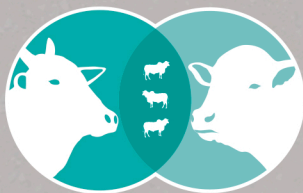


SIN- CRO- NIZE

SEUS CONHECIMENTOS NO PRINCIPAL
EVENTO DE **REPRODUÇÃO APLICADA**.



8º SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE
**REPRODUÇÃO ANIMAL
APLICADA**

ORGANIZAÇÃO



PATROCINADOR



MSD
Saúde Animal

APOIO



DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada (8. : 2018 : Londrina, PR).

Anais [recurso eletrônico] do 8. Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, 1 e 2 de agosto de 2018, Londrina, PR / coordenação de Pietro Sampaio Baruselli e Marcelo Marcondes Seneda. – São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2018.

191 p.

Disponível em: <https://siraa.com.br/novo/produto/8o-simposio-internacional-de-reproducao-animal-aplicada-2018/>

1. Biotecnologia da reprodução (Simpósios). 2. Reprodução aplicada animal (Simpósios). 3. Bovinos. I. Baruselli, Pietro Sampaio. II. Seneda, Marcelo Marcondes. III. Título. IV. SIRAA.

ANAIS SIRAA 2018

SUMÁRIO

1. PRODUÇÃO DE CARNE NA AUSTRÁLIA: DO MANEJO À AVALIAÇÃO GENÔMICA	3
---	---

Laércio Porto Neto

2. TECNOLOGIAS PARA AUMENTAR A PRODUTIVIDADE E O RETORNO ECONÔMICO DA PECUÁRIA DE CORTE	17
---	----

Armando Kichel

3. ALTERNATIVAS DE COMERCIALIZAÇÃO PÓS DESMAMA	41
--	----

Rodrigo Albuquerque

4. PREVENÇÃO DE ENFERMIDADES EM GADO DE CORTE	49
---	----

Enrico Ortolani

5. A SOLUÇÃO DOS PROBLEMAS DO LEITE NO BRASIL	56
---	----

Marcelo Pereira de Carvalho

6. THE IMPACT OF HEAT STRESS AND FERTILITY ON MILK PRODUCTION	63
---	----

Zvi Roth

7. UTERINE HEALTH IN DAIRY COWS	76
---------------------------------------	----

Stephen Leblanc

8. BEM ESTAR ANIMAL: MITOS E VERDADES	95
---	----

Antony Paulo Luenenberg

9. UTILIZAÇÃO ESTRATÉGICA DA TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES EM REBANHOS DE CORTE E DE LEITE	108
--	-----

Marcelo Seneda

10. UTILIZACION DE SEMEN SEXADO EN REBAÑOS DE LECHE Y CORTE	124
---	-----

Gabriel Bó

11. ATUALIZAÇÃO DOS PROTOCOLOS DE IATF, SOB/OPU-FIV E TETF PARA VACAS DE LEITE E DE CORTE	145
---	-----

Pietro Sampaio Baruselli

PRODUÇÃO DE CARNE NA AUSTRÁLIA: DO MANEJO À AVALIAÇÃO GENÔMICA

Laércio Porto Neto

CSIRO Agriculture and Food – Brisbane-Austrália

Conteúdo

- 1) Introdução a produção de carne na Austrália
- 2) “Meat and Livestock Australia Ltd” (MLA) – um ponto diferencial para a Austrália
- 3) Ponto de discussão: O poder e a utilidade das tecnologias genômicas aplicadas a produção de carne

1) Introdução a produção de carne na Austrália

A produção de carne da Austrália tem grande foco na exportação. Com apenas 25 milhões de cabeças de gado (ABS 2015-16), o país é o sétimo produtor e terceiro maior exportador de carne do mundo. Os maiores importadores de carne são o Japão, USA e Coreia do Sul. Também é importante o mercado de exportação de animais vivos, destinados principalmente a Indonésia e o Vietnã. O valor bruto da produção de gado e bezerro (incluindo exportação de animais vivos) em 2016-17 foi estimado em AUD\$12.7 bilhões (ABARES Ag commodities June 2017). Nesse sentido, a pecuária de corte tem muita relevância para economia local.

A Austrália é um país muito vasto com clima muito variável entre regiões. Seguindo essa variação climática, o sistema de produção de carne pode ser separado entre “Norte” e “Sul”. Na região “Norte”, de clima tropical com algumas regiões de clima quase desértico, predomina o gado Brahman e o Composto em sistema extensivo. O gado

composto Australiano é muitas vezes chamado de “Composto Tropical” e apresenta uma composição genética mista: *Bos indicus* e *Bos taurus*. Na região “Sul”, com clima mais ameno, o domínio é das raças taurinas e a produção também é extensiva, mas em escala menor (propriedades relativamente menores em área). A maioria dos confinamentos estão localizados na região central (sul da região Norte), próximos à produção de grãos e aos grandes frigoríficos. A região “Sul” é considerada livre carrapatos, enquanto no norte os animais precisam ser tolerantes ao parasita e às doenças por eles transmitidas. Independente da localização “Norte” ou “Sul”, o meio ambiente desafia o manejo e a produção. Na Austrália, grandes secas são frequentes em todas as regiões. As secas também limitam a produção agrícola e portanto afetam as ofertas de insumos para pecuária.

O gerenciamento das empresas rurais é muito enxuto. De forma geral, o sistema conta com mão de obra familiar. O proprietário da fazenda e sua família direta realizam a maior parte das atividades de rotina, incluindo as atividades de manejo no campo. Muitas vezes essa unidade de manejo (uma fazenda, uma família e alguns auxiliares) faz parte de um aglomerado de propriedades parte de uma empresa pastoral. No Norte, comumente as grandes empresas pastorais administram entre 50,000 e 600,000 cabeças de gado distribuídos em 10-20 propriedades. Independentemente do tipo de administração, a maioria das fazendas se caracteriza por “low input” para controlar os custos elevados de insumos, logística e mão de obra. Por exemplo, o fornecimento de suplemento mineral é raro ou quase inexistente no norte da Austrália, onde a pecuária é muito extensiva. Em muitas propriedades os animais são inspecionados uma única vez ao ano para “manejo completo”: desmana, descorna, vacinação, diagnóstico de gestação e embarque para abate.

Falta mão de obra especializada e os poucos profissionais que tem são concorridos e tem custo elevado. Da mesma forma que no Brasil, há muitos serviços que são exclusivos a Veterinários, porém na Austrália há somente sete faculdades de Veterinária onde a maioria dos formados, também como no Brasil, trabalha com pequenos animais em cidades. Tem que se ponderar que a população da Austrália esta por volta de 26 milhões de habitantes. A adoção de biotecnologias da reprodução é limitada principalmente pela baixa disponibilidade de mão de obra especializada, elevado custo de insumos e dificuldades logísticas.

Na situação extensiva comum no Norte, a adoção de tecnologia caminha diferentemente do que no Brasil. A prioridade tem sido dada a tecnologias que facilitam ou otimizam atividades de rotina da fazenda – verificação de disponibilidade de água, controle remoto de peso dos animais, controle da área de pastejo, detecção remota de animais doentes, etc... o manejo reprodutivo em muitas propriedades pode ser considerado rudimentar quando comparado ao alto padrão de produção intensiva observado em algumas propriedades do Brasil. Vale ressaltar que a FIV e a IATF vêm crescendo entre os rebanhos de elite e que existe disponível um programa nacional de melhoramento animal.

É admirável que, frente a tantos desafios, a produção extensiva do Norte prospere. O manejo está bem adaptado ao ambiente e ao sistema sócio econômico. Operações em propriedades semi-desérticas conseguem ser viáveis. Além dessas, existem muitas histórias de sucesso, como o robusto sistema nacional de rastreabilidade eletrônica, a crescente influência de gado europeu no Norte aumentando a produtividade, ou a infusão de gado cruzado Wagyu tornando Queensland um dos maiores produtores mundiais de carne “super marmorizada” atendendo a demanda de mercados externos.

2) “Meat and Livestock Australia Ltd” (MLA) – um ponto diferencial para a Austrália

O MLA (www.mla.com.au) é uma empresa não governamental que funciona como uma entidade de classe dos pecuaristas (“producer-owned”) e se destaca por seu papel único dentro da indústria Australiana. O MLA não visa lucro (“not-for-profit organization”) e tem como princípio investir em Pesquisa & Desenvolvimento para beneficiar a pecuária de corte. O MLA também presta serviços de Marketing à indústria da carne vermelha Australiana. A existência e atuação do MLA é um ponto importante de diferenciação entre a Austrália e outros países produtores de carne.

O MLA é financiado por um imposto que é recolhido em toda transação comercial de bovinos, ovinos e caprinos. Nos bovinos são recolhidos AU\$5,00 por transação/animal (ovinos e caprinos pagam uma porcentagem do valor da transação). Dessa forma, o MLA tem recursos próprios para investir em projetos de pesquisa, desenvolvimento, extensão e marketing que os produtores julguem ser importantes. Atividades rotineiras do MLA relacionadas ao marketing da carne visam promover, facilitar, manter e expandir o mercado Australiano. O orçamento estimado do MLA para Pesquisa & Desenvolvimento e Marketing no ano 2017-18 é de AU\$267.3M (<https://www.mla.com.au/about-mla/about-your-levy/>).

Exemplo do recolhimento e distribuição (por transação de gado):

Gado de campo (Grassfed): AU\$0.92 (Pesquisa & Desenvolvimento), AU\$3.66 (Marketing).

Gado de confinamento (Grainfed): AU\$1.50 (Pesquisa & Desenvolvimento), AU\$3.08 (Marketing).

Alguns exemplos de atuação do MLA

Atividades de marketing:

As atividades de marketing da carne vermelha são um ponto chave do MLA. O MLA está presente em todos os estados Australianos (escritórios locais) e também conta com 14 escritórios internacionais dedicados a um país ou região (e.g. Japão, Coreia do Sul, União Européia, Oriente Médio). O MLA também tem forte presença da mídia televisiva e na internet. O foco das campanhas nacionais são relacionados aos benefícios nutricionais da carne e internacionalmente, normalmente, são relacionados à segurança e qualidade de procedimento. O objetivo principal é promover a carne vermelha, firmar os mercados já estabelecidos e dar suporte para abrir novos mercados para o produto australiano.

Um exemplo de iniciativa: O “True aussie beef” é um selo de qualidade que visa dar transparência e certificação de origem do produto que chega ao mercado internacional. A marca “Austrália” é muito forte, reconhecida como um produto de origem conhecida e consistentemente de excelente qualidade. A qualidade da carne Australiana, não é apenas marketing, está bastante relacionada ao melhoramento genético e à padronização do sistema de classificação das carcaças conhecido como “MSA”.

True Aussie trade marks – by species type



<https://www.trueaussiebeefandlamb.com/>

TrueAussieTradeMarkLicenceApplicationCriteriaandProcess.pdf

;

Atividades de certificação de qualidade: O “Meat Standards Austrália” (MSA), selo de padrão de qualidade

(<https://www.mla.com.au/marketing-beef-and-lamb/meat-standards-australia/>).

O MSA foi desenvolvido na Austrália pela a indústria da carne. Esse processo visa melhorar a qualidade e consistência do produto carne. O fundamento é reduzir a surpresa em relação a qualidade de carne quando o consumidor final literalmente faz uma refeição com o produto. O padrão MSA é baseado em quase 800,000 testes de degustação em 11 países. Em teoria, se você comprar uma carne MSA 5 estrelas, o corte vai ter sempre a mesma consistência e será superior a um corte, por exemplo, com 3 estrelas.

Por volta de 10 atributos são utilizados para a definição do número de estrelas. São características do animal, do processamento do abate e manejo da carcaça. A raça do animal, o marmoreio da carne, ossificação do animal (estimativa da idade), o uso de tratamento hormonal para crescimento e o método de pendura no processamento – tudo isso – influencia a classificação do produto final e faz parte da equação matemática que resulta no número de estrelas conferido a cada corte. No ano passado mais de 2.7 milhões de bovinos e 5.7 milhões de ovinos foram abatidos dentro da classificação MSA, isso representou por volta de 40% do abate adulto, com um crescimento de 2% em relação a ano anterior. O MSA foi inicialmente desenvolvido por projetos de pesquisa financiados pelo MLA e hoje esta implementado em grande parte da cadeia produtiva.

Atividades de Pesquisa & Desenvolvimento:

As atividades desse portfólio são muito diversificadas e, de forma geral, refletem a preocupação dos produtores, apresentando uma mistura entre soluções de alta e baixa tecnologia. O MLA tem muitos escritórios regionais onde são organizados painéis de discussão buscando escutar os produtores e também para dar feedback das suas atividades.

É possível imaginar que os interesses são muito diversos e que os problemas muitas vezes são regionais variando entre nutrição, reprodução, manejo geral, controle de espécies invasoras, saúde, acesso a mercado, etc... O MLA tem que priorizá-los e atender o maior número possível de demandas dos fazendeiros.

Parte fundamental da existência do MLA se relacionam aos serviços de extensão. O MLA patrocina o desenvolvimento e manutenção de muitos recursos que apoiam as atividades rurais (<https://www.mla.com.au/extension-training-and-tools/>). Dentro dessa categoria temos, por exemplo, ferramentas para ajudar a calcular a lotação para manejo dos animais, ou para ajudar a calcular o custo de produção. O MLA oferece programas colaborativos para dar suporte a troca de conhecimento e informação entre os produtores. Por exemplo, o MLA financia muitos estudos de caso e discussão sobre as possíveis alternativas de manejo a serem implementadas para cada região. De forma geral esses recursos são bem recebidos pelos produtores envolvidos em realizar a pesquisa (ou implementar alguma inovação).

Na área de genética e genômica, além de apoiar e, de certa forma, subsidiar o programa nacional de seleção animal, o MLA tem investido no estabelecimento de grandes populações de referência para auxiliar (ou permitir) o cálculo de DEPs genômicas que funcionem bem entre diferentes raças (veja abaixo alguns exemplos de projetos financiados pelo MLA nessa área). O desenvolvimento de um teste genético para identificação do carácter mocho (sem chifres) também foi patrocinado pelo MLA em colaboração com o CSIRO e outras instituições. Esse teste, que atualmente está sendo melhorado trazendo-o para a última tecnologia disponível, fez e faz um ótimo serviço para ajudar a aumentar a frequência de animais mochos no rebanho australiano. A descorna e outros pontos confrontantes ao bem estar animal, como a castação e a exportação de animais vivos tem tido crescente atenção do MLA e outras autoridades da

indústria da carne. O MLA está agindo proativamente para adequar a produção Australiana antes que problemas de bem estar animal se tornem restrições de mercado. Já houve situações onde a exportação de animais vivos foi proibida devido a preocupações quanto ao bem estar animal, impactando muito a região “Norte” da Austrália.

3) Ponto de discussão: O poder e a utilidade das tecnologias genômicas aplicadas a produção de carne

As tecnologias genômicas podem melhorar as estimativas de DEP que são utilizadas para seleção animal. Eu acredito que seja inquestionável o poder dos modelos de genética quantitativa que embasam a metodologia das DEP (genômicas ou não). Temos excelentes exemplos de aumento de produtividade em várias espécies quando essa metodologia foi utilizada. A produção de leite, por exemplo, mais do que dobrou nos últimos 50 anos e boa parte desse aumento está relacionado a seleção genética via DEP.

Por outro lado, também aprendemos que seleção genética para uma única característica não é ideal. Voltando ao exemplo do gado de leite, vimos que a seleção para aumento do volume de leite por um longo período teve impacto negativo na fertilidade das fêmeas. Em outras palavras, as variações genéticas que foram selecionadas para aumentar a produção de leite, também tiveram efeito na fertilidade, mas em direção contrária.

É preciso balancear a seleção genética levando em conta todas as características do “objetivo de seleção” – formar um index que combina várias características para seleção. Nesse ponto a seleção para produção de carne tem sido o bom exemplo.

No norte da Austrália, a ênfase tem sido em características de crescimento, mas com uma crescente contribuição das características reprodutivas, que finalmente estão sendo reconhecidas como características fundamentais ao aumento da produtividade. O

Breedplan Jap Ox Index (que é um dos principais índices usados para seleção de touros) reconheceu essa crescente importância e re-definiu a ponderação de cada característica para o cálculo do índice. Já no “Sul” da Austrália, características de crescimento também são importantes, mas já há uma maior observância a outras características como qualidade de carcaça e reprodução; mais recentemente marmoreio e mais recentemente ainda seleção para eficiência alimentar. A formação de um índice produtivo que ajude a seleção é um dos focos dos programas de melhoramento Australianos.

Algumas características produtivas são mais fáceis de selecionar do que outras. Algumas características são fáceis de medir, com baixo custo para os fazendeiros (como peso). Outras características são mais difíceis de medir, como por exemplo características ligadas a atividade ovariana que precisa ser observada por um técnico treinado usando ultrassom. Além das dificuldades de manejo e disponibilidade dos fenótipos, também precisamos considerar a herdabilidade e a arquitetura genética de cada característica. Características de alta herdabilidade respondem mais rápido a seleção do que as de baixa herdabilidade. Algumas características apresentam arquitetura genética simples: poucos genes definem grande proporção da variabilidade genética. Nesse caso testes genéticos simples, baseados nos genes essenciais podem ser aplicados. Esse é o caso da musculatura dupla, que pode ser diagnosticada com base no gene da Miostatina. Também podemos pensar dessa forma sobre o teste para animais mochos: uma região específica do genoma controla a característica. Entretanto, para a maioria das características de interesse zootécnico, a herança é complexa: muitos genes envolvidos, cada um explicando uma pequena porcentagem da variabilidade genética. Como é possível ver o progresso rápido para características fáceis de medir, altamente herdáveis, é tentador colocar bastante ênfase nesse tipo de característica em programas de seleção. Mas, como sabemos, ignorar

outras características, como por exemplo fertilidade, não é a melhor opção. A melhor opção é encontrar um equilíbrio no programa de seleção para que os animais melhoradores sejam de fato mais produtivos como um todo.

Características relacionadas a fertilidade são difíceis de serem melhoradas. Os custos agregados a mensurar as características de fertilidade são altos (ex. mão de obra qualificada). São características poli-gênicas (definidas por muitos genes) e, normalmente apresentam baixa herdabilidade. Isso é especialmente verdade para as características de fertilidade das fêmeas. Para termos bom entendimento genético dos atributos de fertilidade das fêmeas precisamos de muitos dados (muitos animais observados); isto as vezes só é possível se combinarmos observações de muitos anos, o que prolonga o processo de seleção genética. O uso de características de fertilidade dos machos pode ser uma alternativa interessante visto que algumas características têm herdabilidade média ou alta, são mais comumente mensuradas e também são correlacionadas com a fertilidade das fêmeas. Este é o caso da circunferência escrotal e da porcentagem de espermatozoides com morfologia normal (observado no exame andrológico).

Dentro do formato de seleção “clássica”, para se saber se um touro possui mérito genético para características reprodutivas de fêmeas precisamos esperar anos. Na seleção clássica, precisamos utilizar o touro por alguns anos, esperar que as filhas entrem em reprodução, mensurar a capacidade reprodutiva das filhas para daí sabermos se esse touro será melhorador quanto às características de fertilidade de fêmeas. Ou seja, é necessário realizar o teste de progênie. Existem vários produtores, ou grupo de produtores, fazendo excelente trabalho nesse sentido tanto na Austrália como no Brasil. A avaliação em si é demorada, e o progresso lento, mas os resultados são confiáveis.

A genômica oferece uma excelente oportunidade: uma alternativa para minimizar os custos com testes de progênie. Podemos estimar o valor genético de um touro jovem

para diversas características sem termos nenhuma informação direta sobre seu mérito genético a não ser uma amostra de DNA. Com o teste de DNA, e a possibilidade de relacionar esse touro a população de referência podemos estimar o valor genético do touro para todas características mensuradas na população de referência. O teste de DNA pode ser utilizado individualmente ou servir como pré-seleção para o teste de prole, diminuindo o número de touros inscritos e aumentando a pressão de seleção.

A ideia é obter uma estimativa do valor genético o mais cedo possível na vida do animal, para melhor direcionar a utilização do reprodutor (a). Se conseguirmos estimar com precisão do valor genético do animal no começo da vida, podemos mais rapidamente ter aumento da eficiência reprodutiva e a melhora do rebanho como um todo.

O fator mais comumente limitante para se obter estimativas genéticas precisas é o volume de dados disponíveis. É necessário que um grande banco de dados de vacas, mensuradas para características reprodutivas esteja disponível: essa é a população referência. As vacas podem ser medidas para o número de bezerros nascidos durante a vida, dias em anestro pós-parto, intervalo entre partos, idade a puberdade, entre outras características que se deseja melhorar.

Além de se obter os dados fenotípicos, estes têm que ser ligados ao perfil de DNA dos animais, o que é feito utilizando-se de um painel de marcadores tipo “SNP” do inglês “single nucleotide polymorphism” que são pequenas variações no DNA do animal. Com a combinação dos dados reprodutivos com o perfil genético podemos estimar DEPs genômicas.

Isso já acontece no Brasil e no mundo. A seleção genética no gado de leite é feita assim em todos os países desenvolvidos, bem como a seleção na raça Angus, pioneira em grande escala entre as raças de carne. No Nelore temos algumas iniciativas, mas o volume de dados ainda não permite uma estimativa muito precisa. De forma similar, na Austrália,

temos a partir de 2018 a DEP genômica para uma característica semelhante ao intervalo entre partos na raça Brahman. Essas iniciativas são excelentes, agora precisamos melhorar a acurácia dessas estimativas, e isso se dará apenas com o aumento do volume de dados disponíveis.

Na Austrália, temos no momento pelo menos quatro projetos que objetivam coletar fenótipos reprodutivos e perfil de DNA em gado tropical visando DEPs mais precisas. Todos têm apoio do “Meat and Livestock Australia – MLA”, e utilizam metodologias diferentes, um utiliza rebanho experimental dedicado ao projeto, outros dois utilizam rebanhos comerciais de colaboradores e o quarto projeto visa organizar uma base de dados.

“The repronomics project”. Esse projeto é liderado pelo pesquisador Dr David Johnston (UNE, University of New England, Armidale) e esta sendo desenvolvido em três estações experimentais. Utilizando touros melhoradores, vacas Brahman, Santa Gertrudis e Droughmaster foram inseminadas. As novilhas terão idade à puberdade anotada e serão acompanhadas por várias estações de monta para que seja mensurada a sua capacidade reprodutiva ao longo da vida.

“The northern genomics project”. Esse projeto é liderado pelo pesquisador Prof Ben Hayes (QAAFI/UQ, University of Queensland, Brisbane) e utiliza rebanhos comerciais de colaboradores. O objetivo é obter DEPs para fertilidade que sejam precisas entre diferentes raças. De forma geral, a seleção genômica tem sido desenvolvida dentro de cada raça, esse projeto visa ir além, para isso 30,000 animais terão fenótipos anotados e também o perfil de DNA coletado. O projeto é focado em gado tropical do norte da Austrália, o que significa uma área muito grande com ambiente variado. Os rebanhos colaboradores estão espalhados em toda a região. As características reprodutivas nesse projeto são menos intensivas quando comparadas com o projeto anterior, pois os animais

são de rebanhos comerciais. As características são principalmente a idade da puberdade e indicadores precoces de fertilidade – prenhez na primeira e segunda (lactante) estação de monta. O objetivo é obter DEPs precisas para essas características reprodutivas. O projeto também visa investigar como melhor comunicar os resultados de DEP visando obter maior adoção entre os produtores.

“The Commercial cow fertility”. Esse projeto é liderado pela pesquisadora Dr Sigrid Lehnert (CSIRO, Brisbane) e utiliza rebanhos comerciais de colaboradores. Um dos objetivos do projeto é desenvolver uma metodologia que permita a coleta de fenótipo e perfis de DNA em escala comercial, favorecendo não só o produtor de touro, mas também o criador comercial. O custo para desenvolver, manter e crescer o banco de dados é o grande limitante ao desenvolvimento de tecnologias genômicas. Esse projeto objetiva desenvolver uma forma alternativa para a coleta de dados. Para baratear o custo do perfil de DNA, invés de fazermos o perfil genético de cada animal individualmente, faremos o perfil de grupos de dez animais – combinando as amostras de DNA antes da etapa no laboratório. O projeto gira em torno de coleta de fenótipo e de DNA com o mínimo de alteração da rotina das propriedades, visando maior adoção da tecnologia a ser desenvolvida. Esse projeto tem potencial para mudar como DEP são calculadas em escala comercial e, já que cada propriedade terá seu banco de dados de perfil genético e fenótipos, os produtores poderão começar a comprar touros que tem melhor potencial produtivo para cada propriedade: uma espécie de “DEP local” para cada touro jovem.

“The Female Reproduction Phenobank”. Esse projeto é liderado pela Dr Marina Fortes (Universidade de Queensland, Brisbane). Esse projeto visa organizar os dados (fenotípicos e genotípicos) relacionados a fertilidade de fêmeas da Austrália em uma única base de dados. Os dados disponíveis são de projetos passados, bem como os projetos em curso. O objetivo maior do projeto é reforçar a colaboração entre os grupos

participantes (mais de cinco instituições), desenvolver o banco de dados e utilizá-lo para pesquisa e desenvolvimento de DEP genômicas que tenham boa acurácia entre rebanhos, facilitando assim sua implementação.

Ainda dentro da genômica, além desses projetos que visam criar datasets para melhorar DEPs, existem iniciativas que visam a identificação de genes que controlam características produtivas. A identificação das variações de DNA (seja em genes ou regiões controladoras) e a definição de como melhor utilizá-los para gerar melhores DEPs é um ponto de forte discussão científica. Muitos grupos no Brasil, Austrália e outros lugares do mundo estão buscando responder à essas questões, cada vez observando maior número de animais e utilizando sequências completas de DNA e não apenas o perfil de marcadores dos chips. Nos próximos anos veremos a implementação dessas tecnologias que estão sendo desenvolvidas, e se tudo correr bem, será acessível a todos produtores incluindo produtores comerciais.

TECNOLOGIAS PARA AUMENTAR A PRODUTIVIDADE E O RETORNO ECONÔMICO DA PECUÁRIA DE CORTE

Armando Kichel¹; Rodrigo Giolo de Almeida¹; Rodrigo da Costa Gomes²

¹Engenheiro Agrônomo Pesquisador da Embrapa Gado de Corte – Campo Grande-MS

²Zootecnista Pesquisador da Embrapa Gado de Corte – Campo Grande-MS

1. Introdução

A grande demanda mundial por proteína animal, associada ao crescente aumento da população humana, tem levado a preocupação com aumento da produtividade de proteínas de origem animal de forma sustentável.

A pecuária brasileira vem sofrendo grandes transformações motivadas pelo aumento nos custos de produção, baixa produtividade e redução da rentabilidade, como também pelo acirramento da competitividade entre as *commodities*, exigindo diversificação de atividades, aumento da produtividade e qualidade dos produtos. Essa perspectiva torna-se ainda mais complexa pela pressão que as atividades agropecuárias vêm sofrendo para diminuir o impacto sobre o ambiente.

A degradação das pastagens é um dos maiores problemas da pecuária brasileira, afetando diretamente a sustentabilidade do sistema produtivo, em que as mesmas apresentam baixa produtividade e qualidade de forragem, o que repercute diretamente na produtividade por animal e por área, resultando em uma pecuária tardia, com baixos índices zootécnicos e baixa rentabilidade (Tabela 1), além de contribuir para a degradação do solo e do meio ambiente (KICHEL et al., 2014).

Define-se como pastagem degradada, aquela que está produzindo abaixo de 50% do seu potencial produtivo em relação às condições edafoclimáticas do local de exploração

e da espécie ou cultivar da forrageira utilizada, sem capacidade de recuperação natural (KICHEL et al., 2011).

A grande maioria das pastagens é implantada inadequadamente, além de mal manejada e explorada de forma extrativista, favorecendo o processo de sua degradação, tendo como os principais fatores envolvidos:

- a) Espécies ou cultivares de forrageiras inadequadas às condições de clima, solo e nível tecnológico adotado;
- b) Uso de semente de baixa qualidade e de taxa de semeadura insuficiente;
- c) Preparo de solo e técnica de plantio/semeadura inadequados;
- d) Ausência de práticas conservacionistas, o que leva à erosão do solo;
- e) Manejo inadequado da carga animal, geralmente com superpastejo;
- f) Ausência de práticas de prevenção e de controle de pragas, doenças e invasoras;
- g) Falta de fertilização na formação e na manutenção das pastagens.

A falta de forragem para a alimentação dos animais durante algum período do ano afeta a produtividade, promovendo perdas sucessivas e resultando em uma pecuária de ciclo longo, com baixa produção e qualidade da carne e, conseqüentemente, com baixa rentabilidade (Tabela 1). Estima-se que apenas 13% do total de animais abatidos são precoces, com idade de abate de até 32 meses, sendo que o restante (87%) sofre restrição alimentar em alguma fase da vida.

Tabela 1. Índices zootécnicos médios da pecuária de corte em pastagem degradada comparada com pastagem recuperada com adubação de manutenção ou com a integração lavoura pecuária- ILP

Índices	Pastagem Degradada	Pastagem Recuperada
Natalidade	60%	82%
Mortalidade até a desmama	8%	2,5%
Taxa de desmama	54%	80%
Peso na desmama	160 kg	200 kg
Mortalidade pós-desmama	4%	1%
Idade à 1ª cria	4 anos	2 anos
Intervalo entre partos	21 meses	12 meses
Idade de abate	4,0 anos	2,0 anos
Taxa de abate ou desfrute	17%	34 %
Lotação	0,9 animal/ha	3,0 animais/ha
Ganho PV/animal/dia	246 g	420 g
Ganho PV/animal/ano	90 kg	153 kg
Produção de carne/ha/ano	42 kg	230 kg
Ciclo da Pecuária	Tardia	Precoce
Qualidade de carne	Baixa	Alta
Rentabilidade	Baixa ou negativa	Alta

Fonte: (Kichel et al., 2014).

Neste trabalho foi considerado um animal como sendo 0,75 unidade animal (UA) e uma UA correspondente a 450 kg de peso vivo.

Para empreender uma pecuária de corte de forma sustentável, a recuperação ou renovação das pastagens, em algum momento, torna-se inevitável e definida como:

Recuperar uma pastagem consiste no restabelecimento da produção de forragem de acordo com o interesse econômico, mantendo-se a mesma espécie ou cultivar e **Renovar**

uma pastagem consiste no restabelecimento da produção da forragem com a introdução de uma nova espécie ou cultivar, em substituição àquela degradada.

De forma geral, podem ser divididos em dois os sistemas de recuperação e renovação de pastagens, quais sejam: recuperação ou renovação com o uso de agricultura associada ou não com o componente florestal, ou seja, integração lavoura-pecuária-floresta (ILPF), e recuperação ou renovação direta da pastagem.

Segundo Kichel et al. (2014b) a recuperação das pastagens em sistema de integração lavoura-pecuária-floresta (ILPF) proporcionam grandes benefícios para a pecuária, pela oferta de alimentos em maior quantidade e qualidade, com menor custo de produção, entre as opções alimentares estão a formação do pasto, a produção de grãos, a produção de silagem e feno, além do aproveitamento de resíduos agrícolas, bem-estar animal o que proporciona aumento na produtividade e qualidade de carne e de leite, principalmente na entressafra.

Entre vários sistemas integrados de produção agropecuária, a integração lavoura-pecuária-floresta é definida como: a produção sustentável de grãos, fibra, carne, leite, lã e produtos florestais dentre outros, realizada na mesma área, em plantio consorciado, em sucessão ou rotação, buscando efeitos sinérgicos e potencializadores entre os componentes do agroecossistema (BALBINO et al., 2011).

Os benefícios obtidos com a utilização de sistemas integrados de produção estão relacionados com o sinergismo entre as atividades, em que a pastagem é beneficiada pelo condicionamento químico do solo, por meio da correção e da adubação residuais da lavoura, sendo que esta é beneficiada pela melhoria das condições físicas e biológicas do solo proporcionadas pela pastagem.

Nesse contexto, o solo, como base no agroecossistema, é entendido como ponto focal das inter-relações dos componentes (lavoura e pecuária) do sistema e a manutenção

de suas propriedades, tornando-se a chave para a produção sustentável, tendo como reflexos positivos para o sistema de produção: a maior eficiência no uso dos recursos (naturais, insumos, mão de obra e energia), a diminuição dos impactos ambientais, maior eficiência econômica e flexibilidade frente a riscos biológicos, climáticos e mercadológicos (ALMEIDA et al., 2015).

Os sistemas integrados têm por objetivo maximizar a utilização dos ciclos biológicos das plantas e de animais, com seus respectivos resíduos, assim como efeitos residuais de corretivos e fertilizantes. Visa ainda minimizar e aperfeiçoar a utilização de agroquímicos, com aumento da eficiência no uso de máquinas, equipamentos e mão-de-obra, gerar emprego, renda, melhorar as condições sociais no meio rural, redução dos riscos climáticos, mercadológicos e dos impactos ao meio ambiente.

A utilização de sistemas de ILPF, além de tornar a pecuária mais precoce, aumentando a rentabilidade e a competitividade das cadeias da carne e do leite nos mercados nacional e internacional, reduz a pressão por abertura de novas áreas com vegetação nativa, contribuindo para a preservação ambiental.

A sobrevivência das propriedades especializadas, que trabalham com um só produto, seja da pecuária, da agricultura ou das florestas, estará ameaçada em alguns anos. Contudo, sistemas integrados exigem qualificação e profissionalismo dos proprietários, administradores, técnicos e demais empregados, além de recursos para investimentos (Kichel, 2011).

Na conjuntura atual, surgem novas oportunidades para os empresários rurais adotarem uma postura empreendedorista, buscando sua própria qualificação e montando equipes multidisciplinares para os novos desafios em projetos sustentáveis em ILPF.

Neste contexto, o uso de sistemas integrados é uma opção muito conveniente, por serem mais competitivos que sistemas monoespecíficos ou especializados, sendo assim, quanto mais cedo o produtor adotar a integração, mais se beneficiará desta oportunidade.

Os Principais sistemas de integração agropecuária podem ser classificados em quatro modalidades (Balbino et al., 2011):

- a) Integração Lavoura-Pecuária (ILP) ou Agropastoril: sistema de produção que integra o componente agrícola e pecuário em rotação, consórcio ou sucessão, na mesma área e em um mesmo ano agrícola ou por múltiplos anos.
- b) Integração Pecuária-Floresta (IPF) ou Silvipastoril: sistema de produção que integra o componente pecuário (pastagem e animal) e florestal, em consórcio.
- c) Integração Lavoura-Floresta (ILF) ou Silviagrícola: sistema de produção que integra o componente florestal e agrícola pela consorciação de espécies arbóreas com cultivos agrícolas (anuais ou perenes).
- d) Integração Lavoura-Pecuária-Floresta (ILPF) ou Agrossilvipastoril: sistema de produção que integra os componentes agrícola, pecuário e florestal em rotação, consórcio ou sucessão, na mesma área, onde a componente lavoura restringe-se ou não à fase inicial de implantação do componente florestal.

A utilização desses sistemas, nas situações em que é possível a sua adoção, passa a ser de grande importância para a recuperação de áreas degradadas, tanto de pastagens como de lavouras.

A recuperação das pastagens diretamente é recomendada quando o diagnóstico das condições edafoclimáticas, de infra-estrutura, de mão-de-obra e financeiras do sistema de produção não forem favoráveis para adotar-se sistemas de ILPF, sendo que, neste caso, todos os custos do investimento com a recuperação são amortizados pela produção animal, com menor rentabilidade.

Entretanto, a recuperação das pastagens, por meio da ILPF, é recomendada quando o diagnóstico for favorável para a produção de grãos, fibra, energia, entre outras. Nestes sistemas, grande parte dos investimentos para a recuperação das pastagens é amortizada pela produção das lavouras e florestas.

Com a introdução dos sistemas de ILPF, além da intensificação e maior eficiência do uso da terra, são gerados benefícios ao meio ambiente, tais como: preservação da vegetação nativa e maior sequestro de carbono, aumento da matéria orgânica do solo e redução da erosão, além de melhoria das condições microclimáticas e do bem-estar animal. Quanto aos benefícios econômicos gerados pela diversificação do sistema de produção, destacam-se: a redução dos custos de produção, aumento de produtividade e a diminuição do risco climáticos e mercadológicos inerente à agropecuária.

2. Produção brasileira de carne bovina e seu potencial produtivo

Segundo dados da Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes (ABIEC, 2016), o Brasil possui um rebanho bovino de aproximadamente 209,13 milhões de cabeças em área de 167,2 milhões hectares de pastagem, com lotação média de 1,25 cabeças por hectare e produção de 9,56 milhões de toneladas de carne, com produtividade média de apenas 57 kg ha⁻¹ de carne ao ano.

Considerando-se apenas o sistema de recria e engorda de animais, a produtividade média das pastagens degradadas é de cerca de 30 quilos de carne/ha/ano, enquanto que em pastagens recuperadas, bem geridas e com sistemas de integração lavoura-pecuária, pode atingir até 450 kg/ha/ano (Tabela 2).

O potencial de produtividade da pecuária de corte na ILP, em ciclo completo de cria, recria e engorda, (Tabela 2), considerando-se uma lotação de 3,0 animais/ha/ano e produtividade de 230 kg de carne/ha/ano ou

76,6 kg de carne/animal/ano, que corresponde a um ganho médio diário de 420 g/animal/dia, proporciona um aumento na produtividade de carne de 5,47 vezes a média atual. Analisando somente as fases de recria e engorda, é possível aumentar a lotação para 4 a 5 animais/ha/ano, com produtividade de 450 kg de carne ou 30 arrobas/ha/ano, o que equivale a 110 kg de carne/animal/ano ou 220 kg de peso vivo/animal/ano, correspondendo a um ganho médio de 600 g/animal/dia (Tabela 2).

Com adoção das tecnologias disponíveis e qualificação da mão-de-obra em todos os níveis da pecuária de corte, pode-se obter um grande aumento na produção nacional de carne bovina. Podemos analisar um exemplo com a recuperação de 4,0 milhões de hectares de pastagens degradadas, utilizando ILP, em que 50% da área ficaria disponível para pastagem (pecuária de ciclo completo) e os outros 50% para lavoura anual (soja). Admitindo-se uma produtividade de carne de 230 kg/ha/ano, poder-se-ia atingir uma produção anual de 460.000 t, ou seja, cerca de 283% a mais de carne do que a mesma área com pastagem degradada (30 kg de carne/ha/ano) e ainda liberando 2 milhões de hectares para a produção de grãos, sem a necessidade de abertura de novas áreas.

Antes de qualquer tomada de decisão para escolher o melhor sistema de produção ou tecnologia a ser adotada, deve-se realizar um adequado diagnóstico da propriedade, produtor, gestor e equipe de trabalho (Kichel et al., 2010a). Na tabela abaixo são apresentados alguns exemplos de sistemas de produção e seus respectivos índices zootécnicos.

Tabela 2. Produção de carne bovina em diferentes níveis tecnológicos, com respectiva taxa de lotação, taxa de desfrute e produtividade de carne (kg/ha/ano).

Sistema	Lotação (cab/ha)	Taxa de desfrute (%)	Produtividade (kg/ha/ano)
1. Pastagem degradada	0,7	17	30
2. Pastagem melhorada	1,5	19	60
3. Pastagem intensiva	2,0	21	90
4. 3+Suplementos	2,2	22	120
5. 4+Confinamento	2,5	25	150
6. 5+Integração ILP	3,0	35	230
7. 6+Recria e engorda	5,0	40	450
8. 7+Pastagem irrigada	9,0	42	1.125

Fonte: (Kichel et al., 2011), onde uma cabeça de bovino é igual a 0,75 UA em média.

Os resultados da tabela acima, mostram claramente a importância da intensificação da pecuária de corte, com investimento em pastagens, aumentando a oferta de forragem de melhor qualidade, reduzindo ou eliminando a sazonalidade de pastagem, associado à suplementação, semiconfinamento e confinamento, com objetivo de aumentar a lotação, taxa de desfrute e produtividade de carne por animal e por área. No trabalho citado não foram apresentados os custos de produção bem como a rentabilidade de cada sistema, que será estimado a seguir.

3. Principais sistemas de produção de carne bovina e estimativas de produtividade, custo de produção e rentabilidade.

Este trabalho tem como objetivo auxiliar os pecuaristas, na escolha do sistema de produção mais adequado às condições da fazenda em termos de: localização, clima, solo, topografia, extensão de área, infraestrutura, nível tecnológico, recursos financeiros, mão de obra, insumos, mercado, gestão da empresa, entre outros.

Para estimar a produtividade de carne, custo de produção e rentabilidade, foi escolhido o sistema de recria e engorda de animais, ou seja, da desmama ao abate, em **quinze** diferentes alternativas de produção, envolvendo **três** tipos de pastagem e **cinco** estratégias de nutrição descritos abaixo. Note-se que a maior parte das informações abaixo pode ser aplicada a sistemas de cria de bovinos.

Para estimar o custo de produção animal, nos diferentes sistemas, foram utilizados dados médios de várias fazendas de recria e engorda, com escala de produção, em torno de 1.500 animais, sem considerar os custos da aquisição dos mesmos, suplementação proteica e ou energética, semiconfinamento, condicionamento e confinamento (Tabelas 3 e 4).

O termo **condicionamento** refere-se à etapa anterior ao confinamento, em que se fornece suplementação energética ainda a pasto com objetivo de: adaptar os animais ao consumo de ração, aumentar o peso vivo na entrada do confinamento, reduzir o tempo de confinamento e aumentar a rentabilidade da engorda. Entretanto, para adoção desta tecnologia, é necessário que a propriedades possuam boa oferta de forragem no período de 60 a 90 dias que antecede o início do confinamento, quando é realizado o condicionamento.

A) Sistema de produção utilizando **pastagem degradada** com lotação média de 0,65 UA/ha/ano.

A-1: Pastagem degradada mais sal mineral.

A-2: 1+suplementação proteica, média 1,0 kg/cabeça/dia, por 120 dias na entressafra

A-3: 2+ semiconfinamento, média 4,0 kg/dia de ração por 120 dias;

A-4: 1+ confinamento de 120 dias, custo média R\$ 8,00/dia;

A-5: 1+ condicionamento, média de 2,0 kg/dia de ração por 90 dias + confinamento de 90 dias.

B) Sistema de produção utilizando **pastagem recuperada diretamente**, com adubação de manutenção anual para uma lotação média de 2,25 UA/ha/ano.

B-1: Pastagem recuperada e adubação anual mais sal mineral;

B-2: 1+suplementação proteica, média 1,0 kg/dia de ração por 120 dias, na entressafra;

B-3: 2+ semiconfinamento, média 4,0 kg/dia de ração por 120 dias;

B-4: 2+ confinamento de 90 dias, custo média R\$ 8,00/dia;

B-5: 2+ condicionamento, média de 2,0 kg/dia de ração por 90 dias + confinamento de 60 dias.

C) Sistema de produção, utilizando **pastagem recuperada com integração lavoura pecuária- ILP**, com 2 anos de lavoura (2 safras de soja) e 2 anos com pecuária (duas safrinhas de pasto), com total de 32 meses de pastejo em cada ciclo, com adubação de manutenção no segundo ano e lotação média de 3,5 UA/ha/ano.

C-1: Pastagem recuperada e adubação anual mais sal mineral;

C-2: 1+suplementação proteica, média 1,0 kg/dia de ração por 90 dias na entressafra;

C-3: 2+ semiconfinamento, média 4,0 kg/dia de ração por 120 dias;

C-4: 2+ confinamento de 90 dias, custo média R\$ 8,00/dia;

C-5: 2+ condicionamento, média de 2,0 kg/dia de ração por 90 dias + confinamento de 60 dias.

Tabela 3. Estimativa de custo por animal de 0,75 UA e 1,0 UA em pastagem recuperada e com adubação de manutenção anual, **sem ILP** na recria e engorda de animais com rebanho médio de 1.500 animais.

Variáveis	R\$/0,75 UA	R\$/1,0 UA	%
Pastagem	210,00	280,00	46,1
Suplementação mineral	63,00	84,00	13,8
Medicamentos	12,00	16,00	2,7
ADM + mão-de-obra	65,00	87,00	14,3
Manutenção Infraestrutura	25,00	33,00	5,5
Outros	20,00	26,00	4,4
Depreciação	25,00	33,00	5,5
Pró-labore	35,00	47,00	7,7
TOTAL/ano	455,00	606,00	100 %
Total/ mês	38,00	50,50	
Total/dia	1,26	1,68	

Tabela 4. Estimativa de custo por animal de 0,75 UA e 1,0 UA em pastagem recuperada **com ILP**, na recria e engorda de animais com rebanho médio de 1.500 animais.

Variáveis	R\$/0,75 UA	R\$/1,0 UA	%
Pastagem	73,00	97,00	23,0
Suplementação mineral	63,00	84,00	19,8
Medicamentos	12,00	16,00	3,8
ADM + mão-de-obra	65,00	87,00	20,4
Manutenção Infraestrutura	25,00	33,00	7,9
Outros	20,00	26,00	6,3
Depreciação	25,00	33,00	7,9
Pró-labore	35,00	47,00	11,00
TOTAL/ano	318,00	424,00	100 %
Total/ mês	26,50	35,30	
Total/dia	0,88	1,18	

Para estimar o custo por animal, em pastagem degradada, foram utilizados os mesmos custos da tabela 3, descontado o valor da pastagem, onde a mesma foi estimada em R\$ 55,00/animal/ano a título de manutenção, com estimativa de custo de produção de R\$ 25,00/animal/ano.

Abaixo, são apresentados os principais parâmetros utilizados para avaliar a rentabilidade da recria e engorda em diferentes sistemas de produção.

- Utilização de bezerros de 7 a 9 meses, com peso médio de 210 kg e abate com 540 kg;
- Valor do bezerro com média de 7,0 @ de R\$ 1.250,00, posto na fazenda;
- Custo por animal em pastagem degradada de RS 0,83/dia e R\$ 25,00/mês;

- Custo por animal em pastagem recuperada com adubação de manutenção de R\$ 1,27/dia e R\$38,00/mês;
- Custo por animal em pastagem recuperada com ILP de R\$ 0,88/dia e R\$ 26,50/mês;
- Custo do suplemento proteico: R\$ 1,00/kg;
- Custo do concentrado para semiconfinamento e condicionamento n: R\$ 0,75/kg;
- Custo do confinamento: R\$ 8,00/animal/dia;
- Ganho médio diário de peso vivo no confinamento de 1,50 kg/animal;
- Resultado esperado com a suplementação proteica no período seco por 90 a 120 dias com média de 1,0 kg/dia de ração: custo de R\$ 1,00/dia, aumento do GMD de PV de 0,25 kg/dia, com o valor da @ de R\$ 135,00 e receita bruta (RB) de R\$ 1,16/dia;
- Semiconfinamento em pasto degradado, com média de 4,0 kg de ração/animal/dia em 120 dias, com GMD de 0,80 kg.
- Condicionamento em pasto degradado, média de 2,0 kg de ração/animal/dia, em 90 dias, com GMD=0,60 kg.
- Semconfinamento em pasto adubado e ILP, média de 4,0 kg de ração/animal/dia, em 120 dias, com GMD =1,00 kg.
- Condicionamento em pasto adubado e ILP, média de 2,0 kg de ração/animal/dia, em 90 dias GMD =0,80 kg.
- Abate com 540 kg de peso vivo (PV) e rendimento de carcaça (RC) podendo variar de 52% a 55% de 18,72 a 19,8 @ por animal, para definir o rendimento de carcaça em %, foram considerados a idade de abate e o nível nutricional entre os diferentes sistemas de produção.
- Valor da @ considerado foi de R\$135,00 já descontados os impostos sem bonificações; R\$138,00 com bonificação de acabamento e R\$141,00 com bonificações de acabamento e precoce.

Os resultados referentes ao ganho de peso vivo com os animais em pastejo foram obtidos sem restrição de volumoso, com oferta de forragem em torno de 5% do peso vivo de matéria seca de folhas, para todos os sistemas. A fim de computar ganhos indiretos do confinamento, foi considerando o período que os animais não utilizam as pastagens, onde as mesmas serão utilizadas por outros animais da fazenda, considerando a mesma lotação e GMD de cada sistema, somente a pasto e descontados os custos de produção.

O capital investido foi considerado como a soma das despesas + depreciação + pró-labore (Tabela 3 e 4) mais o valor bezerro no mercado. Foi considerado como margem bruta o resultado de todas as receitas menos as despesas e enquanto que a margem operacional, também denominada de margem líquida, foi obtida através da margem bruta menos depreciação e pró-labore. O lucro ou receita líquida foi definido como o resultado da margem operacional menos a remuneração do capital investido, sem considerar a capital terra, pois o mesmo vem sendo valorizado de 5 a 15 % acima da inflação.

Em função dos dados utilizados para avaliar os diferentes sistemas de produção de carne bovina, na fase de recria engorda, os resultados mostram a importância da pastagem para a intensificação da pecuária de corte com rentabilidade (Tabela 5 e 6).

Os resultados obtidos no sistema A, com pastagem degradada, ou seja, de baixa qualidade, principalmente na entressafra, apresentou a margem operacional (M.Op) muito baixa, com pouca diferença entre os níveis de nutrição. No entanto, quando aplicado juro de 6 % ao ano sobre o capital investido no sistema, a rentabilidade foi negativa e maior quando utilizado o confinamento.

A análise destes resultados permiti sugerir que para propriedades que utilizam pastagem degradada, a melhor alternativa é utilizar apenas suplementação mineral e não sendo econômico intensificar a produtividade com o uso do semiconfinamento, condicionamento e confinamento (Tabela 5 e 6). Neste caso o sistema de cria poderá ser

mais rentável. Obviamente que tal julgamento pode ser influenciado por variáveis de mercado como preço de grãos e da arroba que, em determinados períodos pode viabilizar a engorda em confinamento, independente da baixa produtividade na fase de recria.

Entretanto, para o sistema B, que utiliza pastagens recuperadas diretamente e com adubação de manutenção anual e para o sistema C, que utiliza pastagens de ILP, os houve maior resposta econômica, com o aumento do nível nutricional, sendo a maior rentabilidade obtida para o sistema misto de terminação dos animais (B5 e C5), com condicionamento de baixo quantidade de ração por 60 a 90 dias e confinamento curto de 60 dias. A margem operacional e o lucro foram maiores no sistema que utilizam a integração lavoura- pecuária (ILP) em todos os níveis nutricionais.

Tabela 5. Estimativa de produtividade, custo de produção e rentabilidade na recria e engorda de bovinos em diferentes sistemas de produção, com peso médio de entrada 210 kg PV e abate de 540 kg PV.

Sistema	Lot UA/ha	Lot an/ha	GMD g/dia	TRE mês	C.Prod. R\$/an	C.sSC R\$/an	C.Tot R\$/an	Inv. R\$/ha
A-1	0,56	0,75	270	40,7	1018	0	2.268	1701
A-2	0,56	0,75	353	31,2	780	360	2.390	1793
A-3	0,68	0,90	421	26,1	653	600	2.502	2252
A-4	0,75	1,00	574	18,2	355	1.080	2.685	2685
A-5	0,75	1,00	570	19,3	408	975	2.632	2632
B-1	2,25	3,00	411	26,8	1018	0	2.268	6804
B-2	2,25	3,00	494	22,3	847	240	2.338	7014
B-3	2,48	3,30	628	18,2	692	480	2.422	7993
B-4	2,70	3,60	724	15,2	464	840	2.554	9194
B-5	2,78	3,70	700	15,7	521	735	2.505	9269
C-1	3,00	4,00	575	19,1	506	0	1.759	7036
C-2	3,00	4,00	658	16,7	443	90	1.783	7132
C-3	3,30	4,40	780	14,1	374	450	2.073	9121
C-4	3,63	4,84	855	12,9	262	810	2.322	11238
C-5	3,75	5,00	841	13,1	294	705	2.249	11245

Continuação da Tabela 5

Sistema	RC %.	Prod. @/an	R\$/ @	RB R\$/ha	M.Op R\$/ha	M.Op R\$/ha/ano	Rem 6%aa	L R\$ ha/ano
A-1	52	18,72	135	1895	193	57	346	-45
A-2	52	18,72	135	1895	104	40	280	-68
A-3	53	19,08	138	2370	117	54	294	-81
A-4	54	19,44	141	2741	85	56	244	-105
A-5	54	19,44	141	2741	132	82	254	-76
B-1	53	19,08	135	7728	925	414	912	6
B-2	53	19,08	138	7899	885	476	782	55
B-3	54	19,44	141	9045	1053	694	727	215
B-4	54	19,44	141	9868	803	634	699	82
B-5	54	19,44	141	10142	963	736	728	180
C-1	53	19,08	138	10532	3478	2185	672	1763
C-2	53	19,08	141	10760	3627	2606	596	2178
C-3	54	19,44	141	12060	2939	2501	643	1954
C-4	55	19,80	141	13513	2862	2662	725	1988
C-5	55	19,80	141	13960	3112	2851	737	2176

Legenda: Lotação em unidade animal por hectare (lot. UA/ha); Lotação em animais por ha de 0,75 UA (an/ha); Ganho médio diário de peso vivo em gramas (GMD); Tempo de recria e engorda (TRE); Custo de produção em R\$ por animal (C.pro. R\$/an); Custo da suplementação (s), semiconfinamento (S) e confinamento (C) em R\$ por animal (C.sSC R\$/an); Custo total em R\$ por animal (C.Tot. R\$/an); Investimento em R\$ por hectare (Inv. R\$/há); Rendimento de carcaça em percentagem (RC %); Produção de @ por animal (Pro. @/an); Margem operacional (M.Op); Remuneração do capital investido em 6 % ao ano. (Rem. 6% aa) e Lucro (L).

Tabela 6. Dados complementares da tabela 5 referentes a: Idade de abate; Custo a suplementação (supl), semiconfinamento (semic) e confinamento (conf); Receita bruta por animal (RB R\$/an); Margem operacional por animal (M.Op R\$/an)); Confinamento em dias (Conf. dias) e Ganho indireto do confinamento em R\$/ha (GI Cof R\$/ha).

Sistema	Idade Abate	Supl R\$/an	Semic R\$/an	Cof R\$/an	RB R\$/an	M.OP R\$/an	Conf dias	GI Cof R\$/ha
A-1	48,7	-	-	-	2.527	259	-	-
A-2	39,2	360	-	-	2.527	137	-	-
A-3	34,1	240	360	-	2.633	131	-	-
A-4	26,2	120	-	960	2.741	56	120	19
A-5	27,3	120	135	720	2.741	109	90	14
B-1	34,8	-	-	-	2.576	308	-	-
B-2	30,3	240	-	-	2.633	295	-	-
B-3	26,2	120	360	-	2.741	319	-	-
B-4	23,2	120	-	720	2.741	187	90	103
B-5	23,7	120	135	480	2.741	236	60	69
C-1	27,1	-	-	-	2.633	874	60	
C-2	24,7	90	-	-	2.690	907	-	-
C-3	22,1	90	360	-	2.741	668	-	-
C-4	20,9	90	-	720	2.792	470	90	586
C-5	21,1	90	135	480	2.792	543	60	390

Para verificar a importância das pastagens na rentabilidade da recria e engorda, foram simulados sistemas de produção de carne, com sete tipos de pastagens com diferentes níveis produtivos e valor nutricional (Tabela 7), apresentando-se suas

respectivas lotações, ganho de peso vivo e tempo de recria e engorda, prevendo apenas suplementação mineral.

Para o cálculo dos custos referentes ao investimento, custo da @ produzida, margem operacional e lucro, foram utilizados os custos contidos nas tabelas 3 e 4, complementados pelos parâmetros descritos a seguir.

- Aquisição do bezerro (210 kg PV) = R\$ 1.250,00 ou R\$ 178,57/@.
- Ganho médio de peso vivo na recria e engorda de 300 kg.
- Custo médio mensal sem ILP R\$ 38,00/an /mês (Tabela 3).
- Custo médio mensal com iLP R\$ 26,50/an /mês (Tabela 4).
- Rendimento de carcaça médio de 53%= 18 @ a R\$ 135,00/@.
- Recita bruta (RB) = R\$ 2.430,00 por animal abatido.
- O custo total foi considerado o valor do bezerro de R\$ 1.250,00, mais custo de produção de R\$ 38,00/animal/mês e mais remuneração do investimento de 6% aa.

Os resultados, demonstram claramente quanto melhor a qualidade das pastagens, maior será a produtividade por animal, por área e maior a rentabilidade da pecuária de corte, com esta análise, foi possível também encontrar o ponto de equilíbrio, definido como o ganho mínimo de peso vivo por animal, necessário para amortizar os custos de produção e obter uma margem operacional e ou lucro igual a zero (Tabela 7).

Pelas condições que foram realizadas estas simulações, principalmente pelo valor atual da reposição de bezerros e da @ comercializada, podemos afirmar que: em sistemas de produção, com lotação de um animal/ha e ganho de peso vivo de 116 kg/animal/ano, a margem operacional é igual a zero, havendo um prejuízo de R\$ 109,00/ha/ano, quando aplicados juros sobre o capital investido para a produção animal. Entretanto para a mesma lotação, com ganho de peso vivo de 146 kg/animal/ano, a margem operacional se torna positiva (R\$ 106,00/ha/ano) e o lucro iguala a zero.

Tabela 6. Estimativa de produtividade, custo de produção e rentabilidade na recria e engorda de animais, em pastagens com diferente capacidade de suporte e ganho de peso vivo, com peso inicial médio de 210 kg e abate 510 kg e ganho médio de peso vivo de 300 kg por animal no período.

Variáveis	Lot. an	GPV kg/an	TRE	Inv. /ha	M.Op ha/ano	C.@ M.Op	R.inv 6% aa	L/ha /ano	C.@ L
Pastagens	ha	ano	Mês	R\$					
Degradado	0,50	75	48	1537	-81	171	259	-145	200
Fraco	0,75	90	40	2078	-77	151	301	-163	176
Regular	1,00	116	31	2428	00	135	283	-109	151
Médio	1,00	146	25	2200	106	122	214	00	135
Bom	2,00	150	24	4324	268	120	409	127	131
Ótimo	3,00	175	20	6030	756	112	489	463	121
ILP	4,00	210	17	6800	2.060	95	502	1.707	101

Legenda: Lotação animal por ha (Lot./an/ha); Ganho de peso vivo em kg por animal (GPV kg/an); Tempo de recria e engorda em mês (TRE); Investimento em animal mais custo de produção por ha (inv./ha); Margem operacional por ha ano (MOp/ha/ano); Custo da @ produzida em função da margem operacional (C @ MOP); Remuneração do investimento por ha em 6 % ao ano (R invest 6% aa); Lucro por ha por ano (L/há/ano) e Custo da @ produzida em relação a receita líquida (C. @ L).

Neste trabalho de simulação, referentes aos custos de produção, produtividade e rentabilidade, com três tipos de pastagens e cinco níveis nutricionais, foi utilizado como exemplo o sistema de recria e engorda. No entanto, as mesmas simulações poderão ser realizadas para o sistema de cria, sendo que os resultados esperados terão a mesma tendência, indicando as pastagens como o principal insumo na reprodução animal, aumentar a produtividade e rentabilidade do sistema de cria.

Pelas condições que foram realizadas estas simulações, principalmente pelo valor atual da reposição e da @ comercializada, podemos concluir.

4. Conclusões:

- A pastagem é o principal insumo de pecuária de corte e o primeiro investimento a ser realizado nas propriedades rurais.
- Para a intensificação da pecuária com rentabilidade, é necessário aumentar o ganho de peso vivo por animal sob pastejo e após a lotação por hectare.
- Intensificação da pecuária da pecuária com suplementação, semiconfinamento e confinamento somente será rentável com a utilização de pastagem recuperada de forma direta ou por meio de integração lavoura-pecuária.
- A integração lavoura pecuária apresentou maior produtividade e rentabilidade na produção de carne bovina.
- Adoção das tecnologias disponíveis e qualificação da mão-de-obra em todos os níveis proporcionam um grande aumento na produtividade de carne bovina com rentabilidade.

REFERÊNCIAS

ABIEC- Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne-. Perfil da Pecuária Brasileira. **Relatório Anual 2016**. São Paulo, 2016. Disponível em: <<http://abiec.siteoficial.ws/images/upload/sumario-pt-010217.pdf>>. Acesso em: 30 ago. 2017.

ALMEIDA, R. G.; RAMOS, A. K. B.; ZIMMER, A. H.; MACHADO, L.A.Z.; KICHEL, A. N.; GONTIJO NETO, M. M.; BORGHI, E.; PEDREIRA, B. C.; PACIULLO, D. S. C.; MACEDO, M. C. M.; EUCLIDES, V. P. B.; DIAS-FILHO, M. B.; QUEIROZ, H. P. Desempenho das forrageiras tropicais em sistema de integração lavoura-pecuária e de lavoura-pecuária-floresta. In: CORDEIRO, L. A. M. et al. (Org.). *Integração lavoura-pecuária-floresta: o produtor pergunta, a Embrapa responde*. 1ed. Brasília, DF: Embrapa, 2015, p. 201-223

BALBINO, L. C.; CORDEIRO, L. A. M.; PORFÍRIO-DA-SILVA, V.; MORAES, A.; MARTÍNEZ, G. B.; ALVARENGA, R. C.; KICHEL, A. N.; FONTANELI, R. S.; SANTOS, H. P.; FRANCHINI, J. C.; GALERANI, P. C. Evolução tecnológica e arranjos produtivos de sistemas de integração lavoura-pecuária-floresta no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n.10, p. 1-12, 2011

KICHEL, A. N.; ALMEIDA, R. G.; COSTA, J. A. A.; BALBINO, L. C. Estratégias de recuperação de pastagem por meio da integração lavoura-pecuária-floresta. In: SIMPÓSIO DE PECUÁRIA DE CORTE – SIMPEC, 7, 2011, Lavras. *Anais...* Lavras: UFLA/NEPEC, 2011. p. 315-334.

KICHEL, A. N.; COSTA, J. A. A.; ALMEIDA, R. G.; PAULINO, V. T. Sistemas de integração lavoura-pecuária-floresta (ILPF): experiências no Brasil. **Boletim de Indústria Animal** (Online), v. 71, p. 94-105, 2014a.

KICHEL, A. N.; BUNGENSTAB, D. J.; ZIMMER, A. H.; SOARES, C. O.; ALMEIDA, R. G. The evolution of integrated production systems In: BUNGENSTAB, D. J.; ALMEIDA, R. G. (Org.). *Integrated crop-livestock-forestry systems, a brazilian experience for sustainable farming*. 1ed. Brasília, DF: Embrapa, 2014b, v. 1, p. 1-8.

ALTERNATIVAS DE COMERCIALIZAÇÃO PÓS DESMAMA

Rodrigo Albuquerque

NF2R – Goiânia-GO

O título da palestra refere-se a “alternativas de comercialização”. Portanto, antes de aprofundarmos sobre as mesmas, vale ressaltar o formato da comercialização atual, que abrange a esmagadora maioria das fazendas de cria do Brasil.

Em geral, tenta-se “casar” o manejo de desmama com a venda dos animais, e via de regra a negociação ocorre sob a poeira do curral. A vinda das vacas paridas dos pastos até o centro de manejo, precede o aparte das mães e das crias, e em seguida, o aparte dos da produção de bezerros machos e de fêmeas. É muito comum, observar a ocorrência de outras práticas nesta ocasião, como a aplicação de protocolos sanitários, pesagem, identificação dos animais, concentrando as operações e otimizando a vinda dos animais ao curral (fato altamente positivo, ao nosso ver).

Independente do desfecho negocial, as vacas, retornam aos pastos, já “solteiras”, geralmente. É muito comum, o comprador acompanhar as operações de aparte citadas, e após iniciar as tratativas de negociação, comprar apenas a parte das crias que lhe interessa (machos ou fêmeas). O restante, retorna aos pastos, para apresentação a outro interessado (da mesma forma, caso não haja desfecho comercial efetivo nesta primeira tentativa).

Assim, o desmame é feito em “cima de um caminhão”, muitas vezes. O vendedor gosta desta opção, pois é sabido que as crias ficam mais apresentáveis comercialmente falando, no ato da desmama (fora a questão da facilidade de manejo de não se ter bezerros na mesma fazenda das mães recentemente desmamadas).

A prática comum mostra que a relação comercial é, na maioria das vezes, pautada por uma avaliação visual, negociando-se o valor dos animais em “R\$ por cabeça”. É a

chamada “venda na perna”. Os raros registros sanitários, nutricionais e zootécnicos (mesmo quando existentes), são frequentemente ignorados. Desconsidera-se o mérito genético dos animais, dando-se pouca importância para a avaliação das mães (frame, idade, nível racial, etc) e até mesmo a origem paterna é ignorada (não se questiona se o touro é originário de “cabeceira de boiada”, de monta natural, de inseminação, qual o manejo desta inseminação e até mesmo, quando é o caso, qual a origem da genética dos touros, a idade dos mesmos, frame, etc). A questão a cerca da participação da fazenda em algum programa de seleção quase nunca tem o mínimo foco.

Chegamos ao cúmulo de vermos fazendas de gado de corte sem balanças no curral, portanto, em muitas ocasiões, nem mesmo há como se coletar a variável peso, mesmo porque, os “balançôes” (balanças rodoviárias), são desconsideradas muitas vezes. Vale mais a “esperteza” comercial de um dos negociantes do que toda a possibilidade de técnicas elencadas. Ganha quem é mais “veiaço”! Enfim, este é o Brasil. Por isto, produzimos menos carne que os EUA, mesmo tendo um rebanho muito maior (mais que o dobro do americano).

Mas, esta situação de baixa tecnologia, baixa produtividade e de resultado econômico pífio (em termos de R\$/hectare) está mudando na cria. Por anos a fio, a recria/engorda absorveram mais tecnologia, em menor tempo que a cria. Mas, o jogo se equilibrou com a utilização em larga escala da inseminação artificial em tempo fixo e com o uso mais intenso dos touros avaliados e geneticamente superiores. Números inimagináveis hoje são alcançados, como o desmame de um animal entre 10 a 12 arrobas de peso vivo, aos 8 meses de idade. Obviamente isto não representa média produtiva do País, mas dá um “norte” de qual é a nova fronteira do limite zootécnico.

Aos poucos, a profissionalização da cria, deixa de ser “figura de rodapé de livro” e passa a ter frequência mais comum no dia a dia dos bolsões produtores, pontuando inúmeros exemplos neste nosso País continental. A demanda de carne de qualidade tem potencializado a produção e o resultado econômico das fazendas de cria que produzem animais especializados para os mercados que demandam qualidade de carne.

Isto abre espaço para outras demandas pelo setor de cria, como o “elo perdido da pecuária”, alcunha que damos para a comercialização! Quebra-se, portanto, a sina do atraso...

Mergulhando no assunto central do tema proposto, iniciamos pontuando a maior demanda de quem deseja fazer uma comercialização diferenciada: a previsibilidade. Quando se raciocina com a cria tecnificada (parcela dos produtores que vai se interessar pela melhoria da gestão comercial), percebe-se que há totais condições de se obter o volume de animais, a data da desmama (pois o uso do ultrassom é intenso) e o custo dos bezerros/bezerras de maneira antecipada. Portanto, é plenamente possível colhermos um alto nível de previsibilidade, o que viabiliza as tratativas de comercialização mais efetivas, visto que muitas vezes, elas envolvem a determinação da venda de maneira antecipada ao momento da desmama. Este é o ponto chave! Como diz o popular bordão financeiro: “venda enquanto pode e não quando precisa”. Não é viável vender melhor, sem poder vender antes e não se vende antes sem o domínio da previsibilidade produtiva e financeira. Desta forma, concluímos que a prática de intensificação das fazendas origina um ambiente que torna possível termos uma gestão comercial avançada.

Além da gestão produtiva e financeira (focada no parágrafo anterior), se faz necessário o conhecimento prévio das tendências de mercado mais prováveis para o ano sobre o qual se deseja implantar uma comercialização alternativa e mais avançada no pós desmama. Aqui, é fundamental a fixação de um conceito básico e imutável, sobre o qual não deve pairar dúvida qualquer: “o futuro é sempre opaco”. A célebre frase de Paul Samuelson, Prêmio Nobel da área econômica, nos frustra quanto à ambição humana de domínio do tempo futuro, mas fixa a base real na qual podemos nos agarrar para a tomada de decisões: as tendências de preços. Em outras palavras, esqueça a possibilidade de acreditar que alguém pode lhe dizer qual será o preço do bezerro de maio/junho de um determinado ano, mas sim, de que você poderá ter como cenário mais provável um horizonte firme, estável ou frouxo de preços, de acordo com a previsão dos melhores analistas de mercado. Acredito que esta é a melhor contribuição dos que se dedicam à hercúlea e diária tarefa de traçar os cenários de preços. No máximo, eles podem nos dizer qual o cenário mais provável, menos provável e o improvável, bem como antecipar, níveis de variação de preços médios sobre o ano anterior, para cada um destes cenários.

Por fim, resta o exame detalhado das ferramentas de comercialização, que são os artifícios laçados para a efetivação de uma nova forma de vendas. O grande objetivo que temos que ter em mente é que necessitamos fixar margem e não preço. A maioria dos pecuaristas entendem erradamente que o objetivo de uma comercialização alternativa ou avançada, seria a fixação de preço. Ledo engano, afinal de contas, o oxigênio do mundo dos negócios capitalistas é margem e não preço de venda. De quê adianta vender um bezerro a R\$ 1.500,00 se o custo dele for R\$ 1.501,00? Ademais, a pecuária tem anos “bons” de preços para a cria (como 2015) e anos mais desafiadores (como 2017). Temos que fazer dinheiro em ambos e somente se consegue isto, mirando margem e jamais preço.

Para tanto, se faz imperativo o domínio do custo de produção, como frisado anteriormente.

Existem quatro vias de comercialização, à saber: mercado SPOT ou físico, o bezerro a termo (contratos de comercialização com fornecedores antecipadamente à desmama), operações em mercado futuro (uso da antiga BMF, hoje B3) e operações em mercado de opções (uso da B3 também). Não vamos tratar aqui dos leilões, sejam presenciais ou filmados, porque eles têm regras muito específicas (o que diferencia caso a caso) e de forma genérica, são na verdade uma venda no mercado físico, a primeira opção elencada (apenas o local e a dinâmica da venda são diferentes). Vale apenas ressaltar o trabalho primoroso realizado pela Leiloeira Correa da Costa (de Campo Grande/MS, focando a venda baseada em peso vivo e sem a chance de ocorrência da famosa “defesa” por parte do vendedor). Ressalto também as vendas “on-line” (seja por aplicativos, seja por internet), que deverão crescer substancialmente, concorrendo com a televisão e o telefone, veículos já consagrados.

O mercado SPOT ou físico é na realidade a forma mais comum hoje em dia praticada da venda de bezerros desmamados. Em resumo, sabe-se o preço da venda direta e tão somente no ato da negociação. Em anos ruins, isto prejudica o valor do faturamento da fazenda de cria, pois a venda absorve toda a curva negativa dos preços. Em momentos favoráveis, o inverso é verdadeiro e esta via permite o resgate máximo da inflexão positiva da curva de vendas. Sobra oscilação e falta previsibilidade, principalmente de caixa, para a fazenda que opta por esta ferramenta de venda. Não podemos, portanto, falar em uma alternativa comercial mais evoluída.

A segunda ferramenta, denominada por nós como “bezerro a termo”, inclui contratos de fidelização entre criadores vendedores e recriadores compradores, que permitem para ambos a previsibilidade de venda e de compra, respectivamente. A forma como este contrato é celebrado vai dizer se a definição prévia será do volume ou do preço, ou de ambos (volume e preço comercializado).

Estes contratos são firmados muito tempo antes da entrega física (da desmama), que é inerente aos contratos, e podem determinar o preço final do animal (ex.: R\$/kg de peso vivo do bezerro desmamado). Neste caso chamamos de termo fixo e a pesagem dos animais passa a ser fundamental.

De outra sorte, os contratos também podem determinar, não o preço, mas uma referência para o valor futuro do bezerro, sendo o exemplo mais comum, a referência de preço do CEPEA ou a referência de um percentual de ágio combinado sobre o preço do boi gordo (o ágio pode ser fixo ou pode ser fixado em um intervalo de variação definido). Independente da referência, ela leva a um fato: o preço pode variar de acordo com o mercado, mas em geral, varia menos do que o preço SPOT. Portanto, existe um nível maior de previsibilidade que a venda SPOT, mas ela não é plena, como no termo fixo.

Tanto a venda SPOT, quando a venda via termo, podem ser incrementadas com o uso concomitante da B3 (antiga BMF), seja através do mercado futuro, seja através do mercado de opções. Em ambos os casos, tanto vendedores como compradores de gado de reposição podem ficar protegidos. Vale ressaltar que a bolsa não exige a entrega física e esta será feita de maneira regular, como seria, caso não houvesse uso da B3 concomitante. Mas, este uso concomitante, propiciará uma proteção contra a queda (ideal para os criadores) e/ou contra a alta (ideal para os recriadores), que será financeira e deverá ser somada à venda do físico para compor o resultado final de uma venda. De fato, o entendimento da dinâmica da operação, irá demonstrar que o usuário irá desfrutar de uma

segurança de preços quase total, ou seja, de uma gestão comercial plena, mitigando os riscos de variação abrupta de valor (de venda ou de compra) dos animais.

Também se faz necessário frisar que não existe contrato de bezerros atualmente na B3, desta forma, as operações de animais na desmama devem ser referenciadas ao boi gordo, fixando-se uma relação provável entre as duas mercadorias.

O importante é que, independente de se ter um contrato de “bezerro a termo” (com um comprador / fornecedor fidelizado) ou de se planejar a venda no SPOT, o uso da B3, potencialmente protege tanto os vendedores como os compradores. Isto é o que precisa ser fixado!

O detalhamento destas operações envolvendo a bolsa, esperamos ter deixado claro durante a apresentação ao vivo, no Simpósio. Não entendemos esta via (um texto corrido) uma boa alternativa para tanto. É imperativo que se procure um corretor de confiança para que as operações financeiras sejam esmiuçadas, afinal de contas, algumas podem exigir recursos entre a contratação e a sua liquidação, eventualmente necessários para os ajustes diários, taxas, prêmios e margens de garantia, todos exigidos pela B3.

Por fim, entendemos que o futuro da comercialização da desmama deve seguir nesta direção: o da previsibilidade para vendedores e compradores. Sem o domínio completo do sistema de produção, do financeiro da propriedade, do conhecimento das tendências de mercado e da dinâmica das 4 formas de vendas, jamais estaremos pisando em solo fértil para uma gestão comercial bem conduzida.

Entendemos que o conceito de gestão comercial otimizada envolve a possibilidade de fazermos a definição comercial muito antes do momento da desmama, portanto, esta nova dinâmica temporal é a melhor alternativa de comercialização pós-desmama. Este manejo envolvendo mãe e cria, apenas marcará a bifurcação zootécnica dos animais.

O ato comercial pode (e deve) estar resolvido há tempos, caso tenha sido interessante no sentido de fixação de margem (e não de preço). Digo mais, este conceito expandido, nos levará à inevitável conclusão de que os acordos comerciais não devem somente ocorrer pouco tempo antes desmama, mas devem caminhar para o momento da fertilização dos animais, permitindo a integração da cadeia, com a “encomenda” de uma genética mais apropriada para terminação à pasto ou em confinamento (na dependência do sistema de produção do comprador), ou com a “encomenda” de um animal que tenha recebido protocolo nutricional, sanitário, de identificação, de certificação, etc, que melhor atende às necessidades do sistema de produção adquirente. Este é o futuro, e como sempre digo, ele já chegou, apenas está mal distribuído.

Modelos de negócios como os citados acima, são raros, mas existem! E tendem a existir cada vez mais. Não hesite em contratar ajuda profissional para esta nova era comercial. A longevidade do seu negócio pecuário dependerá destes novos conceitos!

PREVENÇÃO DE ENFERMIDADES EM GADO DE CORTE

Enrico Ortolani

Prof. Titular do Departamento de Clínica Médica da FMVZ USP

Consultor Veterinário do Programa Globo Rural

Colunista da Revista DBO – “Fatos e causos veterinários”

ortolani@usp.br

Toda vez que se fala de prevenção de doenças num rebanho de cria, recria e engorda deve-se comentar sobre o tripé básico que deve ser seguido para obtenção de sucesso. Os seguintes pontos devem ser empregados: **vedação da propriedade, controle de tráfego e aumento de resistências às doenças.**

A **vedação da propriedade** consiste no sistema: “**tudo dentro, tudo fora**”. Ou seja, criação mais fechada possível. Animais nascidos na fazenda só saem para venda final. A entrada dos animais, via compra, empréstimo, sêmen ou embrião, deve ser altamente controlada e avaliada quanto à sanidade. Muitas doenças infecciosas são introduzidas numa fazenda pela compra de animais, sem a prévia avaliação dos mesmos, como por exemplo a papilomatose, a brucelose, leptospirose etc. A quarentena deveria ser uma regra e é muito pouco empregada em nosso meio.

O **controle de tráfego** consiste no fechamento da fazenda para caminhões e animais estranhos, que podem introduzir germens. Considera-se nesse item cuidados no uso de equipamentos rotineiros não devidamente esterilizados, que podem carrear agentes causadores de doença. Como exemplo temos, no passado, a disseminação do vírus de febre aftosa por meio de rodas de caminhões, ou a entrada de cães estranhos carreadores do agente da neosporose; ou ainda a infecção provocada por agulhas e seringas contaminadas por causadores da tristeza parasitária.

Finalmente, o **aumento da resistência às doenças** por meio de vacinações, vermifigações, cura de umbigo, boa nutrição, entre outras medidas de manejo.

Segundo a Embrapa para cada 100 animais mantidos numa propriedade típica de gado de corte seis morrem por ano, excluída a mortalidade embrionária e os abortamentos, que não serão temas de nossa apresentação. Outros países como os Estados Unidos, Canadá e Austrália relatam mortalidades em torno de 3,0 %.

A distribuição dessas mortes num rebanho nacional típico é bem categorizada. **Grande parte dessas (54 %) sucumbem do nascimento até a desmama**, caindo para 20% da desmama até o 2º ano de vida, 12% do 2º até o 10º ano e 14% acima desta idade.

Uma análise mais pormenorizada da mortalidade do nascimento até a desmama indica que **50 % dos bezerros morrem dentro dos primeiros quatro dias** (destes 12,5 no 1º dia e 87,5% nos próximos três dias), 30% entre essa idade até os 45 dias e os demais 20% até a desmama.

As causas de morte no 1º dia estão ligadas aos bezerros que sobreviveram ao aborto, com destaque à neosporose, à brucelose e à leptospirose, às más-formações graves, muitos deles ligados à consanguinidade dos pais, e nascidos de partos complicados, principalmente de novilhas muito leves ou bezerros muito pesados (acima de 35 kg).

A **neosporose** é uma doença original dos cães, causada por um protozoário (*Neosporose caninum*) eliminado nas fezes desta espécie, mas que pode acometer os bovinos pela ingestão de oocistos do parasita, que se mantêm no rebanho, pois vacas que abortaram pela doença podem ter novos abortos. O controle da enfermidade é muito difícil. Alguns sugerem o não uso de cães na lida do rebanho e controle de cães invasores na propriedade. Como o diagnóstico é difícil sugere-se o sacrifício de todas vacas que abortaram, independente da causa.

A cruzada contra a **brucelose** continua, com a vacinação de todas novilhas do 3º ao 8º mês de vida, mas a doença ainda persiste em nosso meio pelos rebanhos que ainda não vacinam e a compra de novilhas e vacas contaminadas.

A **leptospirose** pode ser um problema grave em muitas fazendas, em especial naquelas que contêm em suas pastagens áreas alagadas de baixada, onde a bactéria (*Leptospira harjo, pomona ou sejroe*) sobrevive por muito tempo no ambiente. A doença é transmitida basicamente pela urina da vaca positiva e em menor grau por contaminação de alimentos pela urina do rato. Rebanhos problemáticos devem vacinar novilhas com cinco meses de idade e duas vezes antes do início da estação de monta, espaçadas de um mês. Na primeira vacinação, no período reprodutivo, recomenda-se ainda o tratamento único com dehydroestreptomicina (25 mg/kg P.V; IM).

As mortes até o 3º dia estão ligadas na grande maioria à **pequena vitalidade dos bezerros**, má maternidade da vaca, baixa produção de leite, entre outras causas menores. A pequena vitalidade geralmente é oriunda de bezerros nascidos com peso muito baixo, que não se levantam rapidamente (> 50 min) para seguir a mãe e não ingerem o colostro em até 3h.

Estudo nacional verificou que bezerros Nelore com a melhor vitalidade (fator de risco :1 X) apresentam ao nascimento entre ♂ 29 – 34 kg e ♀ 27- 31 kg para fêmeas. O risco de não sobreviver é intermediário (1,75 x) em bezerros ♂ com pesos 25 – 28 e ♀ 23 -26 kg; ou duplica em animais muito pesados (♂ > 37 e ♀ > 36 kg). Porém, a mortalidade quintuplica para recém-nascidos muito leves (♂ < 24 e ♂ < 22 kg). Assim, para aferir essa importante variável é fundamental pesar os bezerros ao nascimento, o qual é influenciado pelo sexo, época de nascimento, estado nutricional da vaca, número de partições etc.

Vacas prenhes com condição corporal ao parto entre 3 a 3,5/5 produzem bezerros com peso ideal; risco intermediário entre 2,3 a 3 e alto risco de baixa vitalidade igual ou inferior a 2,5. Essas **vacas magras geralmente recebem dietas baixas em proteína**, devendo a partir dos 7 m de gestação serem suplementadas com 200 a 300 g de sal proteínado por dia.

Bezerros nascidos entre novembro a janeiro morrem 13 % a mais que os nascidos entre agosto e outubro, pois as vacas no primeiro período dão menor atenção aos recém-nascidos, em especial em dias chuvosos. Assim, **programe sua estação de monta** de meados de outubro a meados de janeiro novembro.

A maior mortalidade de bezerros é proveniente de novilhas e de vacas com mais de sete parições. As novilhas são mais ansiosas e com menor experiência de maternidade, além de produzirem menos leite, fato também que ocorre em vacas mais velhas. As novilhas que criam devem ser mais repassadas para um cuidado redobrado com o bezerro. Vacas com mais de seis crias devem ser descartadas do rebanho.

Bezerros muito pesados têm partos mais difíceis e prolongados provocando baixa vitalidade dos bezerros. Algumas fazendas que empregaram touros com DEP positivo para ganho de peso geraram bezerros 15% mais pesados, no decorrer dos últimos 18 anos, quadruplicando os problemas de parto em novilhas. Assim, recomenda-se nunca emprenhar uma fêmea com menos de 270 kg e cobrir ou inseminar as novilhas com touros com baixo DEP para ganho de peso, o que fará com que o peso ao nascimento seja menor.

O piquete de parição deve ser plano, limpo, com farta alimentação e de fácil acesso. Vacas que escondem o bezerro ou que não cuidam do mesmo devem ser descartadas.

Além da pesagem por meio de balança ou fita, a cura umbilical deve ser feita o mais rápido possível com imersão do umbigo em solução de álcool iodado no mínimo

5% por no mínimo 30 segundos. O maior erro cometido é o tratamento do umbigo com solução matabicheira. Para prevenção de bicheiras deve-se evitar o uso de ivermectina, a qual já apresenta alta resistência por esses parasitas. Melhores resultados são obtidos com uso de doramectina. As principais complicações oriundas das onfalites são quadros de poliartrite, broncopneumia ou peste dos pulmões.

O manejo do bezerro recém-nascido é fundamental para sua sobrevivência. A reanimação do bezerro com baixa vitalidade deve ser feita rapidamente, por meio da limpeza de sua narina, estimulação da respiração por meio de fricção de uma toalha ou algodão embebido em álcool no seu costado, aquecimento do mesmo e oferecimento de colostro. A pequena ou falta de ingestão desse leite especial é constatada pela observação do bezerro que terá a barriga vazia e da vaca com a mama cheia.

Em alguns casos pode-se estimular o bezerro a tomar o colostro na própria vaca, ou oferecer a este colostro estocado e aquecido a 37° C na quantia de 2 litros, repetido com intervalo de 15 minutos. O colostro obtido geralmente da primeira ordenha de vacas de leite pode ser estocado em garrafas pets mantidas em freezer e descongeladas a não mais de 50° C, antes de ser oferecida ao bezerro.

Embora muito decantada **a diarreia não é o principal** problema de morte em bezerros de corte, sendo ultrapassada pelos problemas umbilicais. A diarreia geralmente ocorre em bezerros que tomaram pouco colostro, por isso a avaliação de sua ingestão é tão importante.

A diarreia é mais frequente em bezerros nascidos em piquetes de parição muito pequenos, o que os torna com o tempo muito contaminados com agentes causadores de diarreia. Bezerros que tomaram pouco colostro ou que o ingerem após a 3ª hora de vida têm maiores chances de contraírem esse problema digestivo. Filhos de novilhas, vacas velhas e os nascidos de partos laboriosos têm mais diarreia que os demais. Evite levar

bezerros recém-nascidos para o curral, ou outro local altamente contaminado. Em caso de surtos de diarreia troque o mais rápido possível o piquete de parição.

A diarreia é mais frequente do 3º ao 20º dia, geralmente causado por *Cryptosporidium*, rotavirus, diarreia viral etc. Ocasionalmente, bezerros podem apresentar surtos de diarreia entre os três a cinco meses de idade causado pelo verme *Strongyloides* sp ou por coccidiose. Ambos são mais frequentes quando existe uma concentração muito grande de bezerros e contaminação com fezes no creep feeding, com altura inferior a 40 cm do solo, ou em torno de cochos situados em baixadas úmidas.

Bezerros que ingeriram pouco colostro podem contrair quadros de broncopneumonia entre 30 e 45 dias de idade. Situações de grande estresse como na desmama e no transporte também podem predispor o surgimento de quadros de respiratórios. Estresse na desmama pode ser aliviado com uso de cromo orgânico no creep feeding.

Vacinação e Vermifugação Estratégica.

O esquema de vacinação deve ser seguido à risca, incluindo nesses casos a prevenção contra aftosa e brucelose. Como estão surgindo mais precocemente quadros de carbúnculo sintomático, devido a adoção de creep feeding e seleção de bovinos para ganho de peso deve-se anteceder a vacinação contra as clostridioses no 4º mês de vida, revacinando-se após 30 dias. Como muitos animais desenvolvem quadros de carbúnculo sintomático após 30 a 60 dias de confinamento recomenda-se tal vacinação na entrada dos mesmos nestes centros de engorda. A cada três anos recomenda-se a vacinação contra tétano em bovinos adultos.

A vacinação contra botulismo e raiva só deve ser feita em condições onde existe risco eminente. No caso de botulismo sugere-se vacinação aos quatro e cinco e

meses de vida repetindo-se anualmente. Vacinação contra a raiva só deve ser realizada onde existe comprovação de casos endêmicos, a cargo dos organismos estaduais de Defesa Sanitária Animal, mas infelizmente, estas raramente divulgam tais informações.

As verminoses são as principais enfermidades de bovinos desmamados. A prevenção destas é feita com as chamadas **vermifugações estratégicas**. Os últimos estudos, desenvolvidos para os estados do Brasil Central, recomendam as vermifugações no esquema “**5-8-11**”, ou seja, **maio-agosto- novembro**, com os respectivos princípios ativos: **albendazole; levamisole e moxidectina**. Testes recentes indicam que a **avermectina tem apresentado alto grau de resistência por parte de vários parasitas** gastrintestinais e pulmonares, devendo-se ser alijado o seu uso pela próxima década.

Finalmente, a tristeza parasitária ainda acomete os rebanhos nacionais, em especial aqueles que mantêm animais com genética acima de 67 % de gado taurino. Isso não isenta que bezerros Nelore no segundo mês de vida não possam ter babesiose e de outras raças taurinas entre dois a nove meses não possam ter essa doença.

Assim, cuidados maiores no controle dos carrapatos devem ser feitos em bezerros mestiços com alto grau de sangue taurino. Sugere-se que seja feito contagens de carrapatos e vacas e touros para seleção de animais menos susceptíveis a estes parasitas. Sugere-se assim **descartar 5% das vacas nelores, uma vez ao ano após a desmama, que tenham mais que 13 carrapatos maiores que 0,4 centímetros, na região do traseiro**. No caso de **uso de touro ou semen de Angus escolha sempre aqueles com maior “índice-carrapato”**, ou seja, que fornecem maior resistência ao ataque destes aracnídeos. Segundo a Associação Brasileira de Angus 70% dos mais resistentes são de origem nacional. (Ortolani, 2015)

Ortolani, E.L. 2015.Como prevenir o ataque de carrapatos. **Revista DBO**, São Paulo, vol. 34, n.413, p. 68.

A SOLUÇÃO DOS PROBLEMAS DO LEITE NO BRASIL

Marcelo Pereira de Carvalho

Milkpoint

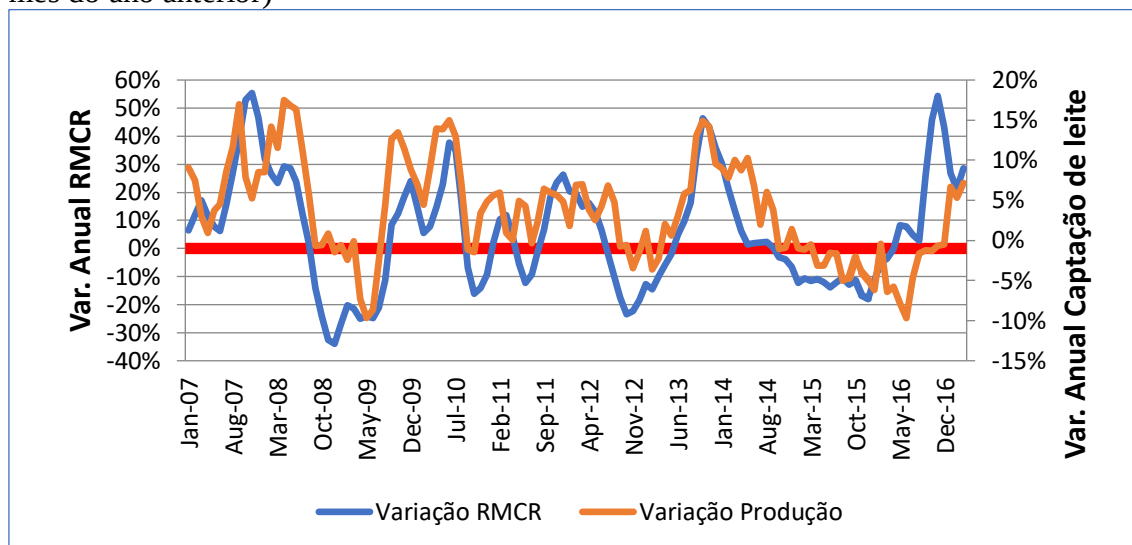
A saída para os problemas do leite no Brasil é barrar ou limitar as importações. Esta, afinal, é a pauta que domina o setor desde que o MilkPoint começou, no ano 2000. Sem as famigeradas importações, a história do leite seria absolutamente diferente. Teríamos preços consistentemente mais altos e produtores e indústrias teriam lucros superiores. Mas...será mesmo?

Infelizmente a coisa é um pouco mais complicada. O efeito imediato de uma suspensão ou limitação das importações é um aumento de preços ao produtor e ao consumidor, já que uma parcela não desprezível do nosso consumo vem do leite importado. Porém, com preços mais altos, o resultado óbvio será o aumento da produção interna, que encontrará também a redução do consumo em função de preços mais elevados.

Creio que todos concordam em uma coisa: nosso potencial de aumento de produção é enorme, tanto pelos baixos níveis de produtividade, como pelo fato de não termos quaisquer limitações para o crescimento da oferta. Com efeito, os dados históricos recentes mostram que, em sequência a bons preços (ou a bons momentos de rentabilidade), a oferta responde imediatamente.

Os dados de variação na Receita Menos o Custo da Ração (RMCR) e de variação de oferta, deixam isso claro (gráfico 1). Com melhores margens, o resultado é inequívoco: o danado do produtor acelera; se as margens caem, ele pisa no freio.

Gráfico 1. Variação da Receita menos Custo de Ração x Variação da oferta (sobre mesmo mês do ano anterior)



Fonte: MilkPoint Mercado

O resultado dessa situação é fácil de se prever: se, por consequência do fim das importações (ou de uma regulação maior), os preços subirem significativamente, haverá, sem sombra de dúvida, forte aumento de oferta interna que, logo ali na frente, ocasionará queda de preços, sem que seja importado um kg sequer de lácteos. Mais do que isso, o forte aumento de preços, como já vimos antes, atrairá oportunistas, manterá produtores ineficientes e afrouxará exigências de qualidade, jogando mais uma vez para o futuro as possibilidades de, efetivamente, evoluirmos como cadeia produtiva.

Como não temos ferramentas suficientes para composição de estoques, o estímulo fará com que a paulada seja imediata, até que consigamos preço para participar do mercado externo – se é que, na ocasião, teremos acesso a ele, já que não importaremos e seremos, para todos os efeitos, uma economia láctea fechada.

Há, sim, uma maneira de perpetuar preços atrativos e margens confortáveis: colocarmos cotas de produção de leite. Funciona assim: para produzir, o produtor adquire o direito de produzir cada kg de leite. Assim, mesmo com margens muito convidativas,

novos entrantes terão que comprar as cotas de produção (e, quanto mais atrativa a atividade, mais cara será a cota); produtores já existentes, se quiserem aumentar a produção, também precisam comprar esse direito (o que aumenta o custo de produção, evidentemente). É a camisa de força do leite.

Dessa forma, consegue-se, artificialmente, manter condições muito boas para quem está dentro. É precisamente o sistema canadense, com altas taxas de importação (o que inviabiliza a entrada de produto de fora) e, claro, altos custos ao consumidor, o que pode funcionar em um país com renda per capita de US\$ 34.273, a sétima do mundo, e IDH (Índice de Desenvolvimento Humano) de 0,967, o terceiro do mundo. Mas, dificilmente, funcionaria em um país como o Brasil, com renda per capita de menos da metade dessa, e IDH de 0,754, o 79º no mundo. Compreensivelmente, não podemos ter um preço canadense, pela simples razão de que nosso consumidor não comporta isso, não é mesmo? Pelo menos não na quantidade de consumo que precisamos ter.

Também, esse foi o sistema europeu durante várias décadas, que precisou ainda de subsídios para fechar a conta, considerando os custos intrínsecos de produção e ainda o custo de compra das cotas. Esse mesmo sistema foi abandonado pela União Europeia em 2015, sob o argumento de que não mais seria possível arcar com os custos envolvidos. Nos parece, pois, que não é também um caminho viável para o Brasil. É, pois, uma solução completamente anacrônica (tal qual o tabelamento), analisada aqui somente sob a perspectiva teórica.

Desta forma, voltemos ao ponto original. Se, porventura, eliminássemos a zero as importações (que têm variado de 3 a 8% do nosso consumo, nos últimos anos), na ausência de cotas e outras barreiras que impeçam o aumento da produção interna, teríamos, em pouco espaço de tempo, talvez 6 meses, talvez 1 ano, um novo desequilíbrio, agora 100% causado pela produção interna. Não estamos falando de substituir 30, 40, ou

50% do consumo através do fomento à produção interna; estamos falando de 3 a 8%. Um a dois anos do crescimento médio do período entre 2007 e 2014 fariam o serviço.

Isso posto, concordo com aqueles que argumentam que o leite é ainda protegido em alguns países; que nosso “Custo Brasil” certamente é maior do que o “Custo Nova Zelândia” (embora, convenhamos, o produtor de soja, milho, frango, suíno e boi também sofram com isso). Também, concordo que é necessário investigar se há irregularidades nas importações, sejam referentes à qualidade, origem, etc. Isso não se discute. Devemos nos manter vigilantes quanto a qualquer tipo de concorrência desleal, mas que verdadeiramente representem algum tipo de deslealdade ao comércio. Isso, no entanto, é diferente de ser, por convicção, contra a abertura comercial.

Também, cumpre lembrar que, no passado, as lideranças foram efetivas ao estabelecer medidas *antidumping*. Naquele momento, principalmente na União Europeia, ainda se utilizava de práticas desleais ao comércio. Era um período pré-reforma da Política Agrícola Comum, quando a maior parte dos subsídios era de fato pago dentro da chamada Caixa Ambar, ou seja, através de medidas de apoio interno que distorciam o comércio, muitas vezes atreladas ao pagamento por preço mínimo garantido pelo governo. De lá para cá, a União Europeia veio, não sem dor e chiadeira, desmantelando parcialmente este sistema, do qual faziam parte também subsídios à exportação, as já mencionadas cotas e forte suporte para estocagem.

É até compreensível, inclusive, que haja algum grau de proteção para compensar desajustes históricos e desvantagens competitivas, mas desde que – e aqui vem o ponto que quero destacar neste artigo - **os benefícios advindos dessa estratégia sejam traduzidos na busca pela maior competitividade no futuro. Uma parcela da diferença entre o preço externo e interno poderia ser revertida em um fundo setorial,**

gerenciado profissionalmente, atacando 2 ou 3 causas principais da nossa baixa competitividade, por exemplo.

O que não é correto é acreditarmos que o fim das importações resolveria definitivamente nosso problema de preço, como parece ser o caso diante de manifestações em mídias sociais e aqui no MilkPoint. Ou, ainda, ficarmos restritos a uma única agenda, voltada para uma realidade que cada vez menos existe no mundo. É preciso admitir que, nestes 17 anos, pouco se fez para buscar uma agenda de mais longo prazo, atacando as causas da nossa atávica falta de competitividade, como a baixa escala de produção (os 1,3 milhão de produtores, usados como argumento para a necessidade de proteção, caso ainda existam nesse número, são parte do nosso problema), baixa produtividade de sólidos por área, questões relativas à qualidade, más condições de transporte de leite e energia nas fazendas, juros altos, tributação em insumos (ex: teteiras de ordenha), custos de importação de equipamentos, má coordenação da cadeia, e outras mazelas.

Estou há mais de 20 anos na atividade e posso assegurar que, passada a ameaça das importações, seja porque o mercado externo em algum momento reage, seja porque o câmbio em algum momento se deprecia, os problemas do setor (isto é, as importações) desaparecem...até a próxima crise, quando o mesmo discurso volta à tona. O problema, sempre, são os outros, contra os quais não temos e nunca teremos como competir.

Pouco, efetivamente, é feito no sentido de se criar condições para que sejamos mais competitivos. Um exemplo rápido, conhecido de todos: os seguidos adiamentos dos parâmetros da IN-62. Na impossibilidade óbvia de cumprí-los diante dos problemas mais básicos que temos, joga-se para frente, na esperança de que o tempo crie as condições para que os níveis possam ser atingidos. Até o próximo adiamento. Não é assim?

E assim permanecemos na segunda divisão do leite mundial, apanhando do Uruguai (que produz menos da metade do leite do Rio Grande do Sul), a despeito do

sucesso do agronegócio brasileiro, da existência de formidáveis técnicos e produtores de leite, e do enorme potencial de crescimento que temos.

É oportuno lembrar que, ao mesmo tempo em que nos deparamos com os fantasmas de sempre, há um novo leite surgindo, seja com produtores com visão gerencial, ambição e criatividade – e quem foi ao Interleite Brasil 2017 viu isso, seja com laticínios buscando diferenciação e agregação de valor, seja com técnicos e pesquisadores que não fazem feio a seus pares nos Estados Unidos, Europa, Argentina, ou Nova Zelândia.

A questão que precisa ser discutida, como setor, é o que de fato queremos e podemos ser. Queremos participar do mercado mundial, que seja em algum momento futuro, para o bem (vendendo a muitos mercados e podendo crescer a produção) e para o mal (lidando com volatilidade de preços superior ao que temos e preços médios em geral menores, competindo com o mundo)? Ou queremos manter nossa economia láctea fechada?

Ambas as estratégias são teoricamente defensáveis; ambas têm vantagens e desvantagens; cada uma envolve enfoques e caminhos distintos. Hoje, não estamos caminhando para nenhuma delas. **“Se você não sabe para onde quer ir, qualquer caminho serve”**, cunhou Lewis Carroll, em Alice no País das Maravilhas. Ou, o seu corolário: nessa condição, também nenhum caminho serve. É onde precisamente estamos quando discutimos o leite no Brasil.

Por que não trabalhamos uma agenda de futuro, abordando as causas que nos travam há décadas? Por que não olhamos para 5 ou 10 anos à frente, ao invés de buscarmos sempre a solução temporária e que não nos trará as respostas das quais precisaremos lá na frente? Por que não temos uma postura pró-ativa, como muitos países e setores estão fazendo, ao invés de sermos apenas reativos?

Estamos dispostos a participar ativamente desse processo.

THE IMPACT OF HEAT STRESS ON FERTILITY AND MILK PRODUCTION – THE ISRAELI EXPERIENCE

Zvi Roth (PhD)

Department of Animal Science, Robert H. Smith Faculty of Agricultural, Food and
Environmental Quality Sciences, The Hebrew University, Israel

P.O. Box 12, Rehovot 76100, Israel. Tel.: +972-8-948-9103; Fax: +972-8-9489-552E-mail:

z.roth@mail.huji.ac.il

Abstract

Reduced reproductive performance of lactating cows during the summer is mainly associated with intensive genetic selection for high milk production. Today, cooling is the predominant strategy used to alleviate the effects of heat stress. However, it cannot eliminate the decline in reproduction. Recently, a better understanding of the mechanism by which heat stress compromises fertility have led to developing new strategies to moderate the effects of heat stress on reproduction. This review summarizes the main effects of thermal stress on milk production and reproductive performance and describes some potential hormonal strategies to alleviate these effects. Among alterations are reduction in gonadotropins secretion, alteration in follicular growth, attenuation of dominance and disruption of steroidogenesis. Hormonal stimulation of follicular growth to enhance removal of the impaired follicles has been suggested to overcome these alterations. Treatments include synchronization of 9-days follicular waves by using GnRH followed by PGF2 α administration. Heat stress also impairs the formation of the corpus luteum, expressed by reduced synthesis and secretion of progesterone during the hot season. Thus, exogenous progesterone (CIDR) to support the developing embryo has been used to improve pregnancy rate. Given the complexity of heat-stress effects on

reproduction, a comprehensive management is suggested. This might be based on an efficient cooling system as a prerequisite for any other strategies; hormonal treatment targeted to specific subgroups of cows, rather than the whole herd; combining two or more strategies in a program, rather than correcting the function of a single reproductive aspect.

1. Introduction

Reduced reproductive performance of lactating cows during the summer is expected to worsen in the coming years due to the intensive genetic selection for high milk production and the concomitant global climate warming. Heat stress is not confined only to hot climates. A recent study reported an adverse effect of elevated environmental temperature in dairy farms located in cooler regions such as Europe, in particular in temperate and Mediterranean climate zones (Bernabucci et al., 2014). Moreover, the effects of heat stress are not limited to the hot months as they carry over to the cooler months, resulting in long-term effects through the year which inflict heavy economic losses on the dairy industry.

2. Cooling management

The most common strategy to alleviate the effect of heat stress is to provide shade and evaporative cooling. i.e. combining sprinkling and ventilation in the holding pen (before milking) and the feeding area (after milking). This approach was successfully implemented 22 years ago in large dairy herds, in Israel. Cooling management based on 30-min cooling periods, seven times a day, enabled maintenance of normal body temperature ($< 39.0^{\circ}\text{C}$) in cows producing 30 kg milk/day as well as to increase conception rates (CRs) similar to those in the winter (Wolfenson et al. 1988). However,

nowadays, intensive cooling (i.e., 10 periods for a total of 7-cumulative h/day) can prevent the decline in milk production in extremely high-yielding cows (>13,000 kg/year) but not that in summer reproduction. Data from the Israeli herd book indicate that the summer-to-winter milk-production ratio is 0.985, whereas CR is lower by 22 percentage units in the summer vs. winter (Flamenbaum & Galon 2010). These findings explore the need for more beneficial approaches to improve fertility. Nonetheless, given the complexity of heat-stress effects on reproduction, efficient cooling management to maintain cows in normothermia is a prerequisite for other, additional strategies to improve reproductive responses.

3. Effects of heat stress on the ovarian follicles

The stage of follicular development in which the follicle is susceptible to thermal stress has not been precisely defined. Study in goats has indicated that follicles exposed to heat stress during recruitment, regress and never develop to large sizes or ovulate (Ozawa et al., 2005). Study in lactating cows provided evidences suggesting that early-antral follicles of about 0.5 to 1.0 mm in diameter are sensitive to heat stress (Roth et al., 2000). Heat stress also impairs the growth of medium sized follicles (6-9 mm), indicated by the earlier emergence and delayed decrease of the second follicular wave (Roth et al., 2000). Heat stress reduces the size of the first- and second-wave dominant follicles (Badinga et al., 1993; Wilson et al., 1998a,b); attenuates dominance, as reflected by an increased number of large sized follicles (Badinga et al., 1993, 1994; Wolfenson et al., 1995; Roth et al., 2000) and delayed regression of the subordinate follicles (Wilson et al., 1998b; Roth et al., 2000). Such alterations may lead to early emergence of the preovulatory follicle and increased duration of dominance (Wolfenson et al., 1995), both of which are negatively associated with conception rate (Mihm et al., 1994).

The endocrine background governing alterations in follicular dynamics and depression of dominance under heat stress includes alterations in systemic gonadotropin, inhibin and steroidogenesis (Wolfenson et al., 2000). Heat induced increases in the number of medium-sized follicles is associated with increased concentrations of follicle-stimulating hormone (FSH) and reduced that of inhibin, most likely due to impairment of granulosa cell functioning (Roth et al., 2000). In support of this, seasonal studies report that lower steroid concentrations in the follicular fluid obtained from large follicles during the hot season are associated with reduced viability of granulosa cells and impaired aromatase activity (Badinga et al., 1993; Wolfenson et al., 1995). Follicle pieces obtained from heat-stressed cows secrete lower levels of androstenedione and estradiol upon gonadotropin stimulation (Bridges et al. 2005).

The alterations of steroidogenic capacity induced by summer heat stress carry over and further expressed at the final stage of follicle development, reflected by relatively low oestradiol content in the follicular fluid (Roth et al. 2001b, Roth et al. 2004). Estradiol content in the follicular fluid aspirated from cows was relatively low in late summer and increased throughout the autumn (Wolfenson et al., 1997, Roth et al., 2004). Decreased estradiol production was recorded in granulosa cells and androstenedione production in thecal cells obtained from follicles three to four weeks after acute heat stress (Roth et al., 2000). While data indicate that the effects of heat stress on follicular function are long lasting, other findings indicate that are transient, reflected by the spontaneous improvement of fertility throughout autumn and early winter (Zeron et al., 2001).

Strategies to improve follicular function

In light of the findings that heat stress affects the ovarian pool of small antral follicles, approximately 0.5-1.0 mm in diameter, Roth et al. (2001a) proposed that

enhanced removal of summer-impaired follicles might be a potential means of improving fertility in dairy cows. Based on this assumption, mechanical strategy to removal of impaired follicles and the reappearance of healthy follicles have been suggested. Frequent follicular aspiration of follicles (3 to 7 mm), in four consecutive estrous cycles during the fall enhanced follicular removal from the ovary and led to earlier emergence of healthy follicles (Roth et al., 2001a). The aforementioned concept of removing impaired follicles was also found to improve the morphology and developmental competence of oocytes. (Roth et al., 2001). These findings led to the development of hormonal-treatment strategies to enhance the emergence of follicular waves. For instance, administration with bovine somatotrophine (bST) or FSH (Roth et al., 2002) or treatment with GnRH-PG, which seems to be the most promising approach (Friedman et al., 2011).

Induction of follicular waves with GnRH followed by PGF2 α

Previous studies indicate the induction of several consecutive follicular waves by administering GnRH (day=0) followed by PGF2 α injection (day 7) resulted in the development of healthy preovulatory follicles in heat-stressed cows relative to non-treated cows (Guzeloglu et al., 2001). Similarly, induction of 6 successive 9-day follicular waves with GnRH and PGF2 α through the autumn has a beneficial effect on developing follicles, as it increased follicular volume and estradiol concentration in preovulatory follicles aspirated from previously heat-stressed cows (Roth et al., 2004). This approach was found to improve conception rate when examined in a field trail conducted from July to December, in 2 commercial dairy herds in Israel (Friedman et al., 2011). The experiment included 382 healthy Holstein cows (50 to 60 DIM). Cows (n = 195) were hormonally treated with GnRH and PGF2 α to induce 3 consecutive 9-day follicular waves (Fig 1A). Thereafter, both control (n = 187) and treated cows were inseminated and

pregnancy was determined 45 days postinsemination. Conception rate in primiparous cows was significantly improved by 16% and pregnancy rate at 120 DIM by 14%. Interestingly, interaction between treatment and high body condition score (BCS) was reflected by a 14% increase in pregnancy rate at 90 DIM. It should be noted that both control and treated cows were maintained under normothermic conditions, by using evaporative cooling system.

4. Effect of heat stress on the CL and progesterone level

Formation of a functioning CL following ovulation is obligatory for pregnancy maintenance. A delayed increase in postovulatory progesterone (P_4) and low concentrations during the preimplantation stages can lead to early embryonic losses (Mann & Lamming 2001). Thus, heat-induced alteration in luteal function and reduced P_4 concentration in the circulation is another mechanism suggested to affect summer fertility mostly, by reducing embryo survival and to increasing early embryonic loss.

Plasma P_4 concentrations during the summer are lower than those during the spring or winter (Howell et al., 1994, Wolfenson et al., 2002). Chronic seasonal exposure has a deleterious carryover effect on follicular function that leads to the formation of a suboptimal CL and low P_4 concentration in the plasma (Wolfenson et al., 2000). An in-vitro study suggested that luteal insufficiency, expressed by decreased production of P_4 by theca cells is the result of previous exposure of the preovulatory follicle to thermal stress (Wolfenson et al., 2002).

Hormonal treatment to improve progesterone milieu

Various studies have attempted to moderate the deleterious effects of heat stress on luteal function by inducing an accessory CL and excess luteal tissue. Administration

of human chorionic gonadotropin (hCG) on day 5 or 6 post-AI did not affect CR (Schmitt et al., 1996) or increased it by 13 percentage units (Beltran & Vasconcelos 2008). On the other hand, administration of GnRH between days 5 and 15 post-AI increased conception rate by approximately 15 percentage units (Willard et al., 2003; López-Gatius et al., 2006), whereas others found no improvement in summer fertility (Franco et al. 2006). Differences among studies could be related to variations in the day of hCG or GnRH administration or to severity and duration of the thermal stress.

Supplementation of exogenous P₄ at the very early stages of pregnancy has the potential to increase embryo survival and improve conception in cows. Under normothermal conditions, P₄ supplementation during the early (days 5 to 9), but not late (days 12 to 16) luteal phase increased trophoblast length and Interferon- τ production on day 16 post-fertilization (Mann et al. 2006). More recent study reported that administration of a controlled intra-vaginal drug-releasing (CIDR) device on day 5 $\pm$ 1 post-AI for 13 days had a substantial effect on CR in the summer (Friedman *et al.* 2012; Fig. 1B). A higher CR was recorded when the device was inserted on day 4, relative to days 5 or 6 (43, 39 and 34%, respectively). Importantly, cows with low BCS at peak lactation, or those diagnosed with postpartum reproductive disorders, or both, gained significant benefit from the CIDR implant. It should be noted that both control and treated cows were maintained under normothermic to temporary mild hyperthermic conditions, by using evaporative cooling system.

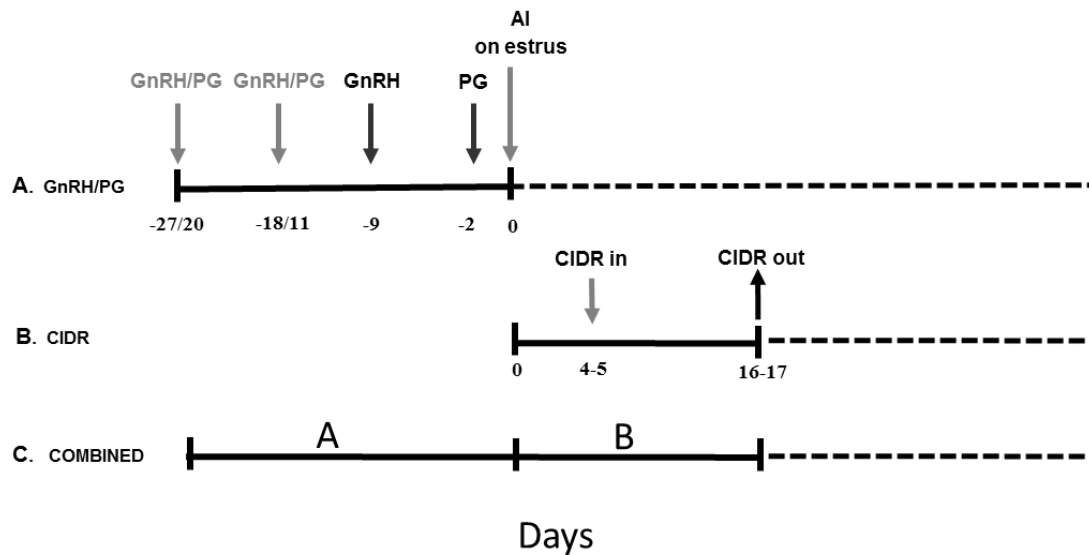


Fig. 1. Hormonal protocols to improve summer and autumn fertility. Synchronization of 9-days follicular waves by using GnRH followed by PGF $_{2\alpha}$ administration (A); administration of a controlled intra-vaginal drug-releasing (CIDR) device on day 5 $\pm$ 1 post-AI for 12 days; combined hormonal treatments before (GnRH/PG) and after (CIDR) artificial insemination, AI (C).

5. Summary

Heat-stress has multifactorial effects of on ovarian function. These include alterations in follicular growth, CL formation, steroid production and hormonal secretion. Hormonal treatments with GnRH/PG $_{2\alpha}$ to induce follicular turnover were found successful for a subpopulation of cows (primiparous, high BCS, low SCC), but had only a limited impact on the herd as a whole. The deleterious effect of heat stress on CL function can be mitigated by insertion of a CIDR device 5 days post-AI to increase plasma P $_4$, and this has been found to increase CR in a subgroup of cows with postpartum uterine diseases. It is suggested that reproductive management that based on hormonal treatment in subpopulations of cows may improve efficiency of treatment and reduce expenses. Moreover, combining two or more potential approaches into one program rather than correcting the function of a single part of the reproduction tract might be even more efficient. For example, combining hormonal treatments before (GnRH/PG $_{2\alpha}$) and after

(CIDR) insemination would compensate for the deleterious effects of summer heat stress on two different reproductive tissues, the ovarian pool of follicles and their enclosed oocytes and the CL, respectively (Fig.1C). This program has been found to extend the population of cows that benefit by 16 percentage units relative to each treatment alone (Friedman et al., 2014).

The author believes that a comprehensive strategy is required to cope with the whole heat-stress. Implementation of hormonal treatment in combination with an efficient cooling system may improve reproductive performance of dairy cows during the summer and subsequent autumn.

References

- Badinga L, Thatcher WW, Diaz T, Drost M, Wolfenson D. 1993. Effect of environmental heat stress on follicular development and steroidogenesis in lactating Holstein cows. *Theriogenology* 39: 797-810.
- Badinga L, Thatcher WW, Wilcox CJ, Morris G, Entwistle K, Wolfenson D. 1994. Effect of season on follicular dynamics and plasma concentrations of oestradiol- 17 β , progesterone and luteinizing hormone in lactating Holstein cows. *Theriogenology* 42: 1263-1274.
- Beltran MP, Vasconcelos JLM. 2008. Conception rate in Holstein cows treated with GnRH or hCG on the fifth day post artificial insemination during summer. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 60:580–6.
- Bernabucci U, Biffani S, Buggiotti L, Vitali A, Lacetera N, Nardone A. 2014. The effects of heat stress in Italian Holstein dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 97:471–86

- Bridges PJ, Brusie MA, Fortune JE. 2005. Elevated temperature (heat stress) in vitro reduces androstenedione and estradiol and increases progesterone secretion by follicular cells from bovine dominant follicles. *Domest. Anim. Endocrinol.* 29: 508-522.
- Flamenbaum I, Galon N. 2010. Management of heat stress to improve fertility in dairy cows in Israel. *Journal of Reproduction and Development* 56 Suppl S36-41.
- Franco MP, Thompson M, Brad AM, Hansen PJ. 2006. Effectiveness of administration of gonadotropin-releasing hormone at days 11, 14 or 15 after anticipated ovulation for increasing fertility of lactating dairy cows and nonlactating heifers. *Theriogenology* 66: 945-954.
- Friedman E, Voet H, Reznikov D, Dagoni I, Roth Z. 2011. Induction of successive follicular waves by GnRH and PGF2 α to improve fertility of lactating cows during the summer and autumn. *J. Dairy Sci.* 94: 2393–2402.
- Friedman E, Roth Z, Voet H, Lavon Y, Wolfenson D. 2012. Progesterone supplementation postinsemination improves fertility of cooled dairy cows during the summer. *Journal of Dairy Science* 95:3092-3099.
- Friedman E, Voet H, Reznikov D, Wolfenson D, Roth Z. 2014. Hormonal treatment before and after artificial insemination differentially improves fertility in subpopulations of dairy cows during the summer and autumn *J. of Dairy Sci.* 97:7465-7475.
- Guzeloglu A, Ambrose JD, Kassa T, Diaz T, Thatcher MJ, Thatcher WW. 2001. Long-term follicular dynamics and biochemical characteristics of dominant follicles in dairy cows subjected to acute heat stress. *Anim. Reprod. Sci.* 66:15-34.

- López-Gatius F, Santolaria P, Martino A, Delétang F, De Rensis F. 2006. The effects of GnRH treatment at the time of AI and 12 days later on reproductive performance of high producing dairy cows during the warm season in northeastern Spain. *Theriogenology* 65: 820-830.
- Mann GE, Lamming GE. 2001. Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. *Reproduction* 121: 175-180.
- Mihm M, Baguisi A, Boland MP, Roche JF. 1994. Association between the duration of dominance of the ovulatory follicle and pregnancy rate in beef heifers. *J. Reprod. Fertil.* 102:123-130.
- Mann GE, Fray MD, Lamming GE. 2006. Effects of time of progesterone supplementation on embryo development and interferon-tau production in the cow. *Veterinary Journal* 171:500-503.
- Ozawa M, Tabayashi D, Latief TA, Shimizu T, Oshima I, Kanai Y. 2005. Alterations in follicular dynamics and steroidogenic abilities induced by heat stress during follicular recruitment in goats. *Reproduction* 129:621-630.
- Roth Z, Arav A, Bor A, Zeron Y, Braw-Tal R, Wolfenson D. 2001a. Improvement of quality of oocytes collected in the autumn by enhanced removal of impaired follicles from previously heat-stressed cows. *Reproduction* 122:737-744.
- Roth Z, Arav A, Bor A, Zeron Y, Braw-Tal R, Wolfenson D. 2002. Effect of treatment with FSH or bST on the quality of oocytes aspirated in the autumn from previously heat-stressed cows. *J. Dairy Sci.* 85: 1398-1405.
- Roth Z, Bor A, Braw-Tal R, Wolfenson D. 2004. Carry-over effect of summer thermal stress on characteristics of the pre-ovulatory follicle of lactating cows. *J. Therm. Biol.* 29:681-685.

- Roth Z, Hansen PJ. 2004a. Involvement of apoptosis in heat-induced disruption of competence of bovine oocyte. *Biol. Reprod.* 71:1898-1906.
- Roth Z, Hansen PJ, 2004b: Sphingosine-1-Phosphate protects cultured bovine oocytes from physiologically-relevant thermal stress. *Biol. Reprod.* 71: 2072-2078.
- Roth Z, Meidan R, Braw-Tal R, Shaham-Albalancy A, Wolfenson D. 2001b. Delayed effect of heat stress on steroidogenesis in bovine medium-size and preovulatory follicles. *Reproduction* 121:745-751.
- Roth Z, Meidan R, Braw-Tal R, Wolfenson D. 2000. Immediate and delayed effects of heat stress on follicular development and its association with plasma FSH and inhibin concentration in cows. *J. Reprod. Fertil.* 120: 83-90.
- Wilson SJ, Kirby CJ, Koenigsfeld AT, Keisler DH, Lucy MC. 1998a. Effects of controlled heat stress on ovarian function of dairy cattle. 2. Heifers. *J. Dairy Sci.* 81:2132-2138.
- Wilson SJ, Marion RS, Spain JN, Spiers DE, Keisler DH, Lucy MC. 1998b. Effects of controlled heat stress on ovarian function of dairy cattle. 1. Lactating cows. *J. Dairy Sci.* 81. 2124-2131.
- Willard S, Gandy S, Bowers S, Graves K, Elias A, Whisnant C. 2003. The effects of GnRH administration postinsemination on serum concentrations of progesterone and pregnancy rates in dairy cattle exposed to mild summer heat stress. *Theriogenology* 59:1799-1810.
- Wolfenson D, Lew BJ, Thatcher WW, Graber Y, Meidan R. 1997. Seasonal and acute heat stress effects on steroid production by dominant follicles in cows. *Anim. Reprod. Sci.* 47:9-19.
- Wolfenson D, Roth Z, Meidan R. 2000. Impaired reproduction in heat-stressed cattle: basic and applied aspects. *Anim. Reprod. Sci.* 61: 535-547 (Review).

- Wolfenson D, Thatcher WW, Badinga L, Savio JD, Meidan R, Lew BJ, Braw-Tal R, Berman A. 1995. Effect of heat stress on follicular development during the oestrous cycle in lactating dairy cattle. *Biol. Reprod.* 52:1106-1113.
- Zeron Y, Ocheretny A, Kedar O, Borochoy A, Sklan D, Arav A. 2001. Seasonal changes in bovine fertility: relation to developmental competence of oocytes, membrane properties and fatty acid composition of follicles. *Reproduction* 121:447-454.
- Schmitt EJ, Diaz T, Barros CM, de la Sota RL, Drost M, Fredriksson EW, Staples CR, Thorner R, Thatcher WW. 1996. Differential response of the luteal phase and fertility in cattle following ovulation of the first-wave follicle with human chorionic gonadotropin or an agonist of gonadotropin-releasing hormone. *Journal of Animal Science* 74: 1074-1083.

UTERINE HEALTH IN DAIRY COWS

Stephen Leblanc

Department of Population Medicine, Universidade de Guelph – Ontario-Canadá

Abstract

Between one-third and half of dairy cows experience at least one of metritis, purulent vaginal discharge (PVD), cervicitis, and endometritis in the postpartum period. Each disease may directly or indirectly impair reproductive performance, and the effects of PVD and endometritis are additive. The mechanisms by which uterine infection and inflammation impair fertility are not clear but include harm to oocyte development by endotoxin and inflammatory mediators and impairment of fertilization and early embryo development, resulting in decreased probability of pregnancy at first insemination and increased risk of loss after pregnancy diagnosis. The criteria to select cows for treatment of metritis need to be refined, both to improve the probability of cure and to reduce the use of antimicrobials of high importance for human health. Diagnosis of PVD is reliable and treatment with intrauterine cephalixin consistently improves reproductive performance. This is an under-employed element of reproductive herd health programs. Endometritis is common and substantially impairs fertility, but diagnostic tools remain impractical for routine use in the field and more research is needed to clarify the optimal approaches to treatment.

Introduction

Most dairy cattle have bacterial contamination of the uterus for 2 to 3 weeks after calving (Sheldon, 2004), with 10 to 20% developing metritis (systemic illness with fetid vulvar discharge and fever, mostly between 3 and 9 d after calving), 5 to 15% having

purulent vaginal discharge (PVD; Dubuc et al., 2010a), 15 to 40% having cervicitis (inflammation within the cervix based on $> 5\%$ neutrophils (polymorphonuclear leukocytes; PMN) on cytology; Deguillaume et al. 2012) approximately 1 month after calving, and 10 to 30% having cytological endometritis between 1 and 2 mo after calving (summarized in LeBlanc et al. 2011). Each condition has been demonstrated in the large field studies cited above to be associated with significant increases in the median time to pregnancy among affected cows, and therefore with financial losses.

Although these reproductive tract diseases are distinct and may occur alone, affected cows commonly have more than one of these problems during the postpartum period, such that when studied together in the same cows, 37% had at least one of metritis, PVD, or endometritis (Dubuc et al. 2011) and 56% had endometritis or cervicitis (Deguillaume et al. 2012) by 5 weeks postpartum.

The high incidence risk of uterine disease is attributable in part to reduced immune function and impaired regulation of inflammation from approximately 2 weeks before to 3 weeks after calving. Severity of concurrent insulin resistance, reduced feed intake, negative energy balance, and weight loss contribute to the degree and duration of reduced immune defense.

Inflammatory response and regulation

Uterine involution should include a prompt, robust and effective local inflammatory response but not of a degree or duration that impairs reproductive function. Loss of this regulation appears to be central to the pathogenesis of endometritis. There are likely additional variables that influence the relationship between inflammation as we currently measure it and health. Given that dysregulation of immunity and inflammation is a central determinant of reproductive tract disease, better understanding of variables

associated with insulin resistance and inflammatory regulation will improve both metabolic and reproductive tract health.

The mechanisms of pathogen detection, immune response, and to a lesser degree, regulation of inflammation in the uterus of dairy cows in the postpartum have been described (Dadarwal et al., 2017; LeBlanc 2014; Sheldon et al., 2017). Innate immunity from PMN is the predominant mechanism of early immune defence in both the udder and the uterus. It is clear that there are interactions between energy status and immune function. The fuels used by bovine PMN are not well characterized but glucose appears to be crucial. Glycogen stores in neutrophils were lower in cows that subsequently developed metritis or endometritis (Galvao et al., 2010). An excessive pro-inflammatory state early in the postpartum period is a key feature of cows with endometritis about one month later (Herath et al. 2009; Sheldon et al. 2009a, b; LeBlanc, 2012). Generally, worse postpartum negative energy balance is associated with more severe or prolonged uterine inflammation.

Associations of bacteria with reproductive tract disease

Most cows have bacterial infection of the uterus for several weeks after calving but the relative importance of infection (the stimulus side of the inflammation equation) versus immune response (effectiveness and regulation of inflammation) is in question. New data that show that the uterus of virgin heifers and of pregnant cows is not sterile (Moore et al., 2017; Karstrup et al., 2017) are changing the view of microbiome of the uterus. *Escherichia coli* (*E. coli*) are particularly prevalent in the first week postpartum and are associated with metritis, with increased risk of infection with *Trueperella pyogenes* in weeks 2 and 3, and with endometritis (Gilbert et al., 2007; Williams et al 2005). Metritis and endometritis are commonly associated with mixed bacterial infection

of the uterus, often including anaerobes, notably *Fusobacterium* and *Prevotella* species. There are strains of *E. coli* that appear to be adapted uterine pathogens, particularly expressing virulence factors related to adhesion (Bicalho et al., 2010; Sheldon et al., 2010). Bicalho et al. (2012) build the case that specific virulence factors in *E. coli*, *T. pyogenes*, and *F. necrophorum* are associated with metritis and PVD. Metagenomic studies confirm the associations of *Fusobacteria* and *Bacteroidetes* with metritis (Bicalho et al., 2017a) and of *Fusobacteria* and *Trueperella* with PVD (Bicalho et al 2017b). Conversely, culture-independent techniques generally do not identify *E. coli* as associated with metritis, whereas *Porphyromonas* appear to be important (Cunha et al., 2018) It is generally considered that bacterial infection of the uterus initiates inflammation of the endometrium and perhaps deeper layers of the uterus. This inflammation is a normal adaptive response but it may be inadequate for the task (i.e. the balance tips in favor of bacterial growth, adhesion, inflammation, and tissue damage rather than clearance and healing – insufficient response) or inflammation may be disproportionate in degree or duration (excessive response). It is not clear if excessive or persistent inflammation is provoked by the type (species, strain or virulence factors) or quantity of bacterial infection, by genetic or metabolic influences on immune function and regulation, or both.

Mechanisms of reproductive tract disease

With metritis, the balance between bacterial infection and immune defense tips in favor of the pathogens. In cows with more chronic, localized reproductive tract inflammatory disease, the magnitude and/or duration of response overshoot and produce conditions that impair uterine or ovarian function. The distinction between physiologic and pathologic inflammation depends on the severity, timing, and duration of inflammation and whether it contributes to or impairs fertility by the start of the breeding

period. Differences in immune function are a key determinant of the risk of metritis (Cai et al., 1994) and endometritis (Hammon et al., 2006).

The mechanisms by which uterine disease impairs reproductive performance weeks to months later are not well characterized, but the effects are likely at several levels:

- Cows with early postpartum uterine infection with bacteria that are understood to be pathogenic were less likely to ovulate the first dominant follicle, and if they did, the CL was smaller and circulating progesterone concentrations were lower (Williams et al., 2007)
- Exposure to LPS inhibits the development and competence of oocytes (Magata and Shimizu 2017). While plasma concentrations of LPS were not different between cows with ovulatory vs. non-ovulatory first dominant follicles, follicular LPS concentrations were greater in non-ovulatory group (Cheong et al., 2017)
- Some studies did not find an association of postpartum uterine disease with the prevalence of anovulation (Ribeiro and Carvalho, 2017) while others have found that endometritis increased the odds of anovulation (Dubuc et al., 2012)
- Experimentally induced sterile uterine inflammation did not reduce the number of embryos in super-ovulated cows, but decreased the quality of flushed blastocysts (Hill and Gilbert, 2008)
- Cows that experienced metritis or extra-uterine inflammatory disease in early lactation had reduced numbers of cleaved and live embryos at 5 or 6 d after AI, reduced probability of pregnancy at 45 d after AI, and greater subsequent pregnancy losses compared to healthy cows (summarized in Ribeiro and Carvalho, 2017).

Metritis

By definition, metritis is an obvious systemic illness that reduces production and cow well-being in the short-term. Limited data exist on the longer term (full lactation) effects of metritis on production, reproductive performance, and culling (Benzaquen et al., 2007; Wittrock, 2011; Dubuc et al., 2011; Giulodori et al., 2013), and these effects might be somewhat less than might be expected by the clinical severity of at least some cases of metritis. Therefore, better criteria and methods are needed to identify cows with meaningful short and long-term impacts and to select cows that benefit from treatment to mitigate these problems.

Diagnosis of Metritis. The pathophysiology and diagnostic criteria for metritis have been reviewed (LeBlanc, 2008; Sannmann et al., 2012). Briefly, metritis may practically be identified based on at least 2 of fetid discharge, fever, and signs of systemic illness (dullness, inappetance, or decreased milk production). The evidence base for this working definition and the consistency of application of valid diagnostic criteria, however, is weak (Sannmann et al., 2012). Assessment of the odor of discharge was better with an electronic device than by human smell, and agreement of classification among people was only moderate (Sannmann et al., 2013). Daily monitoring of rectal temperature for 7 to 10 d after calving may increase the rate of diagnosis of metritis, and if this practice is implemented it should not be the sole basis for treatment with antibiotics. Routine, systematic screening of fresh cows is likely useful to increase early detection of health problems, especially in large herds, but it is likely most useful if training and experience of personnel and facilities allow for assessment of the cows' attitude, appetite, ketosis status (once or twice weekly), rumination, and abomasal displacement.

Treatment of metritis. Treatment of metritis is presently based on administration of systemic antibiotics. Although intuitively rational, addition of anti-inflammatory treatment has not been shown to provide an incremental clinical benefit (Drillich et al., 2007; Lomb et al., 2018). Recent studies report conflicting results on the efficacy of single dose of long-acting ceftiofur (crystalline free acid) to reduce the incidence of metritis in cows with risk factors at calving (Dubuc et al., 2011; McLaughlin et al., 2013). Data exist to support treatment of cows having metritis with systemic antibiotics, but clinical cure is only around 75 to 80% and impacts on subsequent health and reproductive performance are unclear. Drug concentrations are not maintained consistently above the target levels in the uterus of cows with metritis (vonKrueger et al., 2013). Spontaneous clinical resolution occurs in some cases (Chenault et al., 2004; McLaughlin et al., 2012). A meta-analysis underscored the need for more controlled trials but identified that treatment with ceftiofur decreased the prevalence of metritis by 40% in relative terms, compared to no treatment (Haimerl et al., 2017). A large scale, well-conducted study that compared treatment of metritis with ceftiofur or ampicillin, found small differences in clinical signs in the first days after treatment and in the prevalence of PVD at 32 d postpartum, but no differences in cure by 12 d after diagnosis, in the prevalence of endometritis at 39 d postpartum, in the prevalence of anovular condition, or in pregnancy at first AI (Lima et al., 2014). Results of the trial by Lima et al can be interpreted that treatment with either ceftiofur or ampicillin restores reproductive performance to that of cows without metritis. Alternatively, there may not be as great an effect of metritis on reproduction as assumed or shown in a few studies. A study in Germany compared initial treatment of 610 cows with metritis with ceftiofur ('low' dose of 1 mg/kg body weight) or ketoprofen (Pohl et al., 2016). After 3 d, if clinical signs of metritis were still present, ceftiofur was continued for 2 d or initiated, respectively. While 61% of cows in the ketoprofen group received

antibiotics after 3 d versus 31% in the ceftiofur group, the prevalence of PVD, milk yield in early lactation, and time to pregnancy were not different between groups, and the amount of ceftiofur used was halved in the ketoprofen group.

Purulent Vaginal Discharge and Endometritis

Each of PVD and endometritis is associated with substantial reductions in subsequent reproductive performance and their effects are additive (Dubuc et al., 2011). It was assumed that discharge found in the cranial vagina, or less commonly, observed externally on the vulva or tail, resulted from endometritis. The nature of vaginal content is associated with the density of putative bacterial pathogens in the uterus (Sheldon, 2004), but there is only fair agreement between PVD and endometritis defined by uterine cytology (Dubuc et al., 2010a). This leads to the question of the source of the pus in the vagina if it is not always from the uterus. Cervicitis exists as a distinct condition which is associated with both separate and additive impaired reproductive performance (Deguillaume et al., 2012). Approximately one-half of cows with PVD have cervicitis and vice versa, and 50 to 75% of cows with endometritis have cervicitis and vice versa (Deguillaume et al., 2012; Osawa and LeBlanc, unpublished observations).

Diagnosis. A systematic review of diagnosis of PVD and endometritis is available (deBoer et al. 2014) with an updated review of the diagnosis and pathophysiology of endometritis more recently (Wagener et al., 2017). Accurate diagnosis of purulent vaginal discharge requires examination of discharge in the vagina after a minimum of 3 wk postpartum (LeBlanc et al, 2002), which may be done with a vaginoscope, clean gloved hand, or a Metrichick device (Pleticha et al., 2009). Subclinical endometritis is common and has substantial impacts on reproductive performance (Gilbert et al., 2005).

Subclinical endometritis is diagnosed by endometrial cytology obtained trans-cervically either by uterine lavage or cytobrush. Neither technique for subclinical endometritis is sufficiently rapid or practical for widespread use in clinical practice, although rapid cow-side tests have been explored (Cheong et al., 2012).

Treatment. Treatment of reproductive tract disease has been reviewed (Lefebvre and Stock, 2012). Consistent evidence exists that cows with PVD have improved reproductive performance when treated with a single intra-uterine (IU) infusion of cephalixin approximately 1 month before first insemination, relative to receiving no treatment (LeBlanc et al., 2002; Runciman et al., 2009). A large randomized trial indicated that pregnancy at first service among cows with PVD that were treated with IU cephalixin did not differ from unaffected cows (~ 33%), whereas untreated cases of PVD had 15% pregnancy at first AI (Denis-Robichaud and Dubuc, 2015).

Numerous older studies reported that 1 or 2 injections of prostaglandin (PGF) improved reproductive performance or produced clinical outcomes similar to IU antibiotics. In studies specifically considering cows with risk factors for or with endometritis, PGF consistently did not improve reproductive performance, but many of these studies lacked valid case definitions, statistical power, or both (LeBlanc, 2008). In a clinical trial in more than 2,000 cows, including more than 600 cows with PVD, cytological endometritis, or both, cows were assigned randomly to receive PGF at postpartum weeks 5 and 7 (Dubuc et al., 2011). Overall, or among cows with reproductive tract disease, no difference was detected in time to pregnancy between PGF-treated and control cows, which is similar to the findings of Galvao et al. (2009b) for cytological endometritis. Data from Dubuc et al. (2011), however, were re-analyzed to examine cows

with PVD specifically and without regard to endometritis status (i.e., to address the clinical question of treatment of cows examined only for PVD (which is practical) but without diagnosis of endometritis by cytology (which is well validated, but impractical for routine clinical application). Among 323 cows with PVD at 5 weeks postpartum, clinical resolution (absence of PVD) at 8 weeks postpartum was 72% in cows that received PGF at weeks 5 and 7 and 58% in untreated controls ($P = 0.01$). Among these cows with PVD, 43% had a corpus luteum (CL; serum progesterone > 1 ng/ml) at week 5 and 63% had a CL at week 7; 69% had a CL at least once before either of the PGF injections. Accounting for parity, BCS at calving, occurrence of dystocia, RP or twins, and herd, cows with PVD that received 2 injections of PGF tended to become pregnant sooner than untreated cases (hazard ratio = 1.2, 95% confidence interval 0.95 to 1.6). There was no interaction of the effect of PGF with the presence of a CL. Therefore, these results join others (LeBlanc et al., 2002) pointing to an equivocal effect of PGF for treatment of PVD. For cows with PVD, a program of treating those with a palpable CL with PGF produced equivalent reproductive performance as treating all with IU cephalixin (McDougall et al., 2013). Different strategies for PGF as therapy for reproductive tract inflammatory disease merit further investigation. Taken together, it seems that IU cephalixin is beneficial for reproductive performance in cases of PVD (which may be associated with cervicitis or endometritis), but the benefit of PGF commonly employed as therapy for PVD is unclear.

One study (Kasimanickam et al., 2005) reported a benefit to reproductive performance of either PGF or IU cephalixin relative to no treatment, but further investigation of rapid cow-side diagnostic tests and treatments for cytological endometritis are needed. Although bacterial culture of the uterus of cows with

endometritis is commonly negative, a large clinical trial showed improvement of pregnancy at first AI in cows with endometritis treated with IU cephalixin (Denis-Robichaud and Dubuc, 2015). Development of more effective treatments for endometritis will require a better understanding of the factors that initiate and sustain endometrial inflammation, including differentiation of cows with active bacterial infection, but investigation of anti-inflammatory approaches to treatment are of interest.

Conclusions and Future Perspective

A balance between bacterial infection of the uterus during the weeks after calving and the effectiveness of the immune and inflammatory response to it will determine the incidence of reproductive tract diseases. New understanding of links between metabolism and inflammation may lead to better approaches to prevent reproductive disease by nutrition and management, and more targeted therapies. Thoughtful selectivity is warranted for development of treatment protocols for metritis, while more widespread diagnosis and treatment of PVD at approximately 1 month postpartum is likely an area of opportunity in many herds.

References

- Benzaquen M. E., C. A. Risco, L. F. Archbald, P. Melendez, M.-J. Thatcher, and W. W. Thatcher. 2007. Rectal temperature, calving-related factors, and the incidence of puerperal metritis in postpartum dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90:2804-2814.
- Bicalho R. C., V. S. Machado, M.L.S. Bicalho, R. O. Gilbert, A.G.V. Teixeira, L. S. Caixeta, and R.V.V. Pereira. 2010. Molecular and epidemiological characterization of bovine intrauterine *Escherichia coli* *J. Dairy Sci.* 93:5818-5830.

- Bicalho, M.L.S., V. S. Machado, G. Oikonomou, R. O. Gilbert, and R. C. Bicalho. 2012: Association between virulence factors of *Escherichia coli*, *Fusobacterium necrophorum*, and *Arcanobacterium pyogenes* and uterine diseases of dairy cows. *Vet. Microbiol.* 157:125-131.
- Bicalho, M. L., V. S. Machado, C. H. Higgins, F. S. Lima, and R. C. Bicalho. 2017a. Genetic and functional analysis of the bovine uterine microbiota. Part I: Metritis versus healthy cows. *J. Dairy Sci.* 100: 3850–3862.
- Bicalho M. L. S., S. Lima, C. H. Higgins, V. S. Machado, F. S. Lima, and R. C. Bicalho. 2017b. Genetic and functional analysis of the bovine uterine microbiota. Part II: Purulent vaginal discharge versus healthy cows. *J. Dairy Sci.* 100: 3863–3874.
- Cai, T. Q., P. G. Weston, L. A. Lund, B. Brodie, D. J. McKenna, and W. C. Wagner. 1994. Association between neutrophil functions and periparturient disorders in cows. *Am. J. Vet. Res.* 55:934-943.
- Chenault, J. R., J. F. McAllister, T. Chester, K. J. Dame, F. M. Kausche, and E. J. Robb. 2004. Efficacy of ceftiofur hydrochloride administered parenterally for the treatment of acute postpartum metritis in dairy cows. *JAVMA* 224:1634-1639.
- Cheong S. H., D. V. Nydam, K. N. Galvão, B.M . Crosier, A. Ricci, L. S. Caixeta, R. B. Sper, M. Fraga, R. O. Gilbert. 2012. Use of reagent test strips for diagnosis of endometritis in dairy cows. *Theriogenology* 77:858-864.
- Cheong SH, SaFilho OG, Absalon-Medina VA, Schneider A, Butler WR, Gilbert RO. 2017. Uterine and systemic inflammation influences ovarian follicular function in postpartum dairy cows. *PLoS ONE* 12: e0177356.

- Cunha F., S. J. Jeon, R. Daetz, A. Vieira-Neto, J. Laporta, C. Jeong, A.F. Barbet, C. A. Risco, and K. N. Galvao. 2018. Quantifying known and emerging uterine pathogens, and evaluating their association with metritis and fever in dairy cows. *Theriogenology* 114: 25-33.
- Dadarwal D., C. Palmer, P. Griebel. 2017. Mucosal immunity of the postpartum bovine genital tract. *Theriogenology* 104: 62-71.
- de Boer MW, LeBlanc SJ, Dubuc J, Meier S, Heuwieser W, Arlt S, Gilbert R, and McDougall S. 2014. Invited review: systematic review of diagnostic tests for reproductive-tract infection and inflammation in dairy cows. *J Dairy Sci.* 97: 3983-3899.
- Deguillaume, L., A. Geffré, L. Desquilbet, A. Dizien, S. Thoumire, C. Vornière, F. Constant, R. Fournier, and S. Chastant-Maillard. 2012: Effect of endocervical inflammation on days to conception in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 95:1776-1783.
- Denis-Robichaud J. and J. Dubuc. 2015. Randomized clinical trial of intrauterine cephalosporin infusion in dairy cows for the treatment of purulent vaginal discharge and cytological endometritis. *J. Dairy Sci.* 98:6856–6864
- Drillich, M., D. Voigt, D. Forderung, and W. Heuwieser. 2007. Treatment of acute puerperal metritis with Flunixin Meglumine in addition to antibiotic treatment. *J. Dairy Sci.* 90:3758-3763.
- Dubuc, J., T. F. Duffield, K. E. Leslie, J. S. Walton, and S. J. LeBlanc. 2010a. Definitions and diagnosis of postpartum endometritis in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 93:5225-5233.
- Dubuc, J., T. F. Duffield, K. E. Leslie, J. S. Walton, and S. J. LeBlanc. 2011. Randomized clinical trial of antibiotic and prostaglandin treatments for uterine health and reproductive performance in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 94:1325-1338.

- Dubuc, J., T. F. Duffield, K. E. Leslie, J. S. Walton, and S. J. LeBlanc. 2012. Risk factors and effects of postpartum anovulation in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 95:1845–1854.
- Galvão, K. N., M. Frajblat, S. B. Brittin, W. R. Butler, C. L. Guard, and R. O. Gilbert. 2009. Effect of prostaglandin $F_{2\alpha}$ on subclinical endometritis and fertility in dairy cow. *J. Dairy Sci.* 92:4906-4913.
- Galvão K.N., Flaminio M.J.B.F., Brittin S.B., Sper R., Fraga M., Caixeta L., Ricci A., Guard C.L., Butler W.R., Gilbert R.O. 2010. Association between uterine disease and indicators of neutrophil and systemic energy status in lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 93: 2926–2937.
- Gilbert, R. O., S. T. Shin, C. L. Guard, H. N. Erb, and M. Frajblat. 2005. Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology* 64:1879-1888.
- Gilbert, R. O., N. R. Santos, K. N. Galvão, S. B. Brittin, and H. B. Roman HB. 2007. The relationship between postpartum uterine bacterial infection (BI) and subclinical endometritis (SE). *J. Dairy Sci.* 90(E-Suppl. 1): 469 (Abstr.)
- Giuliodori M. J., R. P. Magnasco, D. Becu-Villalobos, I. M. Lacau-Mengido, C. A. Risco, R. L. de la Sota. 2013. Metritis in dairy cows: Risk factors and reproductive performance. *J. Dairy Sci.* 96:3621-3631.
- Haimerl P., S. Arlt, S. Borchardt, and W. Heuwieser. 2017. Antibiotic treatment of metritis in dairy cows - A meta-analysis. *J. Dairy Sci.* 100: 3783–3795.
- Hammon DS, Evjen IM, Dhiman TR, Goff JP and Walters JL. 2006. Neutrophil function and energy status in Holstein cows with uterine health disorders. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 113: 21-29.

- Herath S, Lilly ST, Santos NR, Gilbert RO, Goetze L, Bryant CE, White JO, Cronin J and Sheldon IM. 2009. Expression of genes associated with immunity in the endometrium of cattle with disparate postpartum uterine disease and fertility. *Reproductive Biology and Endocrinology* 7: 55.
- Hill, J., and R. Gilbert. 2008. Reduced quality of bovine embryos cultured in media conditioned by exposure to an inflamed endometrium. *Aust. Vet. J.* 86: 312–316.
- Karstrup C.C., K. Klitgaard, T.K. Jensen, J.S. Agerholm, H. G. Pedersen. 2017. Presence of bacteria in the endometrium and placentomes of pregnant cows. *Theriogenology* 99: 41-47.
- Kasimanickam, R., T. F. Duffield, R. A. Foster, C. G. Gartley, K. E. Leslie, J. S. Walton, and W. Johnson. 2005. The effect of a single administration of cephalixin or cloprostenol on the reproductive performance of dairy cows with subclinical endometritis. *Theriogenology* 63:818-830.
- LeBlanc, S. J., T. F. Duffield, K. E. Leslie, K. G. Bateman, G. Keefe, J. S. Walton, and W. H. Johnson. 2002. The effect of treatment of clinical endometritis on reproductive performance in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85:2237-2249.
- LeBlanc, S. 2008: Postpartum uterine disease and dairy herd reproductive performance – A review. *Vet. J.* 176:102-114.
- LeBlanc, S.J., T. Osawa, and J. Dubuc J. 2011. Reproductive tract defence and disease in postpartum dairy cows. *Theriogenology* 76:1610-1618.
- LeBlanc, S. J. 2012. Interactions of metabolism, inflammation, and reproductive tract health in the postpartum period in dairy cattle. *Reprod. Domest. Anim.* 47(Suppl. 5):18-30.
- LeBlanc S. J. 2014. Reproductive tract inflammatory disease in postpartum dairy cows. *Animal* 8:s1: 54–63.

- Lefebvre, R. C., and A. E. Stock. 2012. Therapeutic efficiency of antibiotics and prostaglandin F_{2a} in postpartum dairy cows with clinical endometritis: An evidence-based evaluation. *Vet. Clin. Food Anim.* 28:79-96.
- Lima F.S., A. Vieira-Neto, G. S. F. M. Vasconcellos, R. D. Mingoti, E. Karakaya, E. Solé, R. S. Bisinotto, N. Martinez, C. A. Risco, K. N. Galvão, and J. E. P. Santos. 2014. Efficacy of ampicillin trihydrate or ceftiofur hydrochloride for treatment of metritis and subsequent fertility in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 97: 5401–5414.
- Lomb J., H. W. Neave, D. M. Weary, S. J. LeBlanc, J. M. Huzzey, and M. A. G. von Keyserlingk. 2018. Changes in feeding, social, and lying behaviors in dairy cows with metritis following treatment with a nonsteroidal anti-inflammatory drug as adjunctive treatment to an antimicrobial. *J. Dairy Sci.* 101: 4400–4411.
- Magata F. and T. Shimizu. 2017. Effect of lipopolysaccharide on developmental competence of oocytes. *Reproductive Toxicology* 71: 1–7.
- McDougall, S., M. de Boer, C. Compton, and S. J. LeBlanc. 2013. Clinical trial of treatment programs for purulent vaginal discharge in lactating dairy cattle in New Zealand. *Theriogenology* 79:1139-1145.
- McLaughlin, C. L., E. Stanisiewski, M. J. Lucas, C. P. Cornell, J. Watkins, L. Bryson, J.K.S. Tena, J. Hallberg, and J. R. Chenault. 2012. Evaluation of two doses of ceftiofur crystalline free acid sterile suspension for treatment of metritis in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 95:4363-4371.
- McLaughlin, C.L., E.P. Stanisiewski, C.A. Risco, J.E.P. Santos, G. E. Dahl, R. C. Chebel, C. LaGrow, C. Daugherty, L. Bryson, D. Weigel, J. Hallberg, and M. J. Lucas. 2013. Evaluation of ceftiofur crystalline free acid sterile suspension for control of metritis in high-risk lactating dairy cows. *Theriogenology* 79:725-735.

- Moore S. G., A. C. Ericsson, S. E. Pooch, P. Melendez, and M. C. Lucy. 2017. Hot topic: 16S rRNA gene sequencing reveals the microbiome of the virgin and pregnant bovine uterus. *J. Dairy Sci.* 100: 4953–4960.
- Pleticha S., Drillich M., Heuwieser W. 2009. Evaluation of the Metrichack device and the gloved hand for the diagnosis of clinical endometritis in dairy cows *J. Dairy Sci.* 92: 5429–5435
- Pohl A., S. Bertulat, S. Borchardt, O. Burfeind, and W. Heuwieser. 2016. Randomized, controlled clinical trial on the efficacy of nonsteroidal antiinflammatory drugs for the treatment of acute puerperal metritis in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 99: 8241–8249.
- Ribeiro E.S. and M.R. Carvalho. 2017. Impact and mechanisms of inflammatory diseases on embryonic development and fertility in cattle. *Anim. Reprod.* 14: 589-600.
- Runciman, D. J., G. A. Anderson, and J. Malmo. 2009. Comparison of two methods of detecting purulent vaginal discharge in postpartum dairy cows and effect of intrauterine cephalixin on reproductive performance. *Aust. Vet. J.* 87:369-378.
- Sannmann, I., S. Arlt, and W. Heuwieser. 2012. A critical evaluation of diagnostic methods used to identify dairy cows with acute postpartum metritis in the current literature. *J. Dairy Res.* 79:436-444.
- Sannmann, I., O. Burfeind, R. Voigtsberger, and W. Heuwieser. 2013. Comparison of two monitoring and treatment strategies for cows with acute puerperal metritis. *Theriogenology* 79:961-969.
- Sheldon, I. M. 2004: The postpartum uterus. *Vet. Clin. Food Anim.* 20:569-591.
- Sheldon, I. M., J. Cronin, L. Goetze, G. Donofrio, and H. J. Schuberth. 2009a. Defining postpartum uterine disease and the mechanisms of infection and immunity in the female reproductive tract in cattle. *Biol. Reprod.* 81:1025-1032.

- Sheldon, I. M., S. B. Price, J. Cronin, R. O. Gilbert, and J. E. Gadsby. 2009b. Mechanisms of infertility associated with clinical and subclinical endometritis in high producing dairy cattle. *Reprod. Domest. Anim.* 44(Suppl. 3):1-9.
- Sheldon, I. M., A. N. Rycroft, B. Dogan, M. Craven, J. J. Bromfield, A. Chandler, M. H. Roberts, S. B. Price, R. O. Gilbert, and K. W. Simpson. 2010. Specific strains of *Escherichia coli* are pathogenic for the endometrium of cattle and cause pelvic inflammatory disease in cattle and mice. *PLoS ONE* 5: e9192.
- Sheldon, I.M., S-E Owens, M.L. Turner 2017. Innate immunity and the sensing of infection, damage and danger in the female genital tract. *J. Reprod. Immunol.* 119: 67–73.
- von Krueger, X., P. Scherpenisse, S. Roiger, and W. Heuwieser. 2013. Determination of ceftiofur derivatives in serum, endometrial tissue, and lochia in puerperal dairy cows with fever or acute puerperal metritis after subcutaneous administration of ceftiofur crystalline free acid. *J. Dairy Sci.* 96:1054-1062.
- Wagener K., C. Gabler, M. Drillich. 2017. A review of the ongoing discussion about definition, diagnosis and pathomechanism of subclinical endometritis in dairy cows. *Theriogenology* 94: 21-30.
- Williams, E. J., D. P. Fischer, D. U. Pfeiffer, G.C.W. England, D. E. Noakes, H. Dobson, and I. M. Sheldon. 2005. Clinical evaluation of postpartum vaginal mucus reflects uterine bacterial infection and the immune response in cattle. *Theriogenology* 63:102-117.
- Williams EJ, Fischer DP, Noakes DE, England GCW, Rycroft A, Dobson, H, Sheldon IM, 2007. The relationship between uterine pathogen growth density and ovarian function in the postpartum dairy cow. *Theriogenology* 68: 549–559.

Wittrock J. M., K. L. Proudfoot, D. M. Weary, and M. A. G. von Keyserlingk. 2011. Short communication: Metritis affects milk production and cull rate of Holstein multiparous and primiparous dairy cows differently. *J. Dairy Sci.* 94: 2408-2412.

BEM ESTAR ANIMAL E PRODUÇÃO: MITOS E VERDADES

Antony Paulo Luenenberg

Coordenador Técnico de Bem Estar Animal – MSD

Os primeiros relatos dos bovinos datam de 30.000 anos a.C. e foi um dos primeiros animais a serem domesticados pelos humanos entre 5.000 a 6.000 anos a.C. À medida que se intensificaram os sistemas de produção houve perda da relação de confiança entre humanos e bovinos, gerando novos desafios.

A crescente preocupação e pressão mundial de consumidores cada vez mais exigentes com segurança alimentar tem mudado o conceito de saúde animal, pois todas as necessidades etológicas devem ser atendidas quebrando o paradigma de que se o animal estiver com ausência de fome, sede e saudável ele terá ótima qualidade de bem estar (Costa-e-Silva, 2002). A falta de informação sobre os sistemas de produção de bovinos e o estreitamento das margens de lucro tem exigido dos pecuaristas novas maneiras de gerir o seu negócio. Neste contexto, o bem-estar animal torna-se uma excelente oportunidade para abrir novos mercados, agregar valor no produto final através da redução das perdas causadas pelo mau manejo e aumentar a lucratividade das fazendas.

A MSD Saúde Animal foi pioneira no Brasil lançando em julho de 2015 o programa de bem-estar animal denominado Criando Conexões. Esta iniciativa global da empresa tem como missão despertar o interesse da cadeia pecuária para o potencial que uma comunicação efetiva entre pessoas e animais possui na melhoria do ambiente de trabalho, na segurança das pessoas e no bem estar animal. Este programa foi desenhado para expandir a compreensão de como a interação entre humanos e o gado afeta sua saúde e o bem estar, através de movimentos calmos, confiantes e sem a utilização de objetos, cria-se uma experiência positiva para o gado elevando sua confiança.

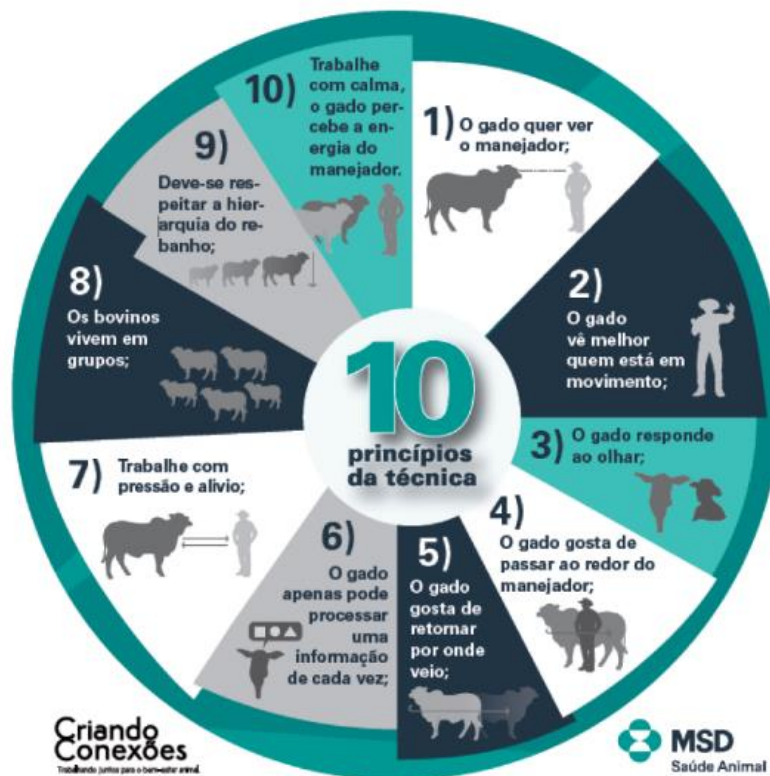
A técnica de baixo estresse aplicada no programa baseia-se no manejo através da linguagem corporal, visão e na confiança mútua entre o manejador e o bovino, conhecida como *stockmanship* ou *low-stress livestock handling*. No Brasil também é denominada como manejo “nada nas mãos”.

Desenvolvida nos EUA pelo vaqueiro Bud Williams (falecido em 2012), foi aperfeiçoada pelo Dr. Tom Noffsinger, veterinário americano que lhe deu base científica.



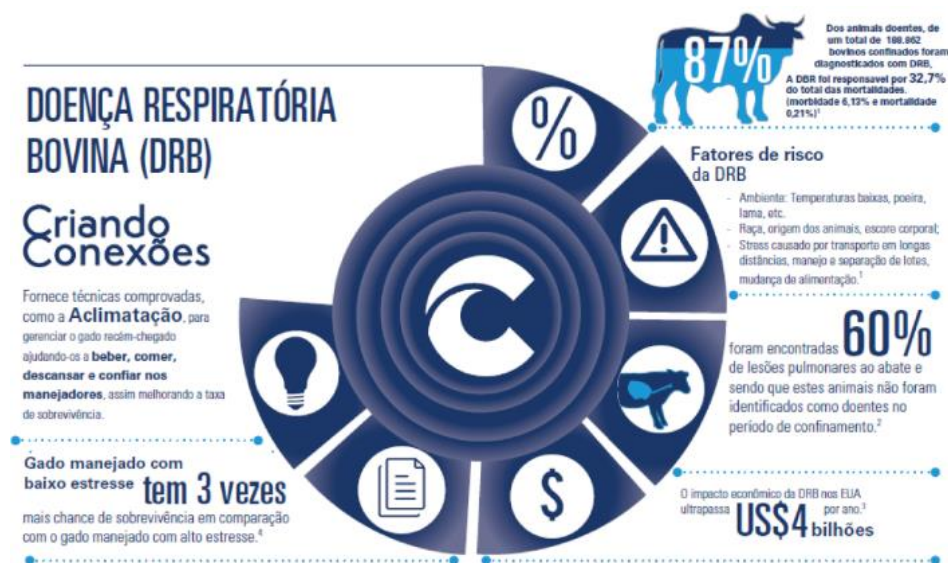
Bud Williams e Dr. Tom Noffsinger.

A técnica é baseada em 10 princípios.



Um dos maiores desafios da pecuária nacional é a escassez de mão de obra qualificada para um manejo adequado, pois o aprendizado de trabalho dos vaqueiros foi obtido de modo tradicional, passado de geração para geração e muitas vezes com agressividade, o mesmo praticado há 50 anos.

A falta de observação e de conhecimento sobre o comportamento e os sentimentos do animal faz com que os vaqueiros “empurrem” e tenham atitudes punitivas com os bovinos, ao invés de guiarem os animais. Na grande maioria das vezes se posicionam na zona cega (atrás da garupa dos bovinos), com isso os animais tendem a se virar para ver os manejadores. Outro ponto que se tem observado é a utilização de “falsas bandeiras” que ao invés de serem utilizadas para facilitar o manejo tornam-se instrumentos de agressão aos animais.



Iconográfico 01

O conhecimento do comportamento animal pelos manejadores, conhecimento das suas características biológicas como estrutura hierárquica do rebanho, visão, audição e características reprodutivas, aliado a compreensão e aplicação de técnicas de manejo racional tem efeitos positivos na eficiência produtiva e econômica do rebanho, na imunidade dos animais e bem estar para os animais e manejadores. A formação do

relacionamento entre humanos e animais é dependente da quantidade e da qualidade das ações humanas (Boivin et al., 1994; Rushen et al., 1999; Krohn et al., 2001), conseguindo distinguir as pessoas conforme suas ações positivas, negativas e neutras (De Passillé et al., 1996; Rybarezky et al., 2001).

Na natureza os bovinos são presas e neste sentido eles “escondem” a manifestação dos sinais clínicos de doenças para evitar tornarem-se vulneráveis aos predadores. Desta maneira, o programa Criando Conexões permite que o manejador seja um cuidador dos animais, facilitando a identificação precoce e prevenção de doenças, pois neste novo cenário o vaqueiro não será mais um agressor na ótica dos bovinos.

Alguns estudos demonstram que o manejo com baixo estresse melhora a imunidade, a resposta a vacinação e o desempenho dos animais. Sabe-se também que animais confinados classificados como nervosos comem menos frequentemente, crescem mais lentamente, tem menor ganho de peso, propensão a doenças e maior proporção de cortes de carne escuros (Hudgson et al (2012).

Na reprodução, a interação positiva entre os manejadores e os animais tem grande importância para o sucesso dos processos de inseminação artificial e pode influenciar nas taxas de prenhez. Vários estudos têm demonstrado o efeito prolongado do estresse sobre a reprodução, hormônio liberador de corticotrofinas, hormônio adrenocorticotrófico, cortisol e opióides endógenos, que atuam inibindo a secreção de GNRH e estrógenos, comprometendo a ovulação e podendo resultar no aparecimento de cistos foliculares (Russi, et al 2011).

Matrizes quando manejadas de forma calma e confiante mudam seu comportamento, são observados a diminuição no número de quedas, escorregões, tentativas de atacar os manejadores e na velocidade de saída do brete de contenção. Neto, *et al* (2016) avaliou o efeito do temperamento na taxa de prenhez de fêmeas da raça Nelore

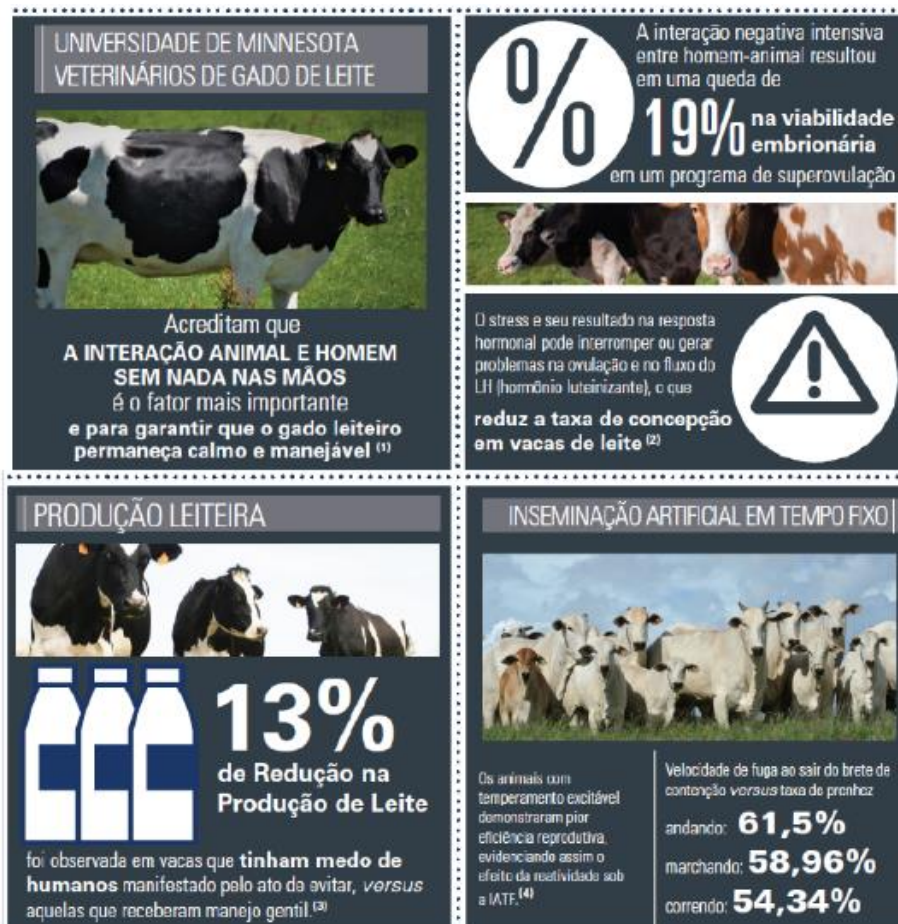
submetidas a IATF e concluiu que os animais que saem caminhando do brete de contenção tiveram taxa de prenhez de 61,65%, marchando 58,96% e correndo 54,34%. Cooke, et al (2011) avaliou a influência do temperamento de novilhas nelore submetidas a protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) e observou que os animais com temperamento mais excitável tiveram uma redução de 17% na taxa de prenhez quando comparadas a animais com comportamento classificado como adequado.



Implementação do Programa Criando Conexões: Manejo de Matrizes em Bonito/MS – imagem de arquivo pessoal.

Quando comparado um grupo de vacas de leite com medo de seres humanos (comportamento de evitação) em relação outro que recebeu manejo gentil observou-se uma queda de 13% na produção de leite (Stoebel and Moberg, 1982). A interação intensiva negativa entre homem-animal gerou uma queda de 19% na viabilidade embrionária em um programa de superovulação e o estresse e seu resultado em resposta hormonal pode interromper ou gerar problemas na ovulação e no fluxo de hormônio luteinizante (LH) reduzindo a taxa de concepção (Macedo, et al. 2011). Hemsworth et al. (2000, 2002) mostraram que a interação negativa (“bater”, “empurrar”, “gritar” e “torcer a cauda”) foi correlacionada negativamente ($P < 0,01$) com produção de leite, teores de proteína e gordura, e positivamente com a concentração de cortisol ($P < 0,01$) : $r = -0,36$;

$r=-0,35$; $r=-0,33$ e $r=0,34$, respectivamente, indicando a possibilidade de aumento da produtividade da vaca através de interação positiva retireiro-vaca leiteira.



Iconográfico 02

Um dos pontos críticos na criação de bovinos de corte é a fase do manejo pré-abate, pois envolve uma série de situações não familiares para os bovinos, que causam estresse aos mesmos (Paranhos da Costa, 2002). Roça (1999) definiu o abate humanitário como o conjunto de procedimentos técnicos e científicos que garantem o bem-estar dos animais desde o embarque na propriedade rural até a operação de sangria no matadouro-frigorífico. O estresse imposto ao animal na fase *ante mortem* terá efeito na quantidade de descarte por motivos de hematomas e qualidade da carne, por exemplo no que diz respeito a maciez (Luchiari Filho, 2000). A qualificação dos manejadores pode ter

influência positiva reduzindo ou até zerar o número de hematomas nos animais abatidos. Segundo Paranhos da Costa (2002) no Brasil não se presta muito atenção no manejo pré-abate e os reflexos negativos na rentabilidade do pecuarista e da indústria.

Segundo Russi, et al (2011) um dos recursos mais utilizados para o manejo de bovinos nos frigoríficos são os bastões elétricos e sua frequência de utilização influencia no padrão de manejo oferecido aos animais. Grandin indica como aceitável a utilização dos bastões em no máximo 25% dos animais e em áreas consideradas críticas para o manejo, como a porção que antecede o boxe de atordoamento (www.grandin.com/cattle.audit.form.html), a frequência da utilização pode ser reduzida após treinamento da equipe conforme figura 01 (Barbalho, 2007).

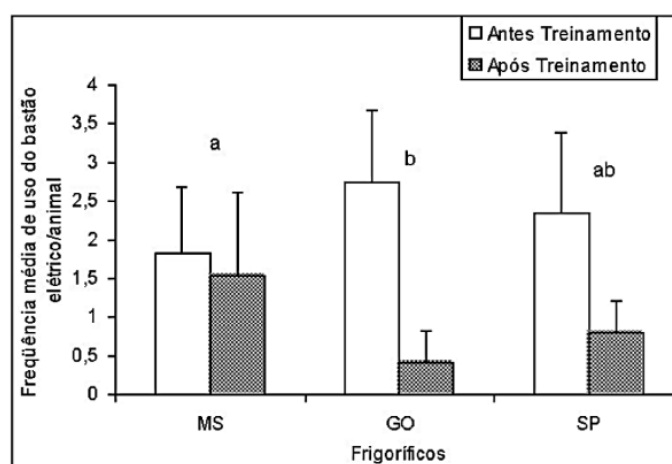


Figura 1. Frequências (Médias e desvios padrão) do uso de batão elétrico durante a condução dos animais no curral de espera ao boxe de atordoamento antes e após um treinamento de manejo racional em três frigoríficos brasileiros.

Diversos fatores influenciam no tamanho, localização e número de lesões nas carcaças como: tempo de transporte, densidade de animais nos caminhões, condições das estradas e manejo no carregamento e descarregamento dos animais. Polizel Neto (2015) avaliou as perdas econômicas ocasionadas por lesões em carcaças de bovinos abatidos em matadouro-frigorífico do norte de Mato Grosso e concluiu que tempo de transporte acima de 2 horas eleva o percentual de carcaças lesionadas (Quadro 01), com maior

ocorrência de lesões de 11 a 15 cm na região do lombo, e que as perdas com lesões em carcaça bovinas decorrentes de transporte e manejo pré-abate em um frigorífico de porte médio podem superar 200 mil reais/ano.

Quadro 1. Número e porcentagem de lesões em carcaça de bovinos conforme o tempo de transporte no pré-abate

Tempo de transporte (horas)	Total de Animais	Carcaças Lesionadas	Total de lesão	Número médio de lesões por carcaça
0:30 a 2:00	246	93(38% ^A)	170	1,82 ^A
2:01 a 8:00	289	120(41,5% ^B)	247	2,05 ^B
8:01 a 15:00	486	220(45,2% ^B)	457	2,07 ^B
Total	1.021	433	874	-

* Médias seguidas da mesma letra maiúscula, na mesma coluna, não diferem entre si ($P>0.05$).

Renner (2005) constatou a incidência de lesões em 49% das 20 mil carcaças avaliadas e, concluiu que os cortes nobres foram os mais atingidos sendo: no quarto traseiro (52%), no vazio (19%), nas costelas (13%), na paleta (9%) e no lombo (7%).

Em 22.324 avaliações de carcaças de animais abatidos no estado de São Paulo, todas as categorias apresentaram altas porcentagens de hematomas, variando de 62,24% (observada em machos não castrados) a 83,8% (observada em vacas). Os hematomas ocorreram mais frequentemente nas costelas (49,02%) e no traseiro (36,15%), seguidas pelo dianteiro (23,82%) e lombo (14,59%). Houve maior risco de ocorrência de hematomas na categoria de vacas e nas classes de distâncias de 300 a 400 e de 400 a 500 km. Conclui-se que a categoria animal “Vaca”, merece cuidado redobrado no momento

do manejo pré-abate, já que são animais mais propensos a terem hematomas nas suas carcaças (Pellecchia, 2014).



Iconográfico 03

Desde seu lançamento, o programa Criando Conexões da MSD Saúde Animal democratiza o conhecimento e fortalece o relacionamento com seus clientes, pois o desenvolvimento dos vaqueiros proporciona um manejo mais humanizado com o gado, melhorando a segurança no ambiente de trabalho, melhoria dos ganhos de peso, taxa de concepção, qualidade da carcaça e redução da taxa de mortalidade. O programa já está introduzido em mais de 1,8 milhão de cabeças de gado em fazendas de norte ao sul do Brasil.

REFERÊNCIAS

- Boivin, X. et al. (1994). Influence of breed and rearing management on cattle reactions during human handling. *Appl Anim Behav Sci*, 39, 115-122.
- Cooke, R. F., Bohnert, D. W., Meneghetti, M., Losi, T. C., Vasconcelos, J. L. M. 2011. Effects of temperament on pregnancy rates to fixed-timed AI in *Bos indicus* beef cows. *Livestock Science*, 142, 108-113.

Costa-e-Silva, E. V. et al (2002). Bem-estar, ambiência e saúde animal. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Mato Grosso do Sul. Campo Grande, MS.

De Passillé, A. M. et al. (1996). Dairy calves' discrimination of people based on previous handling. *J. Anim. Sci.*, 74, 969-974.

Fell, L. R.; Colditz, I. G.; Walker, K. H.; Watson, D. L. Associations between temperament, performance and immune function in cattle entering a commercial feedlot. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, v. 39, n. 7, p. 795–802, 1999.

Hemsworth, P. H. et al. (2000). Relationships between human-animal interactions and productivity of commercial dairy cows. *J. Anim. Sci.*, 78, 2821-2831

Hemsworth P. H. et al. (2002). The effects of cognitive behavioral intervention on the attitude and behavior of stockpersons and the behavior and productivity of commercial dairy cows. *J. Anim. Sci.*, 80, 68-78.

Hodgson et al. (2012) Stress significantly increases mortality following a secondary bacterial respiratory infection. *Veterinary Research*, 43:2

Krohn, C. C. et al. (2001). The effect of early handling on the socialization of young calves to humans. *Appl Anim Behav Sci*, 74, 121-133.

Luchiari Filho, A. (2000). *Pecuária da carne bovina*. São Paulo: R Vieira.

Mendonça, Fábio Souza. Fatores pré-abate relacionados às contusões em carcaças bovinas. 2015. 74 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. 2015.

Neto, O. A.; Ferro, R. A.; Santos, K. J.; Ferro, D. A. Efeito do temperamento na taxa de prenhez em fêmeas da raça nelore submetidas a IATF, 2016

Paranhos da Costa, M.J.R. (2002). Ambiência e qualidade de carne. Em: L. A. Josahkian (org.). Congresso das Raças Zebuínas (pp.170-174). Uberaba, MG: ABCZ.

Pellecchia, Arquimedes José Riobueno. Caracterização do risco de hematomas em carcaças bovinas. 2014. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal 2014

Renner, R. M. 2005. Fatores que afetam o comportamento, transporte, manejo e sacrifício de bovino. 2005. Tese (Especialização em Zootecnia). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

Roça, R. O. (1999). *Abate humanitário: o ritual kasher e os métodos e insensibilização de bovinos*. Tese de doutorado, Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP.

Rosa, M. S.; Chiquitelli Neto, M.; Paranhos da Costa, M.J.R. A visão dos bovinos e o manejo. Encontrado em: www.milkpoint.com.br/SistemasdeProdução. Publicado em 22/01/2003.

Rushen, J. et al. (1999). Fear of people by cows and effects on milk yield, behavior, and heart rate at milking. *J. Dairy Sci*, 82, 720-727.

Russi, L. S. et al (2011). Etologia aplicada em bovinos. *Revista de Etologia*, Vol. 10, nº1, 45-53

Rybarezkyk, P., Koba, Y., Rushen, J., Tanida, H., & De Passillé, A. M. B. (2001). Can cows discriminate people by their faces? *Appl Anim Behav*, 74, 175-189.

Iconográfico 01

1 - Baptista, Anderson Lopes et al. Bovine respiratory disease complex associated mortality and morbidity rates in feedlot cattle from southeastern Brazil. *The Journal of Infection in Developing Countries*, v. 11, n. 10, p. 791-799, 2017.

2 - USDA (2007b). *Beef 2007-08, Part III: Changes in the US Beef Cow-Calf Industry, 1993-2008*. Fort Collins, CO: USDA-APHIS National Health Monitoring System. SCHNEIDER et al., 2009.

3 - Cernicchiaro, N. et al. Associations between weather conditions during the first 45 days after feedlot arrival and daily respiratory disease risks in autumn-placed feeder cattle in the United States. *Journal of Animal Science*, v. 90, n. 4, p. 1328-37, 2012.

4 - Figure 1c. Hodgson et al. (2012) *Stress significantly increases mortality following a secondary bacterial respiratory infection. Veterinary Research*, 43:21

Iconográfico 02

1 – Sorge, U.S., Cherry, C., Bender, J.B. 2014. Perception of the importance of human-animal interactions on cattle flow and worker safety on Minnesota dairy farms, *American Dairy Science Association*, 97 :4632–4638

2 - Macedo, G.G., Zúccari, C.E.S.N.; Costa e Silva, E.V, 2012. Efeito do estresse na eficiência reprodutiva de fêmeas bovinas, *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.36, p.10-17.

3 - Stoebel, D. P.; Moberg, G. P. Effect of adrenocorticotropin and Cortisol on luteinizing hormone surge and estrous behavior of cows. **Journal of Dairy Science**. v. 65, n. 6, p. 1016-1024, 1982.

4 - Neto, O. A.; Ferro, R. A.; Santos, K. J.; Ferro, D. A. Efeito do temperamento na taxa de prenhez em fêmeas da raça nelore submetidas a IATF, 2016.

Iconográfico 03

1- Moro, E.; Junquera, J. O.B.; Umehara, O. Levantamento a incidência de reações vacinais e/ou medicamentosas em carcaças de bovinos na desossa em frigoríficos no Brasil. *A Hora Veterinária*, v. 21, n.123, p. 55-57, 2001.

2 Mendonça S. F. 2015. Fatores pré-abate relacionados às contusões em carcaças bovinas. Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Zootecnia, da Universidade Federal de Pelotas/RS.

Fell, L. R.; Colditz, I. G.; Walker, K. H.; Watson, D. L. Associations between temperament, performance and immune function in cattle entering a commercial feedlot. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, v. 39, n. 7, p. 795–802, 1999.

UTILIZAÇÃO ESTRATÉGICA DA TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES EM REBANHOS DE CORTE E DE LEITE

Amanda F. Zangirolamo^{1,2}; Larissa Z. Bergamo²; Anne K. Souza^{1,2}; Nathália C. da Silva;

Tamires K. Sanches; Marcelo M. Seneda^{1,2}

¹ Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia para a Cadeia Produtiva do Leite (INCT–LEITE), Universidade Estadual de Londrina, Rodovia Celso Garcia Cid-Campus Universitário, Cx Postal 10.011, Londrina, Paraná 86057-970, Brasil.

² Laboratório de Reprodução Animal, DCV-CCA-UEL, Londrina, Paraná, Brasil.

email: marcelo.seneda@uel.br (Marcelo M. Seneda).

Resumo

A aplicação de biotécnicas relacionadas à reprodução animal é uma estratégia fundamental para a produção bovina em larga escala nos setores de carne e leite. Neste contexto, a transferência de embriões viabiliza o aumento do número de produtos nascidos de fêmeas geneticamente superiores, associando o ganho genético entre gerações. De modo geral, o embrião é mais resistente ao estresse térmico quando comparado aos gametas. Assim, a utilização de embriões pode ser mais vantajosa na obtenção de prenhez, principalmente em épocas mais quentes do ano. A produção in vitro de embriões (PIVE) com uso de sêmen sexado representa uma poderosa ferramenta para a multiplicação e disseminação de genética de alta qualidade, bem como da otimização da escolha do sexo dos produtos. Este artigo aborda a utilização estratégica

da TE em rebanhos de corte e de leite, levando em consideração as particularidades e adaptações inerentes a cada setor, visando o incremento do setor leiteiro e corte bovino.

Introdução

O desenvolvimento de biotécnicas relacionadas à reprodução animal representa estratégia fundamental para a produção em larga escala de carne e leite, com destaque para a Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) e a Produção *in vitro* de Embriões (PIVE) (Viana, 2012; Baruselli, 2016).

Neste contexto, o Brasil ocupa atualmente lugar de destaque no fornecimento de carne, sendo responsável por mais de 20% da exportação mundial (ABIEC, 2017). Assim, com a crescente demanda, o desafio em aumentar a eficiência na produção pode ser alcançado pela aplicação de biotécnicas reprodutivas, bem como de boas práticas de manejo animal.

Segundo análise recente de Baruselli (2016), em 2015 os procedimentos de IATF atingiram em torno de 10,5 milhões de fêmeas, pela sua facilidade de manejo e por aumentar a eficiência reprodutiva e genética da pecuária. Do total de vacas inseminadas por meio da IATF, calcula-se que o volume se divide em 8,2 milhões de fêmeas de corte e 2,3 milhões de fêmeas de aptidão leiteira.

Os protocolos hormonais, tanto para IATF como para a Transferência de Embriões em Tempo Fixo (TETF), tornaram viáveis a regulação precisa da dinâmica folicular, proporcionando extraordinários avanços na eficiência reprodutiva em larga escala (Bó et al., 2002; Nasser et al., 2004).

De modo geral, o embrião é mais resistente ao estresse térmico quando comparado aos gametas. Assim, a utilização de embriões pode ser mais vantajosa na obtenção de prenhez, principalmente em épocas mais quentes do ano e para raças leiteiras. Além

disso, cabe ressaltar que a biotécnica da PIVE tem sido uma poderosa ferramenta para a multiplicação e disseminação de genética de alta qualidade, tornando-se cada vez mais acessível (Thibier, 2006).

Algumas propriedades que trabalham com bovinos de aptidão leiteira têm substituído Inseminação Artificial (IA) pela TE, conseguindo melhores índices de prenhez e aceleração do ganho genético entre gerações. Adicionalmente, em rebanhos de bovinos de corte, uma nova perspectiva é a produção de embriões a partir de oócitos obtidos de ovários de fêmeas de abatedouro bem como o uso de sêmen sexado do macho.

Em suma, alcançando maiores taxas de prenhez, torna-se possível conseguir um preço competitivo para embriões produzidos *in vitro*, o que torna o uso em grande escala de tal biotécnica uma alternativa comercialmente cada vez mais interessante.

Programas de transferência de embrião em larga escala

Considerando a aplicação de biotécnicas em larga escala, as longas distâncias entre laboratórios e as receptoras eram fator limitante até poucos anos atrás, sendo um grande obstáculo à produção de embriões *in vitro*. Os grandes rebanhos bovinos situam-se geralmente em regiões longínquas, distando milhares de quilômetros das propriedades das doadoras de oócitos e dos laboratórios que produzem os embriões.

A escassez de receptoras e o grande número de bezerros de sexo indesejado também representavam limitadores à ampla utilização da PIVE e TE. Vale destacar que, com a utilização de sêmen convencional (não sexado), faz-se necessário lançar mão do dobro de receptoras para se conseguir o número desejado de produtos do sexo esperado. O crescimento da PIVE mostrou alternativas para tais desafios. Com incubadoras de CO₂ portáteis, vislumbrou-se a possibilidade de se transportar embriões em longas distâncias e por vários dias. Além disso, a PIVE é a biotécnica que viabiliza o uso mais eficiente do

sêmen sexado. Neste contexto, a PIVE se apresenta como uma estratégia importante para utilização mais racional de receptoras, tornando a cadeia da produção de embriões em larga escala mais eficiente e acessível (Pontes et al., 2010; Morotti et al., 2014).

Contudo, mesmo com a possibilidade de transportar embriões em desenvolvimento com as incubadoras portáteis, havia número considerável de perdas na PIVE. Em especial por conta da produção total de embriões ser superior ao número de receptoras disponíveis. Desta forma, a criopreservação apresentou-se como uma alternativa por permitir o armazenamento por tempo indeterminado de embriões após a sua produção.

Apesar das inúmeras vantagens oferecidas pela utilização de embriões PIV, estes são menos resistentes à criopreservação quando comparados aos embriões produzidos *in vivo*, devido ao maior acúmulo de lipídios em suas células (Abe et al., 2002; Sanches et al., 2017). A estratégia mais eficiente para transpor esta dificuldade tem sido a mudança nas condições de cultivo, como a adição de substâncias químicas conhecidas como lipolíticas que visam diminuir a quantidade de lipídeos contidas no interior dos embriões criopreservados (Sanches et al., 2017).

Há alguns anos, a técnica de vitrificação apresentou resultados satisfatórios para a maximização da utilização de embriões PIV devido à viabilidade para a criopreservação. No entanto, além do uso de grandes quantidades de crioprotetores, faz-se necessária mão de obra especializada para avaliar os embriões no momento da transferência (Morató, 2014). Já o congelamento lento, técnica utilizada principalmente para a criopreservação de embriões produzidos *in vivo*, tem como principal vantagem o uso de baixas concentrações de crioprotetores, uma vez que já é bem descrito que altas concentrações desses agentes são tóxicas para os embriões (Dode et al., 2013).

Adicionalmente, visando simplificar a etapa de reidratação pós-descongelamento do embrião, vem sendo utilizado o processo de transferência direta (*direct transfer* - DT). A DT é uma estratégia que tem provado apresentar maiores vantagens em relação criopreservação de embriões produzidos *in vitro*, por exigir menos preparo e experiência do indivíduo responsável para realizar a transferência, garantindo que os embriões após o descongelamento ainda apresentem uma boa viabilidade embrionária garantindo o sucesso da técnica empregada (Sanches et al., 2017). Assim sendo, tal técnica apresenta-se mais acessível e prática no campo e com maior flexibilidade no número de fazendas receptoras (Voelkel e Hu, 1992; Leibo e Mapletoft, 1998; Morató e Mogas, 2014).

Sanches et al (2016) compararam as taxas de prenhez de embriões PIV transferidos a fresco, vitrificados ou congelados para DT. Estes autores demonstraram que embriões PIV congelados podem ser transferidos diretamente para receptoras com taxas de concepção semelhantes aos embriões vitrificados, além de proporcionar uma abordagem mais prática para a TE de PIVE e tornar a logística mais fácil em fazendas de gado de leite, por exemplo.

Utilização da TE em rebanhos de leite

A TE em gado leiteiro é uma biotecnologia reprodutiva que tem como objetivo principal aumentar o número de produtos nascidos de fêmeas geneticamente superiores. No rebanho leiteiro houve um grande avanço desta biotécnica no intuito de acelerar o ganho genético entre gerações, sendo possível por meio do desenvolvimento de tecnologias reprodutivas avançadas tais como captação de oócito, produção *in vitro* de embrião e a utilização do sêmen sexado.

Diferentemente do manejo para gado de corte, o qual conta com uma estação de monta bem definida, para as fêmeas de leite geralmente se propõe um programa

permanente de reprodução, a fim de assegurar a produção contínua de leite. O bom desempenho reprodutivo em fêmeas de alta produção leiteira é de suma importância para garantir a rentabilidade desse setor.

Na proposta das fêmeas leiteiras se reproduzirem em todas as épocas do ano, uma preocupação constante é o estresse térmico que ocorre no verão, com o aumento da temperatura ambiental e corporal desses animais, em especial nas raças taurinas. Neste período, sabidamente há uma redução na taxa de prenhez, principalmente utilizando a IA, justificado pela maior sensibilidade do espermatozoide a altas temperaturas (Ferreira, 2013).

Portanto, para minimizar este efeito nas taxas de prenhez em períodos quentes do ano, a utilização da TE tem sido proposta (Stewart et al., 2011; Marinho et al., 2015), já que comparados aos gametas, os embriões apresentam maior resistência ao aumento da temperatura corporal das fêmeas (Chebel et al. 2008). Neste contexto, a TE além de permitir maiores taxas de prenhez em épocas críticas do ano, ainda promove o melhoramento genético com o aumento do número de descendentes de machos e fêmeas com alto mérito genético (Stewart et al., 2011; Marinho et al. 2013).

Além disso, cabe ressaltar que o interesse por acelerar a taxa do avanço genético vem estimulando a reprodução de animais cada vez mais jovens. Com o avanço da tecnologia de PIVE e laparoscopia como método de coleta de oócitos, embriões de bezerras leiteiras de 2 a 4 meses de idade estão sendo produzidos (Baldassarre et al., 2018). No passado, essa ideia havia sido esquecida pelo fato de não se conseguir prever o valor genético da fêmea. Entretanto, com o desenvolvimento de marcadores genéticos, hoje em dia existe uma segurança maior para prever o fenótipo de produção desses animais pré-púberes (Bouquet e Juga, 2013).

Apesar dos desafios em promover a melhoria da recuperação da taxa de oócitos viáveis em bezerras pré-puberes, estudos para aprimorar os protocolos hormonais antes da laparoscopia têm sido realizados (Landry et al., 2016; Currin et al., 2017; Baldassarre et al., 2018). Assim, a utilização da laparoscopia em bezerras, seguida da produção *in vitro* de embriões e a transferência para receptoras adultas, é mais uma ferramenta utilizada para promover um grande potencial de ganho genético acelerado por meio do encurtamento do intervalo de gerações.

Além disso, com o objetivo de melhorar o ganho genético entre as gerações, em propriedades leiteiras, as vacas com melhor potencial genético podem ser usadas como doadoras de oócitos e embriões, ao passo que as demais podem ser utilizadas como receptoras (Marinho et al., 2015). Contudo, esta alteração da IA pela TE se mostra mais efetiva quando realizada com a transferência de embriões *in vivo*, pois na PIVE apesar dos benefícios já citados no presente trabalho, ainda são encontradas algumas limitações como, por exemplo, a alta taxa de mortalidade embrionária.

Desse modo, em vista das limitações inerentes a cada biotécnica reprodutiva, o uso equilibrado entre aquelas que se fazem disponíveis é favorável para o incremento do setor leiteiro. Como exemplo, a utilização da IATF proporciona prenhez estáveis nos meses mais frios do ano, contudo, o uso da TE com embriões produzidos *in vivo* ou *in vitro*, preserva a taxa de prenhez elevada nos meses mais quentes. Também, a identificação das fêmeas que respondem melhor a determinadas biotécnicas, e consequente uso de tais informações na escolha e seleção desses animais, possibilita a otimização e obtenção de melhores índices na reprodução assim como na produção de leite.

Vantagens no uso do sêmen sexado

Uma das principais vantagens da PIVE em relação à produção *in vivo* de embriões, é a maior eficiência no uso do sêmen, tanto no volume utilizado quanto no caso do sêmen sexado (Pontes et al., 2010). O uso do sêmen sexado em vacas leiteiras permite o aumento da proporção de fêmeas nascidas, aumentando assim, a intensidade de seleção e diminuindo o intervalo entre as gerações (Murphy et al., 2016; Ettema et al., 2017). Há também um aumento do nível genético do rebanho quando o sêmen sexado é usado em animais geneticamente superiores (Ghavi Hossein-zadeh et al., 2010; Ettema et al., 2011).

Outro aspecto favorável do sêmen sexado é o uso racional de receptoras de embriões, requerendo metade das vacas para alcançar o número desejados de bezerros fêmeas, em comparação ao sêmen convencional (Marinho et al., 2015). Na PIVE os espermatozoides são submetidos a menores desafios para fecundar o oócito, permitindo melhores resultados que a IA e os embriões produzidos *in vivo* (Carvalho et al. 2010; Pellegrino et al., 2016; Hall et al., 2017).

Utilização da TE em rebanhos de corte

Com o objetivo de se utilizar embriões em larga escala, a busca pelo aumento da eficiência reprodutiva é cada vez maior também em gado de corte. Buscam-se critérios para identificar fêmeas melhoradoras no rebanho para o aproveitamento de genética e conjuntamente há interesse em aproveitar as fêmeas disponíveis em cada propriedade como receptora.

Em rebanhos de corte, uma nova perspectiva é a produção *in vitro* de embriões a partir de oócitos obtidos de ovários de animais de abatedouro e o uso de sêmen sexado. Com uma estratégia de baixo custo, pode-se agregar um salto genético aproveitando-se

ovários de fêmeas superiores que tenham sido destinadas ao abate pela idade, por exemplo.

Em vista dos benefícios alcançados pelo uso da TE, em bovinos de corte, tem sido aplicado um esquema interessante para que as fêmeas apresentem maiores chances de sucesso na concepção num primeiro momento por meio de protocolos que utilizam essa biotécnica no primeiro serviço da receptora seguido de duas IATF's, sejam ressincronizações ou não. Assim, caso não haja prenhez da FIV no primeiro serviço, há ainda outras duas chances com uso de IATF para se garantir que a fêmea torne-se prenha na estação de monta.

No entanto, é importante considerar que embriões produzidos *in vitro* ainda são vinculados à taxas maiores de mortalidade embrionária precoce (MEP), requerendo uma atenção especial para um diagnóstico precoce de gestação, com uso do Doppler ultrassonográfico, por exemplo.

Entretanto, apesar das limitações, a utilização de embriões PIV faz-se ainda vantajosa em virtude de um maior ganho genético, uma vez que pode resultar em bezerros mais pesados pela genética superior dos pais.

Alternativas para maximizar o tempo de serviço em gado de corte

Com o objetivo de diminuir o impacto causado pelas perdas embrionárias decorrentes da utilização de embriões produzidos *in vitro*, estudos vem sendo direcionados para o desenvolvimento de práticas que minimizem esses obstáculos. Uma alternativa é o diagnóstico precoce de gestação com o uso de ultrassonografia Doppler. A identificação do estado gestacional mais precocemente permite uma redução no intervalo de inseminações ou transferências o que pode resultar em menor período para concepção e maior rentabilidade ao sistema de produção pecuário (Pugliese et al., 2017).

De alta acurácia e sensibilidade, a ultrassonografia Doppler é um recurso em ascensão para uso em animais de corte e leite e é empregada para avaliar a funcionalidade do corpo lúteo e diagnosticar gestação precocemente aos 20-22 dias. Diante desta técnica, programas de ressincronização super-precoces, iniciados aos 14 dias pós-inseminação, foram desenvolvidos em novilhas e vacas de corte. Desse modo, estas estratégias permitem uma redução para 24 dias no intervalo entre duas IATFs, promovendo ganhos na eficiência reprodutiva. Além disso, a avaliação precisa da funcionalidade do corpo lúteo possibilita a seleção de receptoras de embriões com maior receptividade e, conseqüentemente, pode melhorar a fertilidade em programas de TETF (Pugliese et al., 2017).

Conclusões e Perspectivas Futuras

Em suma, a fim de alcançar um sistema de produção sustentável e economicamente viável, promover a eficiência reprodutiva do rebanho seja de aptidão leiteira ou carne é determinante para os reflexos na rentabilidade de ambos os setores. Neste contexto, a transferência de embriões, pode permitir a obtenção de boas taxas de prenhez durante o ano todo, até mesmo em vacas repetidoras de cio e vacas produtoras de leite nos meses mais quentes do ano. Desse modo, com a utilização estratégica da TE tornar-se-á possível não apenas a obtenção de maiores índices reprodutivos, mas também de maior ganho genético em relação à seleção de aspectos de interesse na produção particular a cada um desses animais.

Referências

Abe, H.; Yamashita, S.; Satoh, T.; Hoshi, H. Accumulation of cytoplasmic lipid droplets in bovine embryos and cryotolerance of embryos developed in different culture systems using serum-free or serum containing media. *Molecular Reproduction and Development*, v. 61, p. 57-66, 2002.

Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes – ABIEC. *Perfil da Produção Bovina no Brasil*. Disponível em: <http://www.abiec.com.br/download/Sustentabilidade%20e%20frigorificos%20associado.s.pdf>. Acesso em: 03 de maio de 2018.

Baldassarre, H.; Currin L.; Michalovic, L.; Bellefleur, A-M.; Gutierrez K.; Mondadori R.G.; Glanzner, W.G.; Schuermann, Y.; Bohrer, R.C.; Dicks, N.; Lopez, R.; Grand F.X.; Vigneault, C.; Blondin, P.; Gourdon, J.; Bordignon, V. Interval of gonadotropin administration for *in vitro* embryo production from oocytes collected from Holstein calves between 2 and 6 months of age by repeated laparoscopy. *Theriogenology*, v.116, p. 64-70, 2018.

Baruselli, P. S. IATF supera dez milhões de procedimentos e amplia o mercado de trabalho. *Revista CFMV*, v. 22, n. 69, p. 57-60, 2016.

Bó, G. A.; Baruselli, P. S.; Moreno, D.; Cutaia, L.; Caccia, M.; Tríbulo R. The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. *Theriogenology*, v. 57, p. 53-72, 2002.

Bouquet, A.; Juga J. Integrating genomic selection into dairy cattle breeding programmes: a review. *Animal*, v. 7, p.705-713, 2013.

Carvalho, J.O.; Sartori, R.; Machado, G.M.; Mourao, G.B.; Dode, M.A.N. Quality assessment of bovine cryopreserved sperm after sexing by flow cytometry and their use in in vitro embryo production. *Theriogenology*, v. 74, p. 1521–1530, 2010.

Chebel, R.C.; Demetrio, D.G.B.; Metzger, J. Factors affecting success of embryo collection and transfer in large dairy herds. *Theriogenology*, v. 69, p. 98–106, 2008.

Currin, L.; Michalovic, L.; Bellefleur, A.M.; Gutierrez, K.; Glanzner, W.; Schuermann, Y.; Bohrer, R.C.; Dicks, N.; Rosa, P.R.; Cesaro, M.P.; Lopez, R.; Grand, F.X.; Vigneault, C.; Blondin, P.; Gourdon, J.; Baldassarre, H.; Bordignon, V. The effect of age and length of gonadotropin stimulation on the *in vitro* embryo development of Holstein calf oocytes. *Theriogenology*, v. 104, p. 87–93, 2017.

Dode, M.A.N.; Leme, L.O.; Spricigo, J.F.W. Criopreservação de embriões bovinos produzidos *in vitro*. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 37, p. 145–150, 2013.

Ettema, J.F.; Thomasen, J.R.; Hjorto, L.; Kargo, M.; Ostergaard, S.; Sorensen, A.C. Economic opportunities for using sexed sêmen and semen of beef bulls in dairy herds. *Journal of Dairy Science*, v. 100, p. 4161-4171, 2017.

Ettema, J. F.; Ostergaard, S.; Sorensen, M.K. Effect of including milk yield on evaluating the use of sexed semen and other reproduction strategies in a dairy herd. *Animal*, v. 5, p. 1887–1897, 2011.

Ferreira, G. Reproductive performance of dairy farms in western Buenos Aires province, Argentina. *Journal of Dairy Science*, v. 96, p. 8075–8080, 2013.

Ghavi Hossein-Zadeh, N.; Nejati-Javaremi, A.; Miraei-Ashtiani, S.R., Kohram, H. Bio-economic evaluation of the use of sexed semen at different conception rates and herd sizes in Holstein populations. *Animal Reproduction Science*, v.121, p. 17–23, 2010.

Hall, J.B.; Kasimanickam, R.K.; Glaze JR, J.B.; Roberts-Lew, M.C. Impact of delayed insemination on pregnancy rates to gender selected semen in a fixed-time AI system. *Theriogenology*, v. 102, p. 154-161, 2017.

Landry, D.A.; Bellefleur, A.M.; Labrecque, R.; Grand, F.X.; Vigneault, C.; Blondin, P.; Sirard, M.A. Effect of cow age on the *in vitro* developmental competence of oocytes obtained after FSH stimulation and coasting treatments. *Theriogenology*, v. 86, p. 1240-1246, 2016.

Leibo, S.P.; Mapletoft, E.R.J. Direct transfer of cryopreserved cattle embryos in North America. In: *Proceedings of the 17th Annual Convention of AETA*. San Antonio, TX; p. 91–98, 1998.

Marinho, L.S.R.; Machado, F.Z.; Seneda, M.M. Strategies to improve the reproductive efficiency of dairy cattle. In: Hernandez CT (ed), Dairy cows: reproduction, nutritional management and diseases. *Nova Science Publishers*, New York, p. 127–148, 2013.

Marinho, L.S.R.; Sanches, B.V.; Rosa, C.O.; Tannura, J.H.; Rigo, A.G.; Basso, A.C.; Pontes, J.H.F.; Seneda, M.M. Pregnancy Rates to Fixed Embryo Transfer of Vitrified IVP *Bos indicus*, *Bos Taurus* or *Bos indicus* x *Bos taurus* Embryos. *Reproduction in Domestic Animals*, v. 50, p. 807–811, 2015.

Morató, R.; Mogas, T. New device for the vitrification and in-straw warming of *in vitro* produced bovine embryos. *Cryobiology*, v. 68, p.288–293, 2014.

Morotti, F.; Sanches, B.V.; Pontes, J.H.F.; Basso, A.C.; Siqueira, E.R.; Lisboa, L.A.; Seneda, M.M. Pregnancy rate and birth rate of calves from a largescale IVF program using reverse-sorted semen in *Bos indicus*, *Bos indicus-taurus*, and *Bos taurus* cattle. *Theriogenology*, v. 81, p. 696-701, 2014.

Murphy, C.; Shalloo, L.; Hutchinson, I.A.; Butler, S.T. Expanding the dairy herd in pasture-based systems: The role of sexed semen within alternative breeding strategies. *Journal of Dairy Science*, v. 99, p. 6680-6692, 2016.

Nasser, L.F.; Reis, E. L.; Oliveira, M.A.; Bó, G.A.; Baruselli, P.S. Comparison of four synchronization protocols for fixed-time bovine embryo transfer in *Bos indicus* x *Bos taurus* recipients. *Theriogenology*, v. 62, p. 1577-1584, 2004.

Peippo, J.; Vartia, K.; Kananen-Anttila, K.; Rätty, M.; Korhonen, K.; Hurme, T.; Myllymäki, H.; Sairanen, A.; Mäki-Tanila, A. Embryo production from superovulated Holstein-Friesian dairy heifers and cows after insemination with frozen-thawed sex-sorted X spermatozoa or unsorted semen. *Animal Reproduction Science*, v. 111, p. 80-92, 2009.

Pellegrino, C.A.G.; Morotti, F.; Untura, R.M.; Pontes, J.H.F.; Pellegrino, M.F.O.; Campolina, J.P.; Seneda, M.M.; Barbosa, F.A.; Henry, M. Use of sexed sorted semen for fixed-time artificial insemination or fixed-time embryo transfer of *in vitro*-produced embryos in cattle. *Theriogenology*, v. 86, p. 888–893, 2016.

Pontes, J.H.F.; Silva, K.C.F.; Basso, A.C.; 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.

Pugliesi, G.; Rezende, R.G.; Da Silva, J.C.B.; Lopes, E.; Nishimura, K.; Baruselli, P.S.; Madureira, E.H.; Binelli, M. Use of Doppler ultrasonography in timed-IA and ET programs in cattle. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 41, p. 140-150, 2017.

Sanches, B.V.; Zangirolamo, A.F.; Da Silva, N.C.; Morotti, F.; Seneda, M.M. Cryopreservation of *in vitro*-produced embryos: challenges for commercial implementation. *Animal Reproduction*, v. 14, p. 521-527, 2017.

Stewart, B.M.; Block, J.; Morelli, P.; Navarette, A.E.; Amstalden, M.; Bonilla, L.; Hansen, P.J.; Bilby, T.R. Efficacy of embryo transfer in lactating dairy cows during summer using fresh or vitrified embryos produced *in vitro* with sex-sorted semen. *Journal of Dairy Science*, v. 94, p. 3437–3445, 2011.

Thibier, M. Transfers of both *in vivo*-derived and *in vitro* produced embryos in cattle still on the rise and contrasted trends in other species in 2005. *IETS Newsletter*, v. 24, p. 11-19, 2006.

Viana, J.H.M. Levantamento estatístico da produção de embriões bovinos no Brasil em 2011: mudanças e tendências futuras. *O Embrião*, v. 51, p. 6-10, 2012.

Voelkel, S.A.; Hu, Y.X. Direct transfer of frozen-thawed bovine embryos. *Theriogenology*, v. 37, p. 23–37, 1992.

UTILIZACION DE SEMEN SEXADO EM REBAÑOS DE LECHE Y CORTE

G.A. Bó¹², E. Huguenine³, J.J. de la Mata⁴, J.C. Tschopp¹⁵, D. Racca⁶, L. Filippi⁶, G.

Blengino⁷, S. Perez Wallace⁷, G. Veneranda⁶, R.L.R. de Carnerio⁸ y A. Menchaca⁹

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

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

³ Actividad Privada, SAV, San Luis, Argentina

⁴ Actividad Privada y Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de La Pampa, Argentina

⁵ IRAC y Actividad Privada, Marull, Argentina

⁶ Milkland SA y La Sibila SA, Argentina, ⁷ Zoetis, Argentina

⁸ Sexing Technologies Inc., Argentina

⁹ Fundación IRAUy, Instituto de Reproducción Animal Uruguay, Montevideo, Uruguay.

e-mail: gabrielbo62@gmail.com

Abstract

Durante años, los investigadores vienen buscando manipular el sexo antes de la concepción. Si bien la utilización de semen sexado mantuvo gran interés en los últimos 20 años para inseminar vaquillonas de leche, el uso masivo del semen sexado se vio de alguna manera limitado debido a que la fertilidad estaba comprometida y no se podía solucionar aumentando el número de espermatozoides por dosis inseminante. Sin embargo, se han desarrollado recientemente nuevos procedimientos simplificados y menos traumáticos para los espermatozoides que han permitido mejorar

significativamente las tasas de preñez obtenidas con semen sexado. Sin embargo, para la utilización masiva de esta tecnología es necesario el desarrollo de programas de Inseminación Artificial a tiempo fijo (IATF) para semen sexado. Por lo tanto se realizó una serie de experimentos en vaquillonas de carne y leche y en vacas con cría al pie. En todos los casos los animales fueron sincronizados con el protocolo J-Synch y con la ayuda de pintura en la base de la cola para detectar la presentación de celos y optimizar los horarios de IATF. Si bien las tasas de preñez fueron en general mayores para semen convencional que para semen sexado, las tasas de preñez con semen sexado fueron del 45 al 50% en vaquillonas y vacas para carne y entre el 51 y el 60% en vaquillonas Holando Argentino. Por lo tanto, los resultados de los experimentos realizados demuestran que se pueden adaptar protocolos de IATF para la utilización de semen sexado y de esta manera posibilitar el uso masivo de esta tecnología en rodeos de carne y leche.

Introducción

En los últimos 20 años se han realizado progresos significativos en la mejor comprensión de los patrones del crecimiento de los folículos ováricos bovinos y como se puede sincronizar su crecimiento y ovulación (Bó et al., 2013). En la actualidad existe una amplia gama de tratamientos de Inseminación Artificial a Tiempo Fijo (IATF) disponibles para ser utilizados tanto en rodeos de carne como de leche (Bó et al., 2013). Básicamente los programas de IATF utilizados en la actualidad se agrupan según el tipo de hormona utilizada. Los protocolos denominados “OvSynch” (Pursley et al., 1995) y “Co-Synch” (Geary et al., 2001) utilizan análogos de la hormona liberadora de gonadotrofinas (GnRH) y prostaglandinas (PGF) para la sincronización de la ovulación. También los tratamientos “Co-Synch” han sido utilizados junto a la inserción de un dispositivo con progesterona (Lamb et al., 2001; Martínez et al., 2002) resultando en

mejores tasas de preñez en vacas y vaquillonas para carne. Por otro lado, están los protocolos que emplean benzoato de estradiol (EB; Bó et al., 2002) y dispositivos con P4, que son los más utilizados en Argentina (Bó et al., 2013). En los últimos años, este último tratamiento se vio simplificado debido a la aplicación de cipionato de estradiol (ECP) como inductor de ovulación (Colazo et al., 2003), logrando alcanzar aceptables tasas de preñez en vacas de carne (Bó et al., 2013; Uslenghi et al., 2014). Sin embargo, se han reportado recientemente que las tasas de preñez se podrían incrementar si se disminuye el período de crecimiento del folículo dominante ovulatorio y se prolonga la duración del proestro (Bridges et al., 2008, 2012, Colazo y Ambrose, 2011, Bó et al., 2016).

Recientemente se ha desarrollado un nuevo tratamiento utilizando un protocolo basado en EB y un dispositivo con progesterona (que son las hormonas más usadas en Argentina) pero donde la remoción del dispositivo fue realizada 6 días después (en lugar de 8) y se prolongó el proestro administrando GnRH como inductor de la ovulación a las 72 h de retirar el dispositivo en lugar de ECP al retiro. Este protocolo fue denominado J-Synch (de la Mata y Bó, 2012). En trabajos posteriores se encontró que las tasas de preñez a la IATF tendieron a ser mayores con el protocolo J-Synch que con el protocolo convencional utilizado en Argentina en vaquillonas Holstein (Ré et al., 2014; 2015) y significativamente mayores en vaquillonas de carne y receptoras de embriones (Bó et al., 2016, Menchaca et al., 2016). Este protocolo promueve modificaciones durante el proestro y define un perfil endocrino preovulatorio que está positivamente asociado con un CL más competente y una mejora del medioambiente uterino (de la Mata et al., 2018). La mayor preñez obtenida con el protocolo J-Synch en vaquillonas sugiere que podría ser una alternativa interesante para aplicar en programas de IATF con semen sexado.

Uso de Semen Sexado en Programas de Inseminación Artificial

Durante años, los investigadores vienen buscando manipular el sexo antes de la concepción (Garner y Seidel, 2008). Esta determinación del sexo en rodeos de carne y leche puede ser uno de los factores determinantes para mejorar el desempeño productivo y económico de la actividad. Por ejemplo en los tambos el ternero macho tiene poco o ningún valor zootécnico. Sin embargo, en los establecimientos de carne el ternero macho es el sexo de interés debido a un mayor potencial de producción. Teniendo en cuenta esas particularidades, se han realizado muchas investigaciones con el objetivo de predecir y/o manipular la proporción del sexo de los terneros. La separación de los espermatozoides Y de los espermatozoides X es posible debido a las diferencias en el contenido del ADN de esas células espermáticas (espermatozoide X posee cerca del 4% más ADN que el espermatozoide Y), siendo realizada por citometría de flujo. Esta biotécnica asocia la emisión de rayos láser, la coloración diferencial (usando el fluorocromo Hoechst 33342) de los espermatozoides y las fuerzas hidrodinámicas que dirigen el espermatozoide en el momento de la lectura durante el proceso de separación de los espermatozoides con cromosomas X e Y (Beltsville Sperm Sexing Technology).

Si bien la utilización de semen sexado mantuvo gran interés en los últimos 20 años para inseminar vaquillonas de leche, el uso masivo del semen sexado se vio de alguna manera limitado debido a que la fertilidad estaba comprometida y no se podía solucionar aumentando el número de espermatozoides por dosis inseminante (DeJarnette et al., 2011). Los factores que afectan las tasas de concepción con semen sexado a la inseminación artificial (IA) dependen del toro (fertilidad intrínseca), procesamiento del semen, cantidad de espermatozoides, momento de la IA y del historial reproductivo de la vaca. Estos factores se ven afectados a su vez por potenciales “estresores” durante el proceso de separación espermática como la adición del fluorocromo Hoechst 33342,

exposición a luz ultravioleta, incubación a altas temperaturas, cambios de presión, campos electrostáticos, estrés oxidativo, además del proceso de congelación de semen (de Graaf et al., 2014). Sin embargo, se ha desarrollado recientemente un nuevo procedimiento simplificado y menos traumático para los espermatozoides sexados denominado SexedULTRA®, donde inclusive se ha planteado la opción de aumentar el número de espermatozoides por pajuela de 2.1 millones como se utilizaba con el semen XY a 4 millones de espermatozoides con el SexedULTRA® (Vishwanath, 2015). Esta nueva tecnología consta de nuevos métodos para la manipulación y procesado antes de la separación espermática, fundamentalmente cambios en la composición de los medios utilizados en los estadios del proceso de separación, promoviendo un ambiente más inocuo que evita cambios de pH y temperatura, respetando la integridad de los espermatozoides (de Graaf et al., 2014). Estudios recientes reportaron que el proceso SexedULTRA® resulta en una mayor viabilidad e integridad de los espermatozoides pos descongelado (Gonzales-Marín et al., 2017), resultando en una mayor producción de embriones in vitro en comparación con el método más antiguo (llamado XY o Legacy; González-Marín et al., 2018). Es indudable que para la utilización efectiva de esta tecnología, tanto en rodeos lecheros como de carne se deberían desarrollar protocolos de IATF para semen sexado (Kasimanickam, 2015). En un experimento preliminar realizado por nuestro grupo (Ré et al., no publicado) se utilizaron 200 vaquillonas que fueron tratadas con el protocolo J-Synch con un dispositivo de 0,5 g de progesterona (SynkroXY, Proagro, Argentina) e inseminadas a las 72 h de la remoción del dispositivo. En este caso las vaquillonas fueron pintadas en la base de la cola y las despintadas fueron IATF a las 72 h, mientras que las pintadas fueron IA 12 h después que se despintaran en los próximos dos días. De las 100 vaquillonas con semen convencional se inseminaron todas a las 72 h y se preñó el 56%. De las IA con semen sexado 72 vaquillonas fueron IA a las 72 h y se

preñaron el 51%, 16 vaquillonas fueron IA a las 96 h y se preñaron el 69% y otras 8 vaquillonas fueron IA a las 120 h y se preñaron el 38%, 5 quedaron sin inseminar. Las preñez general no fue diferente entre los grupos (56% para el semen convencional vs 53% para las con semen sexado; $P>0,2$).

Objetivo General

El objetivo general de este resumen es presentar resultados de experimentos realizados recientemente utilizando el protocolo J-Synch en vacas y vaquillonas inseminadas con semen sexado. El objetivo secundario fue evaluar la tasa de preñez de distintos toros utilizando semen convencional y SexedULTRA® en programas de IATF.

Experimentos en vaquillonas y vacas de leche

Experimento 1

En este experimento se utilizaron 448 vaquillonas Holando Argentino de 14 a 16 meses y 380 kg de peso que fueron tratadas con el protocolo J-Synch con eCG. En este experimento se detectó celo con pintura a las 60 h de la remoción del dispositivo. Las vaquillonas que manifestaron celo fueron divididas en dos subgrupos para ser IATF con semen sexado (SexedULTRA de 2.1 millones de espermatozoides) de dos toros o con semen convencional no sexado de uno de los toros utilizados para la IATF con semen sexado (semen de Alta Genetics provisto por la empresa Ciale SA). Las vaquillonas que no manifestaron celo a las 60 h (pintura sin alterar) recibieron GnRH a las 72 h y fueron IATF a las 84 h post remoción del dispositivo con semen sexado o con semen convencional. Los diagnósticos de gestación se llevaron a cabo 30 días post IATF mediante ultrasonografía. Las tasas de preñez fueron mayores para las IATF con semen convencional (73,2%; 164/224; $P<0,05$) y que las inseminadas con semen sexado 59,3%

(64/108) y 60,3% (70/116). No obstante los resultados con semen sexado superaron el 50%. Para seguir estudiando este protocolo y tener información más detallada se decidió realizar el Experimento 2.

Experimento 2

En este experimento se utilizaron 458 vaquillonas Holando Argentino de 14 a 16 meses y 380 kg de peso que fueron tratadas con el mismo protocolo que las vaquillonas de carne del Experimento 3. En este experimento se detectó celo con pintura como en el experimento anterior pero en este caso se realizó a las 60 y 72 h de la remoción del dispositivo. Las vaquillonas que manifestaron celo fueron divididas en dos subgrupos para ser IATF con semen sexado (SexedULTRA de 2.1 millones de espermatozoides) o con semen convencional no sexado del mismo toro (semen de Alta Genetics provisto en este caso por la empresa Ciale SA). Las vaquillonas que no manifestaron celo a las 72 h (pintura sin alterar) recibieron GnRH en ese momento y fueron IATF a las 84 h post remoción del dispositivo con semen sexado o con semen convencional. Los diagnósticos de gestación se llevaron a cabo 30 días post IATF mediante ultrasonografía.

Hubo un porcentaje de vaquillonas en celo del 75,8% y una tasa de preñez general del 58,2%. Si bien la tasa de preñez fue mayor con semen convencional ($P<0,05$) que con sexado, nuevamente el porcentaje de preñez con semen sexado fue mayor al 50%. Con respecto a los horarios de celo e IATF, las vaquillonas inseminadas con semen sexado y que mostraron celo tuvieron una mayor ($P<0,05$) tasa de preñez que las que no mostraron celo. Sin embargo, no hubo diferencias entre los horarios de IATF en las vaquillonas inseminadas con semen convencional.

Tabla 1. Tasas de preñez en vaquillonas Holando Argentino inseminadas con semen sexado o convencional de acuerdo a la expresión o no de celo a las 60 o 72 h de la remoción del dispositivo con progesterona.

	n	Celo 60 h	Celo 72 h	IA 84 h	Total
		IATF 72 h	IATF 72 h	(sin celo)	
Sexado	235	54,2%	57,8%	37,1%	51,1% ^a
(2.1 millones)		(45/83) ^{a*}	(52/90) [*]	(23/62) ^{a***}	(120/235)
Convencional	223	68,7%	65,3%	61,2%	65,9% ^b
(20 millones)		(68/99) ^b	(49/75)	(30/49) ^b	(147/223)

^{ab} Los porcentajes de preñez entre semen convencional y sexado difieren (P<0,05)

^{**} Los porcentajes de preñez entre horarios de celo e IATF con semen sexado difieren (P<0,05)

Utilización de semen SexedULTRA® de 4 millones de espermatozoides en vacas Holstein en lactancia

En este experimento se utilizaron vacas lactantes Holando Argentino, provenientes de tres establecimientos lecheros comerciales de similar manejo y alimentación ubicados en la localidad de Marull, al sudeste de la Provincia de Córdoba (República Argentina), alimentadas con dietas totales mezcladas (TMR) y suministradas en calle de comida. Todas las categorías de animales se encontraban encerradas en piquetes con piso de tierra con dietas a base de silo de maíz, heno de alfalfa, expeler de soja, semilla de algodón o expeler de girasol, maíz molido y sales minerales, balanceadas para atender o exceder los requerimientos nutricionales mínimos de cada categoría (NRC, 2001).

Las inseminaciones fueron realizadas en los meses de agosto, septiembre y octubre del 2017. Se utilizaron vacas lactantes Holando Argentino con $91,0 \pm 32,6$ días en leche (DEL) y con una producción de $35,6 \pm 8,3$ L de leche. Como criterio de inclusión se determinó que las vacas no tuvieran más de tres servicios posparto, no más de 150 DEL y de no más de tres partos. Las vacas fueron primero bloqueadas teniendo en cuenta las

estructuras ováricas (presencia de CL o por lo menos un folículo ≥ 25 mm, un folículo grande ≥ 10 y < 25 mm o un folículo chico < 10 mm de diámetro), condición corporal, producción al control lechero anterior al inicio de la sincronización, número de lactancia y días de parida; y luego distribuidas al azar en cada grupo de tratamiento. Para la visualización de las estructuras ováricas, el diagnóstico de gestación y la reconfirmación de la preñez se realizó ecografía transrectal con un ecógrafo Honda HS-101 V (Honda Electronics, Japón) equipado con un transductor de 5 MHz en modo B. Para la determinación de la condición corporal (CC) se utilizó la escala de 1 a 5, donde 1 corresponde a vacas emaciadas y 5 vacas obesas, con divisiones de 0,25 puntos.

El tratamiento utilizado fue el siguiente: en el Día 0: colocación de un dispositivo intravaginal con 1,9 g de progesterona (CIDR 1,9 g de P4; Zoetis) junto con la aplicación intramuscular de 2 mg EB Gonadiol[®]; Zoetis). En el Día 8: se retiraron los CIDR y se aplicó 500 µg de cloprostenol Sódico (Ciclas[®] DL; Zoetis), 1 mg cipionato de estradiol (ECP; Cipiosyn[®]; Zoetis) y 400 UI de eCG (Novormon 5000[®]; Zoetis). Las vacas que manifestaron estro a las 48 h (pintura borrada $>30\%$), fueron divididas en cuatro grupos, la mitad de la vacas fueron IATF a las 48 h (mitad con semen sexado y mitad con semen convencional) y la otra mitad fueron inseminadas a las 60 h post remoción del dispositivo (mitad con semen sexado y mitad con convencional). Las vacas que no manifestaron estro a las 48 h (pintura sin alterar) recibieron una dosis de GnRH (100 µg Gonadorelina Acetato, Gonasyn GDR[®]; Zoetis) en ese momento y fueron IATF a las 60 h (mitad con semen sexado y mitad con semen convencional). Los diagnósticos de gestación se llevaron a cabo 30 días post IATF mediante ultrasonografía.

Se analizaron datos de 419 vacas y la tasa general de preñez fue del 40%. Hubo una mayor ($P<0,02$) tasa de preñez con semen convencional que con sexado. Los resultados teniendo en cuenta los distintos horarios de IATF para cada tipo de semen están

indicados en la Tabla 2. Para semen sexado se obtuvieron las mayores ($P<0,05$) tasas de preñez para las vacas que mostraron celo a las 60 h y fueron IATF en ese momento. Para semen convencional las vacas que mostraron celo a las 60 h y fueron IATF en ese momento tuvieron una mayor tasa de preñez ($P<0,05$) que las que entraron en celo a las 48 h y fueron IATF tanto a las 48 como a las 60 h. Considerando los resultados en general, sin discriminar por tipo de semen, se obtuvo la mayor tasa de preñez en las vacas que mostraron celo a las 60 h y fueron IATF en ese momento ($P<0,01$).

Tabla 2. Tasas de preñez en vacas Holstein en lactancia inseminadas con semen sexado o convencional de acuerdo a la expresión o no de celo (lectura de pintura) a las 48 h de la remoción del dispositivo con progesterona.

	N	Celo 48 h	Celo 48 h	Celo 60 h	No Celo
		IATF 48 h	IATF 60 h	IATF 60 h	IATF 60 h
SexedULTRA®	209	19/63	15/55	17/30	20/61
(4 millones)		(30,2%) ^a	(27,3%) ^a	(56,7%) ^b	(32,8%) ^a
Convencional	210	27/62	20/52	21/32	29/64
(25 millones)		(43,5%) ^a	(38,5%) ^a	(65,6%) ^b	(45,3%) ^{ab}
Total	419	46/125	35/107	38/62	49/125
		(36,8%) ^f	(32,7%) ^f	(61,3%) ^g	(39,2%) ^f

^{ab} los porcentajes en la misma fila difieren ($P<0,05$).

^{fg} los porcentajes difieren entre los horarios de celo e IATF ($P<0,01$).

Experimentos en vaquillonas y vacas de carne

Experimento 1

El Experimento 1, fue realizado en el verano del 2017. Se utilizaron 357 vaquillonas Angus que fueron tratadas con el protocolo J-Synch. En el Día 0 recibieron un dispositivo intravaginal (DIB 0,5, Zoetis, Argentina) y 2 mg de EB (Gonadiol, Zoetis) por vía i.m., 500 µg de cloprostenol (Ciclase, Zoetis) en el día de la remoción del dispositivo (Día 6) y se pintó en la base de la cola con pintura como método visual en la

detección de celo. Las vaquillonas que manifestaron celo a las 72 h post remoción del dispositivo (pintura alterada), fueron divididas en dos subgrupos al azar para ser IATF con semen sexado hembra (SexedULTRA® de 4 millones de espermatozoides) o con semen convencional no sexado (Convencional). Las vaquillonas que no manifestaron celo a las 72 h (pintura sin alterar) recibieron 100 µg de acetato de gonadorelina (GnRH, Gonasyn gdr, Zoetis) en ese momento y fueron IATF a las 84 h post remoción del dispositivo con semen sexado o con semen convencional. El semen sexado y convencional provenía de un mismo toro y del mismo eyaculado y fue provisto por la Empresa Sexing Technologies de Argentina. Los diagnósticos de gestación se llevaron a cabo 30 días post IATF mediante ultrasonografía (Honda HS 101 v, Japón). Los resultados se encuentran indicados en la Tabla 3. Hubo un 57,7% (206/357) de vaquillonas en celo a las 72 h y una tasa de preñez general del 53,8%. Las tasas de preñez fueron mayores ($P<0,01$) para semen convencional que para semen sexado. A su vez las vaquillonas que mostraron celo tuvieron una mayor ($P<0,01$) tasa de preñez que las que no mostraron celo.

Tabla 3. Tasas de preñez en vaquillonas Angus inseminadas con semen sexado SexedULTRA® de 4 millones de espermatozoides o convencional de acuerdo a la expresión o no de celo (lectura de pintura) a las 72 h de la remoción del dispositivo con progesterona.

		Celo 72 h	Sin Celo a las 72 h	
	n	IATF 72 h	IATF 84 h	Total
SexedULTRA®		58/106	24/74	82/180
(4 millones)	180	(54,7%) ^{a*}	(32,4%) ^{a**}	(45,5%) ^a
Convencional		70/100	40/76	110/176
(25 millones)	177	(70,0%) ^{b*}	(52,6%) ^{b**}	(62,5%) ^b

^{ab} los porcentajes entre semen sexado y convencional difieren (P<0,01)

^{**} los porcentajes entre horarios de IATF difieren (P<0,01)

Experimento 2

El experimento 2 fue realizado en el verano y la posterior primavera del 2017. El experimento fue realizado en 6 establecimientos ganaderos las Provincias de San Luis, Córdoba y La Pampa. Se utilizaron 850 vaquillonas Angus y Angus cruza Simmental que fueron tratadas con el protocolo J-Synch como en el Experimento 1, excepto que todas las vaquillonas recibieron 300 IU de eCG (Novormón 5000, Zoetis) en el momento de la remoción del dispositivo. En este experimento se detectó celo con pintura como en el experimento anterior pero en este caso la lectura de la pintura se realizó a las 60 y 72 h de la remoción del dispositivo. Las vaquillonas con la pintura alterada fueron divididas en dos subgrupos para ser IATF con semen sexado (SexedULTRA® de 4 millones de espermatozoides) o con semen convencional. Las vaquillonas que no manifestaron celo a las 72 h (pintura sin alterar) recibieron GnRH en ese momento y fueron IATF a las 84 h post remoción del dispositivo con semen sexado o con semen convencional. El semen sexado y convencional provino de 4 toros Angus y fue provisto por la Empresa Sexing Technologies de Argentina. Los diagnósticos de gestación se llevaron a cabo 30 días post IATF mediante ultrasonografía.

En el Experimento 2 hubo un mayor ($P<0,01$) porcentaje de vaquillonas en celo a las 60 y 72 h (72,7%) que en el Experimento 1 y una tasa de preñez general del 54%. En este caso hubo efectos significativos de establecimiento ($P<0,01$), toros ($P<0,02$) y tipo de semen ($P<0,01$) en las tasas de preñez. También hubo un efecto significativo del horario del celo ($P<0,01$) pero no hubo interacción entre tipo de semen y horario del celo ($P>0,5$). Los resultados están indicados en las Tablas 4, 5 y 6.

Tabla 4. Tasas de preñez en vaquillonas Angus inseminadas con semen sexado o convencional de acuerdo a la expresión o no de celo (lectura de pintura) a las 60 o 72 h de la remoción del dispositivo con progesterona.

	N	Celo 60 h	Celo 72 h	Sin celo a las 60 o 72 h	Total
		IATF 72 h	IATF 72 h	IATF 84 h	
SexedULTRA®	426	104/176	61/134	45/116	210/426
(4 millones)		(59,0%) ^c	(45,5%) ^d	(38,8%) ^e	(49,3%) ^a
Convencional	424	119/172	79/136	49/116	247/424
(25 millones)		(69,2%) ^{cd}	(58,0%) ^e	(42,2%) ^e	(58,3%) ^b
Total	850	223/348	140/270	94/232	
		(64,0%) ^f	(51,9%) ^g	(40,5%) ^g	

^{ab} los porcentajes difieren entre semen sexado y convencional ($P<0,01$).

^{cde} los porcentajes difieren entre horarios de celo y entre semen sexado y convencional ($P<0,05$).

^{fg} los porcentajes difieren entre los horarios de celo ($P<0,01$).

Tabla 5. Tasas de preñez en vaquillonas Angus inseminadas con semen sexado o convencional. Efecto del toro sobre las tasas de preñez.

	n	Toro 1	Toro 2	Toro 3	Toro 4
SexedULTRA®	426	65/123	50/97	73/123	22/83
(4 millones)		(52.8%)	(51.5%)	(59.3%)	(26.5%)
Convencional	424	75/123	56/96	82/121	34/84
(25 millones)		(61.0%)	(58.3%)	(67.8%)	(40.5%)
TOTAL	850	140/246	106/193	155/244	56/167
		(56.9%) ^b	(54.9%) ^b	(63.5%) ^b	(33.5%) ^a

^{ab} Los porcentajes totales de preñez difieren entre toros (P<0,02).

Tabla 6. Tasas de preñez en vaquillonas Angus inseminadas con semen sexado o convencional. Efecto Establecimiento sobre las tasas de preñez.

	n	SexedULTRA®	Convencional	Total
		(4 millones)	(25 millones)	
Establecimiento 1	244	73/123	82/121	155/244 ^a
		(59,3%)	(67,8%)	(63,5%)
Establecimiento 2	128	18/63	22/65	40/128
		(28,5%)	(33,8%)	(31,2%) ^c
Establecimiento 3	97	26/50	22/47	48/97
		(52,0%)	(46,8%)	(49,5%) ^b
Establecimiento 4	96	29/47	34/49	63/96
		(61,7%)	(69,4%)	(65,6%) ^a
Establecimiento 5	181	46/91	61/90	107/181
		(50,5%)	(67,7%)	(59,1%) ^a
Establecimiento 6	104	18/52	26/52	44/104
		(34,6%)	(50.0%)	(42,3%) ^b

^{abc} Los porcentajes totales de preñez difieren entre establecimientos (P<0,02).

Experimento 3. Uso de semen SexedULTRA® en vacas para carne con cría al pie

En este experimento se utilizaron un total de 877 vacas con cría al pie en cuatro establecimientos ganaderos de San Luis y La Pampa. Las vacas tenían 45 a 90 días posparto, una condición corporal de entre 3 a 3,5 y con un CL o Folículos >8 mm de diámetro y fueron tratadas con el protocolo J-Synch con 400 IU eCG. En este experimento se detectó celo con pintura como en el Experimento 2 y las vacas fueron divididas en dos subgrupos para ser IATF con semen SexedULTRA® o convencional de 5 toros (3 de los cuales ya habían sido utilizado en los experimentos de vaquillonas). Los diagnósticos de gestación se llevaron a cabo 30 días post IATF mediante ultrasonografía. En este experimento el porcentaje de vacas en celo a las 60 y 72 h fue del 71,3% y la tasa general de preñez fue del 57%. En este caso hubo una diferencia de tipo de semen, momento de celo ($P<0,01$) y el toro utilizado ($P<0,05$). No hubo interacciones y tampoco hubo diferencias entre los cuatro establecimientos donde se realizó el experimento (Rango 52 a 59%). Los resultados de preñez para los distintos horarios de celo e IATF están indicados en la Tabla 7 y para cada toro utilizado en la Tabla 8.

Tabla 7. Tasas de preñez en Angus con cría al pie inseminadas con semen sexado o convencional de acuerdo a la expresión o no de celo (lectura de pintura) a las 60 o 72 h de la remoción del dispositivo con progesterona.

	N	Celo 60h	Celo 72h	Celo 84h	No Celo	Total
		IATF 72h	IATF 72h	IATF 84h	IATF 84h	
SexedULTRA®	435	93/228	34/79	20/29	50/104	197/435
(4 millones)		(40,8%) ^d	(43,0%) ^d	(70,6%) ^c	(48,1%) ^d	(45,3%) ^a
Convencional	442	154/234	57/84	20/24	69/95	303/442
(25 millones)		(65,8%) ^c	(67,9%) ^c	(83,3%) ^c	(72,6%) ^c	(68,6%) ^b
Total	877	247/462	91/163	40/53	119/199	
		(53,5%) ^f	(55,8%) ^f	(75,5%) ^g	(59,8%) ^f	

^{ab} los porcentajes difieren entre semen sexado y convencional ($P<0,01$).

^{cd} los porcentajes difieren entre horarios de celo y entre semen sexado y convencional ($P<0,05$).

^{fg} los porcentajes difieren entre los horarios de celo ($P<0,01$).

Tabla 8. Tasas de preñez en vacas Angus con cría al pie inseminadas con semen sexado o convencional. Efecto del toro sobre las tasas de preñez.

	n	Toro 1	Toro 2	Toro 3	Toro 4	Toro 5
SexedULTRA®	435	26/47	66/153	95/197	3/7	8/31
(4 millones)		(55,3%)	(43,1%)	(48,2%)	(43%)	(25,8%)
Convencional	442	27/42	113/153	142/208	5/7	17/32
(25 millones)		(64,3%)	(73,9%)	(68,3%)	(71,4%)	(53,1%)
TOTAL	877	53/89	179/306	237/405	8/14	25/63
		(59,6%) ^a	(62,3%) ^a	(58,5%) ^a	(57,1%) ^a	(39,6%) ^b

^{ab} Los porcentajes totales de preñez tienden a diferir entre toros ($P<0,08$).

Discusión y conclusiones

Los resultados de los experimentos demuestran que se pueden adaptar protocolos de IATF con la ayuda de pintura para la detección de celo para la utilización de semen SexedULTRA® en vacas y vaquillonas de carne. Cabe destacar que en ninguno de estos experimentos se realizó detección visual del comportamiento del celo, solo se utilizó una

lectura de pintura a todos los animales al pasar por la manga. Esto se propone como parte del protocolo de IATF, aplicándose de manera sistemática sin requerir la observación individual del comportamiento de celo. Las tasas de preñez generales fueron mayores para semen convencional que para semen sexado. Sin embargo, en el Experimento 2 realizado con vaquillonas de carne la tasa de preñez con semen sexado fue del 49% y la relación con el convencional fue del 85%, lo que se puede considerar aceptable para un protocolo de IATF. Sobre todo si se considera que en este experimento uno de los toros tuvo una fertilidad del 26%. Sin embargo, la tasa de preñez con semen sexado en los otros tres toros oscilaron entre el 51% y el 59%. Estos datos concuerdan con un estudio reciente (Thomas et al., 2017) en el cual vaquillonas para carne que se IATF con semen convencional lograron tasas de preñez mayores que las que se IATF con semen SexedULTRA® cuando fueron sincronizadas con un protocolo de CIDR-B (Zoetis, USA) por 14 días más PGF 16 días después (60% para convencional y 52% para sexado, respectivamente $P < 0,05$). En ese caso la relación de fertilidad con semen sexado y convencional estuvo en el 87%.

El efecto del horario de celo e IATF fue menos claro en las vacas con cría al pie, donde no se encontró una mayor tasa de preñez en los animales que entraron en celo a las 60 h y fueron inseminados a las 72 h. En realidad las vacas inseminadas más tarde se preñaron más que las inseminadas a las 60 o 72 h. Esto puede ser debido a diferentes horarios de ovulación en vacas que en vaquillonas cuando se aplica el protocolo J-Synch y a diferencias en la expresión de celos, que siempre es más manifiesto en vaquillonas que en vacas con cría al pie. Analizando los horarios de celo e IATF, queda pendiente descifrar cuando es mejor inseminar los animales que están despintados a las 72 h. Por las diferencias de tasa de preñez entre semen convencional y sexado en este grupo de animales, parecería que sería mejor inseminar a estos animales con semen sexado a las

84 h, pero esta hipótesis debe ser confirmada experimentalmente. En conclusión, los resultados de los experimentos realizados hasta ahora demuestran que con la ayuda de pintura para adecuar el horario de IATF, es posible conseguir tasas de preñez aceptables utilizando semen SexedULTRA® 4M en vacas y vaquillonas para carne y leche.

Bibliografía

- Binelli M., Pugliese G., de Oliveira Santana Batista E., Martins T., Lopes E., Sponchiado M., Gonella-Diaza A., Oliveira M., Rodriguez França M., de Oliveira Cardoso B., Piffero Mello B., Souza Gomes N., Latorraca L., Cuellar Cuadros F. 2017. Programação da receptividade uterina e fertilidade em vacas de corte. Rev. Bras. Reprod. Anim. 41:121-129.
- Bó G.A., Cutaia L. y Tríbulo 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.
- Bó G.A., Baruselli P.S. and Mapletoft R.J. 2013. Synchronization techniques to increase the utilization of artificial insemination in beef and dairy cattle. Anim. Reprod. 10: 137-142.
- 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.
- Bridges G.A., Hesler L.A., Grum D.E., Mussard M.L., Gasser C.L. and Day M.L., 2008. Decreasing the interval between GnRH and PGF2 α from 7 to 5 days and lengthening proestrus increases timed-AI pregnancy rates in beef cows. Theriogenology 69: 843-51.

- Bridges G.A., Mussard M.L., Pate J.L., Ott T.L., Hansen T.R. and Day M.L. 2012. Impact of preovulatory estradiol concentrations on conceptus development and uterine gene expression. *Anim. Reprod. Sci.* 133: 16-26
- Colazo M.G., Kastelic J.P. and Mapletoft R.J. 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.
- Colazo M.G. and 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.
- de Graaf S.P., Leahy T. and Vishwanath R. 2014. Biological and practical lessons associated with the use of sexed semen. *Rumin. Reprod. Symp. Proceedings*, 9th International Symposium on Reproduction in Domestic Ruminants. Pp 125-140.
- DeJarnette J.M., Leach M.A., Nebel R.L., Marshall C.E., McCleary C.R., and Moreno J.F. 2011. Effects of sex-sorting and sperm dosage on conception rates of Holstein heifers: Is comparable fertility of sex-sorted and conventional semen plausible?. *Journal of Dairy Science* 94: 3477-3483.
- 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.
- de la Mata JJ, Núñez-Olivera F, Cuadro F, Bosolasco D, de Brund V, Meikle A, Bó GA, Menchaca A. 2018. Impact of extending the proestrus length in an oestradiol and progesterone-based oestrus synchronization program on follicular and luteal development, uterine gene expression, and protein localization, and pregnancy rates in beef heifers. *Reprod Fertil Dev*, Online Early <https://doi.org/10.1071/RD17473>.

- Garner D.L., Seidel Jr G.E. 2008. History of commercializing sexed semen for cattle. *Theriogenology* 69:886–895.
- Geary T.W. and Whittier J.C. 2001. Effects of timed insemination following synchronization of ovulation using the Ovsynch or CO-Synch protocol in beef cows. *The Professional Animal Scientist* 14: 217-220.
- González-Marín C, Lenz RW, Gilligan TB, Evans KM, Góngora CE, Moreno JF and Vishwanath R. 2017. SexedULTRATM, a new method of processing sex sorted bovine sperm improves post-thaw sperm quality and in vitro fertility. *Reprod Fertil Dev*, 29(1) 204-204 (abstract).
- González-Marín C, Góngora CE, Gilligan TB, Evans KM, Moreno JF, Vishwanath R. 2018. In vitro sperm quality and DNA integrity of SexedULTRATM sexed-sorted sperm compared to non-sorted bovine sperm. *Theriogenology*, 114:40-45.
- Kasimanickam R. 2015. Utilization of sexed-sorted semen. *Bovine Reproduction*. Chapter 72. *Bovine Reproduction*, R.M.Hopper, Wiley Blackwell. Pp 673.
- Lamb GC1, Stevenson JS, Kesler DJ, Garverick HA, Brown DR, Salfen BE.2001. Inclusion of an intravaginal progesterone insert plus GnRH and prostaglandin F2alpha for ovulation control in postpartum suckled beef cows. *J Anim Sci*. 79:2253-9
- Martínez M.F., Kastelic J.P., Adams G.P. and Mapletoft R.J. 2002. The use of a progesterone-releasing device (CIDR-B) or melengCelol acetate with GnRH, LH, or estradiol benzoate for fixed-time AI in beef heifers. *J. Anim. Sci*. 80: 1746-1751.
- Menchaca A., Dutra S., Carrau J.M., Sapriza F., Bo G.A. 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. *International Congress of Animal Reproduction (ICAR)*, Tours, Francia, P471.

- Pursley R.J., Mee M.O. and Wiltbank M.C. 1995. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2 α and GnRH. *Theriogenology* 44(7):915-23.
- 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. Fertil. Dev.* 26:118 (abstract).
- Ré M.G., Curchod G., Alessio D., Caccia M., de la Mata J.J., Bó G.A. 2015. Tratamientos que prolongan el proCelo usando estradiol y progesterona en vaquillonas de leche. *Resúmenes XI Simposio Internacional de Reproducción Animal*, Córdoba, Argentina, pp. 159-167.
- Thomas J.M., Locke J.W.C., Vishwanath R., Hall J.B., Ellersieck M.R., Smith M.F., Patterson D.J. 2017. Effective use of SexedULTRA® sexed-sorted semen for timed artificial insemination of beef heifers. *Theriogenology* 98: 88-93.
- Uslenghi G., González Chavez S., Cabodevila J. and Callejas S. 2014. Effect of estradiol cypionate and amount of progesterone in the intravaginal device on synchronization of estrus, ovulation and on pregnancy rate in beef cows treated with FTAI based protocols. *Anim. Reprod. Sci.* 145: 1-7.
- Vishwanath R. 2015 Sexed sperm vs conventional sperm – a comparative discussion. *Proceedings, Applied Reproductive Strategies in Beef Cattle*, pp.250-256.

ATUALIZAÇÃO DOS PROTOCOLOS DE IATF, SOV/OPU-FIV E TETF PARA VACAS DE LEITE E DE CORTE

Pietro Sampaio Baruselli, Laisa Garcia da Silva, Guilherme Machado Zanatta,

Flávia Morag Elliff, Mariana Pallú Viziack

VRA – FMVZ USP – São Paulo

1. Introdução

Para atender ao mercado que está em crescente demanda por alimentos e para que a pecuária seja economicamente sustentável, é necessário que haja uma alta eficiência reprodutiva. Nesse contexto, a implementação de programas reprodutivos nas rotinas das fazendas é um meio de otimizar os sistemas de criação e a rentabilidade dos rebanhos. É importante lembrar que o aumento da produtividade deve ser também acompanhado pelo melhoramento genético.

Na atualidade contamos com diversas ferramentas reprodutivas que potencializam os ganhos do produtor, como a Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF), a produção de embriões *in vivo* (SOV) e *in vitro* (OPU-FIV). Dentre as três biotecnologias, a IATF é a de maior aplicabilidade, entretanto as outras biotecnologias são as ferramentas mais eficientes para aumentar o ganho genético dentro do sistema de produção bovino, pois possibilita a multiplicação das melhores matrizes acasaladas com os melhores reprodutores (BARUSELLI et al., 2018).

Com o intuito de aumentar a eficiência reprodutiva dos rebanhos, foram desenvolvidos protocolos de sincronização para IATF e, posteriormente, protocolos ressincronização, que aumentam a produção de bezerros e o ganho genético dos rebanhos. Os protocolos desenvolvidos já estão bem estabelecidos, podendo variar em número de manejos e dias de duração, mas os resultados alcançados são similares e satisfatórios.

O procedimento de produção de embriões *in vivo*, requer múltiplos tratamentos para superovulação (SOV), inseminação artificial (IA) e lavagem uterina, que demandam grande quantidade de manejos com os animais. No caso da produção de embriões *in vitro* (PIV), seu sucesso depende do número e da qualidade de oócitos recuperados por doadora (que variam entre as categorias púberes e pré-púberes), após o procedimento de aspiração folicular (OPU) por ultrassonografia transvaginal.

Os protocolos de estimulação ovariana com FSH em animais jovens vêm sendo desenvolvidos para aumentar o tamanho dos folículos aspirados e melhorar a qualidade oocitária, contribuindo para o aumento do ganho genético, e reduzindo o intervalo de gerações (PRESICCE et al., 1997; BATISTA et al., 2016).

Após a produção dos embriões, é importante a transferência para receptoras com elevada fertilidade. Nesse sentido, as técnicas de sincronização da ovulação são utilizadas para a transferência de embriões em tempo fixo (TETF) que, assim como as demais biotécnicas citadas, colabora para a multiplicação de animais geneticamente superiores e mais produtivos.

2. Atualização do mercado das biotécnicas reprodutivas utilizadas em bovinos de corte e de leite

2.1. Mercado da IATF

A IATF representa 85% das inseminações realizadas no Brasil. A proporção de protocolos por dose de sêmen comercializada foi semelhante à registrada em 2016, tendo em vista que houve aumento de 3,0% na comercialização de protocolos em 2017 e 3,5% na comercialização de sêmen (Index ASBIA). O seguimento leite foi principal responsável pelo aumento das doses de sêmen comercializadas, tendo um crescimento de

9,84% no último ano, enquanto que o seguimento corte teve um crescimento de apenas 0,61% (BARUSELLI et al., 2018).

2.2. Produção *in vitro* e *in vivo* de embriões

Atualmente, o Brasil lidera a produção de embriões *in vitro*, representando 52,8% (n=346.817) da produção mundial (IETS, 2017). Em 2016, do total de embriões transferidos no mundo (n = 1.289.569), 50,9% foram produzidos *in vitro* (n = 656.931), representando aumento significativo da proporção de embriões *in vitro* em relação aos *in vivo* (IETS, 2017).

3. Protocolos de sincronização para IATF

Atualmente, diversos protocolos para sincronização da onda folicular e da ovulação estão estabelecidos, permitindo ao técnico e ao produtor definir qual é o mais adequado ao manejo da propriedade bem como direcioná-los conforme a categoria de animais, sem diminuir a eficiência reprodutiva. Sendo assim, no presente artigo será discutido resultados de pesquisa referente à eficiência dos protocolos de sincronização para IATF.

3.1. Tipos de Protocolo

Os protocolos de IATF podem variar conforme a disponibilidade e custo dos hormônios. Os protocolos a base de estrógeno (E2) e progesterona (P4) são utilizados em maior escala na América do Sul (SÁ FILHO et al., 2009) e na Austrália, enquanto na América do Norte, Europa e Nova Zelândia se utiliza os protocolos a base de GnRH, associado ou não a um dispositivo de P4.

Protocolos a base de GnRH

O primeiro protocolo que permitiu a IA em diversas vacas sem a necessidade de observação de estro (IATF) foi publicado por Pursley et al. (1995), denominado Ovsynch. Este protocolo consiste na aplicação de uma dose de GnRH no primeiro dia do tratamento

(D0), uma dose de um análogo de prostaglandina F2 α sete dias após (D7) e uma outra dose de GnRH 48 horas depois da PGF (D9). As vacas são inseminadas 16 horas após a segunda dose de GnRH (PURSELY; SILCOX; WILTBANK, 1998). Diversos protocolos semelhantes foram desenvolvidos em seguida da publicação do Ovsynch, realizando uma pré-sincronização, alterando o momento de aplicação dos hormônios, utilizando dispositivos de P4, sempre com o objetivo de obter maiores taxas de sincronização e concepção. (GEARY et al., 2001; 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 a base de P4 e E2 utilizam como base o uso de um dispositivo de liberação de progesterona e a aplicação de E2 no início do protocolo (D0), sendo mais utilizado o Benzoato de Estradiol devido a sua eficiência e baixo custo. A associação destes fármacos em qualquer fase do ciclo estral promove a atresia dos folículos dominantes e início de uma nova onda folicular (SÁ FILHO et al., 2011a; BÓ et al., 1995). 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). No momento da retirada do dispositivo, que pode permanecer por 7, 8 ou 9 dias, se aplica um análogo de prostaglandina F2 α , para que ocorra a luteólise e a redução dos níveis sanguíneos de P4, evitando o bloqueio da ovulação. Neste momento pode se aplicar ou não um indutor de crescimento do folículo (normalmente a gonadotrofina coriônica equina, eCG) e um indutor de ovulação. Os indutores de ovulação mais utilizados são o cipionato de estradiol (CE), o benzoato de estradiol (BE) e o hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH). Atualmente, a aplicação de 0,5 a 1,0 mg de cipionato de estradiol (CE), aplicado no momento da retirada do dispositivo de P4, é mais utilizado, devido a facilidade e programação dos horários de

manejo, devendo a inseminação ser realizada 48 à 56 horas depois (BÓ; BARUSELLI; MAPLETOFT, 2013; TORRES-JÚNIOR et al., 2014). O benzoato de estradiol (BE), pode ser aplicado em dois momentos diferentes, dependendo do protocolo preconizado pela equipe responsável. Uma alternativa é aplicá-lo no momento da retirada do dispositivo e a outra é 24 horas após (criando a necessidade de mais um manejo do lote) e sempre realizando a inseminação 36 à 40 horas após a aplicação do mesmo (CREPALDI, 2009).

A aplicação de GnRH tem sido utilizada em vacas que não manifestam estro entre a retirada do dispositivo de P4 e a IATF. Com o auxílio de um bastão de cera, a base da cauda das vacas é pintada no dia da retirada do dispositivo e a presença ou não desta no momento da IATF é avaliada. As vacas que permanecerem com a cauda pintada são consideradas vacas que não manifestaram estro e se aplica GnRH. Nogueira et al. (SBTE 2016), obteve maior taxa de prenhez em vacas que não manifestaram estro e que receberam GnRH no momento da IATF (Controle; 36,0% vs. GnRH 52,0%; $P < 0,010$).

A prática de se aplicar a eCG tem se mostrado muito eficiente para aumentar a taxa de 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).

O período de proestro possui papel fundamental no transporte e viabilidade espermática e na preparação uterina no diestro (HAWK, 1983; POHLER et al., 2012), evitando uma luteólise prematura e ocorrência de vacas de ciclo luteal curto (MANN; LAMMING, 2000; ROBINSON et al., 2001). Alguns trabalhos mostraram uma maior porcentagem de vacas que manifestaram estro após a indução da luteólise quando tratadas com CE (HILLEGASS et al., 2008; SÁ FILHO et al., 2011b), além do mais, este fármaco

possui baixo custo e fácil aplicabilidade (redução dos manejos), tornando um indutor de ovulação de eleição pelos técnicos.

Estudos comparativos entre o protocolo Ovsynch e o protocolo a base de P4 e E2

Em rebanhos de leite foram realizados estudos comparando a eficiência reprodutiva de vacas Holandesas quando submetidas ao protocolo Ovsynch ou ao protocolo a base de P4 e E2. Verificou-se que a detecção de estro (66,4% vs 42,8%) e a taxa de prenhez (27,5%; 52/208 vs 40,8%, 86/211) foram superiores quando foi usado o protocolo a base de P4 e E2. Ainda, independente do protocolo, houve maior taxa de prenhez nos animais que manifestaram estro entre a administração de PGF e a IATF (LIMA et al., 2007). Além disso, outro estudo comparou a eficiência do protocolo Duplo-Ovsynch com o protocolo a base de P4 e E2 (RODRIGUES et al., 2011). Verificou-se maior taxa de prenhez após a sincronização com P4 e E2 comparado ao Duplo-Ovsynch (37,6%; 56/149 vs 21,9%, 35/160).

Em rebanhos de corte, a taxa de prenhez também foi superior quando protocolos a base de P4 e E2 foram comparados com o protocolo Ovsynch, semelhantemente ao verificado nos estudos com gado de leite (BARUSELLI et al., 2004). Esses estudos são indicativos de que nas condições brasileiras de manejo, tanto em rebanhos de corte quanto em rebanhos de leite, os resultados de prenhez são superiores quando são usados protocolos à base de P4 e E2 em comparação com o uso de protocolos Ovsynch.

3.2. Duração dos protocolos de IATF

Tempo de permanência do dispositivo de progesterona

No momento da IATF, vacas que possuem maior folículo apresentam maior probabilidade de ovulação e concepção (SÁ FILHO et al., 2010a). Essa informação é sugestiva de que protocolos com maior duração possuem mais tempo de crescimento do

folículo ovulatório, que poderia ser relacionado a um maior folículo no momento da IATF e maior taxa de prenhez. Entretanto, estudos evidenciaram que um longo período de dominância pode induzir o envelhecimento do oócito e resultar em redução da fertilidade (CERRI et al, 2009; LONERGAN et al., 2011).

Sendo assim, nosso grupo realizou diversos estudos comparando a duração do tratamento com dispositivo de P4 na fertilidade de vacas de corte e leite. Em um experimento com vacas holandesas em lactação, com produção média acima de 30kg de leite, foi comparado o tempo de permanência do dispositivo de progesterona (8 ou 9 dias). Verificou-se que não houve diferença significativa na taxa de prenhez aos 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); $P = 0,41$] nos protocolos de 8 ou 9 dias de duração, respectivamente (MINGOTI, et al., 2016a). Em outro estudo utilizando 505 vacas holandesas em lactação, Elliff et al. (SBTE 2017) compararam o tipo de dispositivo (PRIMER® Monodose, contendo 0,5g de P4 e PRIMER® Multidose, contendo 1,0g de P4) e o tempo de permanência do dispositivo (7 vs. 8 dias). Não houve efeito na taxa de prenhez entre os grupos [P8 MONO – 27% (33/120); P8 MULTI – 24% (31/130); P7 MONO – 26% (33/126); P7 MULTI – 28% (35/129), $P = 0,554$] e nem no tempo de permanência do dispositivo [7 vs. 8 dias ($P = 0,723$)] na taxa de prenhez [27% (68/255) vs 25% (64/250)], respectivamente.

Em vacas Nelore lactantes, Barbuio et al. (2016) realizaram 3 experimentos para testar a eficiência da duração do protocolo. No primeiro experimento, as vacas foram tratadas com um dispositivo intravaginal novo contendo 1,2 g de P4 ($n = 313$); no segundo experimento foram utilizados implantes auriculares novos contendo 3mg de norgestomet (Crestar; $n = 297$); e no terceiro experimento, o mesmo tipo de implante que no

experimento 2 (Crestar), porém os implantes eram previamente utilizados por 8 dias (n = 214). Em todos os estudos foi testado o tempo de permanência do dispositivo ou implante (8 ou 9 dias) na taxa de prenhez à IATF. Os autores não encontraram diferença na taxa de concepção em nenhum dos estudos realizados [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, Santos (2016), comparou protocolos de 7 e 9 de permanência do dispositivo e a IATF realizada 55 e 48 horas depois da remoção do mesmo e não verificou diferença 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.

Visando prolongar o proestro e elevar os níveis de E2 sanguíneos, Bó et al. (2016) desenvolveram um protocolo denominado J-Synch, no qual a permanência do dispositivo é de 6 dias, com uma aplicação de PGF no momento da retirada e a IATF realizada 72 horas após (D9), juntamente com a aplicação de uma dose de GnRH. Estudos foram realizados para comparar o protocolo J-Synch, associado a 200UI eCG no momento da retirada, com o protocolo convencional (8 dias de permanência do dispositivo) em novilhas Nelore e cruzadas (Nelore x Aberdeen Angus; Motta et al., 2016). Não foram observadas diferenças na taxa de prenhez entre os tratamentos (P = 0,08) e não houve interação entre protocolo e raça para taxa de prenhez [J-Synch*Nelore = 47,1% (48/102); J-Synch*Cruzada = 55,0% (159/289); Controle*Nelore = 48,6% (53/109); Controle*Cruzada = 55,4% (158/285); P = 0,89]. Os resultados dos estudos relacionados ao tempo de permanência do dispositivo de P4 em protocolos de IATF encontram-se na

Tabela 1 (BARUSELLI et al., 2017).

3.3. Protocolos com 3 ou 4 manejos

A baixa concentração sérica de progesterona próximo a retirada do dispositivo, objetivando uma maior pulsatilidade de LH e crescimento final do folículo dominante, pode ser conseguida com a aplicação de uma PGF dias antes, incluindo um manejo a mais no protocolo (MANTOVANI et al., 2010). Em um estudo realizado por Meneghetti et al. (2009), foi demonstrado que a taxa de concepção de vacas Nelore lactantes que apresentavam corpo lúteo no D0 do protocolo de IATF aumentou quando a PGF foi aplicada dois dias antes da remoção do dispositivo de P4 (como demonstrado no esquema da Figura 1) em relação as vacas que receberam a administração de PGF no momento da remoção do dispositivo de P4 [D7; 50,3% (86/171) vs. 36,1 (56/155), $P < 0,05$], respectivamente.

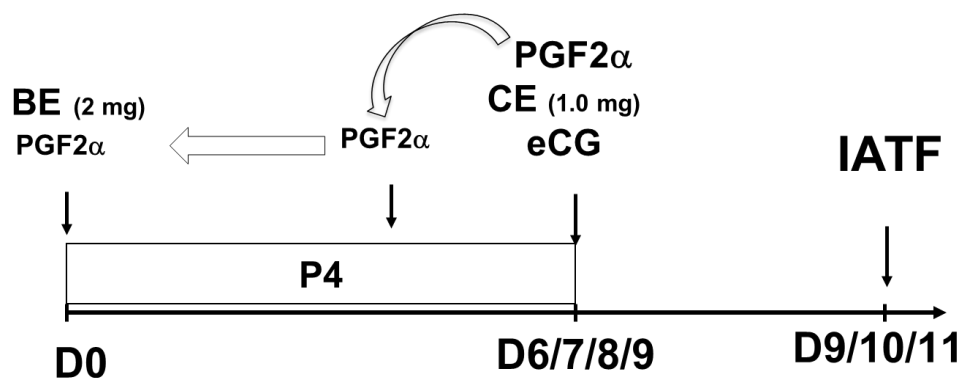


Figura 1. Modelo de protocolo para IATF com antecipação da dose de PGF para dois dias antes da retirada do dispositivo de P4 ou para o dia da inserção do dispositivo de P4.

Uma possibilidade para se conseguir menores níveis de P4 circulantes próximo ao final do protocolo de IATF é realizar o tratamento de PGF no dia zero (D0), causando a luteólise nos animais com presença de CL no início da sincronização, reduzindo progesterona sanguínea durante o protocolo (CARVALHO et al., 2008). Neste mesmo

contexto, semelhante taxa de concepção foi encontrada por Carvalhaes et al. (2016) em um estudo com vacas Nelore lactantes no qual se comparou a administração de PGF no D0 e D9 (3 manejos) do protocolo com a aplicação única de PGF no D7 (4 manejos) [57,1% (84/147) vs. 65% (92/142); $P = 0.18$], respectivamente. Mendanha et al. (2012), não encontraram diferença significativa na taxa de concepção de novilhas Girolando com CL ao início do protocolo de IATF, 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); $P > 0,05$].

Em um estudo recente de nosso grupo (MINGOTI et al., 2016b), o qual objetivou comparar a eficiência de protocolos com diferentes períodos de permanência do dispositivo de P4 e diferentes momentos da administração da PGF (3 manejos com 8 dias de permanência do dispositivo de P4 e PGF na retirada do dispositivo, ou 4 manejos com 9 dias de permanência do dispositivo de P4 e PGF dois dias antes da retirada do dispositivo), não houve diferença na taxa de prenhez à IATF de vacas Nelore lactantes [53,4% (518/971) vs. 53,9% (523/970); $P = 0,71$], 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, $P=0,45$]. Um resumo de trabalhos relacionados à eficiência de protocolos de IATF com 3 ou 4 manejos encontra-se na Tabela 2 (BARUSELLI et al., 2017).

Tabela 1. Eficiência de protocolos de IATF com diferentes períodos de permanência do dispositivo de P4 ou da fonte de P4 em diferentes categorias de gado.

Referência	Fonte de P4	N	Categoria	Permanência do dispositivo	Taxa de prenhez	Valor de P
Barbuio et al., (2016)	FertilCare 1200 [®] novo	31 3	Vacas Nelore em lactação	8 vs. 9	55.8% (87/156) vs. 56.1% (88/157)	0.96
Barbuio et al., (2016)	Crestar [®] novo	29 7	Vacas Nelore em lactação	8 vs. 9	59.6% (87/146) vs. 62.9% (95/151)	0.59
Barbuio et al., (2016)	Crestar [®] usado 1x	21 4	Vacas Nelore em lactação	8 vs. 9	46.7% (50/107) vs. 43.0% (46/107)	>0.05
Mingoti et al., (2016)	Sincrogest [®] novo	28 8	Vacas Nelore em lactação	8 vs. 9	28.3% (41/145) vs. 23.8% (34/143)	0.28
Santos (2016)	CIDR [®] novo	65 5	Vacas Nelore em lactação	7 vs. 9	56.2% (195/347) vs. 54.2% (167/308)	0.49
Motta et al., (2016)	FertilCare 1200 [®] usado 2x	21 1	Novilhas Nelore	6 vs. 8	47.1 (48/102) vs. 48.6% (53/109)	>0.05
Motta et al., (2016)	FertilCare 1200 [®] usado 2x	57 4	Novilhas Nelore vs. Angus	6 vs. 8	55.0% (159/289) vs. 55.4% (158/285)	>0.05
Elliff et al., (2017)*	Primer [®]	50 5	Vacas Nelore em lactação	7 vs. 8	27% (68/255) vs. 25% (64/250)	0.72

* Similar (P = 0.554) prenhez por IA (D40) foi observada entre grupos tratados com dispositivo intravaginal contendo 1g de P4 mantido por 7 dias (28%; 35/129) ou 8 dias (24%; 31/130), ou contendo 0.5g de P4 mantido por 7 dias (26%; 33/126) ou 8 dias (27%; 33/120).

Tabela 2. Eficiência de protocolos de IATF com três (administração de PGF no D0 e nos dias de retirada do dispositivo) ou quatro manejos (administração de PGF dois dias antes da remoção do dispositivo) em diferentes categorias de gado.

Referência	Permanência do dispositivo e fonte de P4	N	Categoria	Número de manejos	Taxa de prenhez por IA	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® (8 ou 9d) usado 2x	367	Novilha Angus vs. Nelore	3 vs. 4	57.3% (110/192) vs. 57.1% (100/175)	0.93
Mingoti et al., (2016)	Sincrogest®† e CIDR®† (8* ou 9d)	1.94 1	Vaca Nelore em lactação	3 vs. 4	53.4% (518/971) vs. 53.9% (523/970)	0.71
Carvalhoes et al., (2016)	CIDR® † (9d) novo	289	Vaca Nelore em Lactação	3 vs. 4	57.1% (84/147) vs. 64.8% (92/142)	0.18

* 3 manejos com tratamento com PGF somente no dia da remoção do dispositivo de P4.

† Novo, usado 1 vez e usados 2 vezes – dispositivos de P4.

4. Protocolos de Ressincronização

4.1. Gado de corte

A ressincronização é um método utilizado para sincronizar o ciclo estral das fêmeas que já receberam uma inseminação e que não se tornaram gestantes, eliminando a necessidade de observação de estro, redução do número de touros para repasse, otimização de touros geneticamente superiores e aumento da eficiência reprodutiva. O intervalo entre partos (IEP) é reduzido e o número de bezerros oriundos de IA é

aumentado, com maior valor agregado. Atualmente, três métodos de ressincronização de vacas de corte tem sido utilizado no Brasil: o tradicional; o precoce; e o superprecoce.

A ressincronização tradicional é realizada de 28 a 30 dias após a IATF prévia, após o diagnóstico de gestação e somente nas vacas vazias, o que permite uma maior flexibilidade de datas quando comparada aos outros métodos. Na ressincronização denominada precoce, todas as vacas que receberam a primeira IATF foram submetidas ao início de um novo protocolo de sincronização 22 dias após a IA e o diagnóstico de gestação realizado juntamente com a retirada do dispositivo. Neste momento, somente as vacas diagnosticadas não gestantes recebem o restante do protocolo.

Recentemente tem sido estudado uma ressincronização que permite encurtar o intervalo de IATF em 24 dias, denominada como superprecoce. Esta ressincronização é iniciada no diestro subsequente à IATF (13 a 14 dias após a IATF; VIEIRA et al., 2014) e para realizar o diagnóstico de gestação é necessário um ultrassom com a função color-Doppler. Assim como na ressincronização precoce, todas as fêmeas devem iniciar o tratamento de ressincronização, porém, apenas aquelas diagnosticadas como não prenhas (CL com baixo fluxo sanguíneo) recebem a segunda inseminação.

Alguns fatores como propriedade, mão de obra disponível e custos, tem que ser analisados para que se adote um manejo de ressincronização na rotina da fazenda. Quanto menor for o intervalo entre as IATFs, maior será a taxa de serviço das fêmeas da propriedade (Figura 2), evitando atraso nas concepções durante a estação de monta (EM) e, conseqüentemente, mantendo as parições no início da estação subsequente, logrando bezerros mais pesados e precoces. Ainda, a ressincronização ao final da estação reprodutiva, diminui o número de vacas não gestantes e o seu descarte por este motivo.

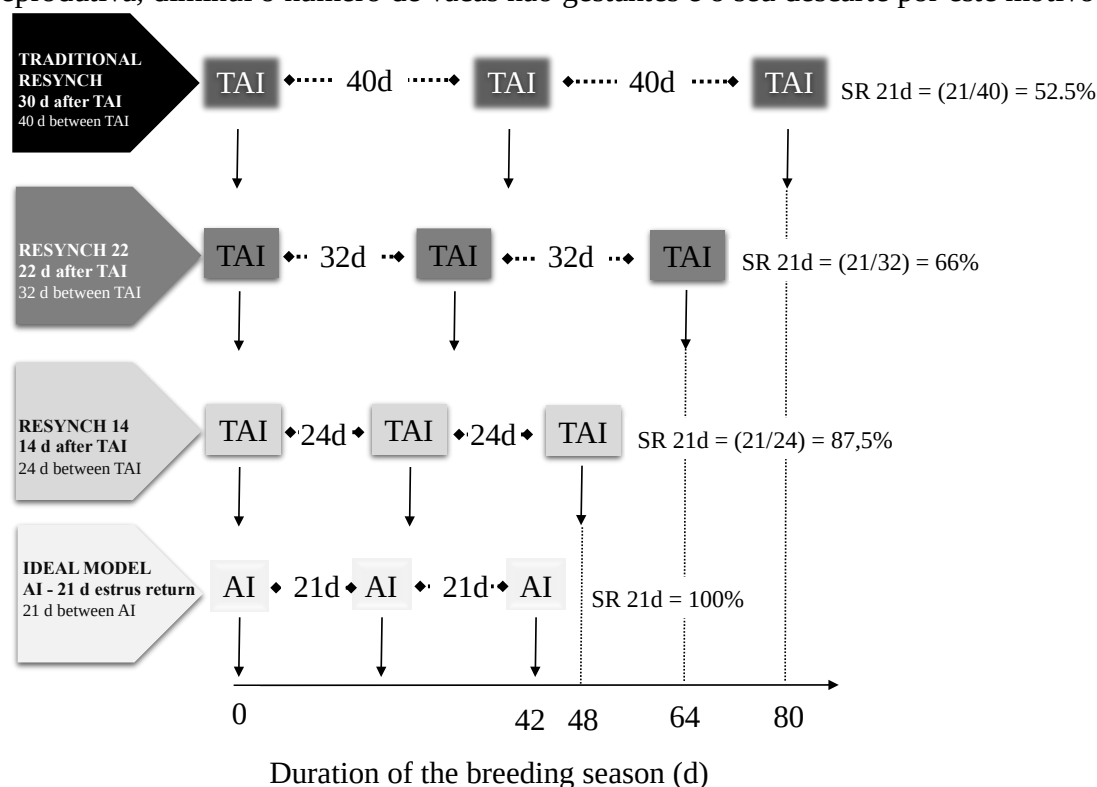


Figura 2. Taxa de serviço (TS) para diferentes programas de ressincronização: Resynch 14 (começa 14 dias após a IATF anterior, com 24 dias de intervalo entre IA e TS = 87,5%); Resynch 22 (começa 22 dias após a IATF anterior, com 32 dias de intervalo entre IA e TS = 66%); e Resynch tradicional (começa após o diagnóstico de prenhez 30 dias após a IATF anterior, com 40 dias de intervalo entre IA e TS = 52,5%). Modelo ideal referente a 21 dias de intervalo entre IA e TS = 100%.

A crescente utilização da técnica de ressincronização levou algumas propriedades a adotarem uma segunda ressincronização (3 IATFs), cabendo aqui qualquer um dos três métodos. Isso foi positivo no ponto de vista de produtividade, como obtido por Crepaldi et al. (2014), que obtiveram 87,4% de taxa de prenhez ao final da estação reprodutiva de

64 dias, utilizando a ressincronização precoce, sem o uso de touros para repasse. Ainda, o uso de programas de ressincronização, sem a utilização de touros em monta natural (MN), nos permite programar com maior precisão os nascimentos. Em uma EM de 90 dias, as vacas que parirem nos dois primeiros meses, são capazes de receber três IATFs na próxima EM subsequente, com aproximadamente 87,5% de taxa de gestação ao final da EM. Apesar de as vacas que parirem no terceiro mês receberem somente 2 IATF, ainda é possível se obter 75,0% de prenhez nestas fêmeas em uma EM de 90 dias. Com a antecipação das parições quando se utiliza métodos de ressincronização, espera-se que em 4 a 5 anos a distribuição dos partos na propriedade seja de 49%, 34% e 17%, no primeiro, segundo e terceiro mês de parição, respectivamente.

O início do protocolo de ressincronização tradicional e precoce é realizado da mesma forma que o protocolo da primeira IATF, sem que o BE prejudique a primeira prenhez quando aplicado no dia 22 depois da IATF (SÁ FILHO et al., 2014). Entretanto, o mesmo não é possível quando se realiza a ressincronização superprecoce, devido ao BE causar luteólise em parte dos animais tratados e redução na taxa de concepção quando aplicado 13 a 14 dias depois da IATF (VIEIRA et al., 2014). A redução na produção de P4 pelo CL em fêmeas tratadas com BE no meio do ciclo estral foi demonstrado anteriormente (EL-ZARKOUNY & STEVENSON, 2004; MUNRO & MOORE, 1985) e isto pode estar vinculado ao estímulo de liberação de PGF pelo aumento de E2 (THATCHER et al., 1986; ARAUJO et al., 2009).

Desta forma, nos programas de ressincronização superprecoces, não se utiliza BE no início do tratamento, o qual foi primeiramente substituído por uma aplicação de 100mg de P4 injetável (Afisterone®, Hertape Calier). Após o tratamento com 100 mg de P4 i.m. em vacas Nelore, Rezende et al. (2016) verificaram a emergência de uma nova onda de crescimento folicular $3,0 \pm 0,7$ dias após o tratamento. A eficiência do protocolo de

ressincronização superprecoce quando comparado ao protocolo de ressincronização precoce, foi relatado por Penteado et al., (2016), utilizando 244 vacas Nelore lactantes. Para isto, foi realizado uma primeira IATF (D0) e estas fêmeas distribuídas em dois programas: superprecoce (ECC = 3,0; n = 118) e precoce (ECC = 3,0; n = 126), para uma segunda IATF (24 ou 32 dias após a primeira IATF, respectivamente). O diagnóstico de gestação das vacas que receberam a ressincronização superprecoce foi realizado no D22 pelo fluxo sanguíneo do CL, utilizando um aparelho de ultrassom com modo color-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 (D24). O diagnóstico de gestação das vacas que receberam a ressincronização precoce foi realizado por ultrassonografia convencional (modo B; Mindray, M5VET, China), no D30. Não houve efeito na taxa de concepção a primeira IATF (superprecoce; 53% vs. precoce; 48%; $P = 0,57$), bem como na taxa de concepção da ressincronização (superprecoce; 51% vs. precoce; 56%; $P = 0,37$). Ainda, a taxa de prenhez acumulada não diferiu estatisticamente [75% (89/118) em 24 dias de estação de monta e 77% (97/126) em 32 dias de estação de monta; $P = 0,77$]. Colli et al. (2017), realizaram duas ressincronizações superprecoces subsequentes em novilhas Nelore de 14 meses, obtendo uma taxa de prenhez final acima de 70%, com três IATFs, em um intervalo de 48 dias.

Recentemente, Gonçalves et al. (2018) compararam a utilização de três protocolos de ressincronização superprecoce: a utilização de 50 mg de P4 injetável de curta ação (Afisterone®, Hertape Calier) associado a um dispositivo previamente utilizado por 8 dias (1,9g de P4CIDR®, Zoetis, Brasil); a utilização 50 mg de P4 injetável longa ação (Sincrogest injetável®, Ouro fino Saúde Animal) associado a um dispositivo previamente utilizado por 8 dias (1,9g de P4CIDR®, Zoetis, Brasil).; e somente a utilização de um dispositivo previamente utilizado por 8 dias (1,9g de P4CIDR®, Zoetis, Brasil). Não

houve diferença significativa no diâmetro do folículo dominante no momento da retirada do dispositivo de P4 ($P = 0,23$), na taxa de expressão de cio ($P = 0,62$) e na taxa de prenhez aos 70 dias ($P = 0,65$).

Os protocolos de ressincronização tem mostrado excelentes resultados de prenhez, além de encurtar o tempo da estação de monta, intervalo entre partos e das parições no início da estação.

4.2. Gado de Leite

Diferentemente do gado de corte, o gado de leite possui manejo reprodutivo ao longo do ano, sendo mais indicado um ajuste nos protocolos de ressincronização para IATF, preconizando que as visitas e os manejos tenham dias da semana fixos. No entanto, os protocolos seguem os mesmos preceitos do gado de corte, permitindo que se realize qualquer uma das três técnicas de ressincronização. Para que o cronograma de visitas do médico veterinário e manejos da fazenda sejam realizados sempre nos mesmos dias da semana, o método de ressincronização tradicional deve ter início 32 dias após a IATF prévia e o método precoce deve ser iniciado 25 dias após a IATF prévia.

Alguns estudos foram realizados para verificar a eficiência da sincronização de uma nova onda folicular 25 dias após a IATF, sem prejudicar a prenhez da primeira inseminação. Em um estudo prévio, Vasconcellos et al. (2014) compararam a eficiência da aplicação do GnRH ou do BE no início do protocolo e verificaram que ambos os fármacos foram eficientes para a emergência da nova onda folicular. Para verificar o efeito da aplicação de 2 mg BE no início do protocolo da ressincronização precoce (25 dias após a IATF prévia) no estabelecimento e manutenção da prenhez prévia, Vieira et al. (dados não publicados) encontraram semelhante taxa de prenhez aos 33 [31,1% (66/212) vs. 32,0% (71/222); $P = 0,89$] e aos 60 dias [24,4% (51/210) vs. 24,7% (54/218);

P = 0,91], em vacas sincronizadas com BE ou GnRH. Com isso, a ressincronização de vacas em lactação com BE 25 dias após a IA, não induz perda gestacional, além de ser eficiente na sincronização da onda folicular.

Semelhante ao gado de corte, um protocolo de ressincronização mais precoce foi realizado em vacas de leite, porém, um ajuste de protocolo foi necessário. Para que os dias da semana sejam sempre os mesmos, ao invés do protocolo de ressincronização iniciar 14 dias após a IATF, em gado de leite este início é realizado no 18º dia. A eficiência deste protocolo foi testada por nosso grupo de pesquisa, utilizando vacas Holandesas em lactação, comparando 100 mg P4 injetável (Afisterone®, Hertape Calier) com 200 mg de P4 injetável (Afisterone®, Hertape Calier). O diagnóstico foi realizado 8 dias depois pelo fluxo sanguíneo do CL, no 26º dia, utilizando a ultrassonografia color-Dopler (Mindray M5Vet, DPS São Paulo), semelhante ao diagnóstico feito na ressincronização superprecoce do gado de corte. Esse protocolo permitiu alcançar um intervalo entre IATF de 28 dias.

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.

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, 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.

5. Protocolos de SOV/OPU-FIV para gado de corte e leite

O resultado de programas de produção *in vitro* de embriões (PIVE) está relacionado à fase da onda folicular na qual os oócitos são obtidos (BLONDIN et al., 1995; HAGEMANN et al., 1999; FAIR, et al., 1995; HENDRIKSEN et al., 2004; PAVLOK et al., 1992). O potencial de desenvolvimento oocitário e a habilidade do oócito atingir o estágio de blastocisto estão relacionados com o crescimento folicular, e essa competência de desenvolvimento aumenta conforme o diâmetro do folículo eleva em tamanho e se aproxima ao pico de LH (ARLOTTO et al., 1996; LONERGAN, et al., 1994; CAIXETA et al., 2009; SIRARD, 2011; SIRARD et al., 2006). Foi comprovado que, durante o crescimento folicular em bovinos, mRNA e proteínas são estocadas no oócito (BREVINGANDOLFI, 2001) e a composição do RNA é essencial nos primeiros ciclos celulares de desenvolvimento embrionário (DIELEMAN et al., 2002). Assim, pode existir um momento ideal na qual a FIV apresentaria melhores resultados e seria, portanto, otimizada. Nesse contexto, o uso de protocolos para sincronização da onda folicular e superestimulação previamente à OPU pode ser uma estratégia para melhorar a eficiência desta biotecnologia em bovinos.

O uso de hormônio folículo-estimulante (FSH) em protocolos pré-aspiração pode ser uma ferramenta para a superestimulação e consequentemente otimizar a PIVE. Alguns estudos (GOODHAND et al., 1998; MAJERUS et al., 1999; TANEJA et al., 2000, VIEIRA et al. 2014) relatam que a superestimulação com FSH aumenta o número de folículos disponíveis para aspiração e Currin et al. (2017) afirmaram que o uso de FSH não eleva de fato o número de folículos, mas sim seu tamanho. Kauffold et al. (2005) relataram que complexos cumulus-oócitos (COCs) recuperados de folículos maiores têm maior competência de desenvolvimento do que COCs provenientes de folículos menores. Assim, o uso de FSH pode elevar o número de folículos disponíveis para aspiração bem como a qualidade do ambiente folicular, que se reflete na qualidade oocitária e consequentemente maior competência de desenvolvimento. Blondin et al. (2002) relataram maior número de oócitos recuperados por OPU em vacas *Bos taurus* superestimuladas com FSH quando comparadas com vacas não tratadas. No entanto, ainda não foi possível comprovar o efeito benéfico da superestimulação ovariana em fêmeas *Bos indicus* (MONTEIRO et al. 2009; REIS et al. 2010).

O tratamento gonadotrófico para superestimulação ovariana pode ser realizado com a somatotropina bovina recombinante (rBST). A somatotropina é um hormônio de crescimento que influencia a regulação do crescimento e diferenciação de diversas células, além de controlar a atividade metabólica de diversos órgãos e tecidos (KUZMINA et al., 2006). Gong et al., (1997) verificaram que a somatotropina bovina recombinante (rBST) eleva significativamente as concentrações séricas de fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1) e insulina, tendo efeito importante na proliferação e esteroidogênese de células da granulosa de bovinos. O aporte de energia necessário para maturação e competência oocitária depende de IGF-1. Receptores IGF-1 são expressos na granulosa e no oócito, tendo efeitos trópicos importantes sobre o oócito.

O aumento de IGF-1 está associado a maior atividade de GLUT1 nas células da granulosa e oócito, sendo este um fator essencial para a maturação oocitária (ZHOU, et al. 2000). O número de folículos disponíveis para aspiração aumenta quando a fêmea é tratada com rBST (LUCY et al., 2000; BURATINI et al., 2000). O mecanismo pelo qual o rBST aumenta o desenvolvimento folicular ainda não é inteiramente compreendido, mas acredita-se ter relação com o aumento de IGF-1. Bols et al., (1997) trataram novilhas com rBST semanalmente e observou uma tendência para que o número de folículos aumentasse durante o período de aspirações para o grupo tratado. No entanto, não houve diferença quanto ao número de oócitos recuperados entre os grupos tratado e não tratado. Pavlok et al. (1996) aplicaram rBST em vacas uma vez e obteve como resultado oócitos de melhor qualidade, no entanto, não observou diferenças quanto ao número de folículos entre animais tratados e não tratados. Além disso, estudos apontam que o uso de rBST melhora o desenvolvimento embrionário (IZADYAR et al. 1996; MOREIRA et al., 2001, HASLER et al., 2003). Martins et al. (2012) comprovaram que em fêmeas Holandesas (*Bos taurus*) o uso de bST na superestimulação ovariana previamente à OPU eleva o número de embriões produzidos/OPU.

Ainda, existe a opção de utilizar gonadotrofina coriônica equina (eCG), que também provoca superestimulação ovariana, podendo ser uma alternativa ao tratamento com FSH com intuito de diminuir o número de manejos além de reduzir o custo do tratamento. Wang et al. (1988) relataram que conforme a dose de eCG, o número de oócitos aumentou, no entanto, o número e porcentagem de embriões produzidos reduziu. No entanto, Sendang et al. (2008) compararam o uso de FSH e eCG na superestimulação ovariana e concluíram que a resposta ovariana, população folicular e qualidade oocitária foram afetados conforma o tipo de gonadotrofina, sendo que FSH é melhor que eCG para protocolos pré-OPU. Em estudo realizado por Martins et al. (2012) foi relatado que o uso

de eCG em animais da raça Brangus (*Bos taurus* x *Bos indicus*) elevou o número de oócitos recuperados/OPU. Além disso, neste mesmo estudo, o uso de eCG elevou o número de embriões produzidos por/OPU em fêmeas da raça Holandesa (*Bos taurus*).

6. Protocolos de TETF para gado de corte e leite

Assim como ocorre com a IA, a ineficiência da detecção de estro, especialmente em receptoras, tem limitado a aplicação da transferência de embriões comercialmente em larga escala. A melhor alternativa para aumentar o número de receptoras utilizadas em programas de transferência de embriões é o uso de protocolos que permitam a transferência sem a necessidade de detecção de estro, nos programas para a transferência de embriões em tempo fixo (TETF). As taxas de concepção são similares entre animais submetidos à detecção de estro ou à programas de TETF, porém as taxas de prenhez são maiores em animais submetidos à TETF pela maior proporção de receptoras aptas a receber embrião (BÓ et al., 2011).

Os programas de TETF, diferentemente do que os de IATF, são imprescindíveis para ilustrar a importância do manejo organizado entre doadoras e receptoras de embrião, assegurando à fazenda melhor logística e manejo dos animais e resultando, portanto, em maiores taxas de prenhez. Programas de SOV e de TETF podem ser facilmente incorporados no manejo de fazendas e podem ser realizados pelos funcionários (BARUSELLI et al., 2011). Similarmente ao que ocorre com a IATF, a TETF é uma ferramenta que visa eliminar a necessidade de detecção de estro, facilitar o manejo reprodutivo em propriedades e aumentar a eficiência reprodutiva (RODRIGUES et al., 2010).

Avanços no controle da emergência da onda folicular e da ovulação têm facilitado o manejo de doadoras e de receptoras de embrião. Entretanto, esses procedimentos são

influenciados por fatores relacionados aos animais e ao manejo. *Bos indicus* (vacas de corte) e *Bos taurus* (vacas de leite) apresentam uma série de diferenças na fisiologia reprodutiva que influenciam nos protocolos específicos para cada raça. Em ambas as raças, porém, os protocolos atualmente utilizados visam diminuir o número de manejos com os animais e melhorar a eficiência dos protocolos. Tanto para vacas de leite como para vacas de corte, protocolos usando hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) ou estradiol (E2) e dispositivos de progesterona (P4) são a base (Figura 3). Como citado anteriormente, existem diferenças entre diferentes protocolos para melhorar a eficácia para SOV (número de tratamentos com FSH, uso de eCG, tempo de indução da ovulação para IATF uso de tratamentos superestimulatórios durante a primeira onda folicular) (BARUSELLI et al., 2011).

Treatment Day	Donors		Recipients
	AM	PM	AM
- 2			P4 device + EB (2 mg) + PGF _{2α}
-1			
0	P4 device + EB (2 mg)		
4	FSH (20%)	FSH (20%)	
5	FSH (15%)	FSH (15%)	
6	FSH (10%) + PGF _{2α}	FSH (10%)	P4 device removal + EC (1 mg) + PGF _{2α} + eCG (400 IU)
7	FSH (5%)	FSH (5%) + P4 device removal	
8	GnRH/LH*	FTAI	
9	FTAI		
15	Flushing		FTET

Treatment Day	Donors		Recipients
	AM	PM	AM
0	P4 device insertion + PGF _{2α}		
4			P4 device insertion + GnRH
7	GnRH/LH		
8		FSH (20%)	
9	FSH (20%)	FSH (15%)	
10	FSH (15%)	FSH (10%)	
11	FSH (10%)	FSH (5%) + PGF _{2α}	P4 device removal + PGF _{2α}
12	P4 device removal + FSH (5%) + PGF _{2α}		
13	GnRH/LH	FTAI	GnRH/LH
14	FTAI		
20	Flushing		FTET

Figura 3. Programa de TETF para doadoras e receptoras de embrião *Bos indicus* utilizando EB e P4 (à esquerda) e *Bos taurus* usando GnRH e P4 (à direita).

Em vacas de leite, a transferência de embriões (TE) apresenta as vantagens de aumentar a fertilidade de vacas durante períodos de estresse calórico e de vacas repetidoras de serviço, quando comparado com a IA (BARUSELLI et al., 2011; BONILLA et al., 2014; RASMUSSEN et al., 2013). A performance reprodutiva de vacas em lactação é comprometida pelo estresse calórico por causar diminuição na qualidade oocitária, o que pode ser contornado pelo uso da TE (FERREIRA et al., 2011). Além disso, a TE pode manter elevadas taxas de prenhez durante o ano pela produção de embriões durante meses mais frios, que serão posteriormente transferidos em períodos de estresse térmico, visto que a produção de embriões em protocolos de superovulação também é comprometida durante as estações mais quentes do ano (METZGER; CHEBEL, 2008; VIEIRA et al., 2014). Ainda, estudos foram indicativos de que a TE pode minimizar a baixa fertilidade e a perda embrionária inicial de fêmeas repetidoras de serviço, promovendo maiores taxas de prenhez (RODRIGUES et al., 2010).

Tanto em gado de leite quanto em gado de corte, o sucesso dos programas de TETF dependem da sincronia do estro entre a doadora e a receptora e da presença, portanto, de

um corpo lúteo funcional no momento da transferência. Além disso, é importante que estejam presentes em ambos os animais as mesmas condições uterinas e concentrações sanguíneas de progesterona para assegurar a prenhez (RODRIGUES et al., 2018). Em vacas de corte cruzadas, maiores taxas de prenhez foram verificadas em receptoras que apresentaram estro 24 horas antes do que as doadoras, indicando um corpo lúteo de 8 dias no momento da transferência de embriões, com consequente maior nível de progesterona circulante (KEYON et al., 2013). Entretanto, taxas de prenhez são mais afetadas pela qualidade embrionária em protocolos de TETF em gado de corte (RODRIGUES et al., 2018).

Recentemente, o Doppler é usado como uma ferramenta auxiliar para diagnóstico precoce da gestação e seleção de receptoras em programas de TETF. A possibilidade de iniciar uma ressincronização após o diagnóstico precoce com Doppler foi avaliada em 165 receptoras de embrião aos 21 dias, objetivando melhorar o manejo reprodutivo em programas de TETF (GUIMARÃES et al., 2015). Nesse estudo, o diagnóstico precoce da gestação foi realizado por um critério de escore de vascularização do CL e também contou com a informação da presença e lado do CL avaliado no dia da transferência de embrião (Dia 7) para poder auxiliar na distinção de CLs jovens, os quais apresentam um tamanho reduzido, mas alta vascularização. A acurácia e sensibilidade do diagnóstico precoce aos 21 dias observadas nestas receptoras mestiças foram de 88,3% e 100%, respectivamente. Este diagnóstico possibilitou que 80% das receptoras não gestantes já fossem diagnósticas aos 21 dias e assim serem ressincronizadas para um novo programa de TETF.

Em programas de TE após observação de cio ou em tempo fixo, um dos fatores mais importantes para se determinar o uso de uma receptora é a presença e a qualidade do CL presente. Essa qualidade é tradicionalmente avaliada para seleção de receptoras através da palpação transretal ou pela ultrassonografia em escala-de-cinza para se determinar o

tamanho do CL. Entretanto, estas estratégias podem resultar na transferência de embriões para um útero não receptivo devido à presença de um CL pouco ou não-funcional, já que a funcionalidade luteal (secreção de P4) não pode ser acessada por estas avaliações. Desta forma, Pinaffi et al. (2015) avaliaram receptoras através da ultrassonografia Doppler no dia da transferência e classificaram retrospectivamente estas fêmeas como Baixa ($\leq 40\%$ de sinais coloridos indicando vascularização no CL) ou Alta vascularização luteal ($>40\%$). Apesar do reduzido número de animais usados nesse estudo foi verificado que nenhuma ($n=0/12$) das receptoras com baixa vascularização no CL foi diagnosticada como gestante; entretanto, a taxa de gestação foi de 48,4% ($n=15/31$) nas receptoras com alta vascularização luteal. O mais interessante nesse estudo é que apesar da diferença na proporção de vascularização entre estes dois grupos, o diâmetro médio do CL foi semelhante entre as vacas com baixa (17,5 mm) ou alta vascularização (17,0 mm).

Mais recentemente (PUGLIESI et al., 2016b) foi estudado o impacto do tamanho e da perfusão sanguínea luteal avaliados por ultrassonografia Color-Doppler no momento da TE sobre as taxas de gestação em receptoras de corte mestiças ($n=329$) com o ciclo estral sincronizado para permitir TETF. As receptoras foram retrospectivamente divididas em dois subgrupos de acordo com o tamanho do CL (Pequeno [$<3\text{cm}^2$] ou Grande [$\geq 3\text{cm}^2$]) e três subgrupos de acordo com o fluxo sanguíneo luteal (Baixo [$\leq 40\%$], Médio [45 a 50%] ou Alto [$\geq 55\%$]). Das vacas não selecionadas por diversos motivos, 9,5% (7/74) não foram usadas pois o CL estava presente, mas não estava funcional ($<25\%$ de fluxo sanguíneo). Foi observado apenas um efeito de categoria de fluxo sanguíneo de CL sobre a taxa de gestação. Isto refletiu um aumento progressivo na taxa de gestação associado ao aumento da vascularização luteal (Baixa, 45,1%B, [37/82]; Média, 55,9%AB [57/102]; e Alta, 62,3%A [38/61]). Em trabalho subsequente de nosso grupo (PUGLIESI et al., 2017; dados não publicados), receptoras foram avaliadas apenas no dia da TETF e o CL

classificado de acordo com a classificação de vascularização luteal proposta acima e uma classificação em forma de escores (0 a 4). Corroborando com os resultados anteriores, observou-se aumento de 41% na taxa de gestação nas receptoras com Alta vascularização luteal comparado com Baixa vascularização. Diferença similar também foi verificada quando usado o sistema de escores de vascularização central do CL, onde a taxa de gestação foi 29% maior nas vacas com Escore 3 (62%, 44/71) em comparação aos Escores 1 e 2 (48,2%, 53/110). Apesar das concentrações circulantes de P4 ainda não terem sido mensuradas nesses estudos, acredita-se que a maior taxa de gestação nas receptoras com Alta vascularização luteal seja oriunda da maior secreção de P4 pelo tecido luteal. Neste sentido, Bollwein et al. (2002) observou que a maior vascularização luteal está associada positivamente com a maior função luteal.

Desta forma, observa-se através destes primeiros estudos que a ultrassonografia Doppler pode ser utilizada para se descartar receptoras que apresentem CL afuncional e para selecionar receptoras que teriam uma melhor receptividade e assim seria uma alternativa para se direcionar embriões de maior prioridade para se obter uma gestação. Isto poderia promover um ganho na eficiência reprodutiva em programas de TETF visto que não se perderia embriões transferidos em receptoras com CL não-funcional, e em caso de excedente de receptoras poderia dar preferência para fêmeas com média a alta vascularização luteal (PUGLIESI et al., 2017).

Referências

Araujo, R. R.; Ginther, O. J.; Ferreira, J. C.; Palhão, M. M.; Beg, M. A.; Wiltbank, M. C. Role of Follicular Estradiol-17 β in Timing of Luteolysis in Heifers. *Biology of Reproduction*, v. 81, p. 426-437, 2009.

Arlotto, T.; Schwartz J-L, First N.L.; Leibfried-Rutledge, M.L. Aspects of follicle and oocyte stage that affect in vitro maturation and development of bovine oocytes. *Theriogenology*, v. 45, p. 943-956, 1996.

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.; Ferreira, R.M.; Sales, J.N.S.; Gimenses, L.U.; Sá Filho, M.F.; Martins, C.M.; Rodrigues, C.A.; Bó, G.A. Timed embryo transfer programs for management of donor and recipient cattle. *Theriogenology*, v. 76, p. 1583-1593, 2011.

Baruselli, P.S.; Ferreira, R.M.; Colli, M.H.A.; Elliff, F.M.; Freitas, B.G. Timed artificial insemination: current challenges and recent conquests for improving the efficiency in the field. *Animal Reproduction*, v. 14, n. 3, p. 558-571, 2017.

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

Blondin P., Sirard, M.A. Oocyte and follicular morphology as determining characteristics for developmental competence in bovine oocytes. *Mol Reprod Dev*, v. 41, p. 54-62, 1995.

Blondin, P.; Bousquet, D.; Twagiramungu, H.; Barnes, F.; Sirard, M.A. Manipulation of follicular development to produce developmentally competent bovine oocytes. *Biol Reprod*, v. 66, p. 38–43, 2002.

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 selfappointed embryo transfer programs in cattle. *Theriogenology*, v. 57, p. 53-72, 2002.

Bó, G.A.; Peres, L.C.; Cutaia, L.E.; Pincinato, D.; Baruselli, P.S.; Mapletoft, R.J. Treatments for the synchronisation of bovine recipients for fixed-time embryo transfer and improvement of pregnancy rates. *Reproduction, Fertility and Development*, v. 24, n. 1, p. 272-277, 2011.

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.

Bols, P.E.J.; Lein, A.; Ysrbaert, M.T.; Van Soom, A.; Kruif, A. Effects of a long-term treatment with bovine somatotropin on oocyte and blastocyst yield after OPU/IVF. *Theriogenology*, p. 315, 1997 (Abstract).

Bonilla, L.; Block, J.; Denicol, A.C.; Hansen, P.J. Consequences of transfer of an in vitro-produced embryo for the dam and resultant calf. *Journal of Dairy Science*, v. 97, n. 1, p. 229-239, 2014.

Brevini-Gandolfi, T.A.; Gandolfi, F. The maternal legacy to the embryo: cytoplasmic components and their effects on early development. *Theriogenology*, v. 55, p. 1255-1276, 2001.

Buratini Jr, J.; Price, C.A.; Visintin, J.A; Bó, G.A. Effects of dominant follicle aspiration and treatment with recombinant bovine somatotropin (BST) on ovarian follicular development in Nelore (*Bos indicus*) heifers. *Theriogenology*, v. 54, p. 421-431, 2000.

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.

Caixeta, E.S.; Ripamonte, P.; Franco, M.M.; Junior, J.B.; Dode, M.A.N. Effect of follicle size on mRNA expression in cumulus cells and oocytes of *Bos indicus*: an approach to identify marker genes for developmental competence. *Reprod Fertil Dev*, v. 64, p. 655-664, 2009.

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.

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.

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.

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. Eficácia de diferentes protocolos de indução da ovulação e de intervalos de inseminação em vacas de corte submetidas à IATF. 2009. Dissertação (Mestre em Ciências), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 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.

Currin, L.; Michalovic, L.; Belle, A.; Gutierrez, K.; Glanzner, W.; Schuermann, Y.; Bohrer, R.C.; Dicks, N.; Paulo, R.; Cesaro, M.P.; De, Lopez, R.; Grand, F.; Vigneault, C.; Blondin, P.; Gourdon, J.; Baldassarre, H.; Bordignon, V. The effect of age and length of gonadotropin stimulation on the in vitro embryo development of Holstein calf oocytes. *Theriogenology*, v. 104, p. 87–93, 2017.

Dieleman, S.J.; Hendriksen, P.J.M.; Viuff, D.; Thomsen, P.D.; Hyttel, P.; Knijn, H.M. Effects of in vivo prematuration and in vivo final maturation on developmental capacity and quality of preimplantation embryos. *Theriogenology*, v. 57, p. 5-20, 2002.

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.

Elliff, F.M.; Rezende, R.G.; Carneiro, T.O.; Barreto, A.E.N.P.; Reis, E.L.; Consentini, C.E.C.; Belli, R.S.; Baruselli, P.S. Efeito do tempo de permanência (7 vs 8 dias) de diferentes dispositivos intravaginais de progesterone (Primer® Monodose ou multidose) na taxa de concepção de vacas Holandesas. *Animal Reproduction*. p. 76. 2017.

Fair, T.; Hyttel, P.; Greve, T. Bovine oocyte diameter in relation to maturational competence and transcriptional activity. *Mol Reprod Dev*, v. 42, p. 437-442, 1995.

Ferreira, R.M.; Ayres, H.; Chiaratti, M.R.; Ferraz, M.L.; Araújo, A.B.; Rodrigues, C.A.; Watanabe, Y.F.; Vireque, A.A.; Joaquim, D.C.; Smith, L.C.; Meirelles, F.V.; Baruselli, P.S. The low fertility of repeat-breeder cows during summer heat stress is related to a low oocyte competence to develop into blastocysts. *Journal of Dairy Science*, v. 94, n. 5, p. 2383-2392, 2011.

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.

Gonçales Júnior, W.A.; Colli, M.H.A.; Catussi, B.L.C.; Rezende, R.G.; Adrea, D.L.; Castro, M.W.; Freitas, B.G.; Guerreiro, B.M.; Baruselli, P.S. Efeito do tratamento com progesterona njetável no início da ressincronização superprecoce na taxa de prenhez a IATF de novilhas Nelore. *Animal Reproduction*, Accepted, 2018.

Gong, J.G.; Baxter, G.; A.; B.T.; Webb, R. Enhancement of ovarian follicle development in heifers by treatment with recombinant bovine somatotrophin: a dose-response study. *J. Reprod. Fertil*, v. 110, p. 91–97, 1997.

Goodhand, K.L.; Watt, R.G.; Staines, M.E.; Hutchinson, J.S.M.; Broadbent, P.J. In vivo oocyte recovery and in vitro embryo production from bovine donors aspirated at different frequencies or following FSH treatment. *Theriogenology*, v. 51, p. 951–961, 1998.

Hagemann, L.J.; Beaumont, S.E.; Berg, M.; Donnison, M.J.; Ledgard, A.; Peterson, A.J. Development during single IVP of bovine oocytes from dissected follicles: interactive effects of estrous cycle stage, follicle size and atresia. *Mol Reprod Dev*, v. 53, p. 451–458, 1999.

Hasler, J.F.; Bilby, C.R.; Collier, R.J.; Denham, S.C.; Lucy, M.C. Effect of recombinant bovine somatotropin on superovulatory response and recipient pregnancy rates in a commercial embryo transfer program. *Theriogenology*, v. 59, I.9, p. 1919–1928, 2003.

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.

Hendriksen, P.J.; Steenweg, W.N.; Harkema, J.C.; Merton, J.S.; Bevers, M.M.; Vos, P.L. Effect of different stages of the follicular wave on in vitro developmental competence of bovine oocytes. *Theriogenology*, v. 61, p. 909-920, 2004.

Izadyar, F.; Colenbrander, B.; Bevers, M.M. In vitro maturation of bovine oocytes in the presence of growth hormone accelerates nuclear maturation and promotes subsequent embryonic development. *Mol. Reprod. Dev.*, v. 45, p. 372–377, 1995.

Kauffold, J.; Amer, H.A.H.; Bergfeld, U.; Webber, W.; Sobiraj, A. The in vitro developmental competence of oocytes from juvenile calves is related to follicular diameter. *Journal of Reproduction and Development*, v. 51, n.3, p. 325-332, 2005.

Keyon, A.G.; Mendonça, L.G.D.; Lopes, G. Jr.; Lima, J.R.; Santos, J.E.P.; Chebel, R.C. Minimal progesterone concentration required for embryo survival after embryo transfer in lactating Holstein cows. *Animal Reproduction Science*, v. 136, p. 223-230, 2013.

Kuzmina, T.I.; Alm, H.; Denisenko, V.; Tuchscherer, A.; Kanitz, W.; Torner, H. Effect of Recombinant Bovine Somatotropin (rbST) on Cytoplasmic Maturation of Bovine Oocytes and Their Developmental Competence In Vitro. *J. Reprod. Dev.*, v. 53, p. 309–316, 2006.

Lima, F.A.; Veras, M.B.; Sales, J.N.S.; Crepaldi, G.A.; Maio, J.R.G.; Baruselli, P.S. Adequação da dose de gnrh em vacas holandesas de alta produção submetidas a sincronização da ovulação com os protocolos ovsynch ou heatsynch. Abstract. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 35, n. 3, 2007.

Lonergan, P.; Monaghan, P.; Rizos, D.; Boland, M.P.; Gordon, I. Effect of follicle size on bovine oocyte quality and developmental competence following maturation, fertilization, and culture in vitro. *Mol Reprod Dev*, v. 37, p. 48-53, 1994.

Lonergan, P. Influence of progesterone on oocyte quality and embryo development in cows. *Theriogenology*, v. 76, n. 9, p. 1594–1601, 2011.

Lucy, M.C. Regulation of Ovarian Follicular Growth by Somatotropin and Insulin-Like Growth Factors in Cattle. *Journal of Dairy Science*, v. 83, p. 1635-1647, 2000.

Majerus, V.; Roover, R. De.; Etienne, D.; Kaidi, S.; Massip, A.; Dessy, F.; Donnay, I. Embryo Production by Ovum Pick Up in Unstimulated Calves Before and After Puberty. *Theriogenology*, 1999.

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 PGF2 α / progesterone-based synchronization protocols, *Animal Reproduction*, v. 7, p. 91–96, 2010.

Martins, C.M., Reis, P.O., Sales, J.N.S., Sala, R.V., Vireira, L.M., Baruselli, P.S. Effect of follicular growth wave synchronization and treatment with bST or eCG in the OPU-IVP of Nelore, Brangus and Holstein donos. *Animal Reproduction*. v.9, n.3, p.563, Jul./Sept. 2012.

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.

Metzger, J.; Chebel, R.C. Factors affecting success of embryo collection and transfer in large dairy cows. *Theriogenology*, v. 69, p. 98-106, 2008.

Meneghetti, M.; Sá 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.

Monteiro, F.M.; Ferreira, M.M.G.; Potiens, J.R.; Eberhardt, B.G.; Trinca, L.A.; Barros, C.M. Influence of superovulatory protocols on in vitro production of Nellore (*Bos indicus*) embryos. *Reprod Domest Anim*, v. 4, p. 1–5, 2009.

Moreira, F.; Orlandi, C.; Risco, C.A.; Mattos, R.; Lopes, F.; Thatcher, W.W. Effects of Presynchronization and Bovine Somatotropin on Pregnancy Rates to a Timed Artificial Insemination Protocol in Lactating Dairy Cows. *J. Dairy Sci.*, v. 84, p. 1646–1659, 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.

Nogueira, E.; Rodrigues, W.B.; Silva, A.S.; Borges, J.C.; Silva, K.C.; Anache, N.A.; Bezerra, A.O.; Leão, B.C.S.; Rocha-Frigoni, N.A.S.; Mingoti, G.Z. Aplicação de GnRH em vacas com baixa ou sem expressão de estro avaliadas com bastões marcadores aumenta a taxa de prenhez em vacas de corte submetidas à IATF. *Animal Reproduction*, Accepted, 2016.

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.

Pavlok, A.; Lucas-Hahn, A.; Niemann, H. Fertilization and developmental competence of bovine oocytes derived from different categories of antral follicles. *Mol Reprod Dev*, v. 31, p. 63-67, 1992.

Pavlok, A.; Koutecka, L.; Krejci, P.; Slavik, T.; Cerman, J.; Slaba, J.; Dorn, D. Effect of recombinant bovine somatotropin on follicular growth and quality of oocytes in cattle. *Animal Reproduction Science*, v.41, p. 183-192, 1996.

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.

Pugliesi, G.; Rezende, R.G.; Da Silva, J.C.B.; Lopes, E.; Nishimura, T.K.; Baruselli, P.S.; Madureira, E.H.; Binelli, M. Uso da ultrassonografia Doppler em programas de IATF e TETF em bovinos. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 41, n. 1, p. 140-150, 2017.

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.

Rasmussen, S.; Block, J.; Seidel Jr, G.E.; Brink, Z.; McSweeney, K.; Farin, P.W.; Bonilla, L.; Hansen, P.J. Pregnancy rates of lactating cows after transfer of in vitro produced embryos using X-sorted sperm. *Theriogenology*, v. 79, n. 3, p. 453-461, 2013.

Reis P.O.; Martins, C.M.; Gimenes, L.U.; Sales, J.N.S.; Baruselli, P.S. Effect of synchronization of the follicular wave emergence on OPU-IVP of Nelore (*Bos indicus*) and Brangus (*Bos taurus* x *Bos indicus*). *Acta Sci Vet*, v. 38, p. 385, 2010.

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.

Rodrigues, C.A.; Teixeira, A.A.; Ferreira, R.M.; Ayres, H.; Mancilha, R.F.; Souza, A.H.; Baruselli, P.S. Effect of fixed-time embryo transfer on reproductive efficiency in high-producing repeat-breeder Holstein cows. *Animal Reproduction Science*, v. 118, p.110-117, 2010.

Rodrigues, C.A.; Ferreira, R.M.; Vieira, L.M.; Ranieri, A.L.; Péricles, R.L. Silva; Baruselli, P.S. How FTAI and FTET impact reproductive efficiency of brazilian dairy herds. Abstract. *Acta Science Veterinariae*, v. 39, n. 1, 2011.

Rodrigues, M.C.C.; Bonotto, A.L.M.; Acosta, D.A.V.; Boligon, A.A.; Correa, M.N.; Brauner, C.C. Effect of oestrous synchrony between embryo donors and recipients, embryo quality and state on the pregnancy rate in beef cattle. *Reproduction of Domestic Animals*, v. 53, p. 152-156, 2018.

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.

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.; 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., Marques, M. O.; Giroto, 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.

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.

Sendag, S.; Cetin, Y.; Alan, M.; Haderler, K.G.; Niemann, H. Effects of eCG and FSH on ovarian response, recovery rate and number and quality of oocytes obtained by ovum pick-up in Holstein cows. *Anim. Reprod. Sci.*, v. 106, p. 208-214, 2008.

Sirard, M.A. Follicle environment and quality of in vitro matured oocytes. *J Assist Reprod Genet*, v. 28, p. 483-488, 2011.

Sirard, M.A. Factors affecting oocyte and embryo transcriptomes. *Reprod Domest Anim*, v. 47, p; 148-155, 2012.

Sirard, M.A.; Richard, F.; Blondin, P.; Robert, C. Contribution of the oocyte to embryo quality. *Theriogenology*, v. 65, p. 126-136, 2006.

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.

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.

Taneja, M.; Bols, P.E.J.; Velde, A.; Van De, J.; 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 Gonadotropin Stimulation 1. *Biol. Reprod*, v. 62, p. 206–213, 2000.

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.

Vieira, L.M.; Rodrigues, C.A.; Mendanha, M.F.; Sá Filho, M.F.; Sales, J.N.S.; Souza, A.H.; Santos, J.E.P.; Baruselli, P.S. Donor category and seasonal climate associated with embryo production and survival in multiple ovulation and embryo transfer programs in Holstein cattle. *Theriogenology*, v. 82, n. 2, p. 204-212, 2014.

Vieira L.M.; Rodrigues, C.A.; Castro Netto, A.; Guerreiro, B.M.; Silveira, C.R.A.; Moreira, R.J.C; Sá Filho, M.F.; Bó, G.A.; Mapletoft, R.J.; Baruselli, P.S. Superstimulation prior to the ovum pick-up to improve in vitro embryo production in lactating and non-lactating Holstein cows. *Theriogenology*, v. 82, p. 318-324, 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.

Wang, H.; Wu, M.; Patt, D.; Murphy, B.D.; Mapletoft, R.J. Superovulation in beef heifers with PMSG: effect of dose and monoclonal antibodies to PMSG. *Theriogenology*, v. 29, p. 322, 1988.

Zhou, J.; Bievre, M.; Bondy, C. A. Reduced GLUT1 expression in Igf1^{-/-} null oocytes and follicles. Growth hormone & IGF research : official journal of the Growth Hormone Research Society and the International IGF Research Society, v. 10, n. 3, p. 111–7, 2000.



8° SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE
REPRODUÇÃO ANIMAL
APLICADA