dominant follicle. Both systems can synchronize follicular wave emergence, luteal function, and final ovulation near timed AI, however, both systems have some deficiencies and some advantages in specific physiological situations. Synchronization success continues to improve compared to the original protocols, as we obtain greater understanding of the limitations of each system.

3. Programs for second and later AI

Whereas presynchronization strategies have yielded significant increases in P/AI to first TAI, many herds struggle with poor fertility to an Ovsynch protocol used for Resynch TAI. In two studies, 16% to 22% of cows diagnosed not pregnant 32 d after TAI and that did not receive a GnRH treatment 7 d before pregnancy diagnosis lacked a CL (Fricke et al., 2003, Sterry et al., 2006). When cows were synchronized for first TAI and P4 profiles and CL diameter was measured until a pregnancy diagnosis 32 d later, 19% of cows diagnosed not pregnant lacked a CL > 10 mm in diameter (Ricci et al., 2015). Thus, approximately 15% to 20% of nonpregnant cows initiate a Resynch protocol in a low P4 environment which leads to a lack of luteal regression and low fertility to Resynch TAI. We conducted an experiment to determine the effect of adding a second PGF treatment 24 h after the first within an Ovsynch protocol would increase P/AI to TAI after a Resynch protocol (Carvalho et al., 2015). A greater ($P < 0.01$) proportion of cows receiving 1 PGF treatment had incomplete luteal regression (≥ 0.4 ng/mL) than cows receiving 2 PGF treatments regardless of P4 concentrations at G1. For cows with P4 concentrations < 1.0 ng/mL at G1, cows receiving 2 PGF treatments had more ($P = 0.03$) P/AI than cows receiving 1 PGF treatment, whereas for cows with

P4 concentrations ≥ 1.0 ng/mL at G1, P/AI did not differ ($P = 0.46$) between cows receiving 1 vs. 2 PGF treatments.

In order to improve fertility during Resynch programs, two strategies can be utilized (Figure 2). First, all cows receive 2 PGF treatments rather than only one treatment. This will improve fertility about 5-8% during the Resynch procedure. Second, the first GnRH should be given one week prior to pregnancy diagnosis. For example, if pregnancy diagnosis is on day 32 then the GnRH treatment would be given on Day 25. This would mean that all cows would receive the pretreatment GnRH, without knowing which cows are pregnant or non-pregnant. Then on Day 32, cows would be evaluated for pregnancy. In non-pregnant cows, the ovaries would be evaluated to determine the presence or absence of CL. For cows that have a CL, the cow would immediately receive a PGF treatment, a second PGF treatment the next day, and then GnRH at 56 h and FTAI. If the cow does not have a CL, then the cow would receive GnRH, a progesterone implant, and complete the Ovsynch protocol the next day. This strategy will result in better fertility during the Resynch protocol because the cows with a CL will have better fertility due to the second PGF and improved CL regression. Cows that had no CL would have had low fertility to the FTAI (~18% of cows). Removal of these cows and resynchronization with a better protocol will result in much greater fertility in these cows (from ~10% to ~40%). This is the strategy that Farm 2 utilized to achieve high fertility to second and later AI.

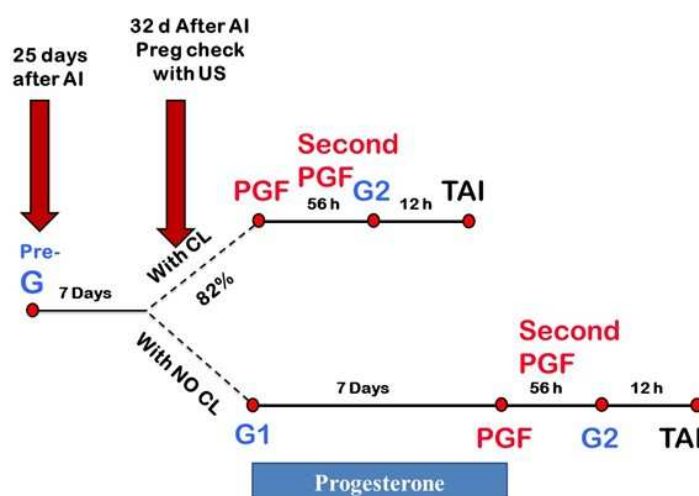


Figure 2. Summary of a simplified program to achieve high fertility and a short interval between breedings in lactating dairy cows.

4. Designing complete programs for reproductive management

Thus, programs can be designed to provide all cows to receive AI before 80 days after calving. Use of optimized programs, such as Double Ovsynch can result in high fertility (Souza et al., 2008, Herlihy et al., 2012). These programs can be further enhanced by adding a second PGF treatment at 24 h after the first treatment (Pereira et al., 2015, Wiltbank et al., 2015). There are also E2-based programs that are also producing higher fertility in lactating dairy cattle in Brazil (Monteiro et al., 2015, Pereira et al., 2015). The key to having excellent reproductive management is having diligence and consistency in the reproductive management program. Every week, a group of cows should be started on the protocol. Every week, all eligible cows should have pregnancy diagnosis and be resynchronized. Excellent treatment techniques, AI techniques, and pregnancy diagnosis methods must be utilized to assure success. Maybe your herd could be the first 30:30 herd in Brazil.

References

- Alkar, A., A. Tibary, J. R. Wenz, R. L. Nebel, and R. Kasimanickam. 2011. Presynchronization with GnRH 7 days prior to resynchronization with CO-Synch did not improve pregnancy rate in lactating dairy cows. *Theriogenology* 76:1036-1041.
- Ayres, H., R. M. Ferreira, A. P. Cunha, R. R. Araujo, and M. C. Wiltbank. 2013. Double-Ovsynch in high-producing dairy cows: Effects on progesterone concentrations and ovulation to GnRH treatments. *Theriogenology* 79:159-164.
- Bamber, R. L., G. E. Shook, M. C. Wiltbank, J. E. P. Santos, and P. M. Fricke. 2009. Genetic parameters for anovulation and pregnancy loss in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 92:5739-5753.
- Baruselli, P. S., M. F. Sa Filho, R. M. Ferreira, J. N. S. Sales, L. U. Gimenes, L. M. Vieira, M. F. Mendanha, and G. A. Bo. 2012a. Manipulation of follicle development to ensure optimal oocyte quality and conception rates in cattle. *Reprod. Domest. Anim.* 47:134-141.
- Baruselli, P. S., J. N. S. Sales, R. V. Sala, L. M. Viera, and M. F. Sa Filho. 2012b. History, evolution and perspectives of timed artificial insemination programs in Brazil. *Animal Reproduction* 9:139-152.
- Bello, N. M. and J. R. Pursley. 2007. Strategies to maximize ovulation to first GnRH of Ovsynch in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90:327-328.
- Bello, N. M., J. P. Steibel, and J. R. Pursley. 2006. Optimizing ovulation to first GnRH improved outcomes to each hormonal injection of Ovsynch in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89:3413-3424.
- Bicalho, R. C., S. H. Cheong, L. D. Warnick, and C. L. Guard. 2007. Evaluation of progesterone supplementation in a prostaglandin F₂alpha-based presynchronization protocol before timed insemination. *J. Dairy Sci.* 90:1193-1200.
- Bodensteiner, K. J., K. Kot, M. C. Wiltbank, and O. J. Ginther. 1996. Synchronization of emergence of follicular waves in cattle. *Theriogenology* 45:1115-1128.
- Bruno, R. G., A. M. Farias, J. A. Hernandez-Rivera, A. E. Navarrette, D. E. Hawkins, and T. R. Bilby. 2013. Effect of gonadotropin-releasing hormone or prostaglandin F(2alpha)-based estrus synchronization programs for first or subsequent artificial insemination in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 96:1556-1567.
- Burke, C. R., M. L. Mussard, C. L. Gasser, D. E. Grum, and M. L. Day. 2003. Estradiol benzoate delays new follicular wave emergence in a dose-dependent manner after ablation of the dominant ovarian follicle in cattle. *Theriogenology* 60:647-658.
- Carvalho, P. D., M. J. Fuenzalida, A. Ricci, A. H. Souza, R. V. Barletta, M. C. Wiltbank, and P. M. Fricke. 2015. Modifications to Ovsynch improve fertility during resynchronization: Evaluation of presynchronization with gonadotropin-releasing hormone 6 d before initiation of Ovsynch and addition of a second prostaglandin F-2 alpha treatment. *J. Dairy Sci.* 98:8741-8752.
- Cavalieri, J., G. Hepworth, K. I. Parker, P. J. Wright, and K. L. Macmillan. 2003. Effect of treatment with progesterone and oestradiol when starting treatment with an intravaginal progesterone releasing insert on ovarian follicular development and hormonal concentrations in Holstein cows. *Anim. Reprod. Sci.* 76:177-193.
- Chebel, R. C., J. E. Santos, R. L. Cerri, H. M. Rutigliano, and R. G. Bruno. 2006. Reproduction in dairy cows following progesterone insert presynchronization and resynchronization protocols. *J. Dairy Sci.* 89:4205-4219.
- Chebel, R. C. and J. E. P. Santos. 2010. Effect of inseminating cows in estrus following a presynchronization protocol on reproductive and lactation performances. *J. Dairy Sci.* 93:4632-4643.

- Chebel, R. C., A. A. Scanavez, P. R. B. Silva, J. G. N. Moraes, L. G. D. Mendonca, and G. Lopes. 2013. Evaluation of presynchronized resynchronization protocols for lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 96:1009-1020.
- Colazo, M. G., M. F. Martinez, J. A. Small, J. P. Kastelic, C. A. Burnley, D. R. Ward, and R. J. Mapletoft. 2005. Effect of estradiol valerate on ovarian follicle dynamics and superovulatory response in progestin-treated cattle. *Theriogenology* 63:1454-1468.
- Cordoba, M. C. and P. M. Fricke. 2001. Evaluation of two hormonal protocols for synchronization of ovulation and timed artificial insemination in dairy cows managed in grazing-based dairies. *J Dairy Sci* 84:2700-2708.
- Dewey, S. T., L. G. D. Mendonca, G. Lopes, F. A. Rivera, F. Guagnini, R. C. Chebel, and T. R. Bilby. 2010. Resynchronization strategies to improve fertility in lactating dairy cows utilizing a presynchronization injection of GnRH or supplemental progesterone: I. Pregnancy rates and ovarian responses. *J. Dairy Sci.* 93:4086-4095.
- Diskin, M. G., E. J. Austin, and J. F. Roche. 2002. Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle. *Domest. Anim. Endocrinol.* 23:211-228.
- Ei-Zarkouny, S. Z., J. A. Cartmill, B. A. Hensley, and J. S. Stevenson. 2004. Pregnancy in dairy cows after synchronized ovulation regimens with or without presynchronization and progesterone. *J. Dairy Sci.* 87:1024-1037.
- Fricke, P. M. 2013. Preparing cows for the early postpartum artificial insemination. *Large Animal Review* 19:95-99.
- Fricke, P. M., D. Z. Caraviello, K. A. Weigel, and M. L. Welle. 2003. Fertility of dairy cows after resynchronization of ovulation at three intervals following first timed insemination. *J Dairy Sci* 86:3941-3950.
- Galvao, K. N., M. F. Sa Filho, and J. E. Santos. 2007. Reducing the interval from presynchronization to initiation of timed artificial insemination improves fertility in dairy cows. *J Dairy Sci* 90:4212-4218.
- Giordano, J. O., P. M. Fricke, and V. E. Cabrera. 2013. Economics of resynchronization strategies including chemical tests to identify nonpregnant cows. *J. Dairy Sci.* 96:949-961.
- Giordano, J. O., M. C. Wiltbank, J. N. Guenther, M. S. Ares, G. Lopes, Jr., M. M. Herlihy, and P. M. Fricke. 2012a. Effect of presynchronization with human chorionic gonadotropin or gonadotropin-releasing hormone 7 days before resynchronization of ovulation on fertility in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 95:5612-5625.
- Giordano, J. O., M. C. Wiltbank, J. N. Guenther, R. Pawlisch, S. Bas, A. P. Cunha, and P. M. Fricke. 2012b. Increased fertility in lactating dairy cows resynchronized with Double-Ovsynch compared with Ovsynch initiated 32 d after timed artificial insemination. *J. Dairy Sci.* 95:639-653.
- Gumen, A., A. Keskin, G. Yilmazbas-Mecitoglu, E. Karakaya, A. Alkan, H. Okut, and M. C. Wiltbank. 2012. Effect of presynchronization strategy before Ovsynch on fertility at first service in lactating dairy cows. *Theriogenology* 78:1830-1838.
- Haughian, J. M., O. J. Ginther, F. J. Diaz, and M. C. Wiltbank. 2013. Gonadotropin-releasing hormone, estradiol, and inhibin regulation of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone surges: implications for follicle emergence and selection in heifers. *Biol. Reprod.* 88:165-177.
- Haughian, J. M., R. Sartori, J. N. Guenther, A. Gumen, and M. C. Wiltbank. 2002. Extending the postpartum anovulatory period in dairy cattle with estradiol cypionate. *J. Dairy Sci.* 85:3238-3249.
- Herlihy, M. M., J. O. Giordano, A. H. Souza, H. Ayres, R. M. Ferreira, A. Keskin, A. B. Nascimento, J. N. Guenther, J. M. Gaska, S. J. Kacuba, M. A. Crowe, S. T. Butler, and

- M. C. Wiltbank. 2012. Presynchronization with Double-Ovsynch improves fertility at first postpartum artificial insemination in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 95:in press.
- Keith, B. R., K. E. Leslie, W. H. Johnson, and J. S. Walton. 2005. Effect of presynchronization using prostaglandin F₂alpha and a milk-ejection test on pregnancy rate after the timed artificial insemination protocol, Ovsynch. *Theriogenology* 63:722-738.
- Kim, U. H., G. H. Suh, T. Y. Hur, S. J. Kang, H. G. Kang, S. B. Park, H. S. Kim, and I. H. Kim. 2007. The effects of administering estradiol benzoate plus progesterone during the growth or static phases of the dominant follicle in CIDR-treated lactating dairy cows. *J. Reprod. Dev.* 53:591-596.
- LeBlanc, S. J. and K. E. Leslie. 2003. Short communication: presynchronization using a single injection of PGF₂alpha before synchronized ovulation and first timed artificial insemination in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86:3215-3217.
- Lopes, G., Jr., J. O. Giordano, A. Valenza, M. M. Herlihy, J. N. Guenther, M. C. Wiltbank, and P. M. Fricke. 2013. Effect of timing of initiation of resynchronization and presynchronization with gonadotropin-releasing hormone on fertility of resynchronized inseminations in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 96:3788-3798.
- Martinez, M. F., J. P. Kastelic, G. A. Bo, M. Caccia, and R. J. Mapletoft. 2005. Effects of oestradiol and some of its esters on gonadotrophin release and ovarian follicular dynamics in CIDR-treated beef cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 86:37-52.
- Mendonca, L. G. D., S. T. Dewey, G. Lopes, F. A. Rivera, F. S. Guagnini, J. P. Fetrow, T. R. Bilby, and R. C. Chebel. 2012. Effects of resynchronization strategies for lactating Holstein cows on pattern of reinsemination, fertility, and economic outcome. *Theriogenology* 77:1151-1158.
- Monteiro, P. L. J., M. Borsato, F. L. M. Silva, A. B. Prata, M. C. Wiltbank, and R. Sartori. 2015. Increasing estradiol benzoate, pretreatment with gonadotropin-releasing hormone, and impediments for successful estradiol-based fixed-time artificial insemination protocols in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 98:3826-3839.
- Moreira, F., R. L. de la Sota, T. Diaz, and W. W. Thatcher. 2000. Effect of day of the estrous cycle at the initiation of a timed artificial insemination protocol on reproductive responses in dairy heifers. *J. Anim. Sci.* 78:1568-1576.
- Moreira, F., C. Orlandi, C. A. Risco, R. Mattos, F. Lopes, and W. W. Thatcher. 2001. Effects of presynchronization and bovine somatotropin on pregnancy rates to a timed artificial insemination protocol in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 84:1646-1659.
- Navanukraw, C., D. A. Redmer, L. P. Reynolds, J. D. Kirsch, A. T. Grazul-Bilska, and P. M. Fricke. 2004. A modified presynchronization protocol improves fertility to timed artificial insemination in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87:1551-1557.
- Pereira, M. H. C., C. P. Sanches, T. G. Guida, A. D. R. Rodrigues, F. L. Aragon, M. B. Veras, P. T. Borges, M. C. Wiltbank, and J. L. M. Vasconcelos. 2013. Timing of prostaglandin F-2 alpha treatment in an estrogen-based protocol for timed artificial insemination or timed embryo transfer in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 96:2837-2846.
- Pereira, M. H. C., M. C. Wiltbank, L. F. S. P. Barbosa, W. M. Costa, M. A. P. Carvalho, and J. L. M. Vasconcelos. 2015. Effect of adding a gonadotropin-releasing-hormone treatment at the beginning and a second prostaglandin F-2 alpha treatment at the end of an estradiol-based protocol for timed artificial insemination in lactating dairy cows during cool or hot seasons of the year. *J. Dairy Sci.* 98:947-959.
- Peters, M. W. and J. R. Pursley. 2002. Fertility of lactating dairy cows treated with Ovsynch after presynchronization injections of PGF(2 alpha) and GnRH. *J. Dairy Sci.* 85:2403-2406.

- Rabiee, A. R., I. J. Lean, and M. A. Stevenson. 2005. Efficacy of Ovsynch program on reproductive performance in dairy cattle: A meta-analysis. *J. Dairy Sci.* 88:2754-2770.
- Ribeiro, E. S., A. P. Monteiro, F. S. Lima, H. Ayres, R. S. Bisinotto, M. Favoreto, L. F. Greco, R. S. Marsola, W. W. Thatcher, and J. E. Santos. 2012. Effects of presynchronization and length of proestrus on fertility of grazing dairy cows subjected to a 5-day timed artificial insemination protocol. *J Dairy Sci* 95:2513-2522.
- Ricci, A., P. D. Carvalho, M. C. Amundson, R. H. Fourdraine, L. Vincenti, and P. M. Fricke. 2015. Factors associated with pregnancy-associated glycoprotein (PAG) levels in plasma and milk of Holstein cows during early pregnancy and their effect on the accuracy of pregnancy diagnosis. *J. Dairy Sci.* 98:2502-2514.
- Rutigliano, H. M., F. S. Lima, R. L. Cerri, L. F. Greco, J. M. Vilela, V. Magalhaes, F. T. Silvestre, W. W. Thatcher, and J. E. Santos. 2008. Effects of method of presynchronization and source of selenium on uterine health and reproduction in dairy cows. *J Dairy Sci* 91:3323-3336.
- Sales, J. N. S., J. B. P. Carvalho, G. A. Crepaldi, R. S. Cipriano, J. O. Jacomini, J. R. G. Maio, J. C. Souza, G. P. Nogueira, and P. S. Baruselli. 2012. Effects of two estradiol esters (benzoate and cypionate) on the induction of synchronized ovulations in *Bos indicus* cows submitted to a timed artificial insemination protocol. *Theriogenology* 78:510-516.
- Sangsritavong, S., D. K. Combs, R. Sartori, L. E. Armentano, and M. C. Wiltbank. 2002. High feed intake increases liver blood flow and metabolism of progesterone and estradiol-17 beta in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 85:2831-2842.
- Silva, E., R. A. Sterry, D. Kolb, M. C. Wiltbank, and P. M. Fricke. 2007. Effect of pretreatment with prostaglandin F-2 alpha before resynchronization of ovulation on fertility of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90:5509-5517.
- Souza, A. H., H. Ayres, R. M. Ferreira, and M. C. Wiltbank. 2008. A new presynchronization system (Double-Ovsynch) increases fertility at first postpartum timed AI in lactating dairy cows. *Theriogenology* 70:208-215.
- Souza, A. H., A. P. Cunha, D. Z. Caraviello, and M. C. Wiltbank. 2005. Profiles of circulating estradiol-17 β after different estrogen treatments in lactating dairy cows. *Animal Reproduction* 2:224-232.
- Souza, A. H., S. Viechnieski, F. A. Lima, F. F. Silva, R. Araujo, G. A. Bo, M. C. Wiltbank, and P. S. Baruselli. 2009. Effects of equine chorionic gonadotropin and type of ovulatory stimulus in a timed-AI protocol on reproductive responses in dairy cows. *Theriogenology* 72:10-21.
- Sterry, R. A., P. W. Jardon, B. Ryzebol, and P. M. Fricke. 2006. Effect of timing of the second GnRH injection of a timed AI protocol on fertility of lactating holstein cows after first postpartum and Resynch AI services. *J. Anim. Sci.* 84:49-49.
- Vasconcelos, J. L. M., R. W. Silcox, G. J. M. Rosa, J. R. Pursley, and M. C. Wiltbank. 1999. Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows. *Theriogenology* 52:1067-1078.
- Wiltbank, M., H. Lopez, R. Sartori, S. Sangsritavong, and A. Gumen. 2006. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. *Theriogenology* 65:17-29.
- Wiltbank, M. C., G. M. Baez, F. Cochrane, R. V. Barletta, C. R. Trayford, and R. T. Joseph. 2015. Effect of a second treatment with prostaglandin F-2 alpha during the Ovsynch protocol on luteolysis and pregnancy in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 98:8644-8654.

Yilmaz, C., O. Yilmaz, and M. Ucar. 2011. Effect of PGF2 alpha and GnRH injections applied before Ovsynch on pregnancy rates in cows and heifers. Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi 17:641-644.

USO ALTERNATIVO DE SOMATOTROPINA BOVINA NO MANEJO DE VACAS PERIPARTO E BEZERROS AO REDOR DO DESMAME

Ricardo C. Chebel

Department of Animal Sciences, University of Florida

Introdução

Imunossupressão durante o periparto ocorre em um número significativo de vacas leiteiras, predispondo-as a distúrbios de saúde. Embora vários fatores contribuam para a imunossupressão de vacas durante o periparto, talvez o mais importante seja alterações metabólicas necessárias para a manutenção de elevados níveis de produção de colostro/leite durante um período de consumo de matéria seca (**CMS**) e disponibilidade de nutrientes limitados. Portanto, não é surpreendente que a maioria das doenças infecciosas (ex. metrite, mastite) e metabólicas (ex. hipocalcemia, cetose) são diagnosticadas durante os primeiros 30 d pós-parto. Estratégias para reduzir a incidência de doenças infecciosas incluem a redução da carga patogênica à qual as vacas são expostas, mas também a adequação do metabolismo das vacas. Ospina et al. (2010) demonstraram que altas concentrações de BHBA durante o pós-parto estavam associadas à maior risco de metrite e Cheong et al. (2011) demonstraram que vacas com cetose foram 3,9 vezes mais propensas a serem diagnosticados com endometrite clínica comparadas a vacas sem cetose. Por outro lado, Garro et al. (2013) demonstraram que vacas diagnosticadas com metrite foram 4,9 vezes mais propensas a desenvolver cetose sub-clínica comparadas a vacas saudáveis. Assim, estratégias que melhoram o status imune e metabólico de vacas leiteiras peri-parto têm grande potencial para melhorar a saúde, bem-estar e desempenho de vacas leiteiras. De forma similar, bezerros podem enfrentar desafios metabólicos e imunes durante o período de desmama. Em particular, bezerros alimentados com altas quantidades de leite (ex. > 9 L/d) ou *ad libitum* e que são submetidos a desmame abrupto muitas vezes tem dificuldades para ingerir quantidades de concentrado suficientes para manutenção e crescimento. Consequentemente, bezerros apresentam menor crescimento durante o período de desmame (Eckert et al., 2015). Pouco se sabe, porém, sobre as consequências do desmame de bezerros alimentados previamente *ad libitum* sobre parâmetros imunes. Nesta apresentação discutiremos o tratamento de vacas em transição (gestação para lactação) e bezerros em desmame com

somatotropina bovina recombinante (rbST) e seus efeitos em parâmetros imune, metabólicos, saúde e performance.

Imunosupressão durante o Parto e Desmame

A redução da função imune de vacas durante o parto é uma consequência de desafios metabólicos e, em menor grau, alterações endócrinas associadas ao parto (Kimura et al., 1999). Com a aproximação do parto o CMS diminui ao mesmo tempo em que a demanda por energia, proteína, e cálcio para colostrogênese/lactogênese aumenta (Grummer et al., 2004). Vacas, assim como outros mamíferos, mobilizam depósitos corpóreos de gordura para satisfazer os requerimentos de energia causando um aumento significativo na concentração plasmática de ácidos graxos não esterificados (**NEFA**; Grummer et al., 2004; Santos et al., 2010; Vazquez-Anon et al., 1994). A oxidação incompleta de NEFA, a qual ocorre quando a mobilização de depósitos de gordura é excessiva ou a função hepática é diminuída, resulta em aumento acentuado das concentrações de beta-hidróxido butirato (**BHBA**; Grummer et al., 2004; Gordon et al., 2013.). Vacas diagnosticadas com metrite tem CMS menor pré- e pós-parto (Huzzey et al., 2007) e redução na função de leucócitos polimorfonucleares (**PMNL**) no dia do parto (Hammon et al., 2006) comparadas a vacas saudáveis. O aumento exacerbado nas concentrações de NEFA e BHBA estão associados com a redução na função imune (Hammon et al., 2006), mas outros fatores associados ao balanço energético negativo (**BEN**) também podem comprometer a função imune.

O fator de crescimento semelhante a insulina 1 (**IGF-1**) é um importante fator de crescimento e diferenciação para muitos tipos de células (LeRoith e Roberts, 1991) e desempenha um papel importante na eritropoiese, na atividade citolítica das células T CD8+, na diferenciação de PMNL, e na atividade dos macrófagos (Heemskerk et al., 1999). Porém, durante o parto vacas leiteiras sofrem o desacoplamento do eixo somatotrópico, o qual é caracterizado pelo aumento na concentração de hormônio do crescimento (**GH**), redução na expressão de mRNA para receptores de GH 1 alfa (**GHR1 α**) no fígado, e redução nas concentrações de IGF-1 (Lucy, 2008). Considerando o papel do IGF-1 sobre o crescimento, diferenciação e atividade de células do sistema imune, terapias que aumentam as concentrações circulantes de IGF-1 em vacas durante o parto podem ser úteis para melhorar o seu status imune. Kooijman et al. (2002) demonstraram que a cultura de granulócitos na presença de IGF-1 reduziu a apoptose e a fragmentação do DNA de granulócitos. Além disso, Inoue et al. (1998) demonstraram que a cultura de PMNL em meios contendo IGF-1 aumentou a porcentagem de bactérias (*E. coli*) mortas e aumentou a

expressão de CD11b por PMNL, uma molécula de adesão importante na transmigração de PMNL a partir de vénulas ao sítio de infecção. O tratamento de humanos e ratos deficientes em GH com somatotropina aumentou as concentrações circulantes de IGF-1, aumentou a contagem de PMNL, e aumentou as concentrações circulantes de IgG, IgM, e IgA (Kimata e Yoshida, 1994; Ibanez et al., 2005; Sohmiya et al., 2005). Assim, com base em experimentos com outras espécies pode-se argumentar que terapias que aumentem a concentração de IGF-1 em vacas durante o periparto tem o potencial para melhorar respostas relacionadas à imunidade inata e adaptativa.

Efeitos da Somatotropina Recombinante Bovina sobre Metabolismo, Imunidade e Saúde de Vacas durante o Periparto

O tratamento de vacas durante o periparto com rbST promove mecanismos de preservação de glicose como a redução de oxidação de glicose, gliconeogênese, e aumento da resistência à insulina (Bauman et al., 1989; Bauman e Vernon, 1993). Fetrow et al. (1999) demonstraram que vacas submetidas à correção cirúrgica de deslocamento do abomaso que foram tratadas uma vez com 500 mg de rbST tiveram maiores concentrações plasmáticas de glicose e redução na concentração de corpos cetônicos na urina após a cirurgia comparando com vacas submetidas a cirurgia e não tratadas com rbST. Respostas produtivas de vacas tratadas com uma dose completa de rbST (500 mg a cada 14 dias) são inconsistentes, com alguns experimentos resultando em aumento da produção de leite (Moallen et al., 2000; Putnam et al., 1999a) e outros experimentos resultando em nenhum benefício para a produção de leite (Moallen et al., 1997). O tratamento de vacas com doses elevadas de rbST durante o periparto, no entanto, reduziu consistentemente o escore de condição corporal (ECC) e, em alguns casos, prolongou e aumentou o BEN (Moallen et al., 1997; Moallen et al., 2000). Com base em experimentos *in vitro*, pesquisadores demonstraram que a resposta lipogênica de adipócitos de rato ao GH é trifásica, com uma curva em forma de sino (Ilondo et al., 1994). Por outro lado, o feedback negativo do GH sobre a expressão de receptores de GH em linfócitos humanos foi dependente da dose (Ilondo et al., 1994). Considerando que a concentração de GH começa a aumentar 7 a 14 d antes do parto e que a expressão hepática de mRNA para GHR1 α começa a diminuir nos últimos 7 d de gestação (Lucy, 2008; Mendonça et al., 2013), o tratamento com doses elevadas de rbST (500 mg a cada 14 d) durante o pré-parto pode causar um aumento exacerbado de GH.

Putnam et al. (1999a) demonstraram que o tratamento de vacas com 500 mg de rbST a cada 14 d durante os últimos 28 d de gestação aumentou a concentração de glicose e reduziu

a concentração de BHBA durante o pré-parto, mas não alterou as concentrações de glicose e BHBA durante o pós-parto. Embora não houve efeitos do tratamento com rbST no conteúdo hepático de lipídios e triglicerídeos, a produção de leite nas 7 primeiras semanas da lactação tendeu a ser maior para vacas tratadas com rbST (Putnam et al., 1999a). Gulay et al. (2004) trataram vacas com 100 mg de rbST a cada 14 d entre -21 e 42 d relativo ao parto. Embora não houve diferenças no CMS ou ECC entre vacas tratadas com rbST e vacas não tratadas, o tratamento com rbST aumentou as concentrações de GH e IGF-1 durante o pré- e pós-parto (Gulay et al., 2004). As vacas tratadas com rbST tiveram maior concentração de glicose durante o pré-parto comparado com vacas não tratadas, resultando em maior concentração de insulina durante o pré-parto, e tiveram maior produção de leite corrigido para gordura (**LCG**) até 21 semanas pós-parto (Gulay et al., 2004).

Nosso grupo conduziu recentemente um experimento no qual vacas com $ECC \geq 3,75$ foram selecionados aleatoriamente para receber nenhum tratamento (controle) ou para receber 87,5 mg (rbST87,5) ou 125 mg (rbST125) de rbST a cada 7 d entre os dias -21 a 28 em relação ao parto (Silva et al, 2015). Tratamentos com rbST foram realizados a cada 7 d, ao invés de a cada 14 d, para reduzir a variabilidade na concentração plasmática de IGF-1 e pelo fato de não ser possível prever com precisão a data de parição. As respostas imunes e metabólicas de vacas rbST87,5 não foram diferentes das vacas controle e, portanto, seus dados não serão discutidos. Como esperado, tratamento com rbST aumentou a concentração de GH entre os dias -14 a 21 em relação ao parto (rbST125 = $13,5 \pm 1,1$ vs controle = $9,1 \pm 1,1$ ng/mL). Por outro lado, tratamento com rbST aumentou a concentração de IGF-1 apenas durante o pré-parto (Figura 1). Durante o pré-parto, a intensidade de fagocitose (Figura 2) e burst oxidativo (Figura 3) de PMNL expostos *in vitro* a *E. coli* enteropatogênica foram aumentadas em resposta ao tratamento com rbST. Da mesma forma, as concentrações de IgG anti-ovalbumina no soro foram maiores durante o pré-parto em vacas rbST125 comparado a vacas controle (Figura 4). Portanto, nós especulamos que a melhora em alguns parâmetros do sistema imune inato e adaptativo induzidos por tratamento com rbST foi consequência do aumento das concentrações plasmáticas de IGF-1. É importante mencionar que além de melhorar parâmetros relacionados às respostas imune inata e adaptativa das vacas durante o pré-parto, tratamento com 125 mg de rbST a cada 7 d reduziu a incidência de metrite (rbST125 = 7,8 vs controle = 23,1%). Curiosamente, vacas rbST125 tiveram ECC reduzido durante o pós-parto em comparação com vacas controle (Figura 5), o que pode ser consequência da sua maior produção de leite entre os dias 21 e 49 pós-parto (rbST125 = $46,1 \pm 1,3$ vs controle = $44,2 \pm 1,3$ kg/d). Apesar das diferenças em ECC durante o pós-parto, a

concentração plasmática de NEFA não foi diferente entre os tratamentos, enquanto que vacas rbST125 tenderam a ter menor concentração de BHBA em comparação a vacas controle (Figura 6). Além disso, a concentração hepática de glicogênio 7 d pré-parto tendeu a ser maior para vacas rbST125 do que vacas controle. Combinados, estes resultados indicam que o tratamento de vacas periparto com doses reduzidas de rbST a cada 7 dias pode ter poupado a utilização da glicose por todo o corpo e melhorado a utilização hepática de NEFA, melhorando assim o estado metabólico de vacas leiteiras.

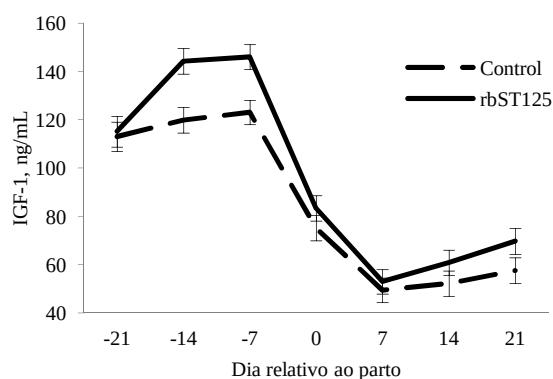


Figura 1. Efeito do tratamento com rbST sobre a concentração de fator de crescimento semelhante a insulina 1 (IGF-1). Efeito do: tratamento – $P = 0,02$, dia – $P < 0,01$ e tratamento x dia – $P = 0,04$.

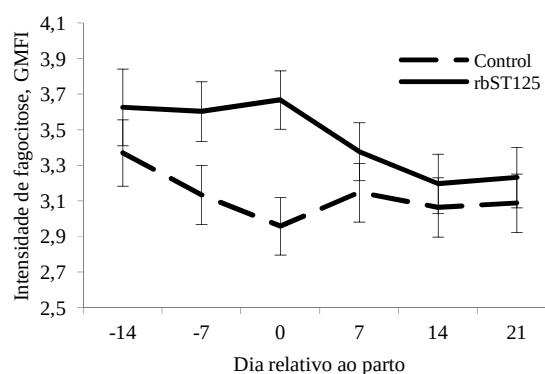


Figura 2. Efeito do tratamento com rbST sobre a intensidade de fagocitose de PMNL. Efeito do: tratamento – $P < 0,01$, dia – $P = 0,47$ e tratamento x dia – $P = 0,45$.

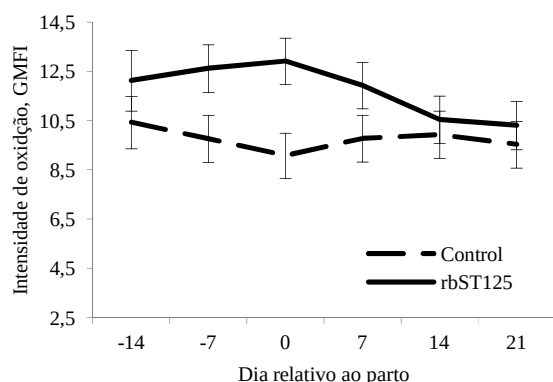


Figura 3. Efeito do tratamento com rbST sobre a intensidade de burst oxidativo de PMNL. Efeito do: tratamento – $P < 0,01$, dia – $P = 0,79$, e tratamento x dia – $P = 0,50$.

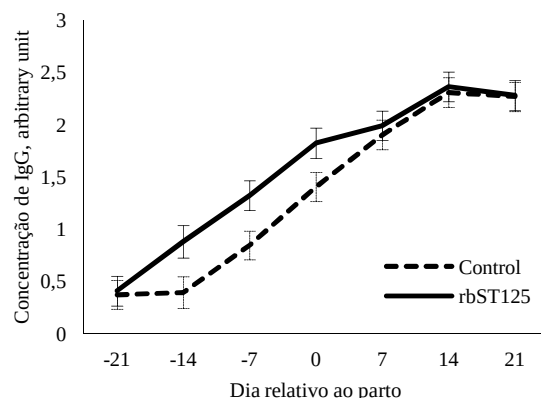


Figura 4. Efeito do tratamento com rbST sobre a concentração de IgG anti-ovalbumina. Efeito do: tratamento – $P = 0,06$, dia – $P < 0,01$ e tratamento x dia – $P = 0,22$.

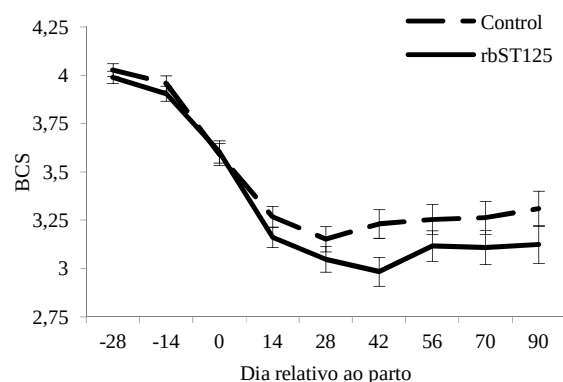


Figura 5. Efeito do tratamento com rbST sobre o score de condição corporal (**ECC**). Efeito do: tratamento – $P = 0,07$, dia – $P < 0,01$ e tratamento x dia – $P = 0,28$.

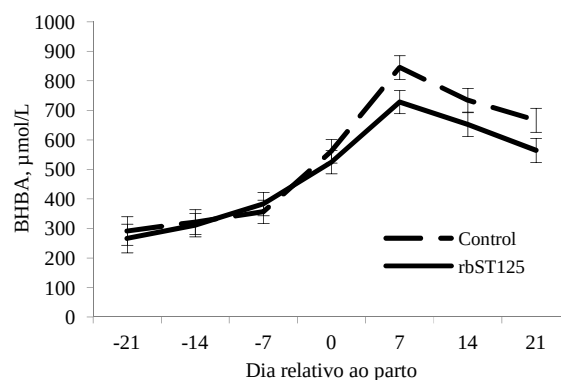


Figura 6. Efeito do tratamento com rbST sobre a concentração plasmática de beta-hidróxido de butirato (**BHBA**). Efeito do: tratamento – $P = 0,06$, dia – $P < 0,01$ e tratamento por dia – $P = 0,60$.

Para comprovar os resultados obtidos no experimento conduzido por Silva et al. (2015) um segundo experimento foi conduzido utilizando 302 vacas holandesas (HO-controle = 151 e HO-rbST125 = 151) e 522 vacas jersey (JS-controle = 264 e JS-rbST125 = 258). No total 49 (16,2%) holandesas nulíparas e 201 (38,5%) jersey nulíparas foram usadas no experimento e o restante das vacas tinha ≥ 1 lactação. As vacas foram alocadas no experimento cerca de 28 dias antes da data prevista de parto. Vacas foram alocadas aleatoriamente no tratamento controle ou no tratamento rbST125. Vacas alocadas no tratamento rbST125 receberam 125 mg de rbST a cada 7 dias entre os dias -21 e 21 relativo ao parto.

Vacas da raça Holandesa tratadas semanalmente com 125 mg de rbST tiveram maiores concentrações de GH durante o pré-parto (controle = 7,83 vs. rbST125 = 10,36 ng/mL) e pós-parto (controle = 10,45 vs. rbST125 = 18,47 ng/mL) em comparação com as vacas controle. Da mesma forma, vacas rbST125 tiveram maiores concentrações de IGF-1 durante o pré-parto (controle = $117,6 \pm 4,9$ vs. rbST125 = $152,4 \pm 4,7$ ng/mL) e pós-parto (controle = $49,0 \pm 3,6$ vs. rbST125 = $64,2 \pm 3,6$ ng/mL) do que vacas de controle. As concentrações de glicose não foram afetadas pelo tratamento durante o pré-parto (controle = $75,2 \pm 0,8$ vs. rbST125 = $75,8 \pm 0,7$) e pós-parto (controle = $70,3 \pm 0,9$ vs. rbST125 = $70,6 \pm 0,9$). Consequentemente, o tratamento com rbST não afetou as concentrações de insulina durante o pré-parto (controle = 0,58 vs. rbST125 = 0,57 μ U/L) e pós-parto (controle = 0,18 vs. rbST125 = 0,17 μ U/L).

Table 1. Efeitos do tratamento de vacas periparto (Holandesas e Jersey) com 125 mg de somatotropina recombinante bovina (rbST) sobre parâmetros relacionados à saúde e produção.

Items	Holandesa		Jersey		P – value		
	Controle ¹ (n = 151)	rbST125 ¹ (n = 151)	Controle (n = 264)	rbST125 (n = 258)	TRT	Herd	TRT x Herd
Retenção de placenta	14,3	6,1	1,5	1,2	0,08	<0,01	0,49
Metrite	26,2	16,6	19,9	13,3	<0,01	<0,01	0,95
Metrite aguda	-	-	8,7	5,4	0,15	-	-
Descarga vaginal purulenta (35 ± 3 DEL)	-	-	15,4	16,0	0,91	-	-
Cetose ²	9,4	11,3	8,5	13,4	0,08	0,02	0,64
Deslocamento de abomaso até 60 DEL	4,0	6,0	2,3	0,8	0,80	0,03	0,12
Mastite até 60 DEL	22,5	27,8	7,2	9,3	0,18	<0,01	0,73
Vacas descartadas até 60 DEL	7,3	11,3	6,8	7,0	0,31	0,81	0,22
Parâmetros produtivos							
Gordura, kg/d	1,33 ^a ± 0,04	1,51 ^b ± 0,04	1,02 ^c ± 0,03	1,06 ^c ± 0,03	<0,01	<0,01	0,03
Proteína, kg/d	1,11 ± 0,03	1,17 ± 0,03	0,81 ± 0,02	0,83 ± 0,02	0,28	<0,01	0,43
LCG, kg/d	35.5 ^a ± 1.0	39.4 ^b ± 1.0	26,7 ^c ± 0,6	27,8 ^c ± 0,6	<0,01	<0,01	0,08

¹Controle = vacas não receberam tratamento (n = 415); rbST125 = vacas tratadas com 125 mg de rbST a cada 7 d entre os dias -21 e 21 relativo ao parto (n = 409).

²BHBA > 1,400 µmol/L (Duffield et al., 2009) em ao menos uma das amostras coletadas 7 ± 3 e 14 ± 3 DEL.

O tratamento não afetou as concentrações de NEFA durante o pré-parto (controle = 148,6 vs. rbST125 = 165,0 mmol/L) e pós-parto (controle = 302,6, rbST125 = 331,3 mmol/L). A porcentagem de vacas diagnosticadas com cetose (BHBA > 1,400 μ mol/L) nas duas primeiras semanas pós-parto tendeu a ser maior para vacas rbST125 comparado com vacas controle (Tabela 1). Porém, tratamento com 125 mg de rbST a cada 7 dias entre os dias -21 e 21 relativo ao parto tendeu a reduzir a incidência de retenção de placenta e reduziu a incidência de metrite (Tabela 1). A incidência de metrite aguda em vacas Jersey também foi numericamente menor entre aquelas tratadas com rbST (Tabela 1). Finalmente, as produções de gordura do leite e a produção de LCG foram maiores para vacas tratadas com rbST (Table 1).

Desta forma, concluímos que o tratamento de vacas com rbST durante o periparto é uma estratégia que, ao melhorar parâmetros relacionados com as respostas imune inata e adaptativa, reduzem a incidência de doenças uterinas. Apesar de os efeitos do tratamento de vacas em periparto com rbST sobre o metabolismo serem ainda contraditórios, concluímos que tratamento com rbST aumenta significativamente a produção de LCG sem comprometer o metabolismo das vacas durante o pós-parto.

É importante ressaltar que a melhora na saúde de vacas tratadas com rbST não foi observada por todos os autores que avaliaram esta estratégia (Gohary et al., 2014; Putnam et al., 1999). Algumas diferenças importantes quanto ao período de tratamento, dose e frequência de tratamento devem ser mencionadas. Gohary et al. (2014) trataram vacas com 325 mg de rbST a cada 14 d apenas durante o pré-parto. Putnam et al. (1999) trataram vacas com 500 mg a cada 14 d durante o pré-parto. Já no experimento de Gulay et al. (2007), no qual vacas foram tratadas com 142,8 mg a cada 14 d entre os dias -21 e 42 relativo ao parto, houve uma diminuição do risco de mastite, problemas do sistema digestório e cetose entre as vacas tratadas com rbST. É provável que em nossos experimentos, assim como no experimento de Gulay et al. (2007), a dose reduzida (125 mg), a frequência (tratamento a cada 7 dias) e o tratamento prolongado (-21 a 21 d relativo ao parto) tenham resultado em concentrações de GH e IGF-1 mais constantes durante os períodos mais críticos para o metabolismo e imunidade das vacas periparto. Como mencionado anteriormente, tratamento com altas doses de rbST durante o periparto, um período no qual a produção endógena de GH é aumentada, pode ter efeitos deletérios ao metabolismo e imunidade. Em contrapartida, tratamento com rbST a cada 14 d resulta em concentrações de GH e IGF-1 inconstantes. Concentrações de GH e IGF-1 começam a aumentar pouco depois do tratamento de

vacas em lactação com rbST, sendo que as concentrações máximas de GH e IGF-1 são observados cerca de 7 d após o primeiro tratamento (Bilby et al., 2006; Rivera et al., 2010). Porém, 1 a 2 dias após o pico das concentrações de GH e IGF-1 são observadas e há uma diminuição acentuada das mesmas (Bilby et al., 2006; Rivera et al., 2010). Portanto, quando grupos de vacas pré-parto recebem rbST a cada 14 d muito provavelmente um número expressivo delas pari quando concentrações de GH e IGF-1 estão baixas por um prolongado período de tempo.

Efeitos da Somatotropina Recombinante Bovina sobre Metabolismo e Imunidade de Bezerros durante a Desmama

Durante o crescimento intra-uterino, bezerros raramente são desafiados com carga patogênica significativa sem resultar em aborto, o que lhes permite ter imunidade inata baixa comparativamente a bezerros pós-desmame ou animais adultos (Chase et al., 2008). A placenta epitélio-coreal cotiledonária de bovinos reduz a transferência de imunoglobulinas intra-utero, fazendo da alimentação com colostro imediatamente após o parto fundamental para uma adequada imunidade do bezerro recém nascido (Chase et al., 2008). Até aproximadamente 3 semanas após o nascimento os bezerros são imunologicamente dependentes de anti-corpos maternos ingeridos com colostro nas primeiras 24 h de vida (Chase et al., 2008). Nas primeiras 3 semanas após o nascimento bezerros alojados individualmente são desafiados por patógenos entéricos, enquanto que após 3 semanas de vida o maior desafio se dá por patógenos do trato respiratório, particularmente em fazendas que alojam bezerros em grupos. Durante o período no qual bezerros são alimentados com grandes quantidades de leite, a imunidade inata continua a se desenvolver, compensando em parte a diminuição da imunidade passiva proveniente do colostro. Porém, durante o período de desmame é possível que o BEN observado comprometa a imunidade dos bezerros predispondo-os a doenças infecciosas, assim como é observado em vacas durante o periparto. Portanto, é possível que o tratamento de bezerros com rbST durante a fase de desmame aumente as concentrações de IGF-1, um sinalizador do status energético que modula crescimento e diferenciação de vários tipos celulares, inclusive células do sistema imune. Leitões tratados com somatotropina suína recombinante por 5 dias durante o desmame tiveram maior concentração de IGF-1, maior contagem de PMNL, e maior concentração de IgM

comparados com leitões desmamados e não tratados com somatotropina suína recombinante (Kojima et al., 2008).

Em um experimento recente, avaliamos a hipótese de que o tratamento com rbST de bezerras durante a fase de desmama melhoraria parâmetros relacionados com imunidade inata e adaptativa. Neste experimento 36 bezerras holandesas foram alocadas aleatoriamente em um tratamento controle ou rbST. Bezerras alocadas no tratamento rbST receberam rbST (1,5 a 1,8 mg/kg) a cada 7 dias entre os dias 21 e 63 de vida. Todas as bezerras foram alimentadas com suscedâneo do leite (28% proteína e 20% gordura) *ad libitum* até o dia 38 de vida e foram desmamadas progressivamente entre os dias 38 e 49 de vida. Tratamento com rbST aumentou a concentração de IGF-1, particularmente entre os dias 21 e 38 de vida (Figura 7). Apesar de a concentração de IGF-1 continuar a ser maior para bezerras tratadas com rbST entre os dias 49 e 63 dias comparado com bezerras controle, a magnitude da diferença foi menor (Figura 7). O tratamento com rbST não afetou a atividade de PMNL (Figuras 8, 9 e 10); mas, enquanto a atividade de PMNL aumentou entre os dias 21 e 38 de vida, houve uma diminuição acentuada da atividade de PMNL durante a fase de desmame (38 a 49 d de vida). O tratamento com rbST tendeu a aumentar a expressão de moléculas de adesão de granulócitos (CD62L, CD18) e linfócitos (CD62L). Tratamento com rbST não afetou as concentrações de NEFA e BHBA, mas durante o período de desmame (38 a 56 d de vida) houve um aumento acentuado deste metabólitos, o qual foi associado à uma redução acentuada no ganho de peso diário de aproximadamente 900 g/d (21 a 40 d de vida) para cerca de 400 g/d (54 a 61 d de vida). A avaliação das concentrações de glicose, IgG anti-ovalbumina, e IgG e IgM totais ainda não foram concluídas; mas, é interessante mencionar que bezerras tratadas com rbST tiveram concentrações de haptoglobina, uma proteína produzida em resposta a inflamação generalizada, mais baixas comparado a bezerras controle.

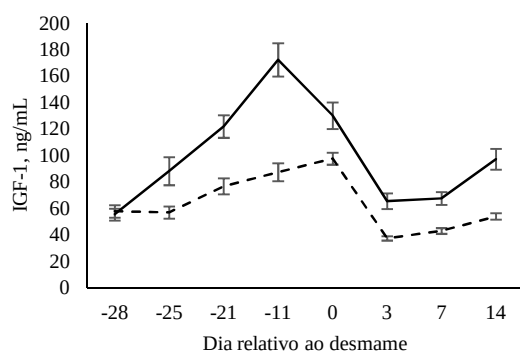


Figura 7. Efeito do tratamento de bezerros em desmama com rbST sobre concentrações de IGF-1. Efeito do: tratamento – $P < 0,01$, dia – $P < 0,01$ e tratamento x dia – $P = 0,08$.

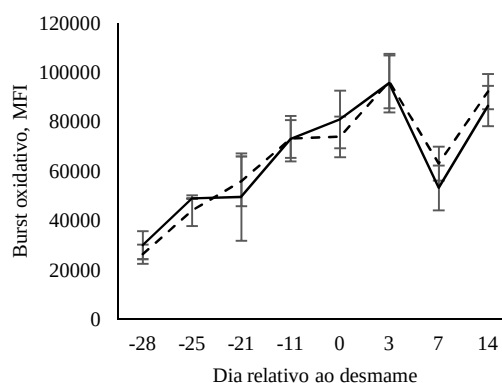


Figura 9. Efeito do tratamento de bezerros em desmama com rbST sobre a intensidade do burst oxidativo de PMNL. Efeito do: tratamento – $P = 0,71$, dia – $P < 0,01$ e tratamento x dia – $P = 0,36$.

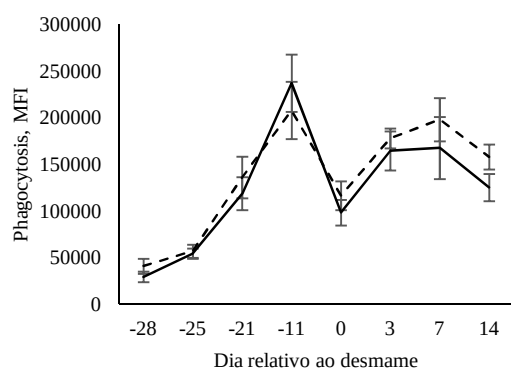


Figura 8. Efeito do tratamento de bezerros em desmama com rbST sobre a intensidade da fagocitose de PMNL. Efeito do: tratamento – $P = 0,74$, dia – $P < 0,01$ e tratamento x dia – $P = 0,75$.

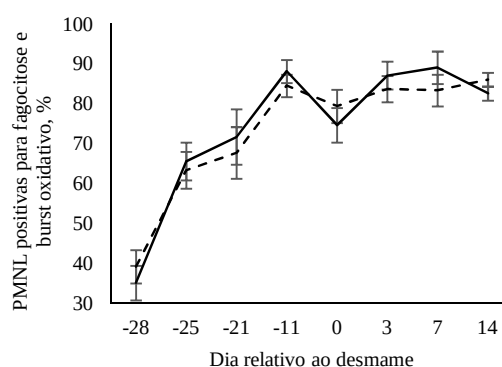


Figura 10. Efeito do tratamento de bezerros em desmama com rbST sobre a porcentagem de PMNL positivas para fagocitose e burst oxidativo. Efeito do: tratamento – $P = 0,59$, dia – $P < 0,01$ e tratamento x dia – $P = 0,57$.

Até o presente momento, concluímos que os efeitos do tratamento de bezerros com rbST durante a desmama sobre parâmetros relacionados a imunidade inata são mínimos e provavelmente não reduziram, por si só, o risco de doenças infecciosas.

Conclusões

O tratamento de vacas leiteiras com 125 mg de rbST, semanalmente, durante o periparto (-21 a 21 d em relação ao parto), pode ser utilizada para reduzir a incidência de membranas fetais retidas e metrite. Além disso, o tratamento de vacas leiteiras de periparto com 125 mg de rbST pode aumentar a produção de LCG com consequências mínimas para as concentrações de metabólitos. Incidências reduzidas de membranas fetais acumulados e metrite pode levar à utilização reduzida de antimicrobianos e anti-inflamatórios, que juntamente com o aumento do rendimento do ECM, pode melhorar a rentabilidade dos rebanhos leiteiros. Em contrapartida, tratamento de bezerros com rbST durante a desmama não melhorou parâmetros relacionados com resposta imune inata, mas o seu efeito sobre imunidade adaptativa continua a ser avaliado.

Referências

- Bauman, D. E., and R. G. Vernon. 1993. Effects of exogenous bovine somatotropin on lactation. *Annu. Rev. Nutr.* 13:437-461.
- Bauman, D. E., F. R. Dunshea, Y. R. Boisclair, M. A. McGuire, D. M. Harris, and K. L. Houseknecht. 1989. Regulation of nutrient partitioning: Homeostasis, homeorhesis and exogenous somatotropin. Pages 306-323 in 7th Int. Conf. Prod. Dis. Farm Anim., Cornell Univ., Ithaca, NY.
- Bilby, T. R., A. Sozzi, M. M. Lopez, F. Silvestre, A. D. Ealy, C. R. Staples, and W. W. Thatcher. 2006. Pregnancy, bovine somatotropin, and dietary n-3 fatty acids in lactating dairy cows: I. ovarian, conceptus, and growth hormone–insulin-like growth factor system responses. *J. Dairy Sci.* 89:3360–3374.
- Chase, C. L., D. J. Hurley, and A. J. Reber. 2008. Neonatal immune development in the calf and its impact on vaccine responses. *Vet. Clin. Food Anim.* 24: 87-104.
- Cheong, S. H., D. V. Nydam, K. N. Galvão, B. M. Crosier, and R. O. Gilbert. 2011. Cow-level and herd-level risk factors for subclinical endometritis in lactating Holstein cows. *J Dairy Sci.* 94(2):762-770.
- Eckert, E., H. E. Brown, K. E. Leslie, T. J. DeVries, and M. A. Steele. 2015. Weaning age affects growth, feed intake, gastrointestinal development, and behavior in Holstein calves fed an elevated plane of nutrition during the preweaning stage. *J. Dairy Sci.* 98:6315-6326.
- Fetrow, J. P., J. W. Pankowski, J. L. Vicini, and T. R. Ames. 1999. Use of bovine somatotropin at the time of surgery for left displacement of the abomasum in dairy cows. Minnesota Dairy Practitioners Study Group. *J Am Vet Med Assoc.* 214:529-531.
- Garro, C. J., L. Mian, and M. Cobos Roldán. 2013. Subclinical ketosis in dairy cows: prevalence and risk factors in grazing production system. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 98:838-844.
- Gohary, K., S. J. LeBlanc, K. D. Lissemore, M. W. Overton, M. Von Massow, and T. F. Duffield. 2014. Effect of prepartum administration of recombinant bovine somatotropin on health and performance of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 97:1-11.
- Grummer, R. R., D. G. Mashek, and A. Hayirli. 2004. Dry matter intake and energy balance in the transition period. *Vet. Clin N Am. Food Anim.* 20:447-470.
- Gulay, M. S., A. N. Garcia, M. J. Hayen, C. J. Wilcox, and H. H. Head. 2003. Responses of Holstein cows to a low dose of somatotropin (bST) prepartum and postpartum. *J. Dairy Sci.* 86:3195-3205.
- Gulay, M. S., M. J. Hayen, M. Liboni, T. I. Belloso, C. J. Wilcox, and H. H. Head. 2004. Low doses of bovine somatotropin during the transition period and early lactation improves milk yield, efficiency of production, and other physiological responses of Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 87(4):948-960.
- Gulay, M. S., M. Liboni, M. J. Hayen, and H. H. Head. 2007. Supplementing Holstein cows with low doses of bovine somatotropin prepartum and postpartum reduces calving-related diseases. *J. Dairy Sci.* 90(12):5439-5445.
- Hammon, D. S., I. M. Evjen, T. R. Dhiman, J. P. Goff, and J. L. Walters. 2006. Neutrophil function and energy status in Holstein cows with uterine health disorders. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 113:21-29.
- Heemskerk, V. H., M. A. R. C. Daemen, and W. A. Buurman. 1999. Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) and growth hormone (GH) in immunity and inflammation. *Cytokine Growth Factor Rev.* 10:5-14.
- Huzzey, J. M., D. M. Veira, D. M. Weary, and M. A. von Keyserlingk. 2007. Prepartum behavior and dry matter intake identify dairy cows at risk for metritis. *J Dairy Sci.* 90:3220-3233.

- Ibanez, L., A. Fucci, C. Valls, K. Ong, D. Dunger, and F. de Zegher. 2005. Neutrophil count in small-for-gestational age children: Contrasting effects of metformin and growth hormone therapy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 90:3435-3439.
- Ilondo, M. M., A. B. Damholt, B. A. Cunningham, J. A. Wells, P. De Meyts, and R. M. Shymko. 1994. Receptor dimerization determines the effects of growth hormone in primary rat adipocytes and cultured human IM-9 lymphocytes. *Endocrinology*. 134:2397-2403.
- Inoue, T., H. Saito, T. Matsuda, K. Fukatsu, I. Han, S. Furukawa, S. Ikeda, and T. Muto. 1998. Growth hormone and insulin-like growth factor I augment bactericidal capacity of human polymorphonuclear neutrophils. *Shock*. 10:278-284.
- Kimata, H., and A. Yoshida. 1994. Differential effect of growth hormone and insulin-like growth factor-I, insulin-like growth factor-II, and insulin on Ig production and growth in human plasma cells. *Blood* 83:1569-1574.
- Kimura, K., J. P. Goff, and M. E. Kehrli Jr. 1999. Effects of the presence of the mammary gland on expression of neutrophil adhesion molecules and myeloperoxidase activity in periparturient dairy cows. *J Dairy Sci.* 82:2385-2392.
- Kojima, C. J., H. G. Kattesh, M. P. Roberts, and T. Sun. 2008. Physiological and immunological responses to weaning and transport in the young pig: Modulation by administration of porcine somatotropin. *J. Anim. Sci.* 86:2913-2919.
- Kooijman, R., A. Coppens, and E. Hooghe-Peters. 2002. Igf-I inhibits spontaneous apoptosis in human granulocytes. *Endocrinology*. 143:1206-1212.
- LeRoith, D., and C. T. Roberts, Jr. 1991. Insulin-like growth factor I (IGF-I): a molecular basis for endocrine versus local action? *Mol. Cell Endocrinol.* 77:C57-C61.
- Lucy, M. C. 2008. Functional differences in the growth hormone and insulin-like growth factor axis in cattle and pigs: implications for post-partum nutrition and reproduction. *Reprod Domest Anim.* 43(Suppl 2):31-39.
- Mendonça, L. G. D., N. B. Litherland, M. C. Lucy, D. H. Keisler, M. A. Ballou, L. B. Hansen, B. Walcheck, and R. C. Chebel. 2013. Comparison of innate immune responses and somatotrophic axis components of Holstein and Montbéliarde-sired crossbred dairy cows. *J. Dairy Sci* 96:3588-3598.
- Moallem, U., Y. Folman, and D. Sklan. 2000. Effects of somatotropin and dietary calcium soaps of fatty acids in early lactation on milk production, dry matter intake, and energy balance of high-yielding dairy cows. *J Dairy Sci.* 83:2085-2094.
- Moallem, U., M. Kaim, Y. Folman, and D. Sklan. 1997. Effect of calcium soaps of fatty acids and administration of somatotropin in early lactation on productive and reproductive performance of high producing dairy cows. *J Dairy Sci.* 80:2127-2136.
- Ospina, P. A., D. V. Nydam, T. Stokol, and T. R. Overton. 2010. Evaluation of nonesterified fatty acids and β -hydroxybutyrate in transition dairy cattle in the northeastern United States: Critical thresholds for prediction of clinical diseases. *J. Dairy Sci.* 93:546-554.
- Putnam, D. E., G. A. Varga, and H. M. Dann. 1999. Metabolic and production responses to dietary protein and exogenous somatotropin in late gestation dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82:982-995.
- Rivera, F., C. Narciso, R. Oliveira, R. L. Cerri, A. Correa-Calderón, R. C. Chebel, and J. E. Santos. 2010. Effect of bovine somatotropin (500 mg) administered at ten-day intervals on ovulatory responses, expression of estrus, and fertility in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 93(4):1500-1510.
- Santos, J. E., R. S. Bisinotto, E. S. Ribeiro, F. S. Lima, L. F. Greco, C. R. Staples, and W. W. Thatcher. 2010. Applying nutrition and physiology to improve reproduction in dairy cattle. *Soc Reprod Fertil Suppl.* 67:387-403.

- Silva, P. R., P. R. Silva, K. S. Machado, D. N. Da Silva, J. G. Moraes, D. H. Keisler, and R. C. Chebel. 2015. Effects of recombinant bovine somatotropin during the periparturient period on innate and adaptive immune responses, systemic inflammation, and metabolism of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 98:4449-4464.
- Sohmiya, M., I. Kanazawa, and Y. Kato. 2005. Effect of recombinant human GH on circulating granulocyte colony-stimulating factor and neutrophils in patients with adult GH deficiency. *Eur. J. Endocrinol.* 152:211-215.
- Vazquez-Añon, M., S. Bertics, M. Luck, R. R. Grummer, and J. Pinheiro. 1994. Peripartum liver triglyceride and plasma metabolites in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 77:1521-1528.

PROTOCOLOS CORTOS DE SINCRONIZACION EN BOVINOS: PODEMOS MEJORAR LAS TASAS DE PREÑEZ A LA IATF Y TETF?

Gabriel A. Bó ^{1,2}, Javier de la Mata ³, Alejo Menchaca ⁴

¹Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC), Zona Rural, General Paz (5145), Córdoba, Argentina.

²Instituto A.P. de Ciencias Básicas y Aplicadas, Medicina Veterinaria, Universidad Nacional de Villa María, Villa del Rosario, Córdoba, Argentina.

³ Actividad Privada y Maestría en Reproducción Bovina, IRAC-Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

⁴ Fundación IRAUy, Instituto de Reproducción Animal Uruguay, Montevideo, Uruguay
gabrielbo62@gmail.com

Introducción

La inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) tuvo grandes avances en los últimos 20 años. La comprensión de la fisiología ovárica en vacas y vaquillonas (Adams et al., 2008) ha permitido la aplicación con éxito en forma masiva de la técnica en numerosos rodeos en todo el mundo. Existen varias ventajas en la implementación de la IATF y dentro de las más destacadas en vaquillonas se podrían mencionar la inducción a la ciclicidad en animales prepúberes (estimulación hormonal), la mejora genética de la progenie y, de capital importancia, la facilidad de partos evitando las distocias. En general, los porcentajes de preñez alcanzados con la IATF se aproximan al 50 % en rodeos para carne (Cutaia et al., 2003), siendo muchas veces variables estos resultados en la categoría vaquillona debido a factores como: manejo, recría, nutrición y hormonas utilizadas en los distintos tratamientos. A la hora de seleccionar los programas para sincronizar vaquillonas se pueden utilizar prostaglandinas (PGF), progesterona y estradiol o análogos de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) combinadas con PGF (Colazo et., al 2009). Durante la última década se desarrollaron nuevas generaciones de protocolos denominados “tratamientos cortos”, que han demostrado mejorar las tasas de preñez. Estos se fundamentan en disminuir el período de inserción de dispositivos con progesterona, reduciendo el período de dominancia del folículo y prolongado el proestro previo a la ovulación (CO-Synch 5 d + CIDR; Bridges et al., 2008). Recientemente hemos desarrollado un nuevo tratamiento corto que utiliza estradiol y progesterona para sincronizar la emergencia de onda folicular y GnRH como

inductor de ovulación, promoviendo un proestro prolongado (denominado J-Synch; de la Mata y Bó, 2012). El objetivo de esta presentación es poner en conocimiento los actuales avances de estos nuevos tratamientos en vaquillonas para carne y receptoras de embriones.

Sincronización de la emergencia de la onda folicular y ovulación con estrógenos y progestágenos:

En países en los que está disponible el uso de estradiol (estradiol-17 β o benzoato de estradiol) y dispositivos intravaginales con progesterona como en los países Latinoamericanos y Australia, entre otros, estas son las principales hormonas utilizadas para manipular y controlar el ciclo estral tanto en programas de IATF (Bó et al., 2013), como en sincronización de receptoras de embriones a tiempo fijo (TETF, Bó et al., 2012) y donantes de embriones en protocolos de superovulación (Baruselli et al., 2011) tanto en *Bos indicus* como en *Bos taurus*.

El benzoato de estradiol (BE) y el estradiol-17 β (E-17 β) con o sin la administración de progesterona intramuscular (IM) y con la aplicación de un dispositivo intravaginal con liberación de progesterona, demostraron ser muy eficientes en varios estudios (Bó et al., 1995, Caccia y Bó, 1998; Martínez et al., 2000; Moreno et al., 2001) para sincronizar la emergencia una nueva de onda folicular, iniciando aproximadamente cuatro días más tarde y con un alto porcentaje de animales sincronizados (> 90 %). Esto permite que todos los animales tengan en el Día 7 u 8, momento de la remoción del dispositivo y la aplicación de una dosis luteolítica de prostaglandina (PGF), un folículo dominante (FD) desarrollado y capaz de ovular después de la administración de 1 mg de BE 24 h más tarde (Bó et al., 2002) o 0,5 mg de cipionato de estradiol (CPE) en el mismo momento de la remoción del dispositivo (Colazo et al., 2003). El tratamiento con CPE en el momento del retiro del dispositivo con progesterona es hoy el más utilizado para reducir el número de veces que los animales pasan por la manga (Bó et al., 2014). El momento óptimo de inseminación en estos tratamientos tiene un rango de 48 y 54 h desde la aplicación de la PGF, que dependerá de la categoría de animal y de la dosis de progesterona que contengan los dispositivos utilizados. Recientemente se realizaron una serie de experimentos en Uruguay sobre 8.712 animales (Menchaca et al., 2013), con el objetivo de determinar el mejor horario de IATF (48 vs 54 h) en vaquillonas *Bos taurus* tratadas con BE, progesterona, eCG y CPE, no encontrándose diferencias entre ambos

momentos de IATF, siendo posible inseminar las vaquillonas tanto a la mañana como de tarde sin afectar las tasas de preñez. Sin embargo, las vaquillonas que presentaron CL al inicio del tratamiento se preñaron alrededor de 7 puntos porcentuales por encima de las que no presentaban un CL y en todos los casos la tasa de preñez fue superior al 50%.

Protocolo CO-Synch 5 d en vacas y vaquillonas:

El protocolo más utilizado para vacas y vaquillonas en EEUU utiliza GnRH y un dispositivo con progesterona por 7 días, con una tasa de preñez cercana al 50%. Bridges et. al. (2008) compararon un protocolo Co-Synch de 7 días con un dispositivo de progesterona con IATF a las 60 h y un protocolo Co-Synch de 5 días con IATF a las 72 h en vacas de razas para carne. En este estudio, las tasas de preñez fueron 10,5 puntos porcentuales superiores en las tratadas con Co-Synch de 5 días. En vaquillonas de razas de carne de 15 meses también demostró ser exitoso el tratamiento Co-Synch 5 d con IATF a las 72 h cuando se comparó con otros dos protocolos (Perry et al., 2012) alcanzando tasas de preñez por encima de 60%, teniendo un gran impacto en los resultados la presencia de ciclicidad en las vaquillonas inseminadas. En estudios recientes (Whitter et al., 2013) se reportó que las vacas cruza Angus sincronizadas con el Co-Synch 5d + CIDR, tuvieron mayor porcentaje de preñez que aquellas que recibieron un protocolo Co-Synch 7d + CIDR (58,1 % vs 55,1 %; $P < 0,05$).

En los últimos cinco años se han discutido algunas modificaciones en el tratamiento Co-Synch 5 d tanto en la necesidad de aplicar la primera dosis de GnRH al inicio, el efecto de una simple o doble dosis de PGF al retiro del dispositivo el Día 5 para asegurar la luteolisis de los CL accesorios, como horarios de inseminación, en vacas y vaquillonas de razas lecheras o carniceras. En un estudio (Rabaglino et al., 2010), no se encontraron diferencias en la regresión del CL en vaquillonas lecheras al aplicar 1 vs 2 dosis de PGF en el Día 5. Además, en otro estudio (Colazo et al., 2011) demostraron que la primera dosis de GnRH no fue esencial para lograr tasas de preñez aceptables en vaquillonas para leche. En vacas para carne también se evaluó la necesidad de administrar 1 o 2 dosis de PGF en el Día 5, demostrando misma eficiencia dos dosis de PGF (25 mg por dosis de dinoprost, Lutalyse, Zoetis) administradas conjuntamente en dos puntos de inoculación IM o dos dosis separadas con un intervalo de 8 h (50 mg de dinoprost) en vacas para carne (Bridges et al., 2012a). En vaquillonas para carne algunos reportes indicaron que se obtuvieron mayores tasas de preñez al

aplicar dos dosis de PGF (Peterson et al., 2011) mientras que en otros estudios se reportaron resultados similares, a pesar de haber recibido o no la primera dosis de GnRH (Kasimanickam et al., 2014) tanto en vaquillonas de carne como de leche. Este último estudio concuerda con lo reportado por Cruppe et al. (2014), que concluyeron que en vaquillonas para carne de 15 meses tratadas con el Co-Synch de 5 d, la omisión de la primer GnRH (en el Día 0) no afectó la tasa de preñez a la IATF y una dosis única de PGF al retiro del dispositivo fue efectivo para inducir la luteolisis a pesar de haber o no recibido la dosis inicial de GnRH. Con respecto a los horarios de inseminación, se han reportado estudios comparando los resultados de preñez a la IATF en vaquillonas para carne sincronizadas con tratamientos Co-Synch 5 d. En un estudio en el que se utilizaron un total de 1098 vaquillonas cruza Angus (Kasimanickam et al., 2012), se comparó la IATF a las 56 h vs la IATF a las 72 h desde el retiro de los dispositivos en el Día 5. Las vaquillonas inseminadas a las 56 h tuvieron en promedio de 10,3 puntos porcentuales más de tasa de preñez a la IATF que las vaquillonas inseminadas a las 72 h.

Efectos de la prolongación del proestro sobre la fertilidad:

Anteriormente se mencionaron los primeros trabajos realizados con el tratamiento Co-Synch 5 d + CIDR con IATF a las 72 h (Bridges et al., 2008). En este estudio se denominó proestro al período comprendido desde la remoción del dispositivo y aplicación de la primera dosis de PGF hasta la inducción de la ovulación con GnRH 72 h más tarde. En trabajos posteriores (Bridges et al., 2010) se observó que animales tratados e inseminados con tratamientos de proestros prolongados tuvieron tasas de preñez mayores que los animales tratados con tratamientos de proestros cortos. Además los niveles de estradiol preovulatorios fueron mayores en proestros largos que en proestros cortos, aunque los diámetros de los folículos preovulatorios no difirieron entre tratamientos (Bridges et al., 2010). Las concentraciones plasmáticas de estradiol durante el proestro afectaron directamente sobre el medio ambiente uterino y su habilidad para mantener la preñez y el desarrollo del concepto los primeros días de gestación. Así se demostró que la mayor duración del proestro y la mayor concentración plasmática de estradiol pre-ovulatorio generaron mayor expresión de genes que codifican para receptores de estradiol y una mayor concentración de receptores de progesterona a nivel uterino durante los primeros 15,5 días de desarrollo embrionario (Bridges et al., 2012b). Además, que las alteraciones de estas concentraciones de estradiol podrían afectar las

funciones uterinas durante los estadios de gestación tardía o en momentos iniciales de la gestación (implantación y placentación) pudiendo perder la habilidad para mantener la preñez (Bridges et al., 2013).

Tratamiento J-Synch para la sincronización del ciclo estral con estradiol y progesterona que permite prolongar el proestro

Dinámica folicular y desarrollo luteal :

A partir de 2011, realizamos una serie de experimentos con el objetivo de desarrollar un nuevo tratamiento usando BE y progesterona para sincronizar el inicio de una nueva onda folicular con un período reducido de inserción de dispositivo con progesterona de 6 días (en lugar de 7 u 8 días), y administrando GnRH como inductor de ovulación a las 72 h (Día 9) desde la remoción del dispositivo junto con la IATF, promoviendo un proestro prolongando. Este tratamiento fue denominado J-Synch y se detalla en la Figura 1. En un experimento realizado (de la Mata y Bó, 2012) se comparó la eficiencia en la sincronización de la ovulación de dos tratamientos alternativos en vaquillonas para carne *Bos taurus*. Se utilizaron 28 vaquillonas cíclicas de entre 16 y 17 meses de edad, con un peso promedio de 306,4 kg, en condiciones pastoriles y con una condición corporal (CC) promedio de 6,1 (escala 1 a 9). Los animales fueron divididos al azar en dos grupos. El grupo 1 (BE 6 d o J-Synch; n=14) recibió en el Día 0, 2 mg de BE y un dispositivo intravaginal con 0,6 g de progesterona (Emefur, Merial Argentina). El grupo 2 (GnRH 5 d o Co-Synch 5 d; n=14) recibió en el Día 1, 10,5 µg de GnRH y un dispositivo intravaginal con 0,6 g de progesterona. Los dispositivos fueron retirados en ambos grupos en el Día 6 y todas las vaquillonas recibieron 150 µg de D-cloprostenol (PGF; Prostaglandina, Merial Argentina). La IATF se realizó a las 72 h desde la PGF (Día 9) y en el mismo momento se aplicó 10,5 µg de GnRH en todos los animales. Durante el transcurso de estos tratamientos, todas las vaquillonas fueron examinadas mediante ultrasonografía transrectal para observar la dinámica folicular y la ovulación. El día promedio ($\pm$ DS) de inicio de la nueva onda folicular ocurrió antes ($P<0,05$) en las vaquillonas tratadas con GnRH ($2,1 \pm 1,0$) que en las tratadas con BE ($3,7 \pm 0,9$). Sin embargo, el diámetro del folículo ovulatorio ($11,7 \pm 0,2$ vs $12,0 \pm 0,5$ mm; Figura 2), la tasa ovulatoria (91,6 vs. 92,8%; Figura 3), el intervalo desde la PGF

hasta la ovulación ($97,1 \pm 17,4$ vs $95,1 \pm 12,5$ h) y el porcentaje de concepción ($50,0$ vs $57,1$ %) no difirieron significativamente ($P > 0,05$) entre los grupos.

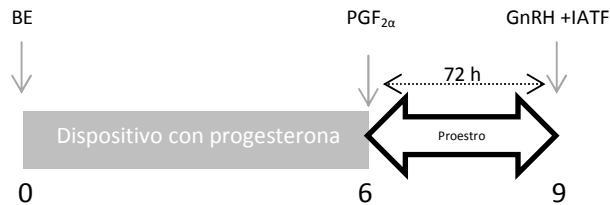


Figura 1. Tratamiento J-Synch. En el Día 0, se administró 2 mg de BE junto con un dispositivo con progesterona. El Día 6 se retiró el dispositivo junto con la administración de PGF. En el Día 9 se aplicó GnRH al momento de realizar la IATF.

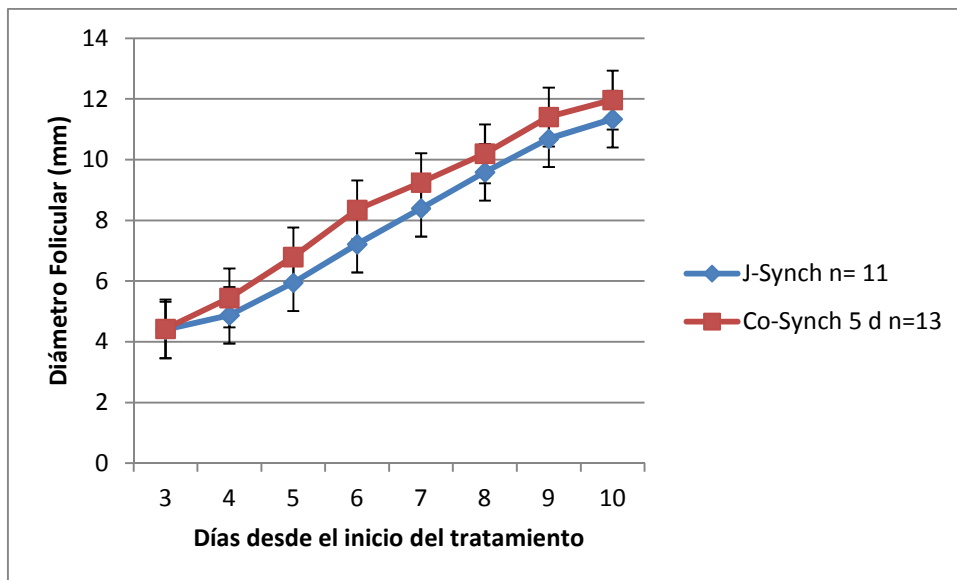


Figura 2 - Desarrollo del foliculo dominante ovulatorio en vaquillonas de 16-17 meses tratadas J-Synch y CO-Synch 5 d. Los patrones no difieren entre los grupos ($P > 0,1$).

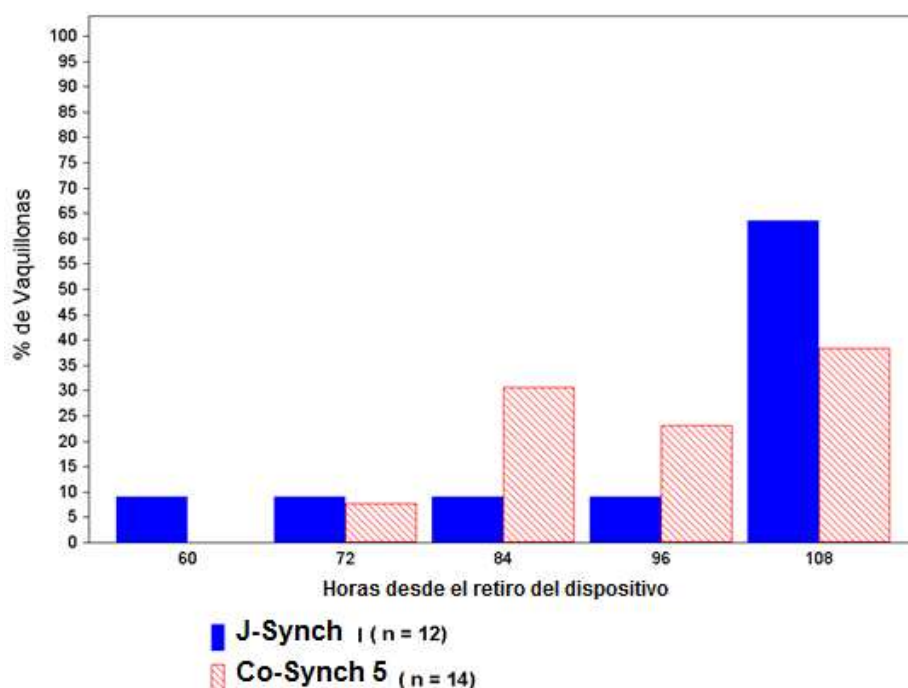


Figura 3 - Distribución de las ovulaciones en vaquillonas de 16-17 meses tratadas con J-Synch y Co-Synch 5 d desde la remoción de los dispositivos intravaginales hasta el momento de ovulación. No hubo diferencias entre los grupos ($P > 0,1$).

Se diseñó otro experimento en Uruguay (de la Mata et al. datos sin publicar), para comparar el protocolo J-Synch vs el protocolo convencional con BE y dispositivo de progesterona por 7 días con 0,5 mg CPE como inductor de la ovulación. Se utilizaron 48 vaquillonas cíclicas Hereford y Angus, de 24 meses de edad, con un peso promedio de 348 Kg (rango 285 – 420 Kg) y con una CC media de 4 (escala 1 al 8). Los animales se dividieron en dos grupos: grupo J-Synch (n=24) y grupo Convencional (n=24). El grupo J-Synch, recibió en el Día 0, 2 mg de BE (Gonadiol, Syntex SA) por vía IM, junto con un dispositivo intravaginal con progesterona (DIB 0,5 g, Syntex SA). En el Día 6 se retiraron los DIB de todas las vaquillonas y se administró 500 µg de cloprostenol sódico (PGF, Ciclase DL, Syntex SA) por vía IM. En el Día 9 (72 h pos remoción del DIB) a las vaquillonas se les administró 100 µg de acetato de gonadorelina (GnRH, Gonasyn Gdr, Syntex SA). A los animales del grupo convencional, en el Día 0, se les aplicó 2 mg de BE junto con un DIB. El Día 7 se removieron los DIB y se administró PGF por vía IM y 0,5 mg de CPE (Cipiosyn, Syntex SA). Las vaquillonas de ambos grupos fueron examinadas mediante ultrasonografía transrectal (Shenzhen Well D/wed 9618v, transductor lineal 7,5 MHz) cada 12 h desde la remoción del DIB hasta la ovulación. Luego de la ovulación los animales fueron monitoreados una vez por día para evaluar el desarrollo del CL hasta 13 días luego de la ovulación. Para estimar el tamaño del tejido luteal se calculó el

volumen de una esfera ($V = 4.\pi.r^3/3$). Los datos fueron analizados con ANOVA para mediciones repetidas en el tiempo mediante el software Infostat. El porcentaje de animales ovulados no varió entre los grupos y fue 87,5 % (21/24) para el grupo J-Synch mientras que del 100 % para el grupo Convencional (24/24) ($P > 0,05$; Tabla 1). Las vaquillonas pertenecientes al grupo J-Synch tuvieron un horario medio de ovulación de $93,7 \pm 12,94$ h que fue mayor ($P < 0,0001$) al del grupo Convencional, con una media de $65,0 \pm 13,67$ h. Esta diferencia fue de 28,7 h entre tratamientos. Solo una vaquillona del grupo J-Synch tuvo una doble ovulación. El diámetro del folículo ovulatorio no varió entre grupos (Tabla 1), sin embargo la tasa de crecimiento folicular tendió a ser superior en las vaquillonas del grupo J-Synch ($P = 0,05$). Todos los animales que habían sido monitoreados durante el crecimiento del FD hasta la ovulación, presentaron CL subsiguiente. Al analizar el desarrollo luteal entre los días 4 y 13 luego de la ovulación, el volumen del CL tendió a ser mayor ($P = 0,074$) en las vaquillonas del grupo J-Synch ($395,6 \pm 123,77 \text{ mm}^3$) en comparación al grupo Convencional ($358,5 \pm 108,6 \text{ mm}^3$). Hubo un efecto tiempo ($P < 0,0001$) pero no hubo interacción tratamiento por tiempo ($P = 0,7$). Al evaluar el área bajo la curva (AUC) entre los Días 6 y 13 de desarrollo luteal entre tratamientos, pudo observarse que esta tendió a ser mayor en las vaquillonas del grupo J-Synch durante los Días 6, 7 y 10 ($P < 0,1$); siendo mayor durante los días de desarrollo 11 y 12 ($P < 0,05$), y no se observaron diferencias significativas en los Días 8, 9 y 13 ($P > 0,05$).

En estos experimentos se observó un proestro de mayor duración y mayor desarrollo de CL en vaquillonas tratadas con J-Synch con respecto a los tratamientos convencionales (7 días). Al comparar ambos tratamientos J-Synch vs Co-Synch 5 d el crecimiento folicular y momento de ovulación no difirió entre protocolos y la tasa de concepción fue similar.

Tabla 1. Respuestas ováricas en vaquillonas para carne sometidas al protocolo J-Synch o al tratamiento convencional.

Variable	Tratamiento	
	J -SYNCH	CONVENCIONAL
N° de Vaquillonas	24	24
Ciclicidad (%)	24/24 (100%)	24/24 (100%)
FD al retiro del DIB 0,5 (mm)	8,3 ± 1,2 ^a	10,0 ± 2,4 ^b
Diámetro de Folículo Ovulatorio (mm)	13 ± 1,04 ^a	12,8 ± 0,95 ^a
Porcentaje de ovuladas	21/24 (87,5%) ^a	24/24 (100%) ^a
Horas media de ovulación	93,7 ± 12,94 ^a	65,0 ± 13,67 ^b
Crecimiento FD (mm/día)	1,3 ± 0,4 ^c	1,0 ± 0,4 ^d
FD al momento del inductor de OV (mm)	12,3 ± 1,3 ^a	10,0 ± 2,4 ^b

Letras diferentes indican diferencias significativas (^{a,b} P < 0,05) (^{c,d} P = 0,059)

Tasas de preñez con los tratamientos J-Synch vs los convencionales:

Como se mencionó anteriormente, los tratamientos con estradiol y dispositivos con progesterona por 7 días (Convencionales) son los más utilizados en la actualidad en Sudamérica con los que se alcanzan tasas de preñez aceptables (Bó et al., 2013). En experimentos de dinámica mostrados anteriormente observamos que el proestro inducido en vaquillonas tratadas con el protocolo J-Synch tuvo una duración promedio entre 95 y 97 h. Entonces, se formuló una hipótesis, que la prolongación del proestro aumenta las tasas de preñez con respecto a tratamientos convencionales que generan un proestro de menor duración. Para esto se hicieron dos experimentos en las estaciones de invierno y primavera con el objetivo de comparar las tasas de preñez logradas entre vaquillonas tratadas con un protocolo J-Synch en comparación protocolos convencionales.

Experimento de Invierno:

En el Experimento de invierno, se realizaron 2 réplicas (n=420) en dos establecimientos de la Provincia de La Pampa. Se utilizaron vaquillonas cíclicas Angus y Angus x Hereford de 18 a 24 meses de edad, con una condición corporal de 4 a 6 (escala 1 al 9), y los animales fueron divididos en dos grupos para recibir uno de dos tratamientos de IATF. El grupo J-Synch, recibió en el Día 0, 2 mg de BE por vía IM), junto con un DIB 0,5 g (Syntex SA). En el Día 6 se retiraron los DIB de todas las vaquillonas y se administró PGF por vía IM. El Día 9 (72 h pos remoción del DIB) las

vaquillonas fueron IATF junto con la administración de GnRH. A los animales del grupo Convencional, en el Día 0, se les aplicó 2 mg de BE junto con un DIB 0,5 g. El Día 7 se removieron los DIB y se administró PGF por vía IM y 0,5 mg de CPE. El Día 9, entre 52 a 54 h pos remoción del DIB, los animales fueron IATF. El diagnóstico de gestación se realizó entre los 61 y 90 días desde la IATF, mediante ultrasonografía (Chison 600 Vet, lineal – 5MHz) y palpación rectal. Todos los datos fueron analizados con regresión logística mediante el software Infostat.

Durante los meses invernales en los que se llevaron a cabo estas réplicas, tanto en el año 2011 como en 2013 se registraron bajas precipitaciones, lo cual afectó fuertemente la calidad forrajera y por ende un estrés nutricional general de las vaquillonas de ambos grupos. Esto se vio reflejado en una baja CC al final del experimento. Las tasas de preñez en las réplicas 1 y 2 se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2. Tasa de preñez de Experimento de invierno por réplica y por grupo de vaquillonas inseminadas a tiempo fijo.

Réplica n°	Convencional	J-Synch	P
1	56,6 % (34/60)	45 % (27/60)	0,2
2	49,3 % (74/150)	40,6 % (61/150)	0,1
TOTAL	51,4 % (108/210)	41,9 % (88/210)	0,051

Al considerar los resultados por tratamiento de ambas réplicas, la tasa de preñez total fue mayor para las vaquillonas del grupo Convencional que las del grupo J-Synch. Creemos que el protocolo implementado para inducir un proestro prolongado (J-Synch) afectó en forma negativa la tasa de preñez en condiciones de invierno y esto puede atribuirse a un menor tiempo de inserción del dispositivo con progesterona en las vaquillonas que recibieron J-Synch, que luego de la IATF tuvieron baja CC, generando folículos de pequeño tamaño. Esto puede haber comprometido la fertilidad y/o la ovulación subsiguiente. En vaquillonas, la probabilidades de obtener una exitosa tasa de preñez a la IATF se logra con un rango de diámetro ovulatorio entre 10,8 y 15,6 mm (Perry et al., 2007), por lo que estas vaquillonas probablemente no hayan alcanzado un diámetro folicular adecuado. Por otro lado, las vaquillonas del grupo Convencional alcanzaron tasas de preñez estándares, lo que nos hace pensar que la administración exógena de CPE puede haber compensado la falta de estradiol endógeno producido por los folículos preovulatorios. Jinks et al., (2012), reportó que la suplementación con CPE durante el periodo preovulatorio incrementó los porcentajes de preñez en vacas

inducidas a ovular folículos pequeños. Esto podría explicar en parte el efecto negativo de un proestro prolongado en vaquillonas con balance energético negativo y disminución de peso corporal.

Experimentos de Primavera:

Se realizaron tres réplicas (n=314), en dos establecimientos de la provincia de La Pampa. Se utilizaron vaquillonas cíclicas Angus y Hereford de 15, 18 y 24 meses de edad, con una condición corporal de 6 a 8 (escala 1 a 9), y los animales fueron divididos para recibir los mismos tratamientos que en el Experimento de Invierno. Los diagnósticos de gestación se llevaron a cabo entre 42 y 53 días desde la IATF por medio de ultrasonografía transrectal (Mindray DP 30, transductor lineal 7,5 Mhz). Todos los datos fueron analizados con regresión logística mediante el software Infostat. Los resultados pueden observarse en la tabla 3.

Tabla 3. Tasa de preñez de Experimento de primavera por réplica y por grupo de vaquillonas inseminadas a tiempo fijo.

Réplica nº	J-Synch	Convencional	P
1	50,7 % (33/65)	35,3 % (23/65)	0,09
2	60 % (30/50)	66 % (33/50)	0,5
3	58,5 % (24/41)	51,1 % (22/43)	0,4
TOTAL	55,7 % (87/156)	49,3 % (78/158)	0,2

En la réplica 1, las vaquillonas del grupo J-Synch tendieron a alcanzar una mayor tasa de preñez que en el grupo Convencional, pero en las réplicas 2 y 3 no hubo diferencias significativas entre tratamientos.

En un cuarto experimento que se realizó en Anguil, La Pampa, se combinó la detección de celo y la IATF con el objetivo de evaluar el efecto de los animales que manifiestan celo antes de ser inseminados tanto en un protocolo J-Synch como en uno Convencional (de la Mata et al., 2015). Para esto se utilizaron 208 vaquillonas cíclicas Angus y Hereford, con una CC de entre 6 y 7 (escala 1 al 9), de entre 15 -18 meses de edad. Los animales fueron divididos en dos grupos para recibir dos tratamientos de sincronización de celos e IATF. Las vaquillonas del grupo Convencional (n=105), recibieron un dispositivo intravaginal de 0,5 g de progesterona (DIB 0,5 g) y 2 mg de BE por vía IM en el Día 0. El Día 7 se removieron los DIB y se administró PGF y 0,5 mg de CPE por vía IM, además se pintó la base de la cola con pintura (Paintstick, LA-

CO industries, INC, EEUU) como método de detección visual de celo (línea de aproximadamente 25 cm). En el grupo Convencional, las vaquillonas fueron observadas para determinar manifestación de celo a las 36 h de removidos los DIB, para ser inseminadas 12 h más tarde (48 h), mientras que las que manifestaron celo después de las 36 h y/o no manifestaron celo, fueron IATF el Día 9 (54 h post retiro de dispositivo). Las vaquillonas del grupo J-Synch (n = 103), recibieron un DIB 0,5 g y 2 mg de BE por vía IM en el Día 0. El Día 6 se removieron los DIB y se administró PGF y se pintó la base de la cola con pintura (Paintstick) como método de detección visual de celo. Las vaquillonas fueron observadas para determinar manifestación de celo a las 48 h de removidos los DIB, para ser inseminados 12 h más tarde (60 h) junto con la aplicación de GnRH, mientras que las que manifestaron celo luego de las 60 h y/o no lo hicieron fueron IATF entre 72 y 74 h post retiro de dispositivo (Día 9) junto con la administración GnRH. Los diagnósticos de gestación se llevaron a cabo mediante ultrasonografía transrectal (Honda 101v, transductor lineal 5 MHz), a los 55 días de gestación. Todos los datos fueron analizados con regresión logística mediante el software Infostat.

La tasa de detección de celos y la tasa de preñez a la IATF no difirieron entre grupos ($P > 0,1$). Sin embargo, la tasa de preñez de las vaquillonas inseminadas a celo detectado tendieron a ser mayores ($P < 0,1$) y la tasa de preñez acumulada fue significativamente mayor ($P < 0,01$) en las vaquillonas tratadas con el protocolo J-Synch que aquellas tratadas con el protocolo Convencional (Tabla 4). Además, dentro del grupo J-Synch, las vaquillonas que presentaron pintura borrada a las 48 h y fueron inseminadas 12 h más tarde (60 h) tuvieron tasas de preñez mayores ($P < 0,05$) que aquellas en el mismo grupo que fueron IATF a las 72 h (Tabla 4).

Tabla 4. Tasa de detección de celo, tasa de concepción, tasa de preñez a la IATF y tasa de preñez acumulada en dos protocolos diferentes en vaquillonas para carne.

Tratamiento	Tasa de celo	Tasa de concepción	Tasa de preñez IATF	Tasa de preñez a la IA (acumulada)
Convencional	30/105 = 28,5 %a	15/30 = 50 %a	34/75 = 45,3 % a	49/105 = 46,6 % c
J-Synch	40/103 = 38,8 %a	32/40 = 80 %b	38/ 63 = 60,3 %a	70 /103 = 67,9 % d

Porcentajes con letras diferentes ab ($P < 0,05$); cd ($P < 0,09$)

Considerando estos dos experimentos realizados en primavera, podemos observar que las tasas de preñez logradas fueron 60,6 % (157/259) para el tratamiento J-Synch y 47,9 % para el tratamiento Convencional, existiendo una diferencia

significativa a favor del primer tratamiento ($P = 0,004$). Estos datos demuestran que en condiciones favorables de CC, nutrición y plano de aumento de peso, como las que se presentaron en la primavera el protocolo J-Synch resulta en mayores tasas de preñez que el convencional. A fin de confirmar estos resultados se realizó un ensayo de campo, con la participación de dos experimentos en Uruguay con 4.947 vaquillas Angus x Hereford mestizas. Los experimentos se realizaron en 5 (Experimento 1) y 6 repeticiones (Experimento 2) durante 2013/14 (Bó et al., 2016). Un objetivo secundario fue determinar los efectos del momento de la IATF y la adición de eCG al momento de retirar el dispositivo con progesterona sobre las tasas de preñez. En el Experimento 1, todas las vaquillas recibieron un dispositivo con progesterona de 0,5 g más 2 mg de EB en el Día 0. Las vaquillas en el grupo de tratamiento convencional recibieron PGF y CPE y se retiraron los dispositivos en el Día 7 PM. Las vaquillas se subdividieron para ser IATF en el día 9 AM o PM (es decir, 48 o 56 h después de retirado el DIB). Las vaquillas en el grupo de tratamiento J-Synch recibieron PGF y el DIB fue retirado el Día 6 PM y recibieron GnRH y fueron IATF en el Día 9 AM o PM (es decir, 60 o 72 horas después de retirado el DIB). Todas las vaquillas en este experimento también fueron tratadas con 300 UI de eCG (Novormón 5000, Syntex S.A.) al retiro del DIB. En el Experimento 2, todas las vaquillas fueron tratadas con el protocolo J-Synch como se describe en el Experimento 1, pero a la remoción del dispositivo (Día 6 PM), las vaquillas fueron divididos para recibir 300 UI de eCG o ningún tratamiento eCG en ese momento, y fueron subdivididas además, para recibir GnRH e IATF en el Día 9 AM o PM (es decir, 60 o 72 horas después de retirado el DIB). Los resultados de estos dos experimentos se presentan en la Tabla 5. En el Experimento 1, la tasa de preñez fue mayor ($P < 0,05$) en vaquillas tratadas con el protocolo J-Synch, mientras que el tiempo de IATF sólo afectó la tasa de preñez para el tratamiento convencional ($P < 0,05$). Sin embargo, la eliminación de eCG del protocolo J-Synch en el Experimento 2 resultó en una reducción de la tasa de preñez cuando las inseminaciones se realizaron el Día 9 PM (es decir, 72 h después de la remoción del DIB). En resumen, la adición de eCG con el protocolo J-Synch proporciona una ventana más amplia de los tiempos de inseminación que facilitan la IATF en grandes grupos de vaquillas de carne, el efecto de un proestro prolongado mejoró las tasas de preñez.

Tabla 5. Tasas de preñez a la IATF en vaquillas de carne tratadas con un protocolo J-Synch o uno Convencional con ECP (Experimento 1) o con la adición o no de 300 UI de eCG en el momento de la remoción del dispositivo con progesterona.

Experimento 1*	J-Synch (+ 300 IU eCG)	Convencional (+300 IU eCG)	P
IATF – Día 9 AM	57,1% (335/587)	53,4% (324/607)	0,20
IATF – Día 9 PM	55,0% (296/538)	48,0% (296/617)	0,02
P	0,49	0,06	
Total (n=2.349)	56,1% (631/1.125)	50,7% (620/1.224)	0,01

Experimento 2*	J-Synch (+ 300 IU eCG)	J-Synch (No eCG)	
IATF Día 9 AM	57,9% (368/636)	56,3% (381/677)	0,56
IATF Día 9 PM	56,3% (371/659)	49,7% (311/626)	0,02
P	0,57	0,02	
Total (n=2.598)	57,1% (739/1295)	53,1% (692/1303)	0,04

Se realizó luego otro trabajo con el objetivo de evaluar las tasas de preñez en vacas y vaquillonas cruza cebú sincronizadas con el protocolo J-Synch y evaluar además el efecto de la presentación de celos al momento de la IATF sobre las tasas de preñez. Este trabajo se realizó en la Estancia El Mangrullo, localizada en Lavalle, Provincia de Santiago del Estero. Se utilizaron 253 animales cruza cebú por Bonsmara y Bonsmara puras, que fueron bloqueadas por categoría (vacas secas cruza Bonsmara, vacas secas Bonsmara puras y vaquillonas cruza Bonsmara). Los animales fueron examinados en el Día 0 por ultrasonografía (Mindray DP30 Vet, 7.5 MHz, China) y recibieron la aplicación de dispositivos intravaginales con progesterona (P4, Synkro xy 0,5 g, Proagro S.A., Argentina) y 2 ml de estradiol benzoato (EB; Benzoato de Estradiol, 2 mg, Synkro xy, Proagro S.A.). Luego de 6 días se procedió a retirar los dispositivos con P4 y se realizó la aplicación de 2 ml de PGF (D+Cloprostenol 75.0 µg/ml, Synkro xy, Proagro S.A.). En ese momento todos los animales fueron pintados (10 a 15 cm de largo por 5 cm de ancho) sobre la zona sacro coxígea (CeloTest, Biotay S.A., Argentina). Los animales despintados diagnosticado mediante la observación de la pérdida de la pintura (pp) correspondiente $\geq 30\%$ (en celo) recibieron 2.5 ml de GnRH (Acetato de Buserelina, 4 µg/ml, Synkro xy, Proagro S.A) y fueron IATF entre las 62 y 67 h (primera IATF) y los animales que no mostraron celo recibieron la misma dosis de GnRH y la IATF entre las 69 y 72 h (segunda IATF).

Las vaquillonas fueron además subdivididas de forma aleatoria, donde la mitad de ellas recibieron 1,5 ml de Gonadotrofina Coriónica Equina (eCG; 200 UI/ml, Novormon 5000, Syntex S.A., Argentina).

La tasa de preñez alcanzada en este experimento fue del 62.4%. Los resultados analizados demuestran que se encontraron diferencias significativas entre los animales que estaban despintados (en celo) a las 60 h en comparación con los que no mostraron celo en ese momento ($P < 0.04$; Tabla 6) y entre las categorías vacas secas, vacas secas puras y vaquillonas ($P < 0.02$, Tabla 7). También se encontró diferencias significativas cuando se analizó la utilización de la eCG en la categoría vaquillonas ($P < 0.05$, Tabla 8). Cuando se comparó la tasa de preñez entre los animales que estaban pintados a las 60 h y que se despintaron antes de la segunda IATF realizada entre las 68 y 72h, las diferencias fueron solo numéricas (no significativas) en comparación con las vacas que nunca se despintaron (sin celo) durante todo el experimento (Tabla 9). Por último no hubo un efecto significativo de estructura ovárica en el Día 0, condición corporal, inseminador y toro sobre las tasas de preñez ($P > 0.07$). No se encontraron interacciones entre las variables estudiadas. A continuación se muestran las tablas de los resultados.

Tabla 6.- Efecto de presentación del celo AM diagnosticada por la pérdida de pintura sobre la tasa de preñez.

CATEGORÍA	N	PREÑADAS	PORCENTAJE
DESPINTADAS	169	113	67 % a
PINTADAS	84	45	53 % b

ab.- Porcentajes con superíndice distintos difieren significativamente ($P < 0.04$)

Tabla 7.- Efecto de la categoría sobre la tasa de preñez. Resultados generales.

CATEGORÍA	N	PREÑADAS	PORCENTAJE
VACAS SECAS BONSMARA PURAS	32	16	50% a
VACAS SECAS CRUZA BONSMARA	139	95	69% b
VAQUILLONAS CRUZA BONSMARA	82	47	57.3% b
TOTAL	253	158	62.4%

ab.- Porcentajes con superíndice distintos difieren significativamente ($P < 0,02$)

Tabla 8.- Efecto de la adición de eCG en vaquillonas sobre la tasa de preñez.

TRATAMIENTO	PREÑADAS / N	PORCENTAJE
CON ECG	26/39	66% a
SIN ECG	21/45	46% b

ab.- Porcentajes con superíndice distintos difieren significativamente ($P < 0,05$)

Tabla 9.- Efecto de la presentación del celo a la segunda IATF realizada entre las 68 y 72 h sobre la tasa de preñez

CATEGORÍA	N	PREÑADAS	PORCENTAJE
PINTADAS Y CON CELO PM	39	24	62% A
PINTADAS Y SIN CELO PM	45	21	47% A

ab.- Porcentajes con superíndice distintos difieren significativamente ($P > 0,05$)

En este experimento se obtuvo una tasa de preñez alta y a su vez con resultados alentadores cuando se tuvo en cuenta la categoría animal, siendo mejor las Vacas Secas; comparados con experimentos realizados años atrás en este mismo campo donde se realizaron tratamiento de sincronización con protocolos convencionales.

Con respecto a la presentación de celos, las vacas que mostraron celo a la primera IATF comparándolas con las que no mostraron celo en ese momento las diferencias fueron estadísticamente significativas, lo que indica que el horario de la inseminación está íntimamente correlacionado con el celo de los animales, pero cuando se tuvo en cuenta a los animales que no mostraron celo a la primera IATF y que si mostraron celo a la segunda IATF las diferencias con las que no mostraron celo durante todo el tratamiento fueron solo numéricas en este trabajo.

Por último, los resultados también confirman lo reportado anteriormente que la adición de eCG aumenta las tasas de preñez en vaquillonas cruza que son IATF.

Tratamiento J-Synch en Receptoras de Embriones:

El objetivo fue evaluar el protocolo J-Synch en receptoras de embriones. en Uruguay con 3.782 vaquillas *Bos taurus* de carne que recibieron TETF con embriones producidos in vitro Holstein con semen sexado (Menchaca et al., 2016). Experimento 1 se realizó para comparar la tasa de preñez obtenido con el protocolo J-Synch con el protocolo convencional para TETF. En el Día 0 todas las vaquillas recibieron un dispositivo intravaginal (0,5 g de progesterona, DIB, Syntex) más 2 mg de benzoato de estradiol (EB, Gonadiol, Syntex) im. En el protocolo J-Synch (n = 464) el DIB se retiró el Día 6 y se administró PGF (500 mg de cloprostenol, Ciclase DL, Syntex) y 400 UI de eCG (Novormon, Syntex). Para este grupo las vaquillas recibieron también una dosis de un análogo de GnRH (100 mg de acetato de gonadorelina, Gonasyn RDA, Syntex) a las 72 h después. En el tratamiento Convencional (n = 481) del DIB se retiró en el Día 7 y la PGF, eCG, y 0,5 mg de CPE fueron administrados en ese momento. Experimento 2 se llevó a cabo para comparar GnRH vs. EB como inductor de la ovulación. El protocolo J-Synch se realizó como se ha descrito previamente con GnRH dada a las 72 h (n = 456) o 1 mg de EB dada en 60 h de la extracción del dispositivo (n = 461). En el Experimento 3 se evaluó el momento de la administración de GnRH. El protocolo J-Synch se realizó como se describe y se le dio GnRH en 60 h (n = 452) o 72 h (n = 466) después de la remoción del dispositivo. Experimento 4 Se llevó a cabo para evaluar si o no la administración de GnRH como inductor de la ovulación. El protocolo J-Synch se

realizó como se ha descrito previamente con (n = 581) o sin (n = 532) una dosis de GnRH a las 72 h de la extracción del dispositivo. Para todos los experimentos, las receptoras recibieron TETF con embriones producidos in vitro en el día 16-17, y la tasa de preñez/receptoras transferidas) se determinó mediante ultrasonografía 40-50 días después de la FTET. La tasa de preñez fue mayor para J-Synch (49,4%, 229/464) que para el tratamiento convencional (41,0%, 197/481, $P < 0,05$); no fue diferente con la administración de GnRH a las 72 h (58,8%, 230/391) o EB en 60 h (54,7%, 227/415); ni con la administración de GnRH en 60 h (47,8%, 216/452) o 72 h (50,4%, 235/466); y fue mayor para las vaquillas que no recibieron ningún inductor de la ovulación (57,5%, 306/532) vs. GnRH a las 72 h (51,5%, 299/581) ($P < 0,05$). En conclusión, el protocolo J-Synch mejora las tasas de preñez en los programas de TETF con embriones producidos in vitro.

Conclusiones:

El tratamiento J-Synch demostró ser eficiente para la sincronización y ovulación en vaquillonas para carne. Además las tasas de preñez alcanzadas fueron aceptables y en muchos de los experimentos se superó el 55 %. El tratamiento J-Synch fue repetido en ensayos de campo en un total de 1066 vaquillonas inseminadas en rodeos comerciales y el promedio de preñez fue 57 %, resultando en datos aceptables y alentadores. Este protocolo también fue utilizado con éxito en vaquillonas de raza lechera con datos similares a los que se describieron en esta presentación (Ré et al. 2013) y recientemente se reportó su utilización en vacas receptoras de embriones reportándose resultados de preñez de más de 60 % (de la Mata et al. 2013).

En condiciones favorables, como en los observados en el Experimento de Primavera, el tratamiento J-Synch resultó en una mayor tasa de preñez cuando se lo comparó con un tratamiento convencional en vaquillonas para carne. Más aún, la mayor tasa de crecimiento folicular, la duración extendida del proestro (94 – 97 h) y el mayor volumen del CL registrados en el experimento de dinámica folicular y desarrollo luteal demuestran datos prometedores, condiciones ovocitarias y/o uterinas más adecuadas para el desarrollo embrionario subsiguiente.

La combinación de detección de estro e IATF son una interesante opción para mejorar los resultados cuando se utiliza un tratamiento J-Synch en vaquillonas. En el

futuro se deberían hacer nuevos trabajos para determinar si existe el mismo efecto en vacas para carne.

Si bien los tratamientos parecen influir sobre la performance reproductiva de las vaquillonas, no debemos olvidar otros factores que impactarán sobre los resultados como el peso mínimo antes del servicio, el desarrollo genital, la nutrición y la CC.

Bibliografía

1. Adams G.P., R. Jaiswal, J.Singh, P. Malhi. 2008. Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle. *Theriogenology* 69: 72-80
2. Baruselli S.P., R.M. Ferreira, J.N.S. Sales, L.U. Gimenes, M.F. Sá Filho, C.M. Martins, C.A. Rodrigues, G.A. Bó. 2011. Timed embryo transfer programs for management of donor and recipient cattle. *Theriogenology* 76: 1583-1593.
3. Bó G.A., G.P. Adams, R.A. Pierson and R.J. Mapletoft. 1995. Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. *Theriogenology* 43: 31-40
4. Bó, G.A., Cutaia, L., Tribulo, R. 2002. Tratamientos hormonales para inseminación artificial a tiempo fijo en bovinos para carne: algunas experiencias realizadas en Argentina. Segunda Parte. *Taurus*; 15:17-32.
5. Bó G.A., L. Coelho Peres, L. Cutaia, D. Pincinato, P.S. Baruselli and R.J. Mapletoft. 2012. Treatments for the synchronisation of bovine recipients for fixed-time embryo transfer and improvement of pregnancy rates. *Reprod., Fert. and Dev.* 24 : 272-277
6. Bó G.A., P.S. Baruselli, R.J. Mapletoft. 2013. Synchronization techniques to increase the utilization of artificial insemination in beef and dairy cattle. *Anim. Reprod.* 10:137-142.
7. Bó G.A., J.J. de la Mata, M. Ré, E. Huguenine and A. Menchaca. 2014. Inseminación Artificial a tiempo fijo utilizando tratamientos que acortan en periodo de inserción del dispositivo con progesterona y alargan el proestro. *Memorias de las 7º Jornadas Taurus*, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. pp. 76-94.
8. Bó G.A., De la Mata J.J., Baruselli P.S., Menchaca A. 2016. Alternative programs for synchronizing and re-synchronizing ovulation in beef cattle. *Theriogenology* 86:388-396.
9. Bridges, G.A., Hesler, L. A., Grum, D.E., Mussard, M.L., Gasser, C.L., Day, M.L. 2008. Decreasing the interval between GnRH and PGF_{2α} from 7 to 5 days and lengthening proestrus increases timed-AI pregnancy rates in beef cows. *Theriogenology* 69: 843-851.
10. Bridges G.A., Mussard, M.L., Hesler, L.A., Day, M.L. 2009. Comparison of follicular dynamics and hormone concentrations between the 7 and 5 d CO-Synch + CIDR program in two-year-old beef cows. *J. Anim. Sci.* 87(E-Suppl.): 464.
11. Bridges, G.A., Mussard, M.L., Burke, C.R., Day, M.L. 2010. Influence of the length of proestrus on fertility and endocrine function in female cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 117: 208-215.
12. Bridges G.A., J.K. Ahola, C. Brauner. L.H. Cruppe, J.C. Currin, M.L. Day, P.J. Gunn, J.R. Jaeger, S.L. Lake, G.C. Lamb, G.H.L. Marquezini, R.K. Peel, A.E. Radunz, J.S. Stevenson and W.D. Whittier. 2012a. Determination of the appropriate delivery of prostaglandin F_{2α} in the five-day CO-Synch + controlled intravaginal drug release protocol in suckled beef cows. *J. Anim. Sci.* 90: 4814-4822

13. Bridges G.A., M.L. Mussard, J.L. Pate, T.L. Ott, T.R. Hansen and M. L. Day. 2012b. Impact of preovulatory estradiol concentrations on conceptus development and uterine gene expression. *Anim. Reprod. Sci.* 133: 16-26
14. Bridges G.A., M.L. Day, T.W. Geary and L.H. Cruppe. 2013. Deficiencies in the uterine environment and failure to support embryonic development. *J. Anim. Sci.* 91: 3002-3013
15. Caccia M., Bó, G.A. 1998. Follicle wave emergence following treatment of CIDR-B implanted beef cows with estradiol benzoate and progesterone. *Theriogenology* 49: 341. (abstract)
16. Colazo M.G., J.P. Kastelic and R.J. Mapletoft. 2003. 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* 60: 855-865.
17. Colazo M.G., J.R. Mapletoft, M.F. Martínez and J.P. Kastelic. 2009. Selección de los tratamientos hormonales disponibles en el mercado para la sincronización de celos en vaquillonas de carne. *CD Resúmenes de VIII Simposio Internacional de Reproducción Bovina*, 10 a 12 de Julio, Pabellón Argentino, Ciudad Universitaria, Córdoba, Argentina.
18. Colazo M.G., Ambrose D.J. 2011. Neither duration of progesterone insert nor initial GnRH treatment affected pregnancy per timed-insemination in dairy heifers subjected to a Co-synch protocol. *Theriogenology* 76: 578-588.
19. Cruppe L.H., M.L. Day, F.M. Abreu, S. Kruse, S.L. Lake, M.V. Biehl, R.S. Cipriano, M.L. Mussard and G.A. Bridges. 2014. The requirement of GnRH at the beginning of the five-day CO-Synch + controlled internal drug release protocol in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 92: 4198-4203.
20. Cutaia L., Veneranda, G., Tríbulo, R., Baruselli, P.S., Bó, G.A. 2003. Programas de inseminación artificial a tiempo fijo: Análisis de factores que afectan los resultados. *Resúmenes de V Simposio Internacional de Reproducción Animal*. Huerta Grande, Córdoba, Argentina. pp. 119 - 132.
21. de la Mata J.J. and G.A. Bó. 2012. Sincronización de celos y ovulación utilizando protocolos de benzoato de estradiol y GnRH en períodos reducidos de inserción de un dispositivo con progesterona en vaquillonas para carne. *Taurus* 55:17-23.
22. de la Mata J.J. C.A. de la Mata and G.A. Bó. 2013. Características foliculares y luteales y tasa de preñez en receptoras de embriones sincronizadas con un protocolo J-Synch 6 d. 10º Simposio Internacional de Reproducción Animal, Pabellón Argentino, Córdoba, Argentina. *Resúmenes* pp.308 (abstract).
23. de la Mata J.J., M. Ré and G.A. Bó. 2015. Combination of estrus detection and fixed-time artificial insemination in beef heifers following a shortened estradiol-based protocol that provides for a lengthened proestrus. *Repro. Fert. and Develop.* 27:96 (abstract).
24. Jinks E.M., M.F. Smith, J.A. Atkins, K.G. Pohler, G.A. Perry, M.D. MacNeil, A.J. Roberts, R.C. Waterman, L.J. Alexander and T.W. Geary. 2012.

- Preovulatory estradiol and the establishment and maintenance of pregnancy in suckled beef cows. *J. Anim. Sci.* 91: 1176-1185.
25. Martinez M.F., Adams, G.P., Kastelic, J.P., Bergfelt, D.R., Mapletoft, R.J. 2000. Induction of follicular wave emergence for estrus synchronization and artificial insemination in heifers. *Theriogenology* 54: 757-769
26. Menchaca A., M. Vilariño, D. Ibarra. 2006. GnRH and eCG associated with a progesterone treatment increased pregnancy rate after FTAI in prepueral heifers. *Proceeding of the 7th International Ruminant Reproduction Symposium*, Wellington, Nueva Zelanda.
27. Menchaca A. , R. Núñez, R. Wijma, C. García Pintos, F. Fabini, T. de Castro. 2013. How fertility can be improved in fixed-time AI programs in beef cattle. *Resúmenes X Simposio Internacional de Reproducción Animal, IRAC, Córdoba*. pp. 103-134
28. Menchaca A., F. Cuadro, R. Núñez and G.A. Bó. 2015. Pregnancy rates in beef heifers synchronized with shortened estradiol-based treatment that provides for a prolonged proestrus. *Repro. Fert. and Develop.* 27:96 (abstract)
29. Menchaca A, Dutra S, Carrau JM, Sapriza F, Bo GA. 2016. Improvements of the new J-Synch protocol used for fixed time embryo transfer (FTET) in beef cattle recipients transferred with in vitro produced embryos. *Proceedings 18 th International Congress on Animal Reproduction (ICAR), Tours, France*. (abstract).
30. Moreno D., L. Cutaia, L. Villata, F. Otisi and G.A. Bó. 2001. Follicle wave emergence in beef cows treated with progesterone releasing devices, estradiol y progesterone. *Theriogenology* 55: 408 (abstract).
31. Kasimanickam R., M. Asay, P. Firth, W.D. Whittier and J.B. Hall. 2012. Artificial insemination at 56 h after intravaginal progesterone device removal improved AI pregnancy rate I beef heifers synchronized with five-day CO-Synch + controlled internal drug release (CIDR) protocol. *Theriogenology* 77: 1624-1631.
32. Kasimanickam R., P. Firth, G.M. Schuenemann, B.K. Whitlock, J.M. Gay, D.A. Moore, J.B. Hall and W.D. Whittier. 2014. Effect of the first GnRH and two doses of PGF_{2α} in a 5-day progesterone-based Co-Synch protocol on heifer pregnancy. *Theriogenology* 81: 797-804.
33. Perry G.A., M.F. Smith, A.J. Roberts, M.D. MacNeil. And T.W. Geary. 2007. Relationship between size of the ovulatory follicle and pregnancy success in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 85: 684-519.
34. Perry G.A., J.K. Grant, J.A. Walker, G.A. Bridges, S.G. Kruse, S. Bird, K. Heaton, R. Arias, S.L. Lake. 2012. Comparison of three CIDR based fixed-time AI protocols for beef heifers. *J. Anim. Sci.* 90 (Suppl. 3) : 237 (abstract)
35. Peterson C., A. Alkar, S. Smith, S. Kerr, J.B. Hall, D. Moore, R. Kasimanickam. 2011. Effects of one versus two doses of prostaglandin F_{2α} on AI pregnancy rates in a 5-day, progesterone-based, CO-Synch protocol in crossbred beef heifers. *Theriogenology* 75: 1536-1542

36. Rabaglino, M.B., Risco, C., Thatcher, M.J., Kim, I.H., Santos, J.E., Thatcher, W.W. 2010. Application of one injection of prostaglandin F(2alpha) in the five-day Co-Synch+CIDR protocol for estrous synchronization and resynchronization of dairy heifers. *J. Dairy Sci.* 93: 1050-1058.
37. Ré M., de la Mata J.J. and Bó G.A. 2014. Synchronization of ovulation in dairy heifers using a shortened estradiol-based protocol that provides for a lengthened proestrus. *Reprod. Fert. and Develop.* 26:118 (abstract).
38. Whittier, W.D., J.F. Currin, H. Schramm, S. Holland, R.K. Kasimanickam. 2013. Fertility in Angus cross beef cows following 5-day CO-Synch + CIDR or 7-day CO-Synch + CIDR estrus synchronization and timed artificial insemination. *Theriogenology* 80: 963 - 969.

SITUAÇÃO ATUAL, DESAFIOS E PERSPECTIVAS DA REPRODUÇÃO PROGRAMADA EM BOVINOS DE CORTE E DE LEITE

Baruselli, P.S.¹; Colli, M.H.A.¹; Rezende, R.G.¹; Mingoti, R.D.¹; Motta, J.C.L.¹; Freitas, B.¹; Teixeira, A. A.¹; Vieira, L.M.¹; Ferreira, R.M.¹

¹VRA, FMVZ/ USP, São Paulo, SP, Brasil;

1. Introdução

A produtividade em fazendas de corte e leite está diretamente vinculada à eficiência reprodutiva do rebanho, que por sua vez, está associada às boas técnicas de manejo nutricional e sanitário, e à utilização programada de biotecnologias da reprodução. De maneira resumida, a eficiência reprodutiva pode ser definida como a habilidade da vaca se tornar gestante rapidamente após o parto, com o menor número de coberturas possível, respeitando o período de involução uterina. Assim, para obtenção do intervalo entre partos (IEP) próximo a 12 meses (ótima eficiência reprodutiva), a vaca deve conceber até 75 (zebuínas) e 85 (taurinas) dias após o parto.

A inseminação artificial (IA) é a biotécnica mais utilizada em todo o mundo para disseminar material genético superior nos rebanhos bovinos. Apesar de no Brasil essa biotecnologia ainda ser pouco empregada (13,7 milhões de doses de sêmen comercializadas, frente a 80,6 milhões de fêmeas em idade reprodutiva), o percentual de matrizes bovinas inseminadas aumentou consideravelmente de cerca de 5% em 2002 para aproximadamente 10% no ano de 2012 (BARUSELLI et al., 2012), chegando a 12% em 2015 (BARUSELLI, 2016). Com a intensificação do uso da IA, o país vem acelerando o avanço do melhoramento genético do rebanho pelo incremento do número de bezerros nascidos de touros geneticamente superiores. Assim, o uso de biotecnologias da reprodução, tais como a IA, possibilita incremento da quantidade (redução do IEP) e da qualidade (aumento no ganho genético) de bezerros nascidos no mesmo rebanho, proporcionando significativo aumento da produtividade e da rentabilidade da atividade agropecuária.

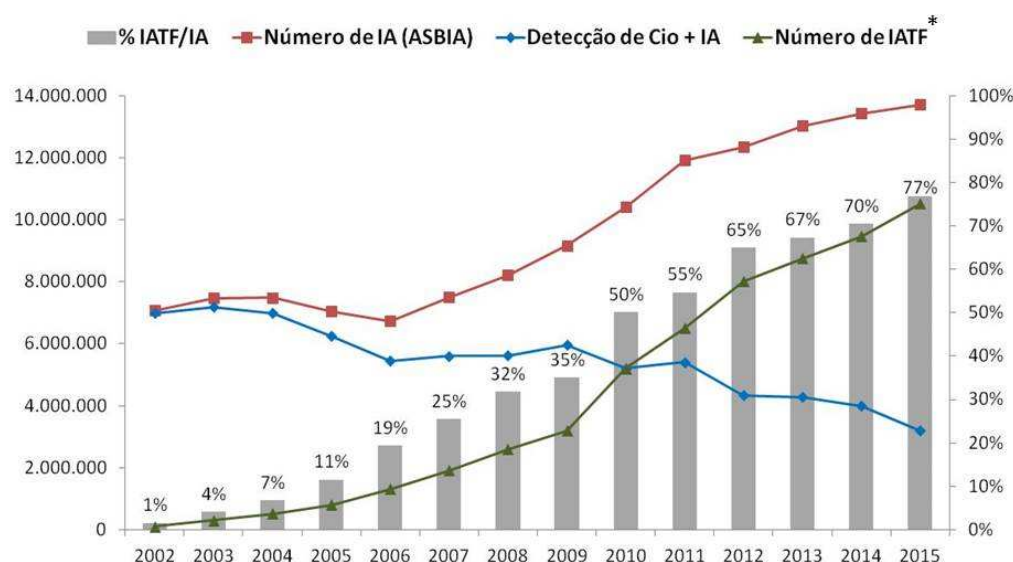
2. Situação atual da reprodução programada em bovinos de corte e de leite

O Brasil, um dos líderes no mercado mundial de exportação de carne bovina, encontra-se em lugar de destaque no desenvolvimento científico e na aplicação

comercial de biotecnologias da reprodução. A correta utilização de biotecnologias nas propriedades rurais traz como benefício o aumento da produtividade. Dentre as biotecnologias mais empregadas, a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) – que elimina a necessidade de observação de cio – merece destaque pela facilidade de manejo e por aumentar a eficiência reprodutiva e o ganho genético dos rebanhos. A IATF alcançou a marca de aproximadamente 10,5 milhões de procedimentos em 2015, que representa crescimento de 11,2% em relação ao ano anterior (Gráfico 1), segundo levantamento realizado com base no número de protocolos comercializados para IATF (informação disponibilizada pelas empresas do setor) e o número de doses de sêmen comercializadas (ASBIA, 2016).

Atualmente, a IATF corresponde a 77% das inseminações realizadas no Brasil, comprovando que a técnica ocupa cada vez mais espaço no mercado de IA (BARUSELLI, 2016). O forte avanço verificado nos últimos anos é indicativo de que a tecnologia se consolidou no mercado, por apresentar resultados positivos para pecuária e pela presença de profissionais qualificados para sua execução.

Mercado da IATF no Brasil



Pietro S Baruselli
Departamento de Reprodução Animal/FMVZ/USP

*Estimativa levando em consideração a venda
de produtos para sincronização



Gráfico 1. Crescimento da utilização da inseminação artificial (IA), por detecção de cio ou em tempo fixo (IATF), em bovinos de 2002 a 2015 no Brasil. Verifica-se significativo aumento da utilização da IATF nesse período (BARUSELLI, 2016).

Em 2002, quando se iniciou a coleta de dados relativos às IATFs realizadas no Brasil pelo Departamento de Reprodução Animal da FMVZ/USP, apenas 6% das matrizes do rebanho nacional eram inseminadas e, conseqüentemente, havia limitado avanço genético. Em 13 anos, este percentual dobrou, passando para 12% das matrizes bovinas brasileiras inseminadas, o que se deve, principalmente, ao emprego dos protocolos para IATF, que facilitaram a disseminação desta biotecnologia.

Do total de vacas inseminadas com utilização dos protocolos de IATF em 2015 (10,5 milhões de protocolos comercializados), calcula-se que foram inseminadas em tempo fixo 8,2 milhões de fêmeas de corte e 2,3 milhões de fêmeas de aptidão leiteira. Esse total representa o uso de IATF em 91% das matrizes de corte e 50% das matrizes de leite inseminadas no Brasil (BARUSELLI, 2016). O restante das fêmeas foi inseminado de forma convencional, por meio da detecção do estro. A utilização mais extensiva da IATF em rebanhos corte se justifica pela dificuldade de manejo diário para detecção de cio e pelo maior percentual de matrizes em anestro (BARUSELLI et al., 2004; SÁ FILHO et al., 2013). Em contrapartida, as matrizes de leite são manejadas diariamente e apresentam nutrição diferenciada (grande parte em confinamento ou semi-confinamento), o que aumenta a velocidade de reestabelecimento da ciclicidade pós-parto e a eficiência de detecção do cio para inseminação convencional. Entretanto, mesmo em rebanhos leiteiros, estudos evidenciaram aumento da eficiência reprodutiva e produtiva com a utilização da IATF como procedimento de manejo em comparação à inseminação convencional após detecção de cio (TEIXEIRA, 2010).

Devido ao evidente potencial da IATF na melhoria da eficiência reprodutiva e produtividade, há um crescente incentivo de órgãos de fomento públicos e empresas privadas para o desenvolvimento de pesquisas para incrementar o uso da IATF, facilitar o manejo, otimizar os resultados e desenvolver novos fármacos, visando a constante melhora e disseminação desta técnica. Além dos benefícios citados para a produtividade, destaca-se o impacto econômico direto da IATF na cadeia de produção.

Com base nos dados de 2015, calcula-se que a IATF movimentou no Brasil cerca de R\$ 567 milhões. As movimentações de empresas de venda de sêmen e fármacos representam aproximadamente 70% desse montante, considerando-se os 10,5 milhões de protocolos comercializados no ano em questão com preço médio de R\$ 17,00 em fármacos para sincronização do ciclo estral e R\$ 20,00 em dose de sêmen por inseminação. A prestação de serviços veterinários corresponde aos demais 30% do faturamento, totalizando R\$ 178,5 milhões, considerando-se o custo médio de mão-de-

obra de R\$ 17,00 por animal sincronizado para IATF. Acredita-se que cerca de 3.500 médicos veterinários estejam diretamente envolvidos com a prestação de serviços relacionados à IATF no Brasil, o que representa uma média de 3.000 protocolos feitos e controlados por profissional capacitado. Para realização de todos os procedimentos relacionados à IATF e para o controle da eficiência dessa técnica nas propriedades são necessários inúmeros profissionais qualificados no mercado. Além disso, esse é um mercado que tende a crescer cada vez mais, devido ao seu impacto positivo na produtividade e ao contínuo interesse pela técnica por parte dos produtores (BARUSELLI, 2016).

Por esse motivo é extremamente importante o comprometimento e a comunicação entre os médicos veterinários das áreas de pesquisa, empresa e campo, para que seja possível avançar cada vez mais o conhecimento sobre o desenvolvimento de protocolos para as mais variadas categorias e condições de manejo. Cada qual com suas obrigações principais, os pesquisadores têm o importante papel de gerar estudos bem embasados e corretamente conduzidos, dentro das normas éticas e científicas, gerando dados e informações confiáveis para a aplicação a campo. Os veterinários de campo, por sua vez, têm o dever de atualizar constantemente seus conhecimentos, respeitar horários e procedimentos pré-estabelecidos pelos estudos e comprometer-se em gerar o melhor resultado possível aos clientes, sempre que possível dando retorno aos agentes de pesquisa. Já as empresas devem comprometer-se com a excelência de seus produtos e dar apoio a pesquisa, ao veterinário e ao produtor. A credibilidade da técnica está diretamente relacionada a seu estudo e aplicação. Se não for realizada com critério e responsabilidade, os resultados esperados não são atingidos e com isso há um sub aproveitamento de seu potencial e consequente frustração pelo produtor. Portanto, é extremamente importante que os profissionais envolvidos tenham conhecimento específico dos detalhes que envolvem e influenciam a IATF e cumpram seu papel.

Na cadeia de produção de carne e leite, estima-se que o impacto da IATF atinja R\$ 2,6 bilhões ao ano. Em especial, nos últimos dez anos houve aumento considerável (100%) do emprego da IA, com impacto direto no progresso do melhoramento genético dos rebanhos pela intensificação da utilização de sêmen de reprodutores com elevado mérito genético. Verificou-se também, aumento da eficiência reprodutiva dos rebanhos, devido à redução do IEP médio, à concentração das gestações no início da estação de monta (EM) e ao maior número de fêmeas gestantes no final da EM (aumento de 8 a 10%; SÁ FILHO, et al., 2013). Esses incrementos foram verificados em estudos que

compararam a IATF com o sistema tradicional de produção de bezerros por monta natural (88% das matrizes ainda são cobertas por touros, tanto em rebanhos de corte como de leite).

Parte do ganho financeiro gerado pelo emprego da IATF explica-se pelo aumento da quantidade de bezerros produzidos e pela qualidade genética destes produtos. Considerando-se que a IATF é empregada em 8,2 milhões de matrizes de corte, gerando aumento de 8% na produção de bezerros, há produção de 656 mil bezerros extra ao ano, o que representa uma renda adicional de R\$ 820 milhões (considerando o preço do bezerro R\$ 1.250,00, segundo média dos últimos meses). Além disso, é sabido que pela antecipação do parto e pelo ganho genético, há um ganho médio de 20 kg no desmame por bezerro nascido de IATF. Assim, se for considerada uma taxa de desmama de 40% (40 bezerros desmamados para cada 100 vacas submetidas à IATF), seriam produzidos 3,3 milhões de bezerros desmamados com 20 kg a mais que os bezerros convencionais, ou seja, um ganho extra de quase R\$ 400 milhões (considerando preço do kg vivo do bezerro a R\$ 6,00). Além disso, em bezerros provenientes de IATF verifica-se ganho adicional de uma arroba do desmame ao abate, totalizando mais R\$ 482,2 milhões (~ 3,2 milhões de animais abatidos x R\$ 150,00 por arroba) de renda extra. Dessa forma, à IATF gera para a cadeia produtiva de bovinos de corte um impacto de R\$ 1,7 bilhão produzidos a mais por ano (BARUSELLI, 2016).

Na bovinocultura de leite, o impacto também é positivo e atinge a ordem de R\$ 900 milhões produzidos a mais por ano, devido basicamente a redução do IEP e ao uso de touros geneticamente superiores. Com o emprego da IATF, considera-se que ocorra a redução de um mês no IEP, o que reflete em aumento de 10% na produção de leite no ano, ou seja, 690 milhões de litros de leite produzidos a mais (considerando-se 2,3 milhões de vacas submetidas a IATF e lactação 3.000 litros de leite), com renda extra de R\$ 759 milhões (valor do litro de leite fixado em R\$ 1,10; CEPEA março de 2016a). Já o aumento da produção de leite pelo uso de touros melhoradores é estimado em 300 litros de leite extra por lactação da vaca filha de touro melhorador, gerando ganho extra de R\$ 113,9 milhões. Para esse cálculo, considera-se taxa de 30% desmama de bezerros de IATF, sendo 50% destas fêmeas, ou seja, as novilhas de reposição. Assim, de 2,3 milhões de IATF realizadas, são obtidas cerca de 345.000 novilhas geneticamente superiores com produção extra de 300 litros leite na lactação ($345.000 \times 300 \text{ litros} \times \text{R\$ } 1,10 = \text{R\$ } 113,9 \text{ milhões}$; BARUSELLI, 2016).

Apesar da IATF estar se consagrando como uma excelente ferramenta para melhorar a eficiência reprodutiva dos rebanhos, ela ainda é pouco utilizada no Brasil e a baixa eficiência reprodutiva do rebanho nacional ainda é fator limitante para o crescimento sustentável da pecuária de corte e de leite. Prova disso é que o Brasil possui cerca de 80,6 milhões de fêmeas em idade reprodutiva e produz apenas 55,2 milhões de bezerros por ano (~ 68,5% de taxa de desmame; ANUALPEC, 2015). Além disso, nosso país não é autossuficiente na produção de leite e importa o produto para abastecer o mercado interno. A baixa produtividade de leite por vaca por ano (< 2.000 litros de leite por lactação) é resultante de baixa seleção genética, uma vez que apenas 12% das matrizes leiteiras são inseminadas. O índice de IA de 12% (tanto em matrizes de leite quanto de corte) reflete que o nível tecnológico do rebanho bovino brasileiro ainda é muito baixo.

Sendo assim, o avanço do sistema produtivo de carne e leite bovino nacional depende, dentre outros fatores, do desenvolvimento de programas de IA de fácil aplicação (baixa dificuldade operacional para sua execução) e de elevada eficiência. Neste contexto, diversos protocolos de sincronização da emergência de onda folicular e ovulação para IATF bem definidos já estão sendo utilizados em escala crescente pelo produtor brasileiro para maximizar os ganhos. Porém, é importante reforçar que outros fatores, tais como disponibilidade e a qualificação profissional, a nutrição e a sanidade dos rebanhos estão diretamente relacionados com o sucesso do uso dessas biotecnologias. Além disso, a disseminação desta tecnologia com credibilidade e correta aplicação para as demais 88% de matrizes em idade reprodutiva ainda não inseminadas no Brasil é um dos grandes desafios para os próximos anos.

2.1 Situação atual dos protocolos de sincronização da ovulação para IATF

As variações dos protocolos de sincronização de emergência de onda de crescimento folicular e da ovulação possibilitam que tratamentos específicos sejam direcionados para diferentes categorias de animais, de acordo com suas particularidades, bem como o uso racional da mão-de-obra, promovendo um manejo eficiente tanto do ponto de vista reprodutivo quanto de logística na fazenda. Neste tópico, serão abordadas a evolução e as principais perspectivas dos programas de IATF utilizados em bovinos de corte e de leite no Brasil.

2.1.1 Tipos de Protocolo

Há basicamente dois tipos de protocolos de IATF comumente utilizados: protocolos a base de GnRH, que podem ou não ser associados a um dispositivo liberador de progesterona (P4), e protocolos a base de estrógeno (E2) e P4. A adoção de determinado protocolo pelos profissionais da área está relacionada com a disponibilidade dos hormônios em cada país, ao custo destes hormônios e a abordagem determinada. Protocolos nos quais se utiliza E2 são amplamente utilizados na América do Sul (SÁ FILHO et al., 2009) e em rebanhos de corte da Austrália, enquanto protocolos baseados no uso de GnRH são mais utilizados na América do Norte, Europa e Nova Zelândia.

Protocolos a base de GnRH

Os protocolos a base de GnRH foram desenvolvidos para vacas de leite em lactação, mas são também amplamente utilizados em gado de corte na América do Norte (DAY, 2015). O primeiro relato da técnica que permitiu a IA em diversos animais sem a necessidade da observação do estro (IATF) foi publicado por Pursley et al., (1995). Estes autores desenvolveram o protocolo Ovsynch, que consiste na aplicação de GnRH no primeiro dia de tratamento (D0; dia aleatório do ciclo estral) para induzir o pico de LH e a ovulação do folículo dominante (quando presente) com consequente emergência de uma nova onda de crescimento folicular 1,5 a 2,0 dias após o tratamento. Sete dias após (D7), administra-se um análogo da prostaglandina F2 α (PGF) para induzir a regressão luteínica e um segundo tratamento com GnRH é realizado 48 horas após (D9), para que ocorra um novo pico de LH e a ovulação sincronizada do novo folículo dominante. A IATF é realizada 16 horas após o tratamento com GnRH (PURSLEY; SILCOX; WILTBANK, 1998). Em gado de corte, o segundo GnRH é administrado no momento da IA, aproximadamente 60 horas após a aplicação da PGF, o que confere ao protocolo o nome de Co-Synch (GEARY et al., 2001). Uma série de variações destes protocolos, bem como tratamentos de pré-sincronização, foram posteriormente desenvolvidos visando alcançar melhores taxas de sincronização e, conseqüentemente, concepção (MOREIRA, et al., 2001; NAVANUKRAW et al., 2004; SOUZA et al., 2008; Ayres et al., 2013).

Protocolos a base de P4 e E2

Os protocolos nos quais se utiliza P4 e E2 consistem na inserção de um dispositivo liberador de P4 associado ao tratamento intramuscular com E2 (atualmente elege-se o benzoato de estradiol, BE, por sua eficiência e custo) no D0. Esse tratamento, em fase aleatória do ciclo estral, promove a atresia dos folículos em crescimento e induz a emergência de uma nova onda de crescimento folicular entre $2,5 \pm 0,2$ (SÁ FILHO et al., 2011a) e $4,3 \pm 0,2$ dias (BÓ et al., 1995) após o tratamento. O mecanismo pelo qual o E2 associado a P4 suprime o crescimento folicular parece envolver o bloqueio na liberação de FSH (BÓ et al., 1991; 1993; 2002; O'ROURKE et al., 2000) e de LH (BURKE et al., 1996), interrompendo, desta forma, o estímulo para o crescimento folicular inicial (pré divergência folicular) e final (pós divergência folicular), respectivamente. No momento da retirada do dispositivo de P4 (no D7, 8 ou 9), a administração de um análogo de PGF é necessária para garantir a luteólise e a redução dos níveis sanguíneos de P4. Nesse momento, podem ser administrados também um indutor de crescimento folicular (gonadotrofina coriônica equina, eCG) e um indutor de ovulação (para sincronização da ovulação sem necessidade de outro manejo para tal).

O tratamento de vacas com a eCG tem se mostrado uma prática efetiva para aumentar o desenvolvimento folicular e a prenhez/IA em vacas de corte lactantes (SÁ FILHO et al., 2010a; SALES et al., 2011; PITALUGA, et al., 2013), em novilhas de corte (SÁ FILHO et al., 2010b) e em vacas leiteiras de alta produção com baixo escore de condição corporal (ECC; SOUZA et al., 2009). Já com relação ao indutor de ovulação, atualmente, preconiza-se o uso de 0,5 a 1,0 mg de cipionato de estradiol (CE) (BÓ; BARUSELLI; MAPLETOFT, 2013; TORRES-JÚNIOR et al., 2014), possibilitando a realização da IATF 48 a 56 horas após a remoção do dispositivo. Outros indutores de ovulação como o BE e o GnRH também podem ser utilizados, no entanto isso normalmente implica em manejos extra ou horários menos apropriados para a realização da IA. Além disso, a elevação precoce dos níveis de E2 (aumento da duração do proestro) promovida pelo uso do CE no dia da remoção do dispositivo de P4 podem favorecer a fertilidade à IATF, conforme descrito a seguir.

Os níveis séricos de E2 (endógeno ou exógeno) durante e o período do proestro exercem papel fundamental no transporte e viabilidade espermática e na modulação do útero para a fase luteal no diestro subsequente (HAWK, 1983; POHLER et al., 2012). Este *primer* de E2 pode ser importante para indução da síntese de receptores de P4 e

redução da síntese de receptores de oxitocina (DAVOODI et al., 2016), evitando a luteólise prematura e a ocorrência de um ciclo luteal de fase curta (MANN; LAMMING, 2000; ROBINSON et al., 2001). Estudos prévios demonstraram que a suplementação com CE durante o proestro aumentou a proporção de vacas que demonstraram estro após a indução da luteólise (HILLEGASS et al., 2008; SÁ FILHO et al., 2011b) e aumentou a espessura endometrial (SOUZA et al., 2007) em relação a vacas que receberam apenas GnRH como estímulo ovulatório. Assim, o CE estabelece-se como indutor de ovulação de eleição, especialmente em programas de IATF de gado de corte, dado seu reduzido valor, à facilidade de seu uso (redução de manejos) e ao seu benefício a fertilidade (prolongamento do proestro).

2.1.2 Duração dos protocolos de IATF

Protocolos com 8 ou 9 dias de permanência do dispositivo de P4

Ao final dos protocolos de sincronização da ovulação, no dia da IATF, vacas que possuem folículos de maior diâmetro têm maior probabilidade de ovulação e concepção (SÁ FILHO et al., 2010a). Desta forma, assume-se que protocolos com maior duração, por exemplo, protocolos de 9 dias de P4, possuem um dia a mais de crescimento folicular em relação aos protocolos de 8 dias de exposição à P4 e, portanto, maiores folículos no dia da IATF. Por outro lado, um longo período de dominância pode acarretar no desenvolvimento de um oócito envelhecido, resultando em fertilidade reduzida (CERRI et al., 2009; LONERGAN, 2011).

Desta forma uma série de estudos foram realizados por nosso grupo para avaliar o efeito da duração do tratamento com P4 na fertilidade de vacas de corte e leite. Em gado de corte, Barbuio et al., (2016) realizaram 3 experimentos utilizando 824 vacas Nelore lactantes, com aproximadamente 30 a 45 dias pós-parto. Nos experimentos 1, 2 e 3, as vacas foram tratadas com um dispositivo intravaginal novo contendo 1,2 g de P4 (n = 313), um implante auricular novo contendo 3 mg de norgestomet (n = 297) ou um implante auricular previamente usado por 8 dias (n = 214), respectivamente. Em cada um dos três estudos as vacas do mesmo lote foram homogeneamente distribuídas em dois grupos experimentais cuja diferença era apenas o tempo de permanência do dispositivo ou implante (8 ou 9 dias). Não houve diferença na taxa de concepção em relação a permanência do dispositivo ou implante em nenhum dos estudos [Experimento

1: 55,8% (87/156) vs. 56,1% (88/157); $P = 0,96$; Experimento 2: 59,6% (87/146) vs. 62,9% (95/151); $P = 0,59$; e Experimento 3: 46,7% (50/107) vs. 43,0% (46/107); $P > 0,05$; para 8 ou 9 dias de permanência, respectivamente]. Em outro estudo utilizando vacas holandesas em lactação, com produção média de $32,8 \pm 0,57$ kg de leite por dia e DEL médio de $139,8 \pm 6,6$, tratadas para IATF com dispositivo de P4 por 8 ou 9 dias também não foram encontradas diferenças significativas na taxa de prenhez 30 dias [28,3% (41/145) vs. 23,8% (34/143); $P = 0,28$] e 60 dias após a IATF [24,8% (36/145) vs. 21,7% (31/143); $P = 0,47$] e na mortalidade embrionária entre 30 e 60 dias de gestação [12,2% (5/41) vs. 8,8% (3/34); $P = 0,41$]; protocolo de 8 ou 9 dias, respectivamente (MINGOTI, et al., 2016a).

Protocolos com 7 ou 9 dias de permanência do dispositivo de P4

Com objetivo de avaliar a redução do período de permanência do dispositivo de P4 em protocolos de IATF em vacas Nelore lactantes, Santos (2016) avaliou a eficiência de protocolos com 7 dias de permanência do dispositivo de P4 e inseminação realizada 55 horas após a retirada do dispositivo e protocolos com 9 dias de permanência de P4 e com IATF 48 horas após a retirada. Não foram encontradas diferenças na taxa de expressão de estro [72,2% (260/360) vs. 74,2% (233/319); $P=0,60$], na taxa de ovulação [80,5% (87/108) vs. 88,6% (78/88); $P=0,13$] e na taxa de prenhez [56,2% (195/347) vs. 54,2% (167/308); $P = 0,49$] nos tratamentos com 7 ou 9 dias de permanência do dispositivo de P4, respectivamente.

Protocolos com 6 ou 8 dias de permanência do dispositivo de P4

Uma nova abordagem para sincronização da ovulação, denominada J-Synch, foi recentemente reportada (BÓ et al., 2016). O protocolo consiste da administração de 2,0 mg de BE no D0 associado a um dispositivo de P4 que permanece por 6 dias. No momento da retirada do dispositivo (D6), administra-se PGF e após 72 horas (D9) é realizada a administração de GnRH concomitantemente à IATF. Este protocolo tem como hipótese que a redução do período de exposição à P4 pode evitar os efeitos adversos no crescimento do folículo dominante no final do protocolo de sincronização, prolongando o proestro e elevando altos níveis de E2 circulante nesse período (BÓ et al., 2016).

Com objetivo de avaliar a eficiência do protocolo J-Synch (6 dias de permanência do dispositivo), associado a 200 UI de eCG no momento da retirada, em

comparação ao protocolo convencional (8 dias de permanência do dispositivo) em novilhas Nelore e meio-sangue (Nelore x Aberdeen Angus), um novo estudo foi conduzido (MOTTA et al., 2016). Não foi observada diferença na taxa de prenhez entre os grupos J-Synch e convencional ($P > 0,05$), respectivamente [Nelore = 47,1 (48/102) vs. 48,6% (53/109); Meio-Sangue = 55,0 (159/289) vs. 55,4 (158/285); $P > 0,05$].

Um resumo dos trabalhos relacionados ao tempo de permanência do dispositivo de P4 em protocolos de IATF aqui mencionados encontra-se na Tabela 1.

2.1.3 Número de manejos nos protocolos de IATF

Protocolos com 3 ou 4 manejos

A inclusão de um manejo adicional nos protocolos de IATF é decorrente da proposta de que a administração da PGF dois dias antes da retirada do dispositivo de P4 induz luteólise antecipadamente e reduz os níveis circulantes de P4 em animais cíclicos. O objetivo desse tratamento é aumentar a pulsatilidade de LH e o crescimento final do folículo dominante (MANTOVANI et al., 2010). Nesse contexto, Meneghetti et al., (2009) demonstraram aumento na taxa de concepção de vacas Nelore lactantes que apresentavam CL no D0 do protocolo de IATF quando a aplicação da PGF foi realizada dois dias antes da retirada do dispositivo de P4 [D7; 50,3% (86/171)] em relação a administração convencional de PGF no momento da retirada do dispositivo [D9; 36,1% (56/155); $P < 0,05$]. Entretanto, a taxa de concepção de vacas que não possuíam CL no início do tratamento não diferiu após o tratamento com PGF no D7 ou no D9 [47,3% (285/603) vs. 48,4% (195/403); $P > 0,05$].

Uma alternativa para reduzir a concentração sérica de P4 durante o protocolo de IATF sem, no entanto, aumentar a quantidade de manejos necessários, é a utilização de um tratamento adicional de PGF no D0 (CARVALHO et al., 2008). Com a indução da luteólise no início do protocolo e consequente redução dos níveis sanguíneos de P4, há aumento da pulsatilidade de LH, estimulando o crescimento do folículo dominante. De fato, em experimento conduzido por Carvalhaes et al., (2016) em vacas Nelore lactantes, semelhante taxa de concepção à IATF foi observada quando realizou-se administração de PGF no D0 e D9 do protocolo [3 manejos; 57,1% (84/147)], em relação a aplicação única de PGF no D7 [4 manejos; 65% (92/142); $P=0,18$]. Resultados semelhantes foram verificados em novilhas Girolando com CL ao início do protocolo de

IATF, não havendo diferença na taxa de concepção quando tratadas com PGF no D0 e D9 do protocolo [3 manejos; 40,3% (92/228)] ou apenas no D7 [4 manejos; 42,1% (94/223); $P > 0,05$; MENDANHA et al., 2012].

Em estudos mais recentes Mingoti et al., (2016b) tiveram como objetivo comparar a eficiência de protocolos com diferentes períodos de permanência do dispositivo de P4 e momentos da administração da PGF. Em um deles, 1.941 vacas Nelore lactantes foram submetidas ao protocolo de IATF de 3 manejos (8 dias de permanência do dispositivo de P4 e PGF na retirada do dispositivo) ou 4 manejos (9 dias de permanência do dispositivo de P4 e PGF dois dias antes da retirada do dispositivo). Não houve diferença na taxa de prenhez a IATF, sendo 53,4% (518/971) vs. 53,9% (523/970; $P=0,71$) para fêmeas submetidas ao protocolo de 3 ou 4 manejos, respectivamente.

Em novilhas meio-sangue (Nelore vs. Aberdeen Angus) também não foram observadas diferenças do número de manejos (3 manejos com PGF no D0 e D8 vs. 4 manejos com PGF somente no D7) sobre a taxa de prenhez [57,3% (110/192) vs. 57,1% (100/175), respectivamente; $P=0,93$; Colli et al., 2016]. Da mesma forma, não houve efeito da presença de CL no início do tratamento ($P=0,63$) em nenhum dos protocolos utilizados [3 manejos*ComCL = 56,4% (44/78) vs. 4 manejos*ComCL = 61,0% (47/77); 3 manejos*SemCL = 57,9% (66/114) vs. 4 manejos*SemCL = 54,1% (53/98); Interação presença de CL* número de manejos, $P=0,45$].

Os dados apresentados acima referentes a protocolos de 3 e 4 manejos com uma ou duas administrações de PGF estão resumidos na tabela 2.

Tabela 1 - Eficiência de protocolos para IATF com diferentes períodos de permanência da fonte de liberação de progesterona ou progestágeno em diferentes categorias.

Referência	Fonte de P4/ progestágeno	N	Categoria	Permanência do dispositivo	Taxa de prenhez	Valor de P
Barbuio et al., (2016)	FertilCare 1200 [®] Novo	313	Vaca Nelore Lactante	8 vs. 9	55,8% (87/156) vs. 56,1% (88/157)	0,96
Barbuio et al., (2016)	Crestar [®] Novo	297	Vaca Nelore Lactante	8 vs. 9	59,6% (87/146) vs. 62,9% (95/151)	0,59
Barbuio et al., (2016)	Crestar [®] Usado 1x	214	Vaca Nelore Lactante	8 vs. 9	46,7% (50/107) vs. 43,0% (46/107)	>0,05
Mingoti et al., (2016a)	Sincrogest [®] Novo	288	Vaca Holandesa Lactante	8 vs. 9	28,3% (41/145) vs. 23,8% (34/143)	0,28
Santos (2016)	CIDR [®] Novo	655	Vaca Nelore Lactante	7 vs. 9	56,2% (195/347) vs. 54,2% (167/308)	0,49
Motta et al., (2016)	FertilCare 1200 [®] Usado 2x	211	Novilha Nelore	6 vs. 8	47,1 (48/102) vs. 48,6% (53/109)	>0,05
Motta et al., (2016)	FertilCare 1200 [®] Usado 2x	574	Novilha Nelore vs. Angus	6 vs. 8	55,0% (159/289) vs. 55,4% (158/285)	>0,05

Tabela 2 - Eficiência de protocolos para IATF com 3 manejos (2 aplicações de PGF: D0 e retirada do dispositivo de P4) ou 4 manejos (1 aplicação de PGF dois dias antes da retirada do dispositivo de P4) em diferentes categorias.

Referência	Fonte e permanência da fonte de P4	N	Categoria	Número de Manejos	Taxa de prenhez	Valor de P
Mendanha et al., (2012)	CIDR [®] (9d)	451	Novilha Girolando	3 vs. 4	40,3% (92/228) vs. 42,1% (94/223)	>0,05
Colli et al., (2016)	CIDR [®] Usado 2x (8 ou 9d)	367	Novilha meio-sangue	3 vs. 4	57,3% (110/192) vs. 57,1% (100/175)	0,93
Mingoti et al., (2016b)	Sincrogest [®] e CIDR [®] (8* ou 9d)	1.941	Vaca Nelore Lactante	3 vs. 4	53,4% (518/971) vs. 53,9% (523/970)	0,71
Carvalhoes et al., (2016)	CIDR [®] (9d)	289	Vaca Nelore Lactante	3 vs. 4	57,1% (84/147) vs. 64,8% (92/142)	0,18

* 3 manejos com administração de PGF apenas na retirada do dispositivo de P4.

3. Desafios da reprodução programada em bovinos de corte e de leite

3.1. Redução da idade à primeira concepção

O rebanho brasileiro de novilhas com idade entre 12 e 23 meses é de 24.176.574 milhões de cabeças (ANUALPEC, 2015), este número representa 12,2% do rebanho efetivo nacional. A busca pela redução da idade ao primeiro parto, ou seja, a seleção de fêmeas com capacidade de iniciar sua vida produtiva precocemente, faz parte dos requisitos para que o rebanho de corte se torne cada dia mais produtivo, incrementando o retorno financeiro das propriedades brasileiras. Novilhas oriundas de fazendas onde é feita a seleção por produção possuem genética superior, porém, na maioria das propriedades essa categoria não é acasalada precocemente. Nessas fazendas, normalmente verifica-se alta porcentagem de novilhas pré-púberes no início da estação de acasalamento, levando a reduzida eficiência reprodutiva dessa categoria (CLARO JÚNIOR et al., 2010).

O principal objetivo do manejo reprodutivo de novilhas em fazendas comerciais de cria e recria é a obtenção de fêmeas gestantes para realização da reposição do rebanho. Com a redução da idade ao primeiro parto de 36 para 24 meses, o que se consegue adiantando o início da estação reprodutiva de 24 para 14 meses, é possível que a fêmea produza um bezerro a mais ao longo da sua vida produtiva (Figura 1).

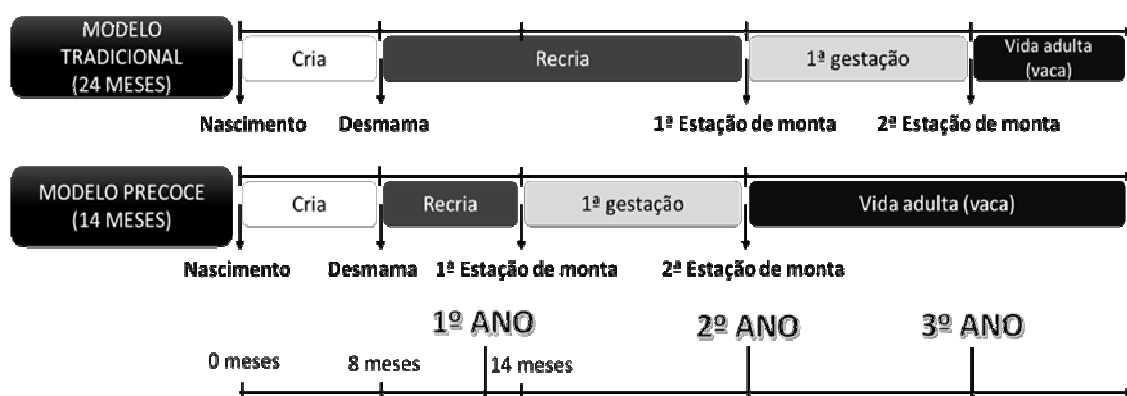


Figura 1. Comparação entre os dois diferentes manejos de recria de fêmeas bovinas. Modelo tradicional (24 meses): novilhas entram em estação de monta com média de 24 meses de idade. Modelo precoce (14 meses): novilhas entram em estação de monta com média de 14 meses de idade.

Em um recente estudo conduzido por Freitas et al. (2014) com novilhas Nelore de 14 meses de idade, observou-se efeito de diversos indicadores de desenvolvimento

corporal sobre o resultado da IATF. Novilhas que possuíam maior ECC, peso, idade, gordura subcutânea e porcentagem de costela (relação entre o tamanho da costela e altura do animal) obtiveram melhores taxas de prenhez a IATF (Tabela 3).

Tabela 3. Taxa de prenhez à IATF de novilhas da raça Nelore com média de 14 meses de idade, de acordo com alguns indicadores de desenvolvimento corporal. Adaptado de Freitas et al., 2014.

Variável	Número de Novilhas	Taxa de Prenhez	Valor de P
Idade			
>13 meses	391	40,9%	0,01
≤13 meses	259	27,8%	
Peso			
> 248 kg	394	39,8%	0,001
≤248 kg	255	29,4%	
ECC			
>3,00	249	45,4%	<0,001
≤3,00	400	29,5%	
Gordura Subcutânea			
>2,47 mm	378	44,4%	<0,001
≤2,47 mm	265	23,4%	
Porcentagem de Costela			
>44,0%	358	41,9%	<0,001
≤44,0%	285	27,0%	

Os resultados acima expostos evidenciam a necessidade de que haja bom desenvolvimento corporal das novilhas submetidas à estação reprodutiva, o que só pode ser atingido com adequada nutrição (modelo de estratégia nutricional apresentado na figura 2), aliada à genética para precocidade sexual. Desde que atingidos estes requisitos, a antecipação da concepção das novilhas pode ser realizada com sucesso.

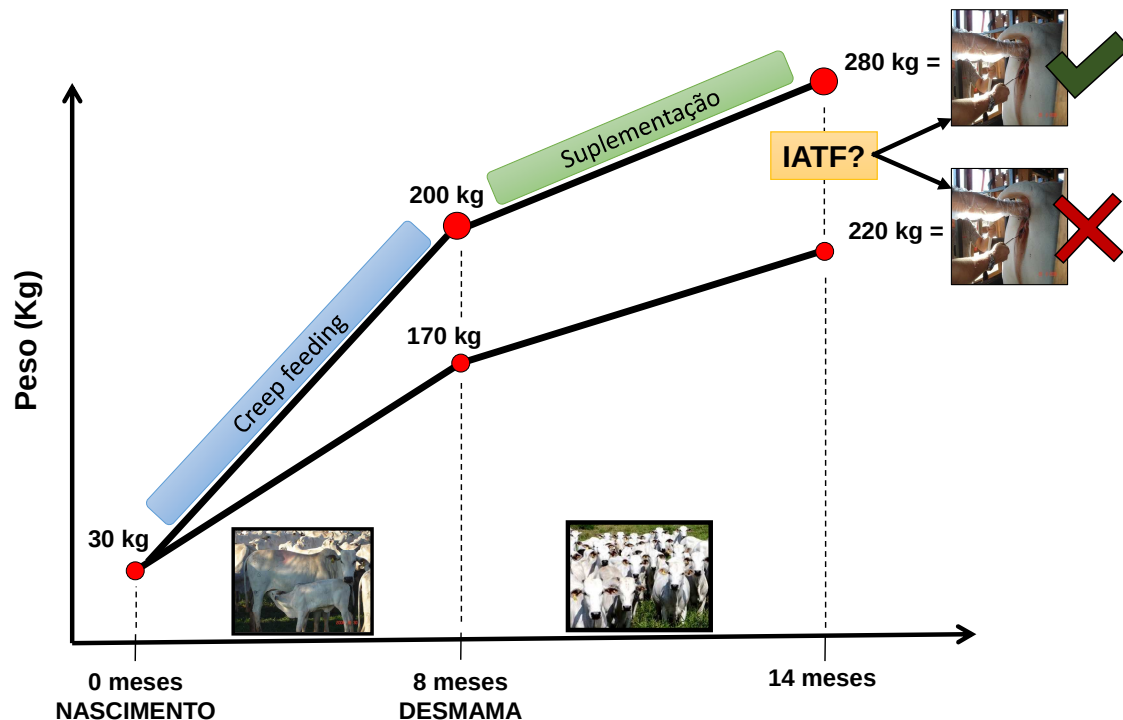


Figura 2. Modelo de estratégia nutricional para possibilitar a IATF de novilhas aos 14 meses de idade. Custo do Creep feeding: ingestão = 150g por dia por bezerra (por 180 dias) = 27kg por bezerra (R\$ 3,20/kg); Custo = R\$ 86,4 por bezerra. Custo suplementação proteica/energética: ingestão = 300g por dia por novilha (por 210 dias) = 63 kg por novilha (R\$ 2,67/kg); Custo: R\$ 168,21 por novinha (valores levantados em maio/2016).

Portanto, uma vez estabelecido adequado manejo nutricional, que propicie o desenvolvimento apropriado das novilhas até o início da EM, a IATF pode ser usada como ferramenta para adiantar a idade à primeira cobertura com relativo sucesso, resultando em diminuição da idade ao primeiro parto de 3 a 4 anos para 2 anos de idade. Este manejo possibilita a redução do intervalo entre gerações, acelerando também o ganho genético do rebanho. Além disso, com adequado manejo nutricional, não há comprometimento da “reconcepção”, quando a novilha precoce se torna primípara. Nesse contexto, em estudo recente, primíparas com idade ao primeiro parto de 24 ou 36 meses tiveram semelhante eficiência reprodutiva (Gráfico 2; GUERREIRO et al., 2015).

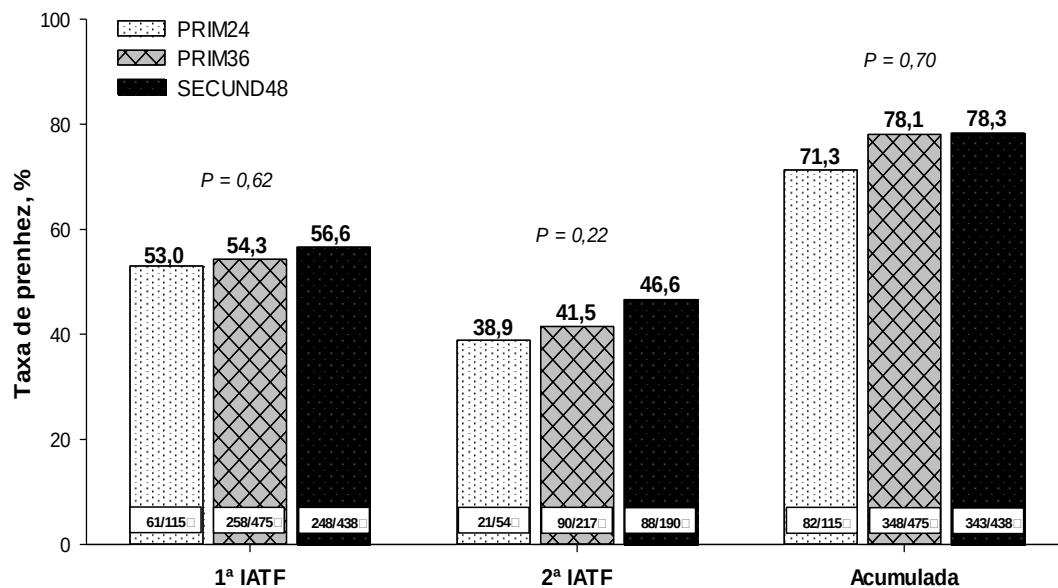


Gráfico 2. Taxa de prenhez à 1ª IATF [PRIM24 (61/115), PRIM36 (258/475) e SECUND48 (248/438)], 2ª IATF [ressincronização; PRIM24 (21/54), PRIM36 (90/217) e SECUND48 (88/190)] e acumulada [1ª IATF + 2ª IATF; PRIM24 (82/115), PRIM36 (348/475) e SECUND48 (343/438)] de primíparas com 2 (PRIM24) e 3 (PRIM36) anos de idade e secundíparas (SECUND48) com 4 anos de idade. Adaptado de Guerreiro et al., 2015.

3.2. Programas de ressincronização da ovulação e manejo programado

3.2.1. Rebanhos de corte

A ressincronização se refere à sincronização do estro e da ovulação de uma fêmea que foi previamente inseminada após a observação de cio ou após a IATF. O objetivo da técnica é eliminar a necessidade de observação de cio, maximizar o uso de touros geneticamente superiores e de touros utilizados para o cruzamento industrial, diminuir o número de touros para repasse e melhorar a eficiência reprodutiva dos rebanhos. Como consequência, é possível reduzir o intervalo entre inseminações e antecipar a concepção no período pós-parto, reduzindo o IEP e aumentando o número de produtos oriundos de IA que podem determinar maior valor agregado ao produto.

A ressincronização em fêmeas de corte no Brasil tem sido realizada em dois momentos distintos: 1) início da ressincronização no dia do diagnóstico de gestação (28 a 32 dias após a primeira IATF (ressincronização tradicional); e 2) início da

ressincronização em todas as fêmeas 22 dias após a primeira IATF, antes do diagnóstico de gestação (ressincronização precoce; Figura 3).

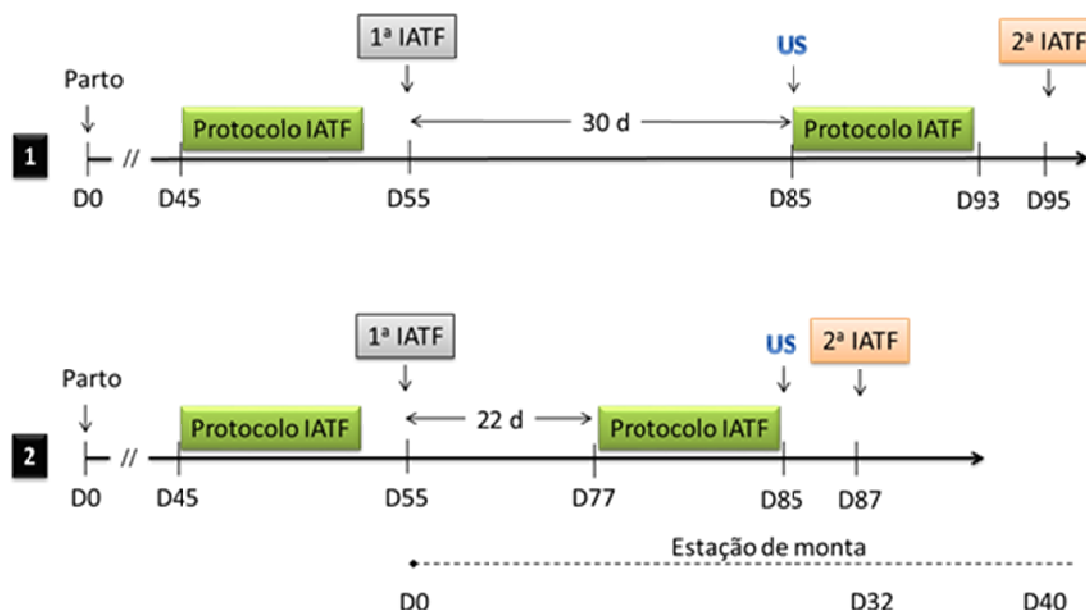


Figura 3. Desenho esquemático dos manejos para a ressincronização de fêmeas de corte para IATF: 1) Ressincronização tradicional = início da ressincronização no dia do diagnóstico de gestação (28 a 32 dias após a primeira IATF), apenas nos animais não gestantes; e 2) Ressincronização precoce = início da ressincronização, em todos os animais submetidos à primeira IATF, 22 dias após a IATF. Protocolo IATF = protocolo de sincronização da ovulação; IATF = inseminação artificial em tempo fixo; US = diagnóstico de gestação por ultrassonografia.

A escolha do momento para início do protocolo de ressincronização é dependente do manejo da propriedade, dos lotes da fazenda, dos custos envolvidos e da mão de obra disponível (disponibilidade do veterinário para realização da ultrassonografia e dos funcionários da fazenda para o manejo dos animais). A ressincronização precoce, iniciada 22 dias após a IATF prévia, proporciona antecipação em oito dias na realização da 2ª IATF quando comparada a ressincronização tradicional, realizada no dia do diagnóstico de gestação (com 30 dias após a IATF prévia). Assim, a ressincronização precoce pode ser indicada para evitar atrasos na concepção no início da EM (manter os partos das matrizes no início da estação de parição) e em lotes de fêmeas que entraram tardiamente na estação de monta (possibilitando um serviço a mais antes do final da EM). Ainda, a ressincronização de fêmeas vazias no final da estação reprodutiva diminuí o número de animas não gestantes e, conseqüentemente, o descarte por este motivo.

A adoção desse manejo também pode ser de grande interesse em fazendas onde se precificam bezerros por quilo de peso vivo, pois proporciona o nascimento precoce dos bezerros na estação de parição, com desmama de bezerros mais pesados e comercialização em momentos de maior valor. O protocolo para ressincronização antes do diagnóstico de gestação, no entanto, implica em tratamento inicial (D0) em 100% dos animais do lote (gestantes e não gestantes) previamente inseminados em tempo fixo. Ainda, com esse tipo de manejo, a realização da ultrassonografia para diagnóstico de gestação, que é realizada junto com a retirada de dispositivos, passa a ter data fixa e não flexível, exigindo maior organização e disponibilidade do médico veterinário.

Os programas de ressincronização tradicional, que têm início no momento do diagnóstico de gestação, apresentam maior flexibilidade. O início do protocolo pode variar do dia 28 ao 32 após a primeira IATF, de acordo com a rotina e disponibilidade do veterinário e do pessoal na propriedade. Além disso, o tratamento somente é realizado nas fêmeas não gestantes, o que reduz os custos com tratamento. Como desvantagem ocorre aumento do intervalo entre inseminações (aproximadamente 40 dias vs. 32 na ressincronização precoce).

Diante da crescente utilização dos programas de ressincronização nas propriedades e da demanda para otimizar ainda mais o manejo reprodutivo, introduziu-se uma segunda ressincronização (3 IATFs; Figura 4). O manejo reprodutivo com duas ressincronizações (3 IATFs consecutivas), também pode ser realizado utilizando a ressincronização antes ou após o diagnóstico de gestação. Quando se utiliza a ressincronização precoce (22 dias após a prévia IATF), com três IATFs consecutivas é possível obter cerca de 87,4% de taxa de prenhez ao final do programa reprodutivo em apenas 64 dias de EM e sem utilização de touros para repasse (100% IATF; Gráfico 3; CREPALDI et al., 2014).

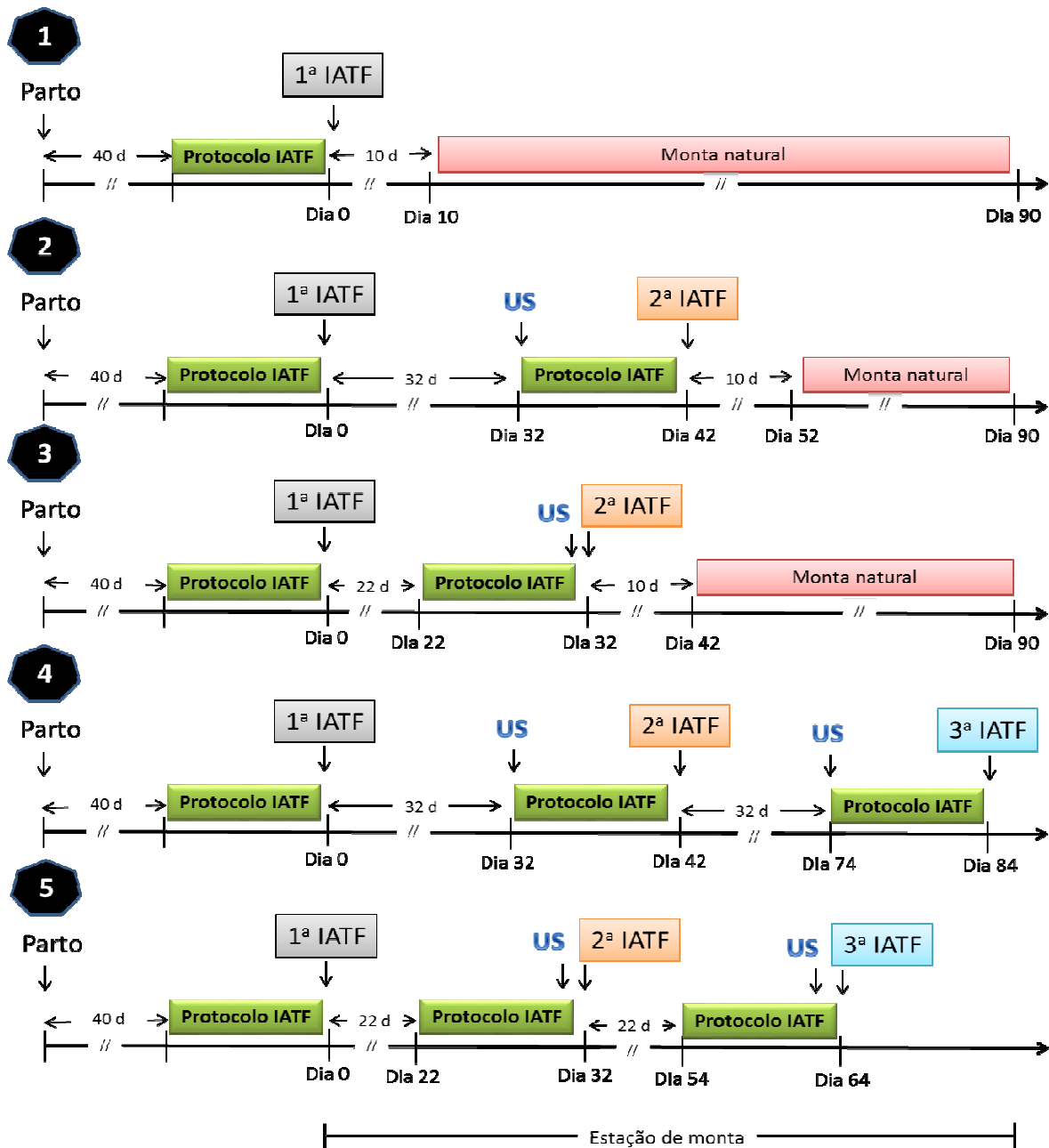


Figura 4. Desenho esquemático de 5 tipos de manejo reprodutivo durante a estação de monta de bovino de corte: 1) Programa de IATF com repasse de touro: uma IATF e monta natural (90 dias de estação de monta); 2) Programa de IATF com 1 ressincronização tradicional e repasse: duas IATFs (ressincronização 32 dias após IATF prévia – após diagnóstico de gestação) e monta natural (90 dias de estação de monta); 3) Programa de IATF com 1 ressincronização precoce e repasse: duas IATFs (ressincronização 22 dias após IATF prévia – antes do diagnóstico de gestação) e monta natural (90 dias de estação de monta); 4) Programa de IATF com 2 ressincronizações tradicionais: três IATFs (duas ressincronizações 32 dias após IATF prévia – após diagnóstico de gestação - 84 dias de estação de monta); 5) Programa de IATF com 2 ressincronizações precoces: três IATFs (duas ressincronizações 22 dias após IATF prévia – após diagnóstico de gestação - 64 dias de estação de monta). Protocolo IATF = protocolo de sincronização da ovulação; IATF = inseminação artificial em tempo fixo; US = diagnóstico de gestação.

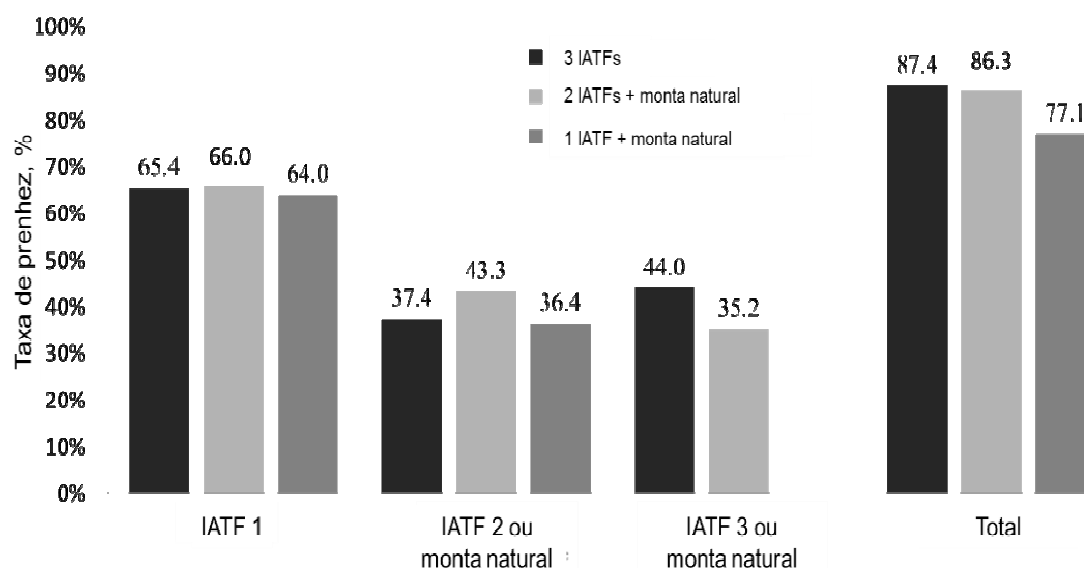


Gráfico 3. Taxa de prenhez em vacas de corte *Bos indicus* após programa de ressincronização com início 22 dias após IATF prévia. 1 IATF + monta natural, n= 755; 2 IATF + monta natural, n = 300; 3 IATF, n = 450. Adaptado de Crepaldi et al. (2014).

Outra grande vantagem do emprego dos programas de ressincronização é o planejamento da EM dos anos subsequentes (Ex: EM de 90 dias com início em novembro e término em janeiro). Devido ao curto intervalo entre inseminações (32 a 42 dias), as vacas paridas nos dois primeiros meses de parição (ex.: agosto e setembro) são capazes de receber 3 IATFs em uma EM subsequente de 90 dias, com aproximadamente 87,5% de taxa de gestação ao final da estação de monta (Tabela 4). Além disso, as vacas paridas no terceiro mês (ex.: outubro/novembro, parição dentro da EM) ainda estarão aptas para receberem 2 IATFs na mesma EM (ex.: novembro a dezembro), atingindo cerca de 75% de concepção ao final da estação de 90 dias (Tabela 4).

Assim, considerando-se que é possível iniciar o tratamento para sincronização com 30 dias pós-parto, 50% das vacas paridas no terceiro mês de parição (ex.: outubro – animais que recebem apenas 2 IATFs) têm antecipação da parição para o segundo mês de parição (ex.: setembro), viabilizando a utilização nesses animais de 3 IATFs na EM seguinte. Por outro lado, as fêmeas paridas nos dois primeiros meses da estação de parição (agosto e setembro) que concebem apenas na terceira IATF (janeiro) atrasarão a parição na EM seguinte e receberão apenas 2 IATFs. Dessa forma, após 4 a 5 anos de utilização dos manejos de ressincronização durante a EM, espera-se que a distribuição dos partos na propriedade seja 49% no primeiro mês de parição, 34% no segundo mês de parição e 17% no terceiro mês de parição (Tabela 4). Portanto, 83% das fêmeas receberão 3 IATFs com 87,5% de prenhez e 17% das fêmeas receberão 2 IATFs com

75% de prenhez, resultando em 85,4% de taxa de prenhez do rebanho ao final da estação de monta de 90 dias (Tabela 4).

Tabela 4. Distribuição dos partos e eficiência reprodutiva em rebanhos bovinos nos quais são utilizados programas de ressincronização (100% de IATF) em 90 dias de estação de monta (EM).

Mês de parição	Distribuição dos partos	Número de IATFs na EM	Taxa de prenhez
Agosto	49%	3	87,5
Setembro	34%	3	87,5
Outubro	17%	2	75,0
TOTAL	100%		85,4

Visando reduzir ainda mais o intervalo entre inseminações, esforços tem sido empregados para possibilitar o início do protocolo de ressincronização ainda mais precocemente (super precoce), no diestro subsequente a IATF (13 a 14 dias após a IATF; VIEIRA, et al., 2014). Para que seja possível a utilização deste modelo, o diagnóstico dos animais não gestantes deve ser realizado através da avaliação da vascularização do CL, utilizando-se o ultrassom com função color-Doppler. Assim como na ressincronização precoce, todas as fêmeas devem iniciar o tratamento de ressincronização, porém, apenas aquelas diagnosticadas como vazias (CL com baixo fluxo sanguíneo) recebem a segunda inseminação, resultando intervalo entre inseminações ainda mais curto (Figura 5).

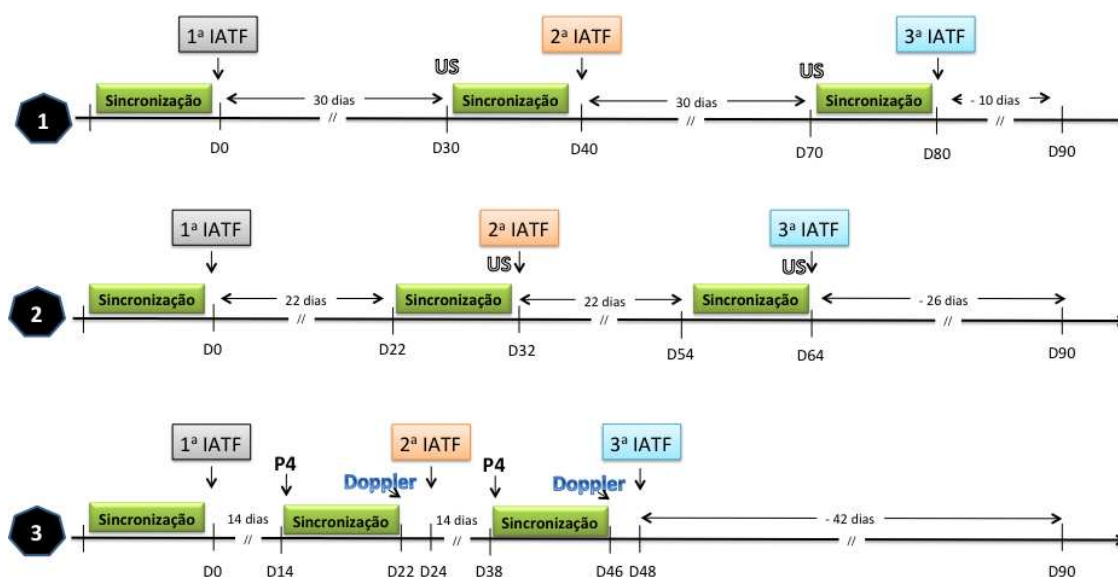


Figura 5. Desenho esquemático dos 3 tipos de manejos para a ressincronização de fêmeas de corte para IATF: Ressincronização tradicional = início da ressincronização no dia do diagnóstico de gestação (28 a 32 dias após a primeira IATF), apenas nos animais não gestantes; Ressincronização precoce = início da ressincronização, em todos os animais submetidos à primeira IATF, 22 dias após a IATF; e Ressincronização super precoce = início da ressincronização, em todos os animais submetidos à primeira IATF, 14 dias após a IATF e diagnóstico de gestação pela vascularização do CL. Protocolo IATF = protocolo de sincronização da ovulação; IATF = inseminação artificial em tempo fixo; US = diagnóstico de gestação por ultrassonografia.

Nesses estudos, verificou-se que a aplicação de 2 mg BE no início do protocolo de ressincronização (13 a 14 dias após prévia IA) induziu luteólise em parte dos animais tratados e reduziu a taxa de concepção (VIEIRA et al., 2014), fato que não ocorre em vacas ressincronizadas precocemente (22 dias após a IATF; SÁ FILHO et al., 2014). Esses resultados estão em conformidade com estudos anteriores que demonstraram redução da habilidade do CL em produzir P4 em fêmeas tratadas com BE no meio do ciclo estral (EL-ZARKOUNY & STEVENSON, 2004; MUNRO & MOORE, 1985). Isso pode estar relacionado ao fato de o aumento de E2 estar vinculado a indução da liberação de PGF (THATCHER et al., 1986; ARAUJO et al., 2009).

Dentro deste contexto, os programas de ressincronização super precoce passaram a ser realizados sem o uso de estradiol no início do tratamento, utilizando-se somente 100 mg de P4 injetável (Afisterone®, Hertape Calier) no momento da inserção de dispositivo de P4 (14 após a IATF) para induzir a emergência de uma nova onda de crescimento folicular. Rezende et al., (2016) verificaram que a nova onda de crescimento folicular teve início $3,0 \pm 0,7$ dias após o tratamento com 100 mg de P4

i.m. em vacas Nelore. Em seguida, Penteado et al., (2016) compararam a ressincronização precoce (22 dias) com a super precoce (14 dias) em 244 vacas Nelore lactantes. Neste estudo todas as fêmeas receberam a primeira IATF (Dia 0) e foram distribuídas em dois programas de ressincronização: super precoce (ECC = 3,0; n = 118) e precoce (ECC = 3,0; n = 126). As vacas que receberam ressincronização super precoce foram tratadas 14 dias após IATF (D14) com dispositivo de P4 associado a 100 mg de P4 i.m. (Afisterone®, HertapeCalier). No D22 foi realizado o diagnóstico de gestação pelo fluxo sanguíneo do CL, utilizando-se ultrassonografia com modo Collor Doppler (Mindray M5Vet, DPS São Paulo). As vacas que possuíam CL com fluxo sanguíneo baixo ou ausente foram consideradas não gestantes e seguiram no protocolo para IATF [remoção do dispositivo de P4 e administração de 0,530 mg de cloprostenol sódico (PGF), 1 mg de CE e 300 UI de eCG i.m.; IATF 48 horas após (D 24)]. As vacas gestantes passaram por remoção do dispositivo de P4 sem tratamento adicional. As vacas que recebeu a ressincronização precoce foram tratadas no D22 com dispositivo de P4 associado a 2 mg de BE i.m.. No D30 o dispositivo foi removido e foi realizado o diagnóstico de gestação por ultrassonografia convencional (modo B; Mindray, M5VET, China). As vacas não gestantes foram tratadas conforme descrito para o grupo super precoce, com IATF no D32. Os resultados obtidos em vacas ressincronizadas super precoce e precocemente foram, respectivamente: taxa de concepção à primeira IATF 53% vs. 48% (P=0,57), taxa de concepção à ressincronização 51% vs. 56% (P=0,37) e taxa de prenhez acumulada após a ressincronização [75% (89/118) em 24 dias de estação de monta e 77% (97/126) em 32 dias de estação de monta; P = 0,77]. Além de manter semelhante taxa de concepção à IATF e reduzir o intervalo entre inseminações, a ressincronização super precoce aumenta consideravelmente a taxa de serviço a cada 21 dias (de 66% para 87,5%) em relação à ressincronização precoce, como demonstrado na figura 6.

TAXA DE SERVIÇO A CADA 21 DIAS (TS_{21d}) = (intervalo ciclo estral / intervalo entre IATFs) * 100

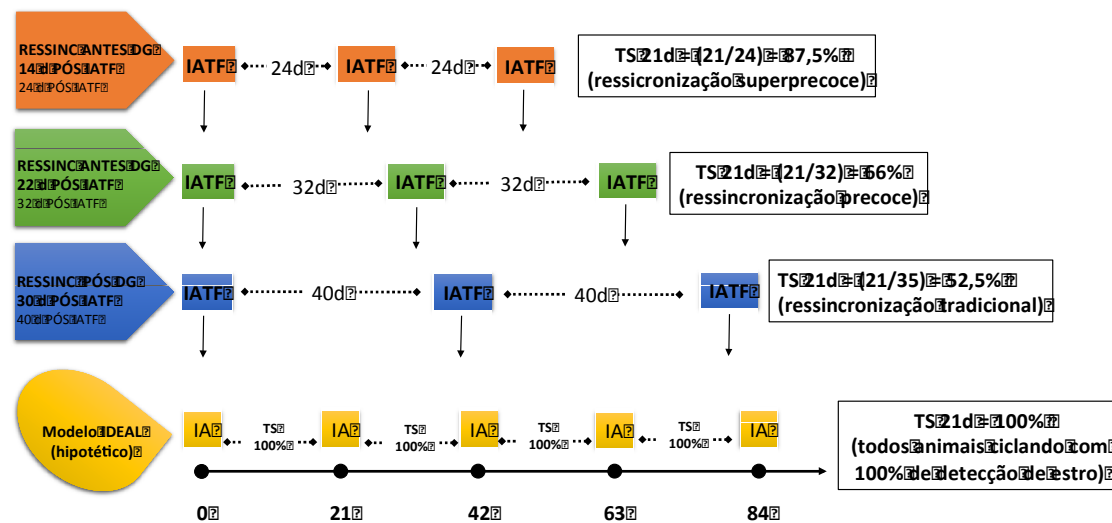


Figura 6. Taxa de serviço (TS) nos diferentes modelos de ressincronização. Ressincronização super precoce (14 dias após IATF prévia, com intervalo entre IATFs de 24 dias) com TS = 87,5%; Ressincronização precoce (22 dias após IATF prévia, com intervalo entre IATFs de 32 dias) com TS = 66%; Ressincronização após o diagnóstico de gestação, 30 dias após IATF prévia e com intervalo entre IATFs de 40 dias) com TS = 52,5%; Modelo ideal considerando retorno ao estro a cada 21 dias com TS = 100%.

A escolha de qual modelo de ressincronização utilizar depende do sistema de produção, do manejo de pastos e lotes na fazenda, da disponibilidade de mão de obra tanto do médico veterinário para realização do diagnóstico de gestação, quanto dos funcionários da fazenda para o manejo dos animais. Nas figuras 4 e 5 são apresentados os desenhos esquemáticos dos diferentes métodos de ressincronização seguida ou não de monta natural que podem ser utilizados em programas reprodutivos de gado de corte no Brasil.

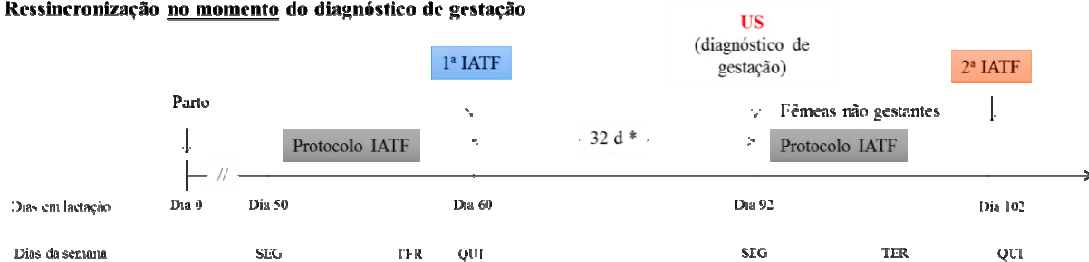
3.2.2. Rebanhos de leite

Na atividade leiteira, os protocolos de ressincronização seguem os mesmos preceitos mencionados para gado de corte. No entanto, como na maioria dos casos o manejo reprodutivo é constante ao longo de todo ano (diferente das EM do gado de corte) e os animais são manejados diariamente, torna-se necessário adaptar os protocolos reprodutivos para que ocupem dias semelhantes da semana. Assim como no gado de corte, dois métodos de ressincronização podem ser adotados, conforme o momento do início do protocolo: no dia do diagnóstico de gestação (tradicional) ou

antes do diagnóstico de gestação (precoce). Para que todos os manejos reprodutivos ocorram em dias concentrados da semana, facilitando a rotina de trabalho na propriedade leiteira e as visitas periódicas do médico veterinário, a ressincronização tradicional deve ter início 32 dias após a IATF prévia, e a precoce, 25 dias (Figura 7). Essa padronização das atividades na propriedade favorece o estabelecimento de uma rotina com planejamento anual do manejo reprodutivo (Figura 8).

No manejo reprodutivo exemplificado na figura 8, o médico veterinário realiza 21 visitas programadas no período de um ano (considerando a visita veterinária apenas nos dias de diagnóstico de gestação). Para o cálculo da eficiência reprodutiva de vacas leiteiras em sistema de ressincronização a cada 25 dias, considerou-se o primeiro serviço aos 58 dias pós-parto (em média), 30% de taxa de concepção à IATF até o terceiro serviço, 20% de taxa de concepção à IATF entre o quarto e o sexto serviços (o sexto serviço foi estabelecido como último serviço do animal) e 15% de perda gestacional entre 30 e 60 dias de gestação. Nessa simulação, o rebanho apresenta 82% de vacas gestantes aos 246 dias em lactação, 110,4 dias de período parto-concepção e 12,9 meses de IEP, ou seja, boa eficiência reprodutiva. Portanto, estudos foram conduzidos visando verificar a aplicabilidade e a viabilidade do manejo de ressincronização a cada 25 dias em propriedades leiteiras no Brasil.

1. Ressincronização no momento do diagnóstico de gestação



2. Ressincronização antes do diagnóstico de gestação

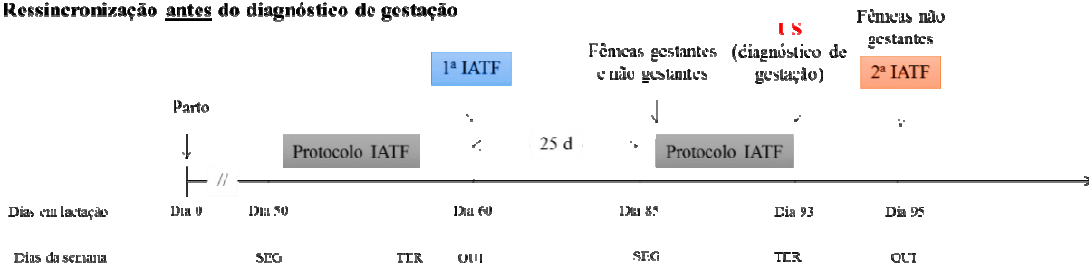


Figura 7. Desenho esquemático dos manejos de ressincronização de fêmeas leiteiras: 1) ressincronização tradicional com início no dia do diagnóstico de gestação (32 dias após a primeira IATF), apenas os animais não gestantes são tratados e a IA ocorre 42 dias após a IATF prévia; 2) ressincronização precoce com início do tratamento em todos os animais 25 dias após a IATF prévia e IA dos não gestantes 35 dias após a IATF prévia. Protocolo IATF = protocolo de sincronização da ovulação; IATF = inseminação artificial em tempo fixo; US = diagnóstico de gestação por ultrassonografia

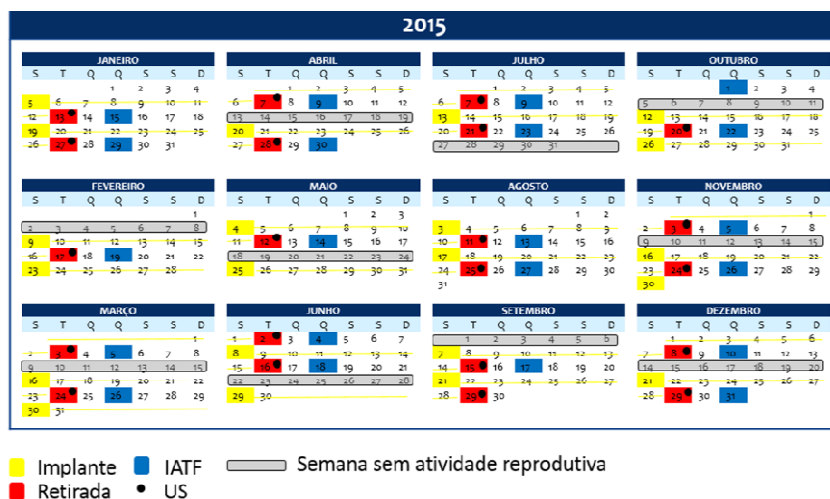
Calendário anual: Manejo reprodutivo do rebanho e visitas do médico veterinário.**Rotina reprodutiva das vacas de leite**

Figura 8. Calendário anual do manejo reprodutivo de fêmeas bovinas leiteiras submetidas ao manejo de ressincronizações precoces consecutivas, com intervalo de 25 dias entre a IATF prévia e início do protocolo de sincronização subsequente.

O primeiro estudo foi realizado para avaliar a eficiência da associação do GnRH ou do BE à P4 no início do protocolo de ressincronização (25 dias após a IATF) para sincronizar a emergência da nova onda de crescimento folicular em vacas da raça Holandesa, sem prévio diagnóstico de gestação (VASCONCELLOS et al., 2014). Nesse estudo, os autores verificaram que ambas associações (GnRH+P4 ou BE+P4) foram eficazes na sincronização de uma nova onda de crescimento folicular e da ovulação. Diante do observado, um segundo estudo foi realizado para verificar a possível influência da administração de 2 mg de BE no início do protocolo de ressincronização (25 dias após IATF prévia) no estabelecimento e na manutenção da gestação prévia (VIEIRA et al., dados não publicados; Figura 9). Semelhante taxa de prenhez aos 33 [31,1% (66/212) vs. 32,0% (71/222); $P = 0,89$] e 60 [24,4% (51/210) vs. 24,7% (54/218); $P = 0,91$] dias após IATF (Gráfico 4), bem como semelhante perda gestacional entre 33 e 60 dias após a IATF [20,3% (13/64) vs. 18,5% (12/65)] foi observada em vacas ressincronizadas com BE ou GnRH. Portanto, o tratamento de vacas gestantes em lactação com BE 25 dias após a IA não induz perda gestacional. Além disso, o protocolo de ressincronização com BE sincroniza eficientemente o crescimento folicular e a ovulação das vacas que não se tornaram gestantes à IA anterior.

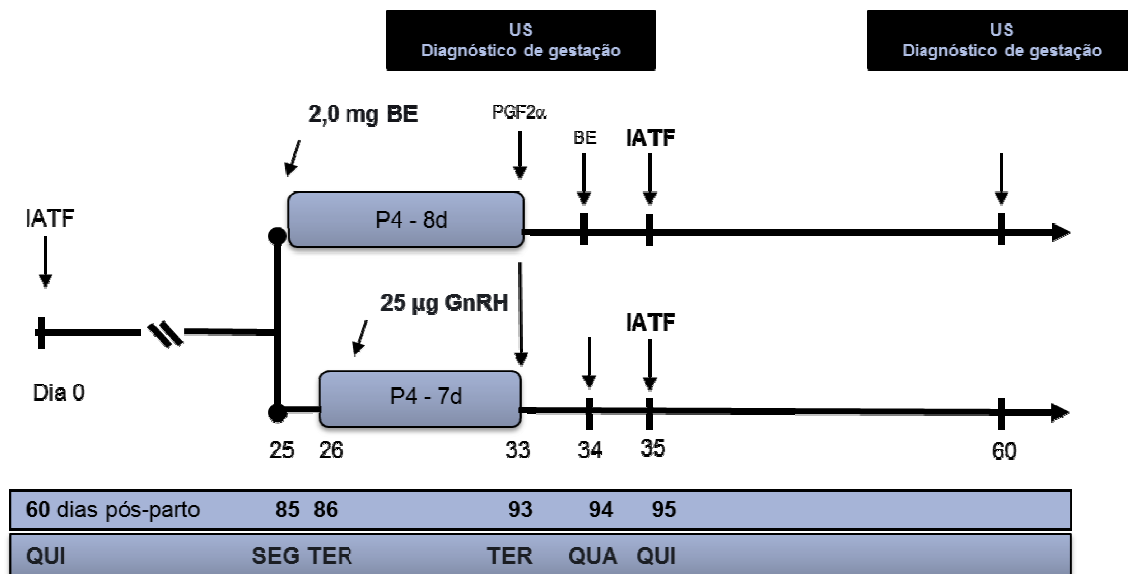


Figura 9. Delineamento experimental de dois tipos de manejo de ressincronização da ovulação para IATF: com hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) ou benzoato de estradiol (BE) no início do tratamento. IATF = inseminação artificial em tempo fixo; P4 = dispositivo de progesterona; PGF = prostaglandina; US = diagnóstico de gestação por ultrassonografia. Adaptado de Vieira et al., dados não publicados.

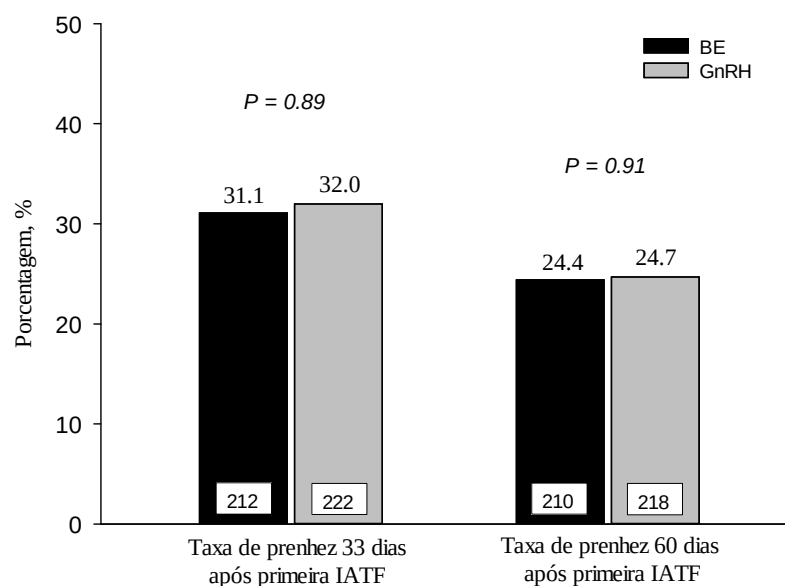


Gráfico 4. Taxa de prenhez 33 e 60 dias após a primeira IATF em vacas em lactação da raça Holandesa, conforme manejo reprodutivo de ressincronização: com hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) ou benzoato de estradiol (BE) no início do tratamento. Adaptado de Vieira et al., dados não publicados.

Portanto, o programa de ressincronização com início 25 dias após a IATF prévia pode ser uma alternativa de manejo reprodutivo para propriedades de leite. Esse programa possibilita sistematizar e planejar a reprodução anual da fazenda (Figura 8), concentrando as concepções no início da lactação. Entretanto, é importante mencionar que outros fatores, como nutrição e manejo sanitário, bem como, organização e disponibilidade de mão de obra qualificada podem influenciar significativamente os resultados dos programas de IATF com ressincronização em rebanhos leiteiros.

3.3. Aumento da produtividade por área

Diante do panorama exposto nesta revisão, pode-se observar que o grande gargalo da pecuária brasileira é o reduzido número de propriedades que implementam tecnologia para aumentar a produtividade da cadeia de carne e de leite. A baixa eficiência reprodutiva do rebanho brasileiro ainda é fator limitante para o crescimento sustentável da pecuária. Conforme exposto previamente, o Brasil produz apenas 55,2 milhões de bezerros por ano, apesar de possuir 80,6 milhões de fêmeas em idade reprodutiva (~ 68,5% de taxa de desmame; ANUALPEC 2015). Além disso, apenas 12% das matrizes são inseminadas artificialmente, demonstrando nossa ineficiência reprodutiva. Ainda, diversos estudos apontam baixa produtividade por hectare da pecuária brasileira de corte (59 kg de carne por hectare/ano; LIMA-FILHO et al., 2014) e de leite (aproximadamente 1,300 litros por ha/ano). Para aumentar a eficiência dos sistemas de produção de corte e leite no Brasil é indispensável a busca pelo incremento da produção por hectare, tornando a pecuária mais competitiva perante outras atividades agropecuárias.

Em gado de corte o aumento da eficiência reprodutiva acarreta maior taxa de desmama e, caso esteja associado ao melhoramento genético, resulta em aumento do peso ao desmame, levando a maior produtividade (kg bezerro/ha) e faturamento (R\$/ha) por hectare. Nas tabelas 5 e 6 está demonstrado o impacto do aumento da taxa de desmama e do peso do bezerro desmamado na produção de kg de bezerros/ha e no faturamento/ha do sistema de produção.

Tabela 5. Efeito da taxa de desmame e do peso do bezerro ao desmame na produção de quilogramas (kg) de bezerros por hectare (ha). Base de cálculos: 1 UA (450kg)/ ha (1 vaca/ ha e 0,17-0,22 bezerros/ha); 30 kg de peso vivo ao nascimento; Desmame aos 7 meses de idade.

	TAXA DE DESMAMA				
	65%	70%	75%	80%	85%
Peso Desmama Kg	Kg Bezerro/ha				
160	97,7	100,2	106,5	112,8	119,0
170	98,8	105,6	112,2	118,8	125,2
180	103,9	110,9	117,8	124,6	131,3
190	108,8	116,1	123,3	130,4	137,3
200	113,7	121,3	128,7	136,0	143,2

+53%

Tabela 6. Efeito da taxa de desmame e do peso do bezerro ao desmame no faturamento (R\$) por hectare (ha). Base de cálculos: 1 UA (450 kg)/ha (1 vaca/ha e 0,17-0,22 bezerros/ha); 30 kg de peso vivo ao nascimento; Desmame aos 7 meses de idade; R\$ 6,00 /kg de bezerro.

	TAXA DE DESMAMA				
	65%	70%	75%	80%	85%
Peso Desmama Kg	Faturamento/Ha				
160	R\$ 562,40	R\$ 601,09	R\$ 639,21	R\$ 676,76	R\$ 713,76
170	R\$ 593,40	R\$ 633,52	R\$ 673,35	R\$ 712,55	R\$ 751,13
180	R\$ 623,23	R\$ 665,43	R\$ 706,91	R\$ 747,69	R\$ 787,79
190	R\$ 652,97	R\$ 696,83	R\$ 739,90	R\$ 782,21	R\$ 823,77
200	R\$ 682,27	R\$ 727,74	R\$ 772,35	R\$ 816,12	R\$ 859,08

+53%

Sendo assim, o aumento da eficiência do sistema produtivo de carne exige o desenvolvimento de programas de IA de fácil aplicação (visando diminuir as dificuldades operacionais para sua execução) associado ao melhoramento genético constante do rebanho, possibilitando assim que haja elevada eficiência reprodutiva e produtiva (Kg bezerro/ha), como descrito anteriormente neste artigo.

Em gado de leite, o aumento da produtividade por área também tem como desafio o aumento do número de vacas inseminadas. Estima-se que apenas 4,3 milhões de doses de sêmen de touro leiteiro foram comercializadas em 2015. Desse total, em apenas 50%

(2,3 milhões) foi utilizado a IATF. Na atividade leiteira, a IATF aumenta a taxa de serviço e reduz o IEP, que tem grande impacto na produção de leite. Além disso, com o aumento do nascimento de indivíduos geneticamente superiores por IA, ocorre significativo aumento da produção de leite na propriedade (detalhes descritos no item 2. deste artigo). Diante desse panorama, o aumento do ganho genético associado à redução do IEP apresenta impacto significativo na produção de leite/vaca/ano e no faturamento por ha (considerando 2 UA por ha e R\$ 1,29 por litro de leite – CEPEA de Julho de 2016b), conforme apresentado nas tabelas 7 e 8.

Tabela 7. Influência do intervalo entre partos (IEP) e do ganho genético (produção de leite por lactação em kg) na produção de leite/vaca/ano.

INTERVALO ENTRE PARTOS vs PRODUÇÃO LEITE/VACA/ANO							
	19	18	17	16	15	14	13
Produção/lactação							
2000	1.263,16	1.333,33	1.411,76	1.500,00	1.600,00	1.714,29	1.846,15
4000	2.526,32	2.666,67	2.823,53	3.000,00	3.200,00	3.428,57	3.692,31
6000	3.789,47	4.000,00	4.235,29	4.500,00	4.800,00	5.142,86	5.538,46
8000	5.052,63	5.333,33	5.647,06	6.000,00	6.400,00	6.857,14	7.384,62
10000	6.315,79	6.666,67	7.058,82	7.500,00	8.000,00	8.571,43	9.230,77

+46%

Tabela 8. Influência do intervalo entre partos (IEP) e do ganho genético (produção de leite por lactação) no faturamento por hectare (em R\$). Base de cálculos: Lotação de 2 UA por hectare, R\$1,29 por litro de leite (CEPEA de Julho de 2016).

INTERVALO ENTRE PARTOS vs FATURAMENTO POR HECTARE (em R\$)								
	19	18	17	16	15	14	13	
Produção/lactação								
2000	R\$ 4.888,42	R\$ 5.160,00	R\$ 5.463,53	R\$ 5.805,00	R\$ 6.192,00	R\$ 6.634,29	R\$ 7.144,62	
4000	R\$ 9.776,84	R\$ 10.320,00	R\$ 10.927,06	R\$ 11.610,00	R\$ 12.384,00	R\$ 13.268,57	R\$ 14.289,23	
6000	R\$ 14.665,26	R\$ 15.480,00	R\$ 16.390,59	R\$ 17.415,00	R\$ 18.576,00	R\$ 19.902,86	R\$ 21.433,85	
8000	R\$ 19.553,68	R\$ 20.640,00	R\$ 21.854,12	R\$ 23.220,00	R\$ 24.768,00	R\$ 26.537,14	R\$ 28.578,46	
10000	R\$ 24.442,11	R\$ 25.800,00	R\$ 27.317,65	R\$ 29.025,00	R\$ 30.960,00	R\$ 33.171,43	R\$ 35.723,08	

+46%

Portanto, assim como para o gado de corte, o aumento da eficiência do sistema produtivo de leite tem como propulsores a eficiência reprodutiva e o melhoramento genético. O desenvolvimento de programas de IA contínuos (ressincronizações) com calendário eficiente para fácil aplicação operacional pode auxiliar o aumento do número

de fêmeas inseminadas (com sêmen de touros geneticamente superior) com redução do IEP, impulsionando o aumento da produção de leite por hectare.

4. Perspectivas da reprodução programada em bovinos de corte e de leite

Acredita-se que, devido às condições brasileiras diferenciadas de produção pecuária, ocorrerá significativo aumento dos investimentos no setor, com impacto direto na aplicação de tecnologia. A introdução da IATF em novas propriedades com vistas no aumento da eficiência reprodutiva e no melhoramento genético merece destaque nesse cenário. Diversos estudos mencionados neste artigo evidenciaram impacto positivo da IATF no aumento da produtividade e da lucratividade da propriedade de leite e de corte. Com perspectiva de crescimento anual de 5% na comercialização de doses de sêmen e de 8% para protocolos de sincronização para IATF, estima-se que o mercado atinja 25,8 milhões de doses de sêmen comercializadas por ano em 2028, cenário no qual a IATF representaria 97,9% de todas as inseminações realizadas no Brasil (Gráfico 5).

Na atualidade, acredita-se que 3.500 médicos veterinários no Brasil estejam diretamente envolvidos com a prestação de serviço nessa área, o que representa a média de 3.000 animais inseminados em tempo fixo por profissional. Esse mercado tende a crescer cada vez mais, devido ao impacto positivo da IATF na produtividade e ao contínuo interesse de uso desta biotécnica por parte dos produtores. Por esse motivo, deve ser mantido o comprometimento dos especialistas envolvidos com a pesquisa, garantindo o desenvolvimento contínuo de protocolos eficientes para as diversas situações e categorias de bovinos. Por outro lado, o manejo correto e a aplicação destes protocolos a campo devem obedecer normas e regras que garantam a eficácia do processo.

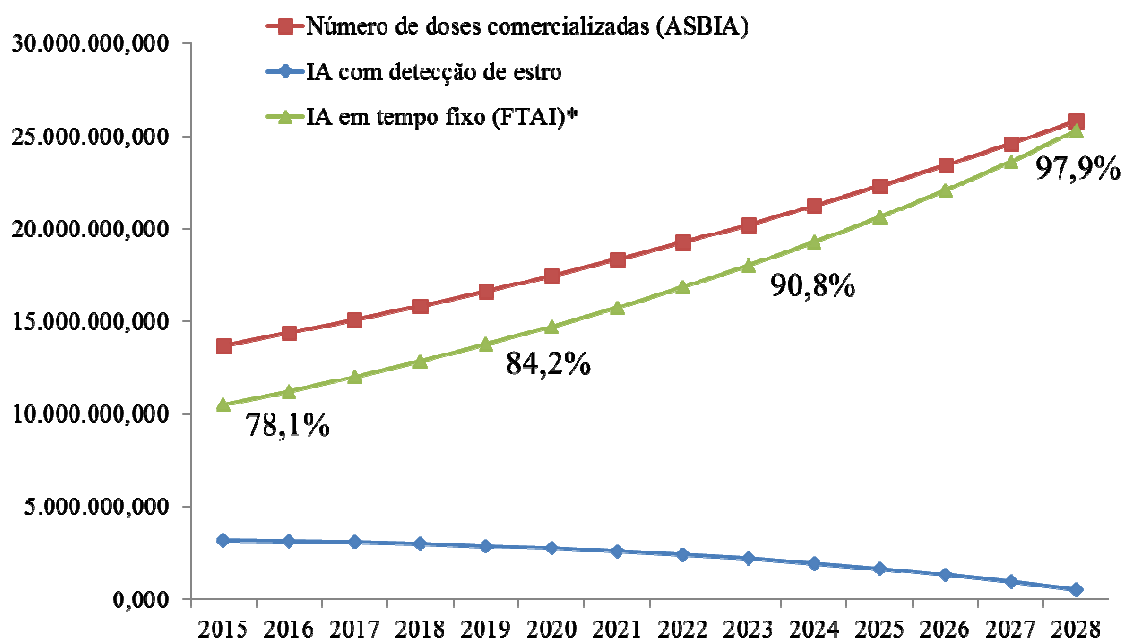


Gráfico 5. Perspectiva de crescimento das doses de sêmen comercializadas e da IATF de 2015 a 2028. Considerou-se para este cálculo taxa de crescimento anual de 5% para doses de sêmen comercializadas e de 8% para IATF.

5. Conclusão

A baixa eficiência reprodutiva do rebanho nacional ainda é fator limitante para o crescimento sustentável da pecuária de corte. Estamos ainda muito aquém da capacidade de produção de bezerros por vaca por ano (~ 68,5% de taxa de desmame) e da qualidade de bezerros que pode ser fornecida ao mercado consumidor (melhoramento genético). Além disso, nossas novilhas iniciam a vida reprodutiva ainda muito tardiamente (3 a 4 anos de idade). Na pecuária de leite, o país não é autossuficiente para abastecer o mercado interno e a baixa produtividade por vaca (menos de 2.000 L de leite por lactação) é indicativa de baixa seleção genética. Outro índice que reflete o baixo nível tecnológico do rebanho bovino brasileiro é a reduzida utilização da inseminação para seu melhoramento genético, sendo que apenas 12% de nossas matrizes são inseminadas, seja de forma convencional, seja por tempo fixo. Sendo assim, o sistema produtivo nacional exige o desenvolvimento de programas de inseminação artificial de fácil aplicação, que diminuam as dificuldades operacionais para sua execução, e de elevada eficiência reprodutiva e produtiva para bovinos de aptidão leiteira e para corte.

Diversas alternativas de eficientes programas reprodutivos para vacas e novilhas de corte e leite já foram desenvolvidas e estão apresentadas neste artigo, bem como seu potencial impacto econômico. A disseminação do uso destas técnicas visando a produção de bezerros de corte em maior quantidade (redução do IEP e antecipação da idade reprodutiva de novilhas) e qualidade (melhoramento genético) e a produção de fêmeas leiteiras como maior produção de leite por lactação (redução do IEP associado ao melhoramento genético) é a chave para aumentar a produção nacional de quilogramas de carne e litros de leite por hectare, o que reflete a eficiência em produtividade, buscando maior lucratividade do sistema pecuário brasileiro como um todo.

6. Referências Bibliográficas

- ANUALPEC. **Anuário da Pecuária Brasileira**. São Paulo: Instituto FNP, 2015.
- ARAUJO, R. R.; GINTHER, O. J.; FERREIRA, J. C.; PALHÃO, M. M.; BEG, M. A.; WILTBANK, M. C. Role of Follicular Estradiol-17beta in Timing of Luteolysis in Heifers. **Biology of Reproduction**, v. 81, p. 426-437, 2009.
- ASBIA. **Associação Brasileira de Inseminação Artificial**. Disponível em <<http://www.asbia.org.br/novo/relatorios/>>. Acesso em: março de 2016.
- AYRES, H.; FERREIRA, R. M.; CUNHA, A. P.; ARAÚJO, R. R.; WILTBANK, M. C. Double-Ovsynch in high-producing dairy cows: effects on progesterone concentrations and ovulation to GnRH treatments. **Theriogenology**, v. 1, n. 79(1), p. 159-64, 2013.
- BARBUIO, J. P.; GIROTTO, R. W.; MARQUES, M. O.; PENTEADO, L.; REZENDE, R. G.; MINGOTI, R. D.; COLLI, M. H. A.; VIEIRA, L. M.; BARUSELLI, P. S. Pregnancy rate of lactating nelore cows synchronized with progesterone devices or new progestogen implants or used for eight or nine days. **Animal Reproduction**, Accepted, 2016.
- BARUSELLI, P. S.; REIS, E. L.; MARQUES, M. O.; NASSER, L. F.; BÓ, G. A. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. **Animal Reproduction Science**, v. 82-83, p. 479-486, 2004.
- BARUSELLI, P. S.; SALES, J. N. S.; SALA, R. V.; VIEIRA, L. M.; SÁ FILHO, M. F. Evolução e perspectivas dos programas de inseminação artificial em tempo fixo no Brasil. **Animal Reproduction**, v. 9, p. 30-43, 2012.
- BARUSELLI, P. S. IATF supera dez milhões de procedimentos e amplia o mercado de trabalho. **Revista CFMV**, nº 69, p. 57-60, 2016.
- BÓ, G. A.; PIERSON, R. A.; MAPLETOFT, R. J. The effect of estradiol valerate on follicular dynamics and superovulatory response in cows with Syncro-Mate-B implants. **Theriogenology**, v. 36, p. 169-183, 1991.
- BÓ, G. A.; ADAMS, G. P.; NASSER, L. F.; PIERSON, R. A.; MAPLETOFT, R. J. Effect of estradiol valerate on ovarian follicles, emergence of follicular waves and circulating gonadotropins in heifers. **Theriogenology**, v. 40, p. 225-239, 1993.
- BÓ, G. A.; ADAMS, G. P.; CACCIA, M.; MARTINEZ, M.; PIERSON, R. A.; MAPLETOFT, R. J. Ovarian follicular wave emergence after treatment with progestogen and estradiol in cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 39, p. 193-204, 1995.
- BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S.; MORENO, D.; CUTAIA, L.; CACCIA, M.; TRÍBULO, R.; TRÍBULO, H.; MAPLETOFT, R. J. The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. **Theriogenology**, v. 57, p. 53-72, 2002.
- BÓ, G.A.; BARUSELLI, P.S.; MAPLETOFT, R. J. Synchronization techniques to increase the utilization of artificial insemination in beef and dairy cattle. **Animal Reproduction**, v. 10, p. 137-142, 2013.

- BÓ, G. A.; JAVIER DE LA MATA, J.; BARUSELLI, P. S.; MENCHACA, A. Alternative programs for synchronizing and re-synchronizing ovulation in beef cattle. **Theriogenology**, v. 86, p. 388–396, 2016.
- BURKE, C. R.; MACMILLAN, K. L.; BOLAND, M. P. Oestradiol potentiates a prolonged progesterone-induced suppression of LH release in ovariectomised cows. **Animal Reproduction Science**, v. 45, p. 13-28, 1996.
- CARVALHAES, R. P. A.; COLLI, M. H. A.; ALMEIDA, T. T.; MINGOTI, R. D.; VIEIRA, L. M.; SANTOS, M. H.; SALES, J. N. S.; BARUSELLI, P. S. Pregnancy rate following FTA of nelore (*Bos indicus*) cows submitted to protocols of 3 or 4 cattle handling with administration of PGF in different moments. **Animal Reproduction**, Accepted, 2016.
- CARVALHO, J. B. P.; CARVALHO, N. A. T.; REIS, E. L.; NICHI, M.; SOUZA, A. H.; BARUSELLI, P. S. Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI in *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus*, and *Bos taurus* heifers. **Theriogenology**, v. 69, p. 167-175, 2008.
- CEPEA. **Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada – Leite**. Disponível em < <http://cepea.esalq.usp.br/leite/> >. Acesso em: 01 março de 2016a.
- CEPEA. **Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada – Leite**. Disponível em < <http://cepea.esalq.usp.br/leite/> >. Acesso em: 20 de julho de 2016b.
- CERRI, R. L. A.; RUTIGLIANO, H. M.; CHEBEL, R. C.; SANTOS, J. E. P. Period of dominance of the ovulatory follicle influences embryo quality in lactating dairy cows. **Reproduction**, v. 137, p. 813–823, 2009.
- CLARO JÚNIOR, I.; SÁ FILHO, O. G.; PERES, R. F. G.; AONO, F. H. S.; DAY, M. L.; VASCONCELOS, J. L. M. Reproductive performance of prepubertal *Bos indicus* heifers after progesterone-based treatments. **Theriogenology**, v. 74, p. 903–911, 2010.
- COLLI, M. H. A.; CARVALHAES, R. P. A.; MINGOTI, R. D.; VIEIRA, L. M.; REZENDE, R. G.; SANTOS, M. H.; SALES, J. N. S.; BARUSELLI, P. S. Pregnancy rate to FTAI of Crossbred heifers (*B. indicus* x *B. taurus*) submitted to protocols of 3 or 4 handling cattle. **Animal Reproduction**, Accepted, 2016.
- CREPALDI, G. A.; FREITAS, B. G.; VIEIRA, L. M.; SÁ FILHO, M. F.; GUERREIRO, B. M.; BARUSELLI, P. S. Reproductive efficiency of Nelore females submitted to three consecutive FTAI programs with 32 days of interval between inseminations. In: Proceedings of the 28th Annual Meeting of Brazilian Embryo Technology Society (SBTE), Anais...2014.
- DAVOODI, S.; COOKE, R. F.; FERNANDES, A. C. C.; CAPPELLOZZA, B. I.; VASCONCELOS, J. L. M.; CERRI, R. L. A. Expression of estrus modifies the gene expression profile in reproductive tissues on day 19 of gestation in beef cows. **Theriogenology**, v. 85, p. 645-655, 2016.
- DAY, M. L. State of the art of GnRH - based timed AI in beef cattle. **Animal Reproduction**, v. 12, p. 473–478, 2015.

- EL-ZARKOUNY, S. Z., and J. S. STEVENSON. Resynchronizing estrus with progesterone or progesterone plus estrogen in cows of unknown pregnancy status. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 3306-3321, 2004.
- FREITAS, B. G.; MINGOTI, R. D.; RAMOS, L.; VASCONCELLOS, G. S. F. M.; CREPALDI, G. A.; MONTEIRO, B. M.; GUERREIRO, B. M.; VIEIRA, L.M.; SÁ FILHO, M.F., BARUSELLI, P.S. Evaluation of different nutritional and physical development parameters on reproductive efficiency of Nelore heifers at 13 months of age submitted to FTAI. **Animal Reproduction**, v. 11, p. 343, 2014.
- GEARY, T. W.; WHITTIER, J. C.; HALLFORD, D. M.; MACNEIL, M. D. Calf removal improves conception rates to the Ovsynch and Co-synch protocols. **Journal of Animal Science**, v. 79, p. 1-4, 2001.
- GUERREIRO, B. M.; FREITAS, B. G.; MINGOTI, R. D.; BATISTA, E. O. S.; CREPALDI, G. A.; SÁ FILHO, M. F.; VIEIRA, L. M.; MONTEIRO, B. M.; BARUSELLI, P. S. Reproductive efficiency of 24 months old primiparous Nelore cows and submitted to resynchronization programs after TAI. **Animal Reproduction**, v. 12, p. 633, 2015.
- HAWK, H. W. Sperm survival and transport in the female reproductive tract. **Journal of Dairy Science**, v. 66, p. 2645-2660, 1983.
- HILLEGLASS, J.; LIMA, F. S.; SÁ FILHO, M. F.; SANTOS, J. E. P. Effect of time of artificial insemination and supplemental estradiol on reproduction of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 91, p. 4226-4237, 2008.
- LIMA FILHO, R.R.; AGUIAR, G.A.M; TORRES JUNIOR, A.D. 2014. Rentabilidade em 2013 - **O agronegócio e o mercado financeiro**. Agroanalysis, Mar. 2014.
- LONERGAN, P. Influence of progesterone on oocyte quality and embryo development in cows. **Theriogenology**, v. 76, n. 9, p. 1594-1601, 2011.
- MANN, G. E.; LAMMING, G. E. The role of sub-optimal preovulatory oestradiol secretion in the aetiology of premature luteolysis during the short oestrous cycle in the cow. **Animal Reproduction Science**, v. 64, p. 171-180, 2000.
- MANTOVANI, A. P.; NICHI, M.; SÁ FILHO, M. F.; AYRES, H.; VETTORATO, L. F.; BÓ, G. A. Follicular growth and plasma progesterone patterns in *Bos indicus* x *Bos taurus* heifers submitted to different PGF_{2α} / progesterone-based synchronization protocols, **Animal Reproduction**, v. 7, p. 91-96, 2010.
- MENDANHA, M. F.; SALA, R. V.; REIS, T. A. N. P. S.; CARVALHO, F. J.; GUIMARÃES, L. H. C.; MACEDO, G. G.; SÁ FILHO, M. F.; BARUSELLI, P. S. Momento da administração de prostaglandina e número de utilizações do dispositivo de progesterona na eficiência da IATF em novilhas girolando. In: Anais da XXVI Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões (SBTE), Anais...2012.
- MENEGHETTI, M.; SA FILHO, O. G.; PERES, R. F. G.; LAMB, C. G.; VASCONCELOS, J. L. M. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows I: Basis for development of protocols. **Theriogenology**, v. 72, p. 179-189, 2009.

MINGOTI, R. D.; VIEIRA, L. M.; RAMOS, R. S.; BASTOS, M. R.; REZENDE, M. L. G.; CARNEIRO, T. BELLI, R. S.; MARTIGNONI, L. G.; BARUSELLI, P. S. Conception rate of Holstein cows submitted to TAI protocol using intravaginal progesterone-releasing device for 8 or 9 days. **In:** 18th International Congress on Animal Reproduction, Le Vinci in Tours, França, p. 507, 2016a.

MINGOTI, R. D.; BASTOS, M. R.; TEIXEIRA, A. A.; REZENDE, M. L. G.; CASTRO, M. W.; FAQUIN, A.; SÁ FILHO, M. F.; BARUSELLI, M. F. Pregnancy rate to TAI Nelore (*Bos indicus*) protocol submitted to 3 or 4 managements using Sincrogest® or CIDR® New and Reused. **Animal Reproduction**, Accepted, 2016b.

MOREIRA, F.; ORLANDI, C.; RISCO, C. A.; MATTOS, R.; LOPES, F.; THATCHER, W. W. Effects of presynchronization and bovine somatotropin on pregnancy rates to timed artificial insemination protocol in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 84, p. 1646–59, 2001.

MOTTA, J. C. L.; PENTEADO, L.; MINGOTI, R. D.; REZENDE, R. G.; COLLI, M. H. A.; LUGO, L. C.; BAYEUX, B. M.; BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S. Pregnancy rate to FTAI in Nelore and Crossbreed heifers submitted to J-Synch protocol (6 days). **Animal Reproduction**, Accepted, 2016.

MUNRO, R. K.; MOORE, N. W. Effects of progesterone, oestradiol benzoate and cloprostenol on luteal function in the heifer. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 73, p. 353–359, 1985.

NAVANUKRAW, C.; REDMER, D. A.; REYNOLDS, L. P.; KIRSCH, J. D.; GRAZUL-BILSKA, A. T.; FRICKE, P. M. A modified presynchronization protocol improves fertility to timed artificial insemination in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 1551–1557, 2004.

O'ROURKE, M.; DISKIN, M. G.; SREENAN, J. M.; ROCHE, J. F. The effect of dose and route of oestradiol benzoate administration on plasma concentrations of oestradiol and FSH in long-term ovariectomised heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 59, p. 1-12, 2000.

PENTEADO, L.; REZENDE, R. G.; MINGOTI, R. D.; COLLI, M. H. A.; MOTTA, J. C. L.; BAYEUX, B. M.; SANTOS, F. B.; VIEIRA, L. M.; SÁ FILHO, M. F.; BARUSELLI, M. F. Pregnancy rate of Nelore cows submitted to resynchronization 14 or 22 days after TAI. **Animal Reproduction**, Accepted, 2016.

PITALUGA, P. C. S. F.; SÁ FILHO, M. F.; SALES, J. N. S.; BARUSELLI, P. S.; VINCENTI, L. 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, p. 229–234, 2013.

POHLER, K. Y.; GEARY, T. C.; ATKINS, J.; PERRY, G.,; JINKS, E.; SMITH, M. Follicular determinants of pregnancy establishment and maintenance. **Cell and Tissue Research**, v. 349, p. 1–16, 2012.

PURSLEY, J. R.; MEE, M. O.; WILTBANK, M. C. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2alpha and GnRH. **Theriogenology**, v. 44, p. 915–923, 1995.

PURSLEY, J. R.; SILCOX, R. W.; WILTBANK, M. C. Effect of time of artificial insemination on pregnancy rates, calving rates, pregnancy loss, and gender ratio after synchronization of ovulation in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 2139–2144, 1998.

REZENDE, R. G.; FREITAS, B. G.; MINGOTI, R. D.; COLLI, M. H. A.; CARVALHO, J. B. P.; SÁ FILHO, M. F.; MOTTA, J. C. L.; MACEDO, G. G.; BARUSELLI, P. S. Follicular dynamics of Nelore cows submitted to resynchronization 14 days after TAI using injectable P4 for synchronization of follicular wave. **Animal Reproduction**, Accepted, 2016.

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

SÁ FILHO, M. F.; AYRES, H.; FERREIRA, R. M.; MARQUES, M. O.; REIS, E. L.; SILVA, R. C. P.; RODRIGUES, C. A.; MADUREIRA, E. H.; BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S. 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, p. 651–658, 2010a.

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

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

SÁ FILHO, M. F.; BALDRIGHI, J. M.; SALES, J. N. S.; CREPALDI, G. A.; CARVALHO, J. B. P.; BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S. Induction of ovarian follicular wave emergence and ovulation in progestin-based timed artificial insemination protocols for *Bos indicus* cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 129, p. 132–139, 2011b.

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

SÁ FILHO, M. F.; MARQUES, M. O.; GIROTTO, R.; SANTOS, F. A.; SALA, R. V.; BARBUIO, J. P.; BARUSELLI, P. S. Resynchronization with unknown pregnancy status using progestin-based timed artificial insemination protocol in beef cattle. **Theriogenology**, v. 81, p. 284–290, 2014.

SÁ FILHO, O. G.; MENEGHETTI, M.; PERES, R. F. G.; LAMB, G. C.; VASCONCELOS, J. L. M. Fixed-time artificial insemination with estradiol and

progesterone for *Bos indicus* cows II: Strategies and factors affecting fertility.

Theriogenology, v. 72, p. 210–218, 2009.

SALES, J. N. S.; CREPALDI, G. A.; GIROTTO, R. W.; SOUZA, A. H.; BARUSELLI, P. S. 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. **Animal Reproduction Science**, v. 124, p. 12–18, 2011.

SANTOS, M. H. dos. **Desenvolvimento de protocolos para IATF com 7 dias de permanência do CIDR® em fêmeas Nelore. 2016.** São Paulo, 80p. Dissertação (Mestre em Ciências), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

SOUZA, A. H.; GÜMEN, A.; SILVA, E. P. B.; CUNHA, A. P.; GUENTHER, J. N.; PETO, C. M.; CARAVIELLO, D. Z.; WILTBANK, M. C. Supplementation with estradiol-17 β before the last gonadotropin-releasing hormone injection of the ovsynch protocol in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 4623–4634, 2007.

SOUZA, A. H.; AYRES, H.; FERREIRA, R. M.; WILTBANK, M. C. A new presynchronization system (Double-Ovsynch) increases fertility at first postpartum timed AI in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v. 70, p. 208–215, 2008.

SOUZA, A. H.; VIECHNIESKI, S.; LIMA, F. A.; ARAUJO, R.; BÓ, G. A.; WILTBANK, M. C.; BARUSELLI, P. S. Effects of equine gonadotropin and type of ovulatory stimulus (GnRH or ECP) on progesterone-based timed AI protocols in dairy cows. **Theriogenology**, v. 72, p. 10–21, 2009.

TEIXEIRA, A. A. **Impacto da IATF na eficiência reprodutiva de vacas de leite de alta produção.** 2010. São Paulo, 69p. Dissertação (Mestre em Ciências), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

THATCHER, W. W.; BAZER, F. W.; SHARP, D. C.; ROBERTS, R. M. Inter-relationships between uterus and conceptus to maintain corpus luteum function in early pregnancy: Sheep, cattle, pigs, horses. **Journal of Animal Science**, v. 62 (Suppl. 2), p. 25–46, 1986.

TORRES-JÚNIOR, J. R. S.; PENTEADO, L.; SALES, J. N. S.; SÁ FILHO, M. F.; AYRES, H.; BARUSELLI, P. S. 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. **Animal Reproduction Science**, v. 151, p. 9–14, 2014.

VASCONCELLOS, G. S. F. M.; VIEIRA, L. M.; GUERREIRO, B. M.; FREITAS, B. G.; KAMETANI, M. K.; MIRANDA, M. S.; MOREIRA, R. C.; VIANNA, F. P.; BARUSELLI, P. S. Evaluation of the resynchronization efficiency using GnRH or estradiol benzoate at the beginning of the protocol in lactating Holstein cows. **Animal Reproduction**, v. 11, p. 360, 2014.

VIEIRA, L. M.; SÁ FILHO, M. F.; PUGLIESI, G.; GUERREIRO, B. M.; CRISTALDO, M. A.; BATISTA, E. O. S.; FREITAS, B. G.; CARVALHO, F. J.; GUIMARÃES, L. H. C.; BARUSELLI, P. S. Resynchronization in dairy cows 13 days after TAI followed by pregnancy diagnosis based on corpus luteum vascularization by color Doppler. **Animal Reproduction**, v. 11, p. 378, 2014.