# **ALESSANDRA AMBRÓSIO TEIXEIRA**

Impacto da inseminação artificial em tempo fixo na eficiência reprodutiva de vacas de leite de alta produção

> São Paulo 2010

# ALESSANDRA AMBRÓSIO TEIXEIRA

# Impacto da inseminação artificial em tempo fixo na eficiência reprodutiva de vacas de leite de alta produção

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de mestre em Ciências

## **Departamento:**

Reprodução Animal

#### Área de concentração:

Reprodução Animal

#### **Orientador:**

Prof. Dr. Pietro Sampaio Baruselli

São Paulo 2010 Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

#### DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

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

T.2285 FMVZ Teixeira, Alessandra Ambrósio

Impacto da inseminação artificial em tempo fixo na eficiência reprodutiva de vacas de leite de alta produção / Alessandra Ambrósio Teixeira. -- 2010. 60 f.: il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Reprodução Animal, São Paulo, 2010.

Programa de Pós-Graduação: Reprodução Animal. Área de concentração: Reprodução Animal.

Orientador: Prof. Dr. Pietro Sampaio Baruselli.

1. Vacas Holandesas. 2. IATF. 3. Eficiência reprodutiva. 4. Sincronização. 5. Perda gestacional. I. Título.

# UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO





# FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

## CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Impacto da inseminação artificial em tempo fixo na eficiência reprodutiva de vacas de leite de alta produção", protocolado sob o nº1572/2008, utilizando 480 (quatrocentos e oitenta) vacas, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Pietro Sampaio Baruselli, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 18/03/09.

(We certify that the Research "Impact of fixed-time artificial insemination on reproductive efficiency of high-producing dairy cows", protocol number 1572/2008, utilizing 480 (four hundred eighty) cows, under the responsibility Prof. Dr. Pietro Sampaio Baruselli, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the School of Veterinary Medicine and Zootechny of University of São Paulo and in the meeting of day 03/18/09).

São Paulo, 20 de março de 2009

Prof. Dr. José Luis Bernardino Merusse Presidente da Comissão de Bioética

FMVZ/USP



## FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: TEIXEIRA, Alessandra Ambrósio Título: Impacto da inseminação artificial em tempo fixo na eficiência reprodutiva de vacas de leite de alta produção Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, para a obtenção do título de Mestre em Ciências Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_ Banca Examinadora Prof. Dr. Instituição: Assinatura: Julgamento: Prof. Dr.\_\_\_\_ Instituição: \_\_\_\_\_ Assinatura: Julgamento: Prof. Dr.\_\_\_\_ Instituição: Assinatura: \_\_\_\_ Julgamento:

# À Deus

Aos meus queridos pais, Antonio Carlos Teixeira e Dalva Ap. Ambrósio Teixeira, pelo amor, entusiasmo e apoio, principalmente, nas decisões mais difíceis,

À minha irmã, Ana Claudia Teixeira, por ser minha melhor amiga e companheira em todos os momentos,

À minha avó Maria Michelin (in memoriam) por ser meu exemplo de força, amor e disposição,

Ao meu namorado, Rafael Santos de Oliveira, por me apoiar, amar, compreender e me encorajar a seguir.

Dedico

# Agradeço

"Devo agradecer primeiramente à Deus, que me fez seguir pelo caminho certo e me cercou de pessoas amigas e queridas. Agradeço também à todos que contribuíram para minha formação pessoal e profissional e que de alguma forma colaboraram para que esse trabalho fosse finalizado. Muito obrigada!"

Aos meus queridos pais que suportam minhas idas e vindas nas estradas. À minha mãe que acorda de madrugada para me ver sair e ora muito por mim. Ao meu pai pelo apoio moral e financeiro ("paitrocínio"), e por ser um exemplo de perseverança e força. Pai e Mãe, esse trabalho tem muito de vocês!

À minha irmã Ana Claudia (Zézita) por confiar em mim, e apoiar minhas decisões e atitudes permanecendo SEMPRE ao meu lado (até as últimas horas antes de entregar essa dissertação). Irmã, eu te amo!

Ao meu namorado, amigo e companheiro Rafael, por ser muito paciente, carinhoso e amoroso nas horas mais difíceis.

Ao Prof. Pietro Baruselli, exemplo de profissionalismo, dedicação e amor naquilo que faz. Parte de minha carreira se deve aos exemplos e conselhos valiosos que me passou. Obrigada Prof. pela orientação, paciência e encorajamento.

Ao meu grande amigo Carlos Alberto Rodrigues (Carlão), pois sem ele hoje eu não estaria aqui. Obrigada por ter acreditado em mim e no meu trabalho!

Às queridas Harumi, Thaís, Alice e Dona Sílvia por todo apoio durante esse tempo aqui no VRA e também pelos maravilhosos momentos de descontração na hora do café.

Aos meus grandes amigos José Nélio e Gabriel Crepaldi, que me ensinaram a trabalhar com as vacas Nelore e tornaram os dias no VRA mais alegres. Zé, muito obrigada por ter paciência e me ajudar com a estatística. Gabriel, agradeço toda ajuda e companheirismo nos experimentos.

Aos amigos: Henderson, pela valiosa ajuda em muitos momentos, pela disposição e simpatia. Obrigada por muito me ajudar na análise do meu mestrado. Aos amigos Manoel, Lindsay e Roberta pelos momentos de risos e também por me apoiarem neste trabalho.

À todos do departamento: Marcílio, Paulo (Tarzan), Bruno, Pricila, Lilian (Lili), Marina, Júlia, Marianas, Zeca, Camilas, Cristina (Cris), Adriano, Renata, Everton, Eduardo, Rodrigo, Fernanda, Márcia (Marcinha), Gisele, Weber e todos que sempre estiveram presente, principalmente nos churrascos do VRA e fizeram parte da minha história aqui.

À todos da fazenda Santa Rita - Agrindus, em especial, ao Roberto Hugo Jank por ter disponibilizado a estrutura e os animais para que este estudo pudesse acontecer; Beco, Thiago, Laércio, Joel e Tulina que tanto me ajudaram. Obrigada pelo companheirismo, pelo enorme apoio durante os experimentos realizados na fazenda. Com certeza, sem vocês esse trabalho não teria acontecido.

Aos queridos companheiros de fazenda: Péricles (Naim), Andressa (Xuxu), Laís (Kokota). Obrigada por serem 100%. À todos os estagiários que passaram pela Agrindus e que de alguma forma contribuíram para a realização dessa dissertação.

À Universidade de São Paulo por ter me acolhido nessa etapa fundamental da minha carreira.

À CAPES pelo apoio financeiro durante a fase do mestrado.

E por fim, porém não menos importante, agradeço às minhas companheiras vacas de leite. Obrigada por participarem desse estudo, pelo convívio e por terem muita paciência em todos os momentos de manejo (principalmente de madrugada quando por diversas vezes as retirei dos lotes). Devo respeito e desculpas a vocês.

À todos vocês o meu muito obrigada!

#### **RESUMO**

TEIXEIRA, A. A. Impacto da inseminação artificial em tempo fixo na eficiência reprodutiva de vacas de leite de alta produção. [Impact of fixed time artificial insemination on reproductive efficiency of high-producing dairy cows]. 2010. 69 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

O presente experimento foi realizado com o objetivo de avaliar o impacto da inseminação artificial em tempo fixo (IATF) na eficiência reprodutiva de vacas de leite de alta produção inseminadas no período pós-parto. Vacas Holandesas com média de 50 dias pós-parto foram distribuídas homogeneamente em um de dois grupos experimentais, levando em consideração a presença ou ausência de corpo lúteo (CL), o escore de condição corporal e a produção de leite. No grupo Controle (G-Controle; n = 490), as vacas foram submetidas à observação do comportamento de aceitação de monta (duas vezes ao dia por uma hora) e inseminadas 12 horas após a primeira detecção. No grupo IATF (G-IATF; n = 495), as vacas receberam um implante auricular de norgestomet, mantido por oito dias, e 2 mg de benzoato de estradiol IM no dia 0 (D0; dia aleatório do ciclo estral). No momento da retirada do implante (D8) foram administrados 150 μg de prostaglandina F2α, 400 UI de gonadotrofina coriônica equina e 1 mg de cipionato de estradiol. A IATF foi realizada de 54 a 56 h após a retirada do implante auricular, concomitante à administração de 100 µg de gonadorelina. Após a IATF, as vacas foram submetidas à observação de cio com subsequente inseminação, seguindo os mesmos critérios descritos para o G-Controle. Amostras de sangue foram colhidas de um subgrupo de animais (G-Controle, n = 50; G-IATF, n = 58) 5 e 11 dias após a primeira inseminação artificial (IA) para dosagem de progesterona (P4) circulante. Todos os animais foram mantidos no experimento até a terceira IA ou 150 dias após o parto e os tratamentos foram realizados no inverno e no verão. O diagnóstico de gestação foi realizado aos 30 dias pós-IA por ultrassonografía e aos 60 dias pós-IA por palpação transretal. Os dados binomiais foram analisados por regressão logística utilizando o PROC GLIMMIX e as variáveis contínuas por ANOVA utilizando PROC GLM do SAS. Não se verificou interação entre estação do ano e tratamento na análise das taxas de concepção, perda gestacional, intervalo entre IAs, intervalo parto-concepção (IPC) e taxa de prenhez aos 150 dias pós-parto. Os resultados são indicativos de que não existem diferenças nas taxas de concepção entre os diferentes grupos após as IAs (primeira, segunda e terceira). A perda gestacional relativa à primeira IA foi maior nas vacas do G-IATF. Os intervalos parto-primeira IA, parto-segunda IA e parto-concepção foram inferiores para as vacas do G-IATF. Entretanto, o intervalo entre a primeira e a segunda IA foi

maior para o G-IATF. Não houve diferença na taxa de prenhez aos 150 dias entre os grupos. Ainda, a taxa de serviço (TS) nos primeiros 21 dias após o período voluntário de espera (PVE) foi maior para o grupo IATF. Entretanto, a TS entre 21 e 42 dias após o PVE foi maior para o G-Controle. As concentrações circulantes de P4 não diferiram entre os grupos e as estações do ano. Concluiu-se que o emprego da IATF 60 dias pós-parto foi eficiente para diminuir o IPC. Contudo, a porcentagem de vacas prenhes aos 150 pós-parto foi semelhante entre os dois tratamentos (Controle e IATF).

Palavras-chave: Vacas Holandesas. IATF. Eficiência reprodutiva. Sincronização. Perda gestacional.

#### **ABSTRACT**

TEIXEIRA, A. A. Impact of fixed time artificial insemination on reproductive efficiency of high-producing dairy cows. [Impacto da inseminação artificial em tempo fixo na eficiência reprodutiva de vacas de leite de alta produção]. 2010. 69 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

The aim of the present study was evaluate the impact of fixed-time artificial insemination (FTAI) on reproductive efficiency of high-producing dairy cows inseminated during the postpartum period. Holstein cows with average 50 days in milk were allocated to one of two groups considering the presence or absence of corpus luteum (CL), body condition score and milk production. On Control group (Control-G; n = 490), the cows were submitted to estrus detection twice per day for one h and were inseminated 12 hours after the first detection. On FTAI group (FTAI-G; n = 495), the cows received a norgestomet ear implant (kept for eight days) plus administration of 2 mg of estradiol benzoate i.m. on Day 0 (random day of the estrous cycle). The implant was removed on Day 8 followed by FTAI 54 to 56 h later and the administration of 100 µg of gonadorelin. On Day 8, cows received 400 IU eCG, 150 µg of prostaglandin F2α and 1 mg of estradiol cypionate. After FTAI, cows were submitted to estrus detection and artificial insemination (AI) 12 h after. Blood samples were collected from a subset of animals (Control-G, n = 50; FTAI-G, n = 58) on Day 5 and 11 after the first AI to investigate serum progesterone concentration (P4). All animals were maintained on the experiment until 150 days post-partum and the treatments were conducted during the winter and summer. Pregnancy diagnosis was performed by ultrasonography 30 days after AI (Day 30) and by rectal palpation 60 days after AI (Day 60). Binomial data were analyzed by logistic regression using the PROC GLIMMIX and continuous variables by ANOVA using PROC GLM of SAS. No interaction was found between season and treatment when conception rate, pregnancy loss, interval between inseminations, interval from calving to conception and pregnancy rate 150 post-partum were analysed. The results indicate no differences on conception rate among both experimental groups after AI (first, second and third). However, the interval from calving to first and second AI and interval from calving to conception were lower on FTAI-G. No difference on pregnancy rate 150 days post-partum was found among groups. Pregnancy loss after first AI was greater on FTAI-G. The interval from calving to first AI, from calving to second AI and the interval from calving to conception were shorter on FTAI-G. However, the interval between first and second AI was longer on FTAI-G. There was no difference on pregnancy rate 150 days post-partum among treatments. Also, the service rate (SR) 21 days after the voluntary waiting period (VWP) was greater on FTAI-G compared to Control-G. Conversely, the SR was lower between 21 and 42 days after the VWP on FTAI-G. No difference was found in serum concentration of P4 among treatment groups and season. Thus, the use of FTAI 60 days post-partum was efficient to anticipate the conception of high-producing dairy cattle by reducing the interval from calving to conception, but did not increase the pregnancy rate 150 days post-partum.

Keywords: Holstein cows. FTAI. Reproductive efficiency. Synchronization. Pregnancy loss.

# LISTA DE FIGURAS

Figura 1-	Delineamento experimental	.35
Figura 2 -	Probabilidade de prenhez acumulada aos 150 dias pós-parto em função	dos
	dias em lactação em vacas leiteiras de alta produção	43
Figura 3-	Concentração plasmática de progesterona (média ± erro padrão da média)	em
	vacas Holandesas em lactação submetidas a protocolos para IATF	ou
	observadas em cio	.46

# LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Taxa de concepção aos 30 e 60 dias e perda gestacional na primeira, segunda e
	terceira inseminação artificial (IA), e intervalos entre o parto e as inseminações
	de vacas Holandesas inseminadas em tempo fixo ou após a observação de
	estro
Tabela 2 -	Intervalos entre a primeira e a segunda inseminação, entre a segunda e a
	terceira inseminação, entre o parto e a concepção e a taxa de prenhez aos 150
	dias após o parto de vacas Holandesas inseminadas em tempo fixo ou após a
	observação de estro
Tabela 3 -	Taxa de concepção aos 30 e 60 dias e perda gestacional na primeira, segunda e
	terceira inseminação artificial (IA), e intervalos entre o parto e as inseminações
	de vacas Holandesas inseminadas em tempo fixo ou após a observação de estro
	(dados combinados)42
Tabela 4 -	Intervalos entre a primeira e a segunda inseminação, entre a segunda e a
	terceira inseminação, entre o parto e a concepção e a taxa de prenhez aos 150
	dias após o parto de vacas Holandesas inseminadas em tempo fixo ou após a
	observação de estro (dados combinados)
Tabela 5 -	Taxa de serviço de acordo com o período pós-parto de vacas Holandesas
	inseminadas após a observação de estro ou em tempo fixo (dados
	combinados)
Tabela 6 -	Concentração plasmática de progesterona (ng/mL), nos dias 5 e 11 após a
140014 0	primeira inseminação pós-parto, de vacas Holandesas de alta produção
	inseminadas em tempo fixo ou após a observação de estro
Tabela 7 -	,
Tabela / -	Concentração plasmática de progesterona (ng/mL), nos dias 5 e 11 após a
	primeira inseminação pós-parto, de vacas Holandesas de alta produção
	inseminadas em tempo fixo ou após a observação de estro (dados
	combinados)
Tabela 8 -	Efeitos dos tratamentos e da paridade e suas interações na taxa de concepção e
	na perda gestacional à primeira, segunda e terceira IA, e intervalos entre o parto
	e as inseminações de vacas Holandesas inseminadas em tempo fixo (IATF) ou após
	a observação de estro (Controle) durante o inverno e o verão

Tabela 9 -	Efeitos dos tratamentos e da paridade e suas interações no intervalo entre a
	primeira e a segunda IA, intervalo entre a segunda e a terceira IA, intervalo
	parto/concepção e a taxa de prenhez aos 150 dias após o parto de vacas
	Holandesas inseminadas em tempo fixo (IATF) ou após a observação de estro
	(Controle) durante o inverno e o verão
Tabela 10 -	Efeito da paridade, da estação e interação entre estação x paridade na taxa de
	concepção e na perda gestacional à primeira, segunda e terceira IA, e intervalos
	entre o parto e as inseminações de vacas Holandesas inseminadas em tempo
	fixo (IATF) ou após a observação de estro (Controle) durante o inverno e o
	verão
Tabela 11 -	Efeito da paridade, da estação e interação entre estação x paridade no intervalo
	entre a primeira e a segunda IA, intervalo entre a segunda e a terceira IA,
	intervalo parto/concepção e a taxa de prenhez aos 150 dias após o parto de
	vacas Holandesas inseminadas em tempo fixo (IATF) ou após a observação de
	estro (Controle) durante o inverno e o verão

#### LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

17β-estradiol 17 - beta - estradiol

BEN balanço energético negativo

CE cipionato de estradiol

CL corpo lúteo

D dia dia

DEL dias em lactação

ECC escore de condição corporal

ECP cipionato de estradiol

E2 estradiol

eCG gonodotrofina coriônica equina

FSH hormônio folículo estimulante

g giros

GnRH hormônio liberador de gonadotrofina

h horas

IA inseminação artificial

IATF inseminação artificial em tempo fixo

IGF-1 fator de crescimento semelhante à insulina 1

Kg kilograma

LH hormônio luteinizante

mg miligramas
MHz mega hertz

n número de amostras

NRC Nutrient requirements of dairy cattle

P nível de significância

P4 progesterona

PGF2α prostaglandina

SAS sistema de análise estatística

USP Universidade de São Paulo

VE valerato de estradiol

vs versus

# LISTA DE SÍMBOLOS

®	marca registrada
%	porcentagem
α	letra grega alfa
β	letra grega beta
τ	letra grega tau
<	menor que
=	igual
>	maior que
±	mais ou menos
~	aproximadamente

# SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	HIPÓTESES	19
3	OBJETIVOS	20
4	REVISÃO DE LITERATURA	21
4.1	FISIOLOGIA DO PÓS-PARTO E EFICIÊNCIA REPRODUTIVA DE VACAS	DE
	LEITE	21
4.2	EXPRESSÃO E DETECÇÃO DE ESTRO	23
4.3	CONTROLE FARMACOLÓGICO DO CICLO ESTRAL DE FÊMEAS BOVINAS	24
4.3.1	Tratamento com PGF2α para indução de cio	25
4.3.2	Associação de GnRH e Prostaglandina (Ovsynch) para IATF	26
4.3.3	Associação de progesterona e estradiol para IATF	28
4.4	GONADOTROFINA CORIÔNICA EQUINA	30
4.4.1	Os efeitos da eCG no corpo lúteo	31
4.4.2	O uso da gonadotrofina coriônica equina (eCG) em programas reprodutivos p	ara
	bovinos	32
5	MATERIAL E MÉTODOS	33
5.1	ANIMAIS E MANEJO	33
5.2	HORMÔNIOS UTILIZADOS	33
5.3	GRUPOS EXPERIMENTAIS E TRATAMENTOS	34
5.4	DOSAGEM HORMONAL	35
5.5	AVALIAÇÕES ULTRASSONOGRÁFICAS	36
5.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA	36
6	RESULTADOS	38
6.1	EFEITO DOS TRATAMENTOS DURANTE O INVERNO E O VERÃO	38
6.2	EFEITO DA IATF E DA IA COM DETECÇÃO DE CIO NA EFICIÊN	CIA
	REPRODUTIVA	41
6.3	CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE PROGESTERONA APÓS	A
	INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL	45
6.4	EFEITO DA PARIDADE NA EFICIÊNCIA REPRODUTIVA	47
7	DISCUSSÃO	52
8	CONCLUSÃO	57
REF	ERÊNCIAS	59

# 1 INTRODUÇÃO

A eficiência reprodutiva de rebanhos leiteiros está diretamente relacionada ao retorno da ciclicidade no período pós-parto, ao intervalo entre o parto e a primeira inseminação e ao intervalo parto-concepção (IPC). Entretanto, o aumento da produção de leite tem sido associado à redução da eficiência reprodutiva de vacas leiteiras (SARTORI et al., 2002; WASHBURN et al., 2002; LOPEZ et al., 2004). Alguns estudos são indicativos de que existe efeito negativo da produção de leite na intensidade e na duração do estro, dificultando a observação dos sinais comportamentais de cio o que aumenta as falhas de detecção de cio (HARRISON et al., 1990; LOPEZ et al., 2004; LÓPEZ-GATIUS et al., 2005; YÁNIZ et al., 2006; CUTULLIC et al., 2009).

Com o intuito de aumentar as taxas de serviço (TS), foram desenvolvidos programas hormonais de sincronização que utilizam prostaglandina F2α (PGF2α;revisado por ODDE, 1990). Posteriormente, Pursley et al. (1995) desenvolveram um protocolo chamado Ovsynch que permite a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) com a combinação de PGF2α e GnRH. Atualmente, os protocolos de IATF empregam dispositivos ou implantes contendo progesterona ou progestágenos associados a tratamentos com estradiol (E2) para sincronizar a emergência de uma nova onda de crescimento folicular e posterior ovulação para realização da IATF (BÓ et al., 1995a). Porém, mesmo com o uso desses protocolos hormonais, as taxas de concepção (TC) de vacas de leite continuam baixas, principalmente no verão. López-Gatius et al. (2003) verificaram declínio na taxa de concepção de vacas de leite durante o período de estresse térmico. No inverno, a fertilidade foi preservada, bem como as chances de desordens reprodutivas. No Brasil, Rodrigues et al. (2007) analisaram as taxas de concepção de vacas Holandesas em lactação ao longo dos meses do ano. Esses pesquisadores verificaram que vacas submetidas à inseminação artificial (IA) nos períodos de estresse térmico (Janeiro a Abril) apresentaram menor eficiência reprodutiva.

Vacas de leite de alta produção têm como característica o elevado consumo de matéria seca que provoca alterações nos parâmetros metabólicos (WILTBANK et al., 2006). Esse fato está associado à subfertilidade e pode estar associado às altas taxas de metabolismo dos esteróides no figado (SANGSRITAVONG et al., 2002). Como consequência, esses animais apresentam menores níveis circulantes de estradiol e progesterona (P4) quando comparados a animais não lactantes (SARTORI et al., 2002) e animais de baixa produção (LOPEZ et al.,

2004). Existem relatos que indicam que a menor concentração de P4 circulante após a ovulação tem impacto negativo no estabelecimento da gestação (MANN; HARESIGN, 2001). Sendo assim, uma alternativa para minimizar esse efeito seria induzir o aumento de produção de progesterona pelo corpo lúteo (CL) após a ovulação para minimizar a elevada taxa de metabolização desse hormônio pelo figado em vacas de leite de alta produção. Deste modo, alguns pesquisadores tem utilizado Gonadtrofina Coriônica equina (eCG; 400 UI) na retirada do dispositivo de progesterona para estimular o crescimento final do folículo e a capacidade esteroidogênica do CL em vacas de corte (BARUSELLI et al., 2004). Foi verificado que animais tratados com eCG apresentaram maiores concentrações sanguíneas de P4 no diestro posterior a IATF. Ainda, diversos estudos relataram aumento na taxa de concepção em vacas e novilhas de corte que receberam eCG na retirada da fonte de progesterona (BARUSELLI et al., 2003; SÁ FILHO et al., 2004; PENTEADO et al., 2005), principalmente em animais em anestro e de baixa condição corporal (BARUSELLI et al., 2004). Em vacas de leite, Souza et al. (2009) verificaram aumento da concentração circulante de P4 e da taxa de concepção de vacas Holandesas com menor escore de condição corporal (ECC) tratadas com 400 UI de eCG na retirada do dispositivo intravaginal de progesterona.

A melhora na eficiência reprodutiva de vacas de leite de alta produção é fundamental para o sucesso econômico de fazendas comerciais. Propriedades que utilizam a observação visual de cio podem apresentar baixas taxas de serviço por falhas na detecção do estro. Assim, a utilização de protocolos de sincronização da ovulação poderia aumentar a taxa de serviço e antecipar a primeira inseminação artificial no período pós-parto, sem comprometer a taxa de concepção, proporcionando menor intervalo parto-concepção independentemente da época do ano.

# 2 HIPÓTESES

A utilização do protocolo de sincronização da ovulação para IATF antecipa a primeira inseminação no período pós-parto sem comprometer a taxa de concepção em vacas de leite de alta produção. Ainda, o grupo submetido à IATF apresentará menor intervalo parto-concepção independentemente da época do ano.

#### **3 OBJETIVOS**

O presente estudo teve por objetivos avaliar em vacas Holandesas de alta produção inseminadas em tempo fixo ou após a observação de cio:

- a taxa de concepção;
- o intervalo parto/inseminação, parto/concepção e a porcentagem de animais prenhes aos 150 pós parto;
  - a concentração de progesterona no diestro subsequente a IA.
  - o efeito da época do ano (verão e inverno) nas variáveis supracitadas.

#### 4 REVISÃO DE LITERATURA

# 4.1 FISIOLOGIA DO PÓS-PARTO E EFICIÊNCIA REPRODUTIVA DE VACAS DE LEITE

Vacas de leite têm a retomada da ciclicidade ao redor de 33,3 ± 2,1 dias após o parto (WILTBANK et al., 2002). Durante o puerpério, o útero involui e o eixo hipotálamo-hipófise-ovários desencadeia a secreção de gonadotrofinas e de hormônios gonadais levando à emergência de ondas foliculares e consequentemente à primeira ovulação. Em puerpérios normais, esses eventos acontecem em até seis semanas e, 90% das vacas têm a primeira ovulação nesse período (PETER; BOSU, 1986). Contudo, atualmente observa-se um aumento de três semanas no intervalo entre o parto e a primeira ovulação em vacas de leite (AMBROSE; COLAZO, 2007). Neste sentido, Petersson et al. (2006) verificaram que o atraso na atividade ovariana é a principal disfunção, ocorrendo em 16% das lactações. As vacas com essa característica apresentam em média 17 e 22 dias a mais no intervalo entre o parto e o primeiro serviço e entre o parto e a concepção, respectivamente (PETERSSON et al., 2006).

O balanço energético negativo (BEN) afeta negativamente a ciclicidade durante as primeiras semanas após o parto (BUTLER et al., 2003). Nesse período, os requerimentos nutricionais aumentam rapidamente conforme a produção de leite se eleva e, a maioria das vacas entra em estado negativo de balanço energético. As vacas com BEN desviam da função reprodutiva, os nutrientes necessários para adequada ciclicidade (LEROY et al., 2008), e consequentemente apresentam limitações no número de folículos e no crescimento/diâmetro do folículo dominante, diminuição na expressão de estro e menores concentrações plasmáticas de progesterona. Nesses animais, ocorre redução da freqüência de pulsos de LH e supressão das concentrações plasmáticas de glicose, insulina e fator de crescimento do tipo I (IGF-I), os quais reduzem a produção de estrógeno pelo folículo dominante (BUTLER, 2000) diminuindo as taxas de ovulação. Além disso, o atraso entre o parto e a recuperação do balanço energético apresenta correlação positiva com o intervalo parto-primeira ovulação (ZUREK et al., 1995). Sendo assim, há evidências indiretas de que a insulina, o IGF-I e a leptina, individualmente ou

em sinergia, estão envolvidos na estimulação da secreção de GnRH-LH durante a recuperação do BEN (LIEFERS et al., 2005).

Outra causa de atraso na ciclicidade no período pós-parto são as infecções uterinas clínicas e subclínicas que comumente impedem a fertilização e a sobrevivência embrionária. Porém, as infecções uterinas não causam infertilidade somente quando estão instaladas, mas resultam em subfertilidade após o tratamento clínico. Alguns estudos verificaram que as taxas de concepção diminuem 20% em vacas tratadas para endometrite e 3% dos animais que apresentaram a infecção permanecem inférteis (BORSBERRY; DOBSON, 1989; LEBLANC et al., 2002). Ainda, Fourichon et al. (2000) observaram que vacas com retenção de placenta tiveram uma taxa de prenhez 16% mais baixa que vacas sem retenção de placenta Assim, vacas com involução uterina comprometida, apresentam atraso na retomada da atividade ovariana sendo afetada negativamente pelas respostas inflamatórias (SHELDON; DOBSON, 2004; HERATH et al., 2006; WILLIAMS et al., 2007).

Outro fator importante são as condições anovulatórias que ocorrem nesse período. No ciclo estral há três pontos críticos responsáveis pelo bloqueio do desenvolvimento folicular e da ovulação. Geralmente, o anestro está envolvido com a nutrição inadequada, a lactação e a alta produção. Em casos de desnutrição severa corre o crescimento folicular, porém o folículo não chega à fase do desvio. Em outro ponto, a desnutrição e a amamentação estão relacionadas com os folículos que alcançam o desvio, entretanto não atingem o diâmetro ovulatório. E por último, em vacas de alta produção é comum observar o crescimento de folículos acima do diâmetro ovulatório e consequentemente a formação dos cistos foliculares (WILTBANK et al., 2002).

Todos esses fatores que interferem na retomada da ciclicidade no período pós-parto estão diretamente relacionados com a eficiência reprodutiva e esta se constitui em um dos fatores que mais influencia no sucesso econômico da fazenda. Para se obter bom desempenho produtivo e reprodutivo é necessário diminuir o intervalo entre partos (IEP) do rebanho e antecipar a concepção no maior número de animais. Para conseguir o intervalo entre partos de um ano, é necessário tornar a vaca gestante com aproximadamente 85 dias após o parto. Adicionalmente, Esslemont et al. (2001) mostraram que o custo de um dia de uma vaca vazia é de aproximadamente £1,73 (U\$2,49) até £6,52 (U\$9,39) dependendo dos gastos com a produção e o período pós-parto em que o atraso ocorreu. Outro fator que aumenta os prejuízos econômicos são as perdas gestacionais que vacas de leite de alta produção apresentam. Thurmond et al. (1990) estimaram que em fazendas leiteiras cada perda gestacional resulta em prejuízo de U\$ 640,00 para o produtor.

## 4.2 EXPRESSÃO E DETECÇÃO DE ESTRO

A luteólise provoca a diminuição nas concentrações sangüíneas de P4, e conforme o folículo dominante cresce, a concentração de estradiol aumenta. Esses eventos são responsáveis pelo comportamento de cio e pelo pico pré-ovulatório de GnRH/LH (MOENTER et al., 1990) seguido de ovulação 28 a 32 horas após. Diversos estudos verificaram que existe alta associação entre a concentração sanguínea de estradiol e as manifestações comportamentais de cio (ALLRICH et al., 1994; LYIMO et al., 2000). A expressão do estro é caracterizada por imobilidade durante a monta, comportamento homossexual, descarga de muco vaginal, mugidos frequentes, intensa movimentação, aumento na frequência de micção, entre outros sinais. Contudo, essas características são influenciadas por uma série de fatores, entre os principais: idade (DE SILVA et al., 1981), condições ambientais (WHITE et al., 2002) e fatores sociais como hierarquia. O estresse (ambiental e manejo) afeta a amplitude e a frequência dos pulsos de GnRH e LH e provoca atraso no pico pré-ovulatório de LH, com consequente redução na expressão do estro e na incidência de ovulação (DOBSON; SMITH, 2000). Além disso, a duração e a intensidade do estro em bovinos leiteiros estão diretamente relacionadas à categoria dos animais (novilha ou vaca lactante) e ao nível de produção leiteira.

Alguns estudos utilizaram um sistema de radiotelemetria (HeatWatch®) para monitorar continuamente a aceitação de monta por um período de 24 horas por dia. Nebel et al. (1997) avaliaram as características de estro de novilhas e vacas lactantes da raça Holandesa e Jersey e verificaram que as novilhas aceitaram mais montas por estro do que as vacas (Holandesa: 17 vs 7 aceites de monta; Jersey: 30 vs 10 aceites de monta novilhas e vacas, respectivamente). Além disso, as novilhas apresentaram maior duração de estro (Holandesa: 11 vs 7 horas; Jersey: 14 vs 8 horas novilhas e vacas, respectivamente). Ainda, foi observado que vacas multíparas, tanto da raça Holandesa quanto da Jersey, aceitaram mais montas por estro no inverno do que no verão (Holandesa: 9 vs 4,5; Jersey: 12 vs 5 inverno e verão, respectivamente). Adicionalmente, Lopez et al. (2004) avaliaram a duração do estro em vacas de leite lactantes e relataram que vacas com produção de leite entre 25 e 30 Kg/dia apresentaram estro com duração de 15 horas, enquanto que, animais com produção entre 50 e 55kg/dia apresentaram cio por apenas 3 horas. Nesse mesmo estudo, eles verificaram que as vacas de alta produção ovularam folículos maiores, porém apresentaram menores

concentrações circulantes de 17β-estradiol provavelmente devido ao alto metabolismo de estrógenos em vacas de leite de alta produção. Essa categoria animal requer plano nutricional contínuo para suprir necessidades de produção e esse fato eleva o fluxo sanguíneo hepático aumentando a taxa de metabolismo de esteróides (SANGSRITAVONG et al., 2002).

Os fatores que interferem na expressão do cio contribuem para as falhas na sua detecção sendo esta, a principal causa da menor eficiência reprodutiva de rebanhos de alta produção. Estima-se que a taxa de detecção de cio em vacas de leite é menor que 50% (SENGER, 1994) contribuindo diretamente para o aumento no IPC, no IEP e na diminuição das taxas de prenhez (LARSON et al., 1992) de rebanhos leiteiros. Harrison et al. (1989) relataram aumento no intervalo entre o parto e a demonstração do primeiro estro (76,9  $\pm$  7,5 dias vs 46,8  $\pm$  4,6 dias) em vacas em lactação com maior produção comparada as vacas de menor produção, respectivamente. Em contraste, Van Eerdenburg et al. (2002) não observou relação entre produção de leite (~7800 kg por 305 dias) e comportamento de estro de vacas Holandesas (n=64).

Assim, com intuito de minimizar a baixa eficiência reprodutiva de vacas de leite de alta produção devido aos problemas que interferem na observação de cio, diversos tratamentos hormonais têm sido empregados para controlar o desenvolvimento folicular, a regressão do CL e a ovulação sem a necessidade de detecção de estro.

### 4.3 CONTROLE FARMACOLÓGICO DO CICLO ESTRAL DE FÊMEAS BOVINAS

Um grande avanço no manejo reprodutivo que permitiu melhorar as taxas de prenhez foi o desenvolvimento de programas de inseminação artificial em tempo fixo (IATF). A IATF tem com base sistemas de controle do desenvolvimento de folículos ovarianos, indução da ovulação e formação de corpo lúteo (CL) capaz de manter a prenhez sem a necessidade da detecção de estro e maximizando a taxa de serviço. As estratégias para controlar a ovulação consistem em provocar a luteólise com PGF2α, inibir a ovulação com progesterona, induzir a emergência da onda folicular e o desenvolvimento de um folículo dominante e sincronizar a ovulação.

#### 4.3.1 Tratamento com PGF2α para indução de cio

A prostaglandina é uma substância luteolítica empregada em rebanhos bovinos para induzir a regressão do corpo lúteo (CL) e consequentemente um estro fértil de 3 a 5 dias após o tratamento (INSKEEP, 1973). A PGF2α e seus análogos têm sido empregados para induzir ou sincronizar o cio e são utilizados unicamente ou em associação com outros hormônios (XU et al., 1997; DISKIN et al., 2002; TAPONEN et al., 2002; THATCHER et al., 2002; YANIZ et al., 2004).

Os tratamentos que visam a sincronização de estro utilizando prostaglandinas baseiam-se no controle da fase progesterônica do ciclo estral. O sucesso do tratamento dependente da presença de um CL, já que a ação da luteolisina é provocar a regressão morfológica e funcional dessa estrutura (RATHBONE et al., 2001) e consequentemente a queda dos níveis endógenos de progesterona. Porém, a resposta à administração de PGF2α é influenciada pela maturidade do CL. O CL maduro possui um sistema de retroalimentação positiva que resulta na produção intraluteínica de prostaglandina possibilitando a continuidade do processo luteolítico iniciado por uma única aplicação exógena de PGF2α (WILTBANK, 1997; OKUDA et al., 2002). Tratamentos realizados até o dia 5 do ciclo estral (CL não maduro) não induzem efetivamente a luteólise (REFSAL; SEGUIN, 1980; PARFET et al., 1989).

Após a luteólise, o estro e a ovulação são distribuídos ao longo de seis dias e são influenciados não apenas pela responsividade do CL, mas também pelo estágio de desenvolvimento do folículo dominante (KASTELIC; GINTHER, 1991). Kastelic, Knopf e Ginther (1990) constataram que, quando o tratamento com PGF2α é realizado no quinto dia do ciclo estral - momento em que o folículo dominante da primeira onda ainda está em fase de crescimento - o intervalo entre a aplicação e a ovulação é de 3 dias. No entanto, se o tratamento é realizado no décimo segundo dia do ciclo estral - quando o folículo dominante da segunda onda encontra-se no início da fase de crescimento - a ovulação ocorre 4,5 dias após a aplicação. As fêmeas bovinas tratadas no oitavo dia do ciclo estral freqüentemente apresentam ovulação do folículo dominante da primeira onda folicular 2 dias após a aplicação de PGF2α. Entretanto, ocasionalmente pode ocorrer a ovulação do segundo folículo dominante seis dias após o tratamento. Ainda, em estudo realizado por Cairoli et al. (2006), a maioria das vacas (95%) tratadas com análogo sintético da prostaglandina demonstrou cio entre o terceiro e o quinto dia após o tratamento, com a maior freqüência ocorrendo no quarto dia (57%).

Entretanto, Pursley et al. (1997) verificaram que a administração de PGF2α não resultou em sincronização estro/ovulação eficiente provavelmente devido ao tratamento com o fármaco em diferentes momentos do desenvolvimento folicular ao longo do ciclo estral (KASTELIC et al., 1990). Então, devido às variações na resposta ao tratamento com PGF2α foram desenvolvidos protocolos com duas aplicações seqüenciais, com intervalos de 11 a 14 dias com o intuito de melhorar a eficiência da sincronização do cio (JACKSON et al., 1979).

Esses dados mostram que o sucesso da administração de PGF2α para sincronização de cio depende da presença de um CL funcional e que mesmo assim, observa-se que o estro e a ovulação não são precisamente sincronizados devido às variações do estágio de desenvolvimento folicular no momento da regressão do corpo lúteo. Assim, torna-se necessário o emprego de métodos que controlem o desenvolvimento luteínico e folicular para sincronizar o crescimento dos folículos e a ovulação.

#### 4.3.2 Associação de GnRH e Prostaglandina (Ovsynch) para IATF

A habilidade em controlar o momento da ovulação seguido por desenvolvimento folicular e regressão do CL permite a inseminação artificial em tempo fixo. Tendo em vista esses conceitos, Pursley et al. (1995) desenvolveram um protocolo hormonal chamado Ovsynch que permite a IATF após o uso de uma combinação de tratamentos com GnRH e PGF2α (GnRH - 7 dias - PGF2α - 2 dias - GnRH - 16 horas - IATF). Esse programa sincroniza a maturação folicular e a luteólise antes de induzir a ovulação para a inseminação artificial. Entretanto, observa-se redução na taxa de prenhez quando o protocolo é iniciado em determinadas fases do ciclo estral (VASCONCELOS et al., 1999; MOREIRA et al., 2000a,b). As taxas de concepção de vacas submetidas ao Ovsynch são prejudicadas quando o protocolo é iniciado entre os dias 13 e 17 do ciclo estral devido à luteólise espontânea antes da administração de PGF2a. Isso provoca dessincronização na maioria das vacas tratadas que ovulam antes do programado. Da mesma forma, no início do ciclo estral (de 2 a 4 dias), o folículo dominante recrutado não está suficientemente desenvolvido e capaz de responder a administração da primeira dose de GnRH. Consequentemente, o folículo dominante no momento do segundo tratamento com GnRH estará envelhecido e terá expressado a dominância por cinco ou mais dias sendo considerado subfértil (AUSTIN et al., 1999). Ainda,

alguns falham em ovular em resposta ao indutor de ovulação (segundo GnRH; MOREIRA et al., 2000a).

A ovulação no protocolo Ovsynch e momento ideal de inseminar são 28 horas e 16 horas após o segundo tratamento com GnRH, respectivamente. Caso as vacas ovulem mais tarde, podemos esperar redução de até 10% na taxa de concepção, bem como aumento nas perdas gestacionais. O tempo de vida do oócito após a ovulação é muito curto. Assim, no momento da ovulação, os espermatozóides precisam estar preparados para a fertilização no oviduto. Nesse sentido, é pior atrasar do que antecipar uma inseminação nos programas de IA seja na inseminação com detecção de estro ou através de Ovsynch. Alguns estudos avaliaram o atraso de 48 h para 56 h na aplicação do segundo GnRH após a administração da PGF2α e relataram aumentos nas taxas de concepção (BRUNSVEEN et al., 2006; VERAS et al., 2007). Estes pesquisadores argumentaram que o aumento na concepção pode estar relacionado com o maior diâmetro do folículo ovulatório, a melhora na taxa de ovulação, maiores concentrações de estradiol no pró-estro e de progesterona no diestro. Contudo, Souza (2008) utilizando essa mesma estratégia não observou tal efeito, provavelmente devido ao intervalo inseminaçãoovulação. O grupo que foi submetido ao atraso para 56 h apresentou intervalo inseminaçãoovulação de apenas 8h sendo que, segundo uma pesquisa anterior esse intervalo deve ser de 12 a 15 h (DRANSFIELD et al., 1998).

Outro ponto a ser considerado é que o GnRH induz eficientemente a emergência de uma nova onda folicular caso ocorra a ovulação após a administração do primeiro GnRH. Entretanto, o sucesso dos programas para IATF que utilizam o Ovsynch depende das vacas estarem cíclicas (MOREIRA et al., 2001). Nesse estudo, foi verificado que animais em anestro apresentaram menores taxas de prenhez no tratamento com Ovsynch quando comparados aos animais cíclicos no início do tratamento (22 vs 42%, respectivamente). Quando se utiliza programas de sincronização da ovulação uma das características observadas é que as vacas tratadas ovulam o folículo dominante da 1ª onda de crescimento folicular. Esses animais não tiveram exposição prévia à progesterona, e desenvolveram o folículo ovulatório sob baixas concentrações de progesterona (in press)¹. O desenvolvimento do folículo ovulatório sob baixa concentrações de progesterona afeta a composição do líquido folicular (CERRI et al., 2008a, 2008b), aumenta a responsividade do endométrio para liberação de PGF2α, o que acaba aumentando o risco de ciclos curtos (CERRI et al., 2008a, 2008b), e altera a qualidade embrionária (RIVERA et al., 2009). Eventualmente, a

\_

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> BISINOTTO, R. S.; CHEBEL, R. C.; SANTOS, J. E. P. Follicular wave of the ovulatory follicle and not cyclic status influences fertility of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, in press, 2010.

inseminação de vacas cujo folículo ovulatório é o da 1ª onda de crescimento folicular, reduz a probabilidade de prenhez (in press)<sup>2</sup>.

Adicionalmente, com o intuito de avaliar a eficiência reprodutiva do Ovsynch, Tenhagen et al. (2004) realizaram um estudo comparativo entre o protocolo e a detecção de estro seguida de inseminação artificial em dois rebanhos leiteiros comerciais. O Ovsynch reduziu o intervalo ao primeiro serviço após o parto, dias em aberto e o descarte de animais por infertilidade no rebanho com baixa detecção de estro. Porém, a taxa de concepção ao primeiro serviço foi maior nos animais inseminados após a detecção de estro do que os submetidos ao protocolo em ambos os rebanhos.

Estratégias têm sido adotadas para minimizar porcentagem de vacas com respostas divergentes ao protocolo Ovsynch. A mais utilizada consiste na pré-sincronização com a administração de duas doses de PGF2α com intervalo de 14 dias entre os tratamentos (MOREIRA et al., 2001) e início do Ovsynch de 11 a 14 dias após a segunda aplicação de prostaglandina. Porém, a maior desvantagem é o tempo necessário para iniciar o protocolo para IATF e o número de manejos necessários. Então, diante das dificuldades para o emprego desse protocolo, outros tratamentos hormonais foram desenvolvidos com o objetivo de facilitar o emprego da IATF em rebanhos leiteiros.

#### 4.3.3 Associação de progesterona e estradiol para IATF

A ação da progesterona na sincronização do ciclo estral em bovinos tem sido relatada há décadas (LAMOND, 1964; GORDON, 1976). Esse hormônio tem sido utilizado por períodos prolongados desde os anos 60, com o intuito de permitir a regressão espontânea do CL e consequentemente a sincronização do estro entre 2 e 4 dias após a remoção da fonte de progesterona/progestágeno (RATHBONE et al., 2001). Os longos tratamentos (14 a 21 dias) são efetivos para sincronizar o estro, no entanto a fertilidade dessa ovulação é reduzida (HANSEL et al., 1961; WILTBANK et al., 1965), uma vez que induz-se a ovulação de folículos persistentes (ODDE, 1990) contendo oócitos envelhecidos (REVAH; BUTLER, 1996).

\_

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> BISINOTTO, R. S.; CHEBEL, R. C.; SANTOS, J. E. P. Follicular wave of the ovulatory follicle and not cyclic status influences fertility of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, in press, 2010.

O estradiol foi originalmente incorporado aos programas de sincronização de estro utilizando P4, com o objetivo de causar a lise do CL (FANNING et al., 1992). Porém, relatos posteriores demonstraram que a progesterona associada ao estradiol foi responsável pela regressão dos folículos em crescimento e sincronia de uma nova onda folicular (BÓ et al., 1993, 1994, 1995a; CACCIA; BÓ, 1998). Normalmente, o estradiol é utilizado no início dos protocolos hormonais e, dependendo da sua meia-vida e da dose utilizada, pode apresentar efeito luteolítico e alterar a dinâmica folicular, suprimindo o folículo dominante e causando a emergência de uma nova onda de crescimento folicular (WHITE et al., 1996). Ainda, na ausência de progesterona, uma injeção de estradiol pode gerar a liberação de GnRH/LH e causar a ovulação do folículo dominante (MOENTER et al., 1990).

Existem diferentes ésteres de estradiol: 17β-Estradiol, Benzoato de estradiol (BE), Valerato de estradiol (VE) e Cipionato de Estradiol (CE). O VE (BÓ et al., 1995b) e o CE (COLAZO et al., 2003), na presença de P4, causam a regressão dos folículos antrais presentes no ovário, no entanto a meia vida longa desses ésteres, pela baixa solubilidade em água, leva ao atraso e a dispersão do dia de emergência da onda de crescimento folicular. Já o benzoato de estradiol (SÁ FILHO et al., 2004) e o 17β-estradiol (BÓ et al., 1995b) apresentam meia vida mais curta e induzem emergência sincronizada de nova onda desenvolvimento folicular. Os tratamentos de sincronização da ovulação para IATF consistem em administrar 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo intravaginal de P4 (Dia 0), retirada do dispositivo (Dias 7, 8 ou 9) e administração de PGF2α no Dia 7 ou momento da retirada do implante e 1 mg de BE 24 horas mais tarde (MACMILLAN; BURKE, 1996). Em contraste com diversos relatos que recomendam a sincronização da ovulação com injeção de BE 24 h após a remoção do dispositivo (MARTINEZ et al., 2002, 2005; BARUSELLI et al., 2004b; BÓ et al., 2002) outros estudiosos demonstraram a possibilidade de utilizar o cipionato de estradiol no momento da retirada da fonte de progesterona/progestágeno objetivando minimizar o número de manejos (COLAZO et al., 2003; MARQUES et al., 2004; PENTEADO et al., 2005; AYRES et al., 2006) e obter taxas de prenhez similares ao benzoato de estradiol (MARQUES et al., 2004; PENTEADO et al., 2005; AYRES et al., 2006). Além disso, o CE semelhantemente ao BE promove a sincronização da ovulação aproximadamente 70 h após a remoção do dispositivo (MARTINS et al., 2005; REIS et al., 2004).

Os protocolos que utilizam cipionato de estradiol em associação a tratamentos com GnRH e PGF2α são denominados Heatsynch (PANCARCI et al., 2002). A terminologia "heat" significa estro em inglês uma vez que, maior proporção de vacas tratadas com CE apresentou sinais de cio do que as fêmeas tratadas com GnRH. De maneira similar, os ésteres

de estradiol são utilizados no final de tratamentos hormonais que utilizam dispositivos intravaginais de progesterona ou implantes auriculares contendo progesterona e progestágeno, respectivamente (COLAZO et al., 2003). Muitos pesquisadores têm demonstrado bons resultados com o uso do CE no final dos tratamentos hormonais (HANLON et al., 1996; BARUSELLI et al., 2003; COLAZO et al., 2003; SÁ FILHO et al., 2004; PENTEADO et al., 2005).

Assim, muitas evidências indicam que, independente do tipo de protocolo de sincronização da ovulação utilizado, existe a possibilidade de melhorar as taxas de concepção após a suplementação com estrógenos no período periovulatório.

# 4.4 GONADOTROFINA CORIÔNICA EQUINA

O primeiro relato da existência de uma substância de ação gonadotrófica presente no soro de éguas prenhes foi feito por Cole e Hart (1930). Esses estudiosos injetaram o soro das éguas em camundongos em diferentes estágios de gestação e ratos imaturos e relataram desenvolvimento ovariano (COLE; HART, 1930). Posteriormente, Allen e Moor (1972) observaram que este hormônio era produzido pela parte materna da placenta de éguas e denominaram a glicoproteína de gonadotrofina coriônica eqüina (eCG). Estes mesmos autores descobriram que a eCG é produzida pelas células trofoblásticas presentes nos cálices endometriais de éguas prenhes. A gonadotrofina coriônica eqüina é composta por duas subunidades (α e β) e tem ação de LH e FSH na mesma molécula (GOSPODAROWICS, 1972; LEGARDINIER et al., 2005). Em equinos, o pico de liberação da eCG ocorre por volta dos 60 dias de prenhez, no entanto o aumento da sua liberação inicia-se ao redor de 40 dias permanecendo até 130 dias de gestação (MURPHY; MARTINUK, 1991).

A eCG causa ovulação ou luteinização de folículos, com consequente aumento da P4 circulante em equinos (URWIN; ALLEN, 1982). Porém, as quantidades de ácido siálico podem variar bastante de equino para equino conforme o estágio de gestação e de acordo com o tecido no qual foi coletada a molécula de eCG (MURPHY; MARTINUK, 1991). Ainda, a quantidade de eCG circulante varia conforme a raça do animal, a idade e de acordo com a presença de gestações gemelares. Por exemplo, animais de tração possuem níveis circulantes de eCG menores que animais com menor peso corporal (MURPHY; MARTINUK, 1991). A eCG é uma molécula que possuí grande quantidade de carboidratos (aproximadamente 45%

de sua massa) principalmente a N-acetil neuramina (ou ácido siálico), primordialmente presente na subunidade  $\beta$  da molécula de eCG, o que proporciona uma grande meia vida a este composto químico (WARD; MOORE, 1979; MURPHY; MARTINUK, 1991). Outro fator que colabora para longa meia vida da eCG é o fato da molécula ter carga elétrica negativa, o que dificulta a sua filtração glomerular. (LEGARDINIER et al., 2005). Assim, quando aplicada em bovinos, essa substância permanece por longo tempo na circulação (cerca de 40h; MENZER et al., 1979).

### 4.4.1 Os efeitos da eCG no corpo lúteo

A eCG parecer ter função luteotrófica em eqüinos e outras espécies (como os bovinos; SOUZA, 2008), sendo possível verificar aumentos nas concentrações circulantes de progesterona após o aumento natural ou por via de administração exógena da eCG (MURPHY; MARTINUK, 1991). Esses dados foram confirmados por Daels et al. (1998), que demonstraram a ação luteotrófica da eCG durante a gestação de éguas.

A estrutura da eCG é muito parecida com a estrutura do LH eqüino (BOUSFIELD et al., 1996). Apesar dessa similaridade, a eCG apresenta tanto função de FSH quanto de LH em eqüinos e em outras espécies (GONZALEZ-MENICO et al., 1979; WARD; MOORE, 1979). Entretanto, independente da ação luteotrófica da eCG devido a grande porcentagem de carboidratos presentes em suas moléculas e ao grande peso molecular (MURPHY; MARTINUK, 1991), quando administrada em outras espécies, pode induzir a formação de anticorpos anti-eCG entre 2 a 4 semanas após o tratamento. Isso caso o animal receba três tratamentos na dose de 200UI de eCG. Esta possibilidade de efeitos refratários após múltiplas aplicações ficou evidente em estudos realizados por Jainudeen et al. (1966). Esses autores encontraram que animais recebendo 3000UI a cada seis meses não apresentaram diminuição na resposta ovulatória após o uso da eCG comparado com os controles, porém quando esse intervalo passou para 18 a 40 dias entre as aplicações, foi verificado efeito refratário em termos de taxa de ovulação após diversos tratamentos com eCG.

# 4.4.2 O uso da gonadotrofina coriônica equina (eCG) em programas reprodutivos para bovinos

A eCG foi amplamente utilizada em protocolos para superovulação em bovinos devido sua ação de LH e FSH (GONZALES et al., 1994) e mais recentemente tem sido empregada em protocolos para IATF em vacas de corte (CAVALIERI et al., 1997) e leite (SOUZA et al., 2009). Contudo, os procedimentos superovulatórios passaram a utilizar outros compostos de gonadotrofinas, uma vez que a eCG parece estar associada a presença de folículos anovulatórios (ELSDEN et al., 1978).

Existem relatos de aumento na fertilidade após a incorporação da eCG em protocolos para IATF (BARUSELLI et al., 2004). A melhora na taxa de prenhez em animais que recebem a eCG na retirada do dispositivo intravaginal de P4, provavelmente, está relacionada ao aumento da taxa de ovulação de animais em anestro e aos maiores níveis de progesterona circulante no diestro (BARUSELLI et al., 2004). Esse fato pode estar minimizando falhas no reconhecimento fetal da gestação uma vez que, estudos verificaram associação entre o atraso no aumento de P4 no início do diestro e embriões menores com secreção de interferon-τ abaixo do ideal para inibir a luteólise. (KERBLER et al., 1997; MANN; HARESIGN, 2001).

## 5 MATERIAL E MÉTODOS

#### 5.1 ANIMAIS E MANEJO

As unidades experimentais utilizadas foram vacas Holandesas em lactação (n=985; primíparas=419 e multíparas=566). A média de condição corporal (FERGUSON et al., 1994) no inverno e no verão foi de 2,70±0,01 e 2,68±0,01, respectivamente. A produção de leite (calculada pela média diária do D-7 ao D0 em todos os animas) foi 35,8±0,44Kg/dia no inverno e 32,5±0,44 Kg/dia no verão. A média de dias em lactação no D0 (início do experimento) foi de 50 dias (variando de 47 a 53 dias). O experimento foi realizado em um rebanho leiteiro sob sistema confinado do tipo *Free-stall*, localizado no estado de São Paulo (fazenda Santa Rita – município de Descalvado). O período experimental foi durante o inverno (partos de Julho a Setembro de 2007 e 2009; n=496) e verão (partos de Dezembro a Fevereiro de 2008 e 2009; n=489). As ordenhas foram efetuadas três vezes ao dia de acordo com a rotina da fazenda. A dieta de todos os animais foi balanceada para atingir ou exceder os requerimentos nutricionais mínimos para vacas holandesas em lactação (NRC, 2001) e à base de silagem de milho e concentrado de milho e soja. Os procedimentos com os animais foram aprovados pela comissão de ética para experimentação da Universidade de São Paulo-USP.

#### 5.2 HORMÔNIOS UTILIZADOS

Implante auricular de norgestomet (Crestar<sup>®</sup>, Intervet Schering-Plough Animal Health, Nova Zelândia). Benzoato de estradiol (Gonadiol<sup>®</sup>, Intervet Schering-Plough Animal Health, Brasil). Prostaglandina F2α (Preloban<sup>®</sup>, Intervet Schering-Plough Animal Health, Brasil). Gonadotrofina Coriônica equina (Folligon<sup>®</sup>, Intervet Schering-Plough Animal Health, Brasil). Cipionato de estradiol (E.C.P.<sup>®</sup>, Pfizer Animal Health, Brasil). Hormônio liberador de gonadotrofina (Fertagyl<sup>®</sup>, Intervet Schering-Plough Animal Health, Brasil).

#### 5.3 GRUPOS EXPERIMENTAIS E TRATAMENTOS

Vacas com média de 30 dias em lactação foram palpadas para verificar a condição ovariana e uterina. Animais com involução uterina incompleta, endometrite e outros tipos de injúrias no trato reprodutivo foram descartados do experimento. As vacas foram reavaliadas entre 47 e 53 dias pós-parto (D0) e alocadas de forma equilibrada em um de dois tratamentos de acordo com o número de partos, produção média, presença de CL e o escore de condição corporal. As vacas do grupo controle (G-Controle; n=490) que apresentaram CL à palpação retal no D0, receberam 150 μg de PGF2α e foram submetidas à observação de cio duas vezes por dia por 1 h e inseminação 12 h após, associada à administração de gonadorelina (GnRH; 100 μg). Os animais do G-Controle foram observados em cio a partir de 57 dias pós-parto. As vacas não detectadas em cio foram avaliadas por palpação retal 14 dias mais tarde e de acordo com o status ovariano (presença de CL ou folículo de 10 mm) receberam uma dose de PGF2a ou GnRH, respectivamente. As fêmeas do grupo IATF (G-IATF; n=495) receberam no D0, um implante auricular de Norgestomet e benzoato de estradiol (BE; 2,0 mg). No D8, o implante foi retirado e administrado 400 UI eCG, 150 μg de PGF2α e 1 mg de cipionato de estradiol. A IATF foi realizada concomitantemente a administração de GnRH entre 54 e 56 horas após a retirada do implante. Todas as vacas do G-IATF foram inseminadas entre 57 e 63 dias pós-parto. Após a IATF, as vacas foram submetidas à observação de cio com subsequente inseminação e aquelas não detectadas em cio foram palpadas 14 dias mais tarde nas mesmas condições que o G-Controle. Todos os animais foram mantidos no experimento até a terceira inseminação ou 150 dias pós-parto, e os tratamentos foram avaliados no inverno e no verão. Além disso, amostras de sangue foram colhidas cinco e onze dias após a primeira inseminação em um subgrupo de animais (G-Controle, n=50 e G-IATF, n=58) para avaliar a concentração plasmática de P4. Os grupos de tratamentos seguiram o delineamento experimental representado na figura 1.

#### Grupo Controle (n=490) Palpação retal (PGF2α ou GnRH) Observação de cio + GnRH e IA 12 horas Período voluntário de após еѕрета 47 a 53 dias pós-parto x 60 d Parto 150d Grupo IATF (n=495) $PGF_{2\alpha}$ + **GnRH** eCG+ Palpação retal E.C.P.® +BE IATF Observação de cio + GnRH e IA 12 horas Período voluntário de Crestar® еѕрета 47 a 53 dias pós-parto x 58 d x 60 d 150d

Figura 1-Representação esquemática dos grupos experimentais

### 5.4 DOSAGEM HORMONAL

Amostras de sangue foram coletadas na veia coccígea, centrifugadas a 1600 x g por 15 minutos. Amostras de soro foram imediatamente acondicionadas em temperatura de -20°C até o momento da análise hormonal de progesterona. A P4 circulante foi avaliada utilizando kit para P4-RIA (Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA). Os valores dos coeficientes de variação (CV) intra-ensaio baixo e alto foi respectivamente, 0,59% e 1,12%.

# 5.5 AVALIAÇÕES ULTRASSONOGRÁFICAS

O diagnóstico de prenhez aos 30 dias após a IA foi efetuado por ultrassonografía (Aloka SSD 500, transdutor linear 5 MHz, Tokyo, Japão) e a confirmação aos 60 dias após a IA por palpação retal.

### 5.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada utilizando o sistema de análises estatísticas para Windows SAS (SAS, 2001). No modelo estatístico foram incluídas as variáveis explanatórias escore de condição corporal, categoria animal (prímiparas ou pluríparas), produção de leite, número de lactações além de efeito de tratamento, estação do ano e interações. As variáveis binomiais foram analisadas por regressão logística com eliminação backward (probabilidade de 0,20) pelo procedimento LOGISTIC do SAS. No modelo final foram incluídos os efeitos de tratamento, estação do ano e a variável explanatória categoria animal. Esses dados foram analisados pelo procedimento GLIMMIX do SAS. As variáveis contínuas foram testadas quanto à normalidade dos resíduos pelo procedimento UNIVARIATE e submetidos ao teste de Bartlett's para avaliar a homogeneidade das variâncias (transformados quando necessário), de tal modo que atendessem as primícias da análise de variância. Na análise desses dados foi utilizado o procedimento GLM e as médias comparadas pelo teste de Tukey. O nível de significância para rejeitar H0 (hipótese de nulidade) foi de 5%, isto é, para um nível de significância menor que 0,05, considerou-se que houve efeito das variáveis ou de suas interações. Para nível de significância entre 0,05 e 0,1 considerou-se tendência estatística entre as variáveis comparadas.

O risco da ocorrência da primeira inseminação de acordo com o intervalo pósparto foi analisado por sobrevivência multivariada utilizando a razão de risco proporcional COX obtida pela regressão PHREG no SAS (Collett; 1994). Nestes modelos COX de análise de sobrevivência a resposta é expressa através de risco de ocorrência da primeira inseminação de acordo com o intervalo pósparto entre os grupos IATF ou Controle, sendo interpretada como probabilidade de ocorrência em relação ao intervalo pósparto. No modelo Cox inicial

incluíram os efeitos de tratamento, produção de leite, escore de condição corporal, paridade, presença de corpo lúteo ao início do tratamento e interações. As variáveis explanatórias retidas no modelo Cox final incluíram somente tratamento e paridade. A média e a mediana dos dias para a primeira inseminação pósparto foram obtidas pelo modelo Kaplan-Meier utilizando o procedimento LIFETEST do SAS. A curva de sobrevivência foi gerada utilizando o programa Sigma-Plot para Windows (Version 5.0, SPSS Inc., 1999).

#### **6 RESULTADOS**

### 6.1 EFEITO DOS TRATAMENTOS DURANTE O INVERNO E O VERÃO

O presente estudo analisou a taxa de concepção de 985 vacas Holandesas inseminadas em diferentes estações do ano (inverno vs verão) de 2007 a 2009. Na tabela 1 estão apresentados os resultados das taxas de concepção aos 30 e 60 dias após a primeira, a segunda e a terceira IA, bem como as perdas gestacionais (PG) e os intervalos entre o parto e as inseminações. Não se verificou interação entre estação do ano e os tratamentos para as taxas de concepção, perda gestacional, intervalo entre inseminações, IPC e taxa de prenhez aos 150 dias pós-parto. Contudo, houve interação entre tratamento e estação do ano para os intervalos entre o parto e a segunda e a terceira inseminação. Não houve diferença (P>0,05) entre os grupos nas taxas de concepção aos 30 e 60 dias e na perda gestacional em todas as inseminações (1<sup>a</sup>, 2<sup>a</sup> e 3<sup>a</sup>). Contudo, foi verificado que as vacas do G-IATF tiveram menores (P<0,05) intervalos entre o parto e a primeira inseminação e a segunda IA que os animais do G-Controle (Tabela 1). Os resultados dos intervalos entre inseminações (1ª e 2ª IA; 2ª e 3ª IA), do intervalo parto/concepção, e da taxa de prenhez 150 dias após o parto estão apresentados na tabela 2. Os animais submetidos à sincronização da ovulação apresentaram maior intervalo (P<0,01) entre a primeira e a segunda IA quando comparados aos observados visualmente em cio (Tabela 2). Entretanto, o mesmo efeito não foi verificado (P>0,05) entre a segunda e a terceira IA. Ainda, o intervalo parto/concepção foi menor (P<0,05) para as vacas inseminadas em tempo fixo. Porém, a taxa de prenhez aos 150 dias não diferiu (P>0,05) entre os grupos experimentais (Tabela 2).

Tabela 1 - Taxa de concepção aos 30 e 60 dias e perda gestacional na primeira, segunda e terceira IA, e intervalos entre o parto e as inseminações de vacas Holandesas inseminadas em tempo fixo (IATF) ou após a observação de estro (Controle) durante o inverno e o verão

	Inve	erno	Ve	rão	_	P	_
	Controle	IATF	Controle	IATF	Trat	Est	Trat x Est
1ª IA							
Taxa de concepção aos 30 dias (%)	27,1 (65/240)	27,8 (69/248)	26,4 (60/227)	23,1 (57/247)	0,55	0,29	0,52
Taxa de concepção aos 60 dias (%)	20,8 (50/240)	18,2 (45/248)	21,6 (49/227)	17,4 (43/247)	0,13	0,71	0,89
Perda gestacional (%)	23,1 (15/65)	34,8 (24/69)	18,3 (11/60)	24,6 (14/57)	0,09	0,19	0,73
Intervalo parto/1ª IA (dias)	$77,3 \pm 1,3$	$60,5 \pm 0,1$	$79,5 \pm 1,4$	$60.8 \pm 0.2$	0,0001	0,19	0,28
2ª IA							
Taxa de concepção aos 30 dias (%)	29,9 (43/144)	27,3 (45/165)	22,3 (31/139)	25,1 (45/179)	0,92	0,07	0,39
Taxa de concepção aos 60 dias (%)	25,0 (36/144)	21,2 (35/165)	18,0 (25/139)	20,7 (37/179)	0,89	0,24	0,32
Perda gestacional (%)	16,3 (7/43)	22,2 (10/45)	19,4 (6/31)	17,8 (8/45)	0,73	0,93	0,55
Intervalo parto/2ª IA (dias)	$103,1 \pm 1,7$	$97,0 \pm 1,4$	$107,1 \pm 1,6$	$95,4 \pm 1,4$	0,001	0,46	0,04
3ª IA							
Taxa de concepção aos 30 dias (%)	36,8 (25/68)	26,4 (24/91)	32,4 (22/68)	27,1 (26/96)	0,23	0,70	0,50
Taxa de concepção aos 60 dias (%)	29,4 (20/68)	22,0 (20/91)	30,9 (21/68)	20,8 (20/96)	0,17	0,97	0,95
Perda gestacional (%)	20,0 (5/25)	16,7 (4/24)	4,6 (1/22)	23,1 (6/26)	0,43	0,90	0,77
Intervalo parto/3ª IA (dias)	$121,1 \pm 1,9$	$121,0 \pm 1,6$	$126,4\pm1,7$	$118,7\pm1,6$	0,10	0,58	0,02

Trat – efeito de tratamento; Est – efeito de estação; Trat x Est – interação entre tratamento e estação

Tabela 2 - Intervalos primeira/segunda IA, segunda/terceira IA, parto/concepção e a taxa de prenhez aos 150 dias após o parto de vacas Holandesas inseminadas em tempo fixo (IATF) ou após a observação de estro (Controle) durante o inverno e o verão

	Inverno		Ve	Verão			P		
	Controle	IATF	Controle	IATF	Trat	Est	Trat x Est		
Intervalo entre a 1ª e a 2ª IA (dias)	$31,2\pm1,2$	$38,9 \pm 1,4$	$32,8 \pm 1,2$	$36,2 \pm 1,4$	0,001	0,55	0,11		
Intervalo entre a 2ª e a 3ª IA (dias)	$29,3 \pm 1,3$	$30.9 \pm 1.2$	$28,9 \pm 1,2$	$29,6 \pm 1,1$	0,37	0,47	0,69		
Intervalo Parto/Concepção	$92,7 \pm 2,5$	$86,2 \pm 2,6$	$96,8 \pm 2,6$	$88,6 \pm 2,6$	0,005	0,21	0,73		
Taxa de prenhez aos 150 dias (%)	44,0 (109/248)	41,9 (104/248)	39,7 (96/242)	41,7 (103/247)	0,99	0,47	0,52		

Trat – efeito de tratamento; Est – efeito de estação; Trat x Est – interação entre tratamento e estação

# 6.2 EFEITO DA IATF E DA IA COM DETECÇÃO DE CIO NA EFICIÊNCIA REPRODUTIVA

De maneira inesperada, os resultados obtidos no presente experimento não apresentaram efeito de estação (verão/inverno) na taxa de concepção e na perda gestacional de vacas Holandesas. Não se verificou interação entre estação do ano e os tratamentos para as taxas de concepção, perda gestacional, intervalo entre inseminações, IPC e taxa de prenhez aos 150 dias pós-parto. Na tabela 3 estão apresentados os resultados de taxas de concepção (30 e 60 dias após IA), perda gestacional e intervalo entre o parto e as inseminações os animais inseminados em tempo fixo ou após a detecção de cio. Os dois grupos não diferiram nas taxas de concepção aos 30 e 60 dias após todas as inseminações e nas perdas gestacionais. Entretanto, o G-IATF apresentou menor intervalo parto/1ª IA e parto/2ª IA e tendência (P=0,09) de maior perda gestacional na primeira IA quando comparado ao G-Controle (Tabela 3).

Tabela 3 - Taxa de concepção aos 30 e 60 dias e perda gestacional na primeira, segunda e terceira IA, e intervalos entre o parto e as inseminações de vacas Holandesas inseminadas em tempo fixo (IATF) ou após a observação de estro (Controle)

•	•	,		P	
	Controle	IATF	Trat	Est	Trat x Est
1ª IA					
Taxa de concepção aos 30 dias (%)	26,8 (125/467)	25,5 (126/495)	0,55	0,29	0,52
Taxa de concepção aos 60 dias (%)	21,2 (99/467)	17,8 (88/495)	0,13	0,71	0,89
Perda gestacional (%)	20,8 (26/125)	30,2 (38/126)	0,09	0,19	0,73
Intervalo parto/1ª IA (dias)	78,3±0,9	60,6±0,1	0,0001	0,19	0,28
2ª IA					
Taxa de concepção aos 30 dias (%)	26,2 (74/283)	26,2 (90/344)	0,92	0,07	0,39
Taxa de concepção aos 60 dias (%)	21,6 (61/283)	20,9 (72/344)	0,89	0,24	0,32
Perda gestacional (%)	17,6 (13/74)	20,0 (18/90)	0,73	0,93	0,55
Intervalo parto/2ª IA (dias)	105,1±1,2	96,2±0,9	0,001	0,46	0,04
3ª IA					
Taxa de concepção aos 30 dias (%)	34,6 (47/136)	26,7 (50/187)	0,23	0,70	0,50
Taxa de concepção aos 60 dias (%)	30,2 (41/136)	21,4 (40/187)	0,17	0,97	0,95
Perda gestacional (%)	12,8 (6/47)	20,0 (10/50)	0,43	0,90	0,77
Intervalo parto/3ª IA (dias)	$124,1 \pm 1,3$	$119,8 \pm 1,1$	0,10	0,58	0,02

Trat – efeito de tratamento; Est – efeito de estação; Trat x Est – interação entre tratamento e estação

Os intervalos primeira/segunda IA, segunda/terceira IA, parto/concepção e a taxa de prenhez aos 150 dias pós-parto estão apresentados na tabela 4. Os resultados mostram maior intervalo (P<0,01) entre a primeira e segunda IA e menor intervalo parto/concepção (P<0,05) para o grupo IATF. Contudo, não foram observadas diferenças (P>0,10) no intervalo entre segunda e terceira IA e na taxa de prenhez aos 150 dias entre os grupos experimentais (Tabela 4).

Tabela 4 - Intervalos primeira/segunda IA, segunda/terceira IA, parto/concepção e a taxa de prenhez aos 150 dias após o parto de vacas Holandesas inseminadas em tempo fixo (IATF) ou após a observação de estro (Controle)

ooservação de estro (Controle	)			P	
	Controle	IATF	Trat	Est	Trat x Est
Intervalo entre a 1 <sup>a</sup> e a 2 <sup>a</sup> IA (dias)	$31,9 \pm 0,85$	$37,6 \pm 1,0$	0,001	0,55	0,11
Intervalo entre a 2ª e a 3ª IA (dias)	$29,1 \pm 0,9$	$30,2 \pm 0,8$	0,37	0,47	0,69
Intervalo Parto/Concepção	$94,6 \pm 1,8$	$87,4 \pm 1,8$	0,005	0,21	0,73
Taxa de prenhez aos 150 dias (%)	41,8 (205/490)	41,8 (207/495)	0,99	0,47	0,52

IA - inseminação artificial; Trat - efeito de tratamento; Est - efeito de estação; Trat x Est - interação entre tratamento e estação

A figura 2 ilustra a curva de sobrevivência para o intervalo entre o parto e a concepção nos dois grupos. Ao final do período experimental não houve diferença na taxa de prenhez (P=0,37; Figura 2).

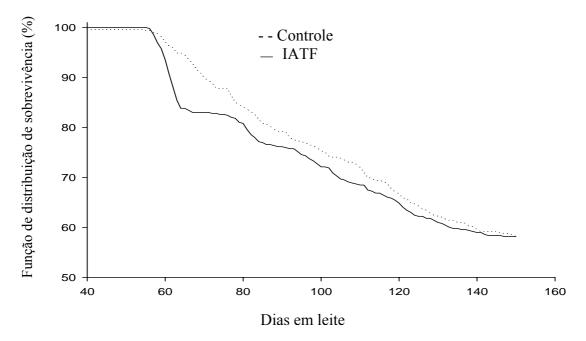


Figura 2 - Curva de sobrevivência para o intervalo parto/concepção de vacas Holandesas submetidas à sincronização da ovulação seguida de IATF e vacas submetidas à observação visual de cio até 150 dias em lactação (P = 0,37)

Na tabela 5 estão apresentados os resultados das taxas de serviço calculadas por período pós-parto. Nos 21 dias após o PVE, as vacas do grupo IATF apresentaram taxa de serviço maior que o G-Controle (P=0,001). Em contraste, entre 21 e 42 dias pós-parto o G-Controle apresentou maior taxa de concepção quando comparado ao G-IATF (P<0,05).

Tabela 5 - Taxa de serviço de acordo com o período do pós-parto de vacas Holandesas inseminadas após a observação de estro (Controle) ou em tempo fixo (IATF)

DEL	Taxa de se	Taxa de serviço (%)				
DEL	Controle	IATF	<b>—</b> P			
57 a 78	41,4 (203/490)	100 (495/495)	0,001			
79 a 100	46,1 (193/419)	29,7 (121/407)	0,001			

DEL – Dias em lactação

# 6.3 CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE PROGESTERONA APÓS A INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL

Não foi observado efeito de estação do ano e tratamento na concentração plasmática de progesterona, bem como interação estação e tratamento. Os resultados estão apresentados na tabela 6 de acordo com o período experimental (inverno e verão). Não houve diferença entre os grupos experimentais tanto no dia 5 (P=0,31) quanto no dia 11 (P=0,77; tabela 6) após a IA. Da mesma forma, quando os dados foram agrupados, não houve diferença entre G-Controle e G-IATF nos dias 5 e 11 (Tabela 7; Figura 3) após a IA.

Tabela 6 - Concentração plasmática de progesterona (ng/mL) nos dias 5 e 11 após a primeira inseminação pós-parto de vacas Holandesas inseminadas em tempo fixo (IATF) ou após a observação de estro (Controle) no inverno e no verão

	Inverno		Ve	P			
	Controle	IATF	Controle	IATF	Trat	Est	Trat x Est
Dia 5 após IA	$1,50\pm0,17$	1,53±0,30	1,42±0,26	$1,23\pm0,14$	0,31	0,59	0,55
Dia 11 após IA	3,42±0,26	3,43±0,44	3,69±0,36	3,89±0,32	0,77	0,27	0,83

P4 – progesterona; IA – inseminação artificial; Trat – efeito de tratamento; Est – efeito de estação; Trat x Est – interação entre tratamento e estação

Tabela 7 - Concentração plasmática de progesterona (ng/mL) nos dias 5 e 11 após a primeira inseminação pós-parto de vacas Holandesas inseminadas em tempo fixo (IATF) ou após a observação de estro (Controle)

	IATF (n=58)	Controle (n=50)	Trat	Est	TratxEst
Dia 5 após IA	$1,38 \pm 0,16$	$1,46 \pm 0,16$	0,31	0,59	0,55
Dia 11 após IA	$3,67 \pm 0,27$	$3,55 \pm 0,22$	0,77	0,27	0,83

P4 – progesterona; IA – inseminação artificial; Trat – efeito de tratamento; Est – efeito de estação; Trat x Est – interação entre tratamento e estação

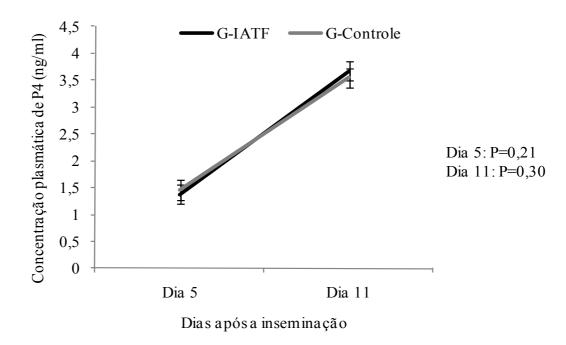


Figura 3 - Concentração plasmática de progesterona (média ± erro padrão da média) nos dias 5 e 11 após a primeira IA pós-parto de vacas Holandesas observadas em cio (n=50) ou submetidas a protocolos para IATF (n=58)

### 6.4 EFEITO DA PARIDADE NA EFICIÊNCIA REPRODUTIVA

No presente estudo foi observado efeito de paridade para algumas variáveis resposta. Os efeitos (valores de P) dos tratamentos e da paridade e suas interações na taxa de concepção e na perda gestacional à primeira, segunda e terceira IA e nos intervalos entre o parto e as inseminações estão apresentados na tabela 8. Na tabela 9 encontram-se os efeitos (valores de P) dos tratamentos, da paridade e suas interações no intervalo entre a primeira e a segunda IA, o intervalo entre a segunda e a terceira IA, o intervalo parto/concepção e a taxa de prenhez aos 150 dias após o parto.

As taxas de concepção das prímiparas aos 30 e 60 dias após a primeira e a segunda inseminação foram maiores que das multíparas (P<0,05; Tabela 10). A perda gestacional da primeira IA, bem como o intervalo parto/primeira IA foram maiores nas fêmeas multíparas quando comparadas com as primíparas (P<0,05; Tabela 10). Houve interação entre estação do ano e paridade para as variáveis perda gestacional da segunda e da terceira IA, intervalo parto/terceira IA e intervalo entre a primeira e segunda inseminação (Tabelas 10 e 11). Ainda, as primíparas apresentaram menor intervalo parto/concepção e maior taxa de prenhez aos 150 dias pós parto em relação às multíparas (P<0,05, Tabela11).

Tabela 8 - Efeitos dos tratamentos e da paridade e suas interações na taxa de concepção e na perda gestacional à primeira, segunda e terceira IA e nos intervalos entre o parto e as inseminações em vacas Holandesas inseminadas em tempo fixo (IATF) ou após a observação de estro (Controle) durante o inverno e o verão

				P			
	Trat	Est	Parid	Trat x Est	Trat x Parid	Est x Parid	Trat x Est x Parid
1ª IA							
Taxa de concepção aos 30 dias (%)	0,55	0,29	0,0008	0,52	0,54	0,50	0,50
Taxa de concepção aos 60 dias (%)	0,13	0,71	0,0001	0,89	0,16	0,61	0,94
Perda gestacional (%)	0,09	0,19	0,04	0,73	0,17	0,68	0,33
Intervalo parto/1ª IA (dias)	0,0001	0,19	0,01	0,28	0,17	0,49	0,22
2ª IA							
Taxa de concepção aos 30 dias (%)	0,92	0,07	0,002	0,39	0,59	0,68	0,20
Taxa de concepção aos 60 dias (%)	0,89	0,24	0,002	0,32	0,83	0,17	0,49
Perda gestacional (%)	0,73	0,93	0,79	0,55	0,17	0,03	0,98
Intervalo parto/2ª IA (dias)	0,001	0,46	0,13	0,04	0,54	0,27	0,47
3ª IA							
Taxa de concepção aos 30 dias (%)	0,23	0,70	0,46	0,50	0,12	0,92	0,61
Taxa de concepção aos 60 dias (%)	0,17	0,97	0,40	0,95	0,20	0,41	0,96
Perda gestacional (%)	0,43	0,90	0,49	0,77	0,61	0,05	0,98
Intervalo parto/3 <sup>a</sup> IA (dias)	0,10	0,58	0,34	0,02	0,31	0,02	0,53

Trat - efeito de tratamento; Est - efeito de estação; Parid - efeito de paridade; Trat x Parid x Est - interação entre tratamento, paridade e estação

Tabela 9 - Efeitos dos tratamentos e da paridade e suas interações no intervalo entre a primeira e a segunda IA, intervalo entre a segunda e a terceira IA, intervalo parto/concepção e a taxa de prenhez aos 150 dias após o parto em vacas Holandesas inseminadas em tempo fixo (IATF) ou após a observação de estro (Controle) durante o inverno e o verão

				P			
	Trat	Est	Parid	Trat x Est	Trat x Parid	Est x Parid	Trat x Parid x Est
Intervalo entre a 1 <sup>a</sup> e a 2 <sup>a</sup> IA (dias)	0,001	0,55	0,09	0,11	0,45	0,05	0,88
Intervalo entre a 2 <sup>a</sup> e a 3 <sup>a</sup> IA (dias)	0,37	0,47	0,70	0,69	0,68	0,73	0,11
Intervalo Parto/Concepção	0,005	0,21	0,02	0,73	0,15	0,07	0,22
Taxa de prenhez aos 150 dias (%)	0,99	0,47	0,0001	0,52	0,49	0,32	0,93

Trat – efeito de tratamento; Est – efeito de estação; Parid – efeito de paridade; Trat x Parid x Est – interação entre tratamento, paridade e estação

Tabela 10 - Efeito da paridade, da estação e interação entre estação x paridade na taxa de concepção e na perda gestacional à primeira, segunda e terceira IA, e intervalos entre o parto e as inseminações em vacas Holandesas inseminadas em tempo fixo (IATF) ou após a observação de estro (Controle) durante o inverno e o verão

	Inv	erno	Ve	rão	Р		
	Primípara	Plurípara	Primípara	Plurípara	Est	Parid	Est x Parid
1ª IA							
Taxa de concepção aos 30 dias (%)	35,1 (67/191)	22,9 (67/292)	28,6 (63/220)	21,3 (54/254)	0,29	0,0008	0,50
Taxa de concepção aos 60 dias (%)	26,7 (51/191)	15,1 (44/292)	24,1 (53/220)	15,4 (39/254)	0,71	0,0001	0,61
Perda gestacional (%)	23,9 (16/67)	34,3 (23/67)	15,9 (10/63)	27,8 (15/54)	0,19	0,04	0,68
Intervalo parto/1ª IA (dias)	67,4±0,99	69,5±1,03	69,5±1,13	69,9±1,08	0,19	0,01	0,49
2ª IA							
Taxa de concepção aos 30 dias (%)	38,6 (44/114)	22,7 (44/194)	30,1 (43/143)	18,9 (33/175)	0,07	0,002	0,68
Taxa de concepção aos 60 dias (%)	33,3 (38/114)	17,0 (33/194)	22,4 (32/143)	17,1 (30/175)	0,24	0,002	0,17
Perda gestacional (%)	13,6 (6/44)	25,0 (11/44)	25,6 (11/43)	9,1 (3/33)	0,93	0,79	0,03
Intervalo parto/2ª IA (dias)	99,4±1,80	100,1±1,45	98,6±1,68	102,1±1,45	0,46	0,13	0,27
3ª IA							
Taxa de concepção aos 30 dias (%)	29,1 (16/55)	31,7 (33/104)	30,9 (30/97)	26,9 (18/67)	0,70	0,46	0,92
Taxa de concepção aos 60 dias (%)	20,0 (11/55)	27,9 (29/104)	24,7 (24/97)	25,4 (17/67)	0,97	0,40	0,41
Perda gestacional (%)	31,3 (5/16)	12,1 (4/33)	20,0 (6/30)	5,6 (1/18)	0,90	0,49	0,05
Intervalo parto/3 <sup>a</sup> IA (dias)	122,9±1,85	120,4±1,60	119,0±1,97	123,9±1,47	0,58	0,34	0,02

Est – efeito de estação; Parid – efeito de paridade; Parid x Est – interação entre paridade e estação

Tabela 11 – Efeito da paridade, da estação e interação entre estação x paridade no intervalo entre a primeira e a segunda IA, intervalo entre a segunda e a terceira IA, intervalo parto/concepção e a taxa de prenhez aos 150 dias após o parto de vacas Holandesas inseminadas em tempo fixo (IATF) ou após a observação de estro (Controle) durante o inverno e o verão

	Inve	erno	Ve	P			
	Primípara	Primípara		Plurípara	Est	Parid	Est x Parid
Intervalo entre a 1 <sup>a</sup> e a 2 <sup>a</sup> IA (dias)	36,0±1,57	35,1±1,20	32,5±1,40	36,5±1,24	0,55	0,09	0,05
Intervalo entre a 2 <sup>a</sup> e a 3 <sup>a</sup> IA (dias)	30,1±1,49	30,2±1,12	28,8±1,30	29,7±1,06	0,47	0,70	0,73
Intervalo Parto/Concepção	87,2±2,55	91,7±2,55	88,7±2,44	96,8±2,80	0,21	0,02	0,07
Taxa de prenhez aos 150 dias (%)	53,3 (104/194)	36,2 (109/301)	46,4 (104/224)	35,9 (95/265)	0,47	0,0001	0,32

Est – efeito de estação; Parid – efeito de paridade; Parid x Est – interação entre paridade e estação

### 7 DISCUSSÃO

As taxas de concepção do presente experimento são semelhantes às obtidas em rebanhos leiteiros de alta produção inseminados artificialmente, as quais permaneceram abaixo de 40% (BUTLER, 2003). Em áreas tropicais e subtropicais, o estresse térmico é uma das principais causas de subfertilidade de vacas de leite, com taxas de concepção de 40 a 60% no inverno e de 10 a 20% no verão (WOLFENSON et al., 2000; DE RENSIS; SCARAMUZZI, 2003; RDRIGUES et al., 2007). Contudo, no presente estudo não houve efeito de estação (verão e inverno) na taxa de concepção de vacas de leite de alta produção. Resultados semelhantes foram apresentados por Lopes et al. (2007), os quais não verificaram menores taxas de concepção em vacas Holandesas em lactação durante o verão.

Grimard et al. (2006) retrataram que o atraso da primeira IA em vacas de leite de alta produção melhora a eficiência reprodutiva. Adicionalmente, outros pesquisadores observaram que a taxa de concepção à primeira IA aumenta a partir de 90 dias pós-parto (ESPINASSE et al., 1998; SEEGERS et al., 2001). Porém, no presente estudo, as vacas foram inseminadas logo após o período voluntário de espera (60 dias pós-parto) e relatou-se que as taxas de concepção após a segunda e a terceira IA mantiveram-se constantes e semelhantes à primeira inseminação em ambos os grupos. Gábor et al. (2008) verificaram melhores taxas de concepção a partir de 60 dias pós-parto, corroborando com os resultados apresentados nessa dissertação.

Não se verificou diferença na taxa de concepção de vacas Holandesas observadas em cio ou inseminadas em tempo fixo. Esses dados estão de acordo com alguns experimentos realizados previamente (STEVENSON et al., 1996; PURSLEY et al., 1997; STEVENSON et al., 1999; JOBST et al., 2000). Entretanto, outros pesquisadores observaram que vacas submetidas à IATF apresentaram menores taxas de concepção do que as inseminadas após a detecção de cio (TENHAGEN et al., 2004; NORMAN et al., 2009). Porém, pode-se pressupor que a taxa de concepção à IATF observada neste estudo foi obtida devido a utilização da eCG, pois há trabalhos que demonstram que vacas no pós-parto precoce e/ou com baixo ECC (< 3,0 na escala de 1 a 5) apresentam maiores taxas de concepção quando administra-se eCG na retirada do implante (BARUSELLI et al., 2004; RODRIGUES et al., 2004; SILVA et al., 2004; SOUZA et al., 2009).

Segundo Dailey et al. (2002), a maioria das perdas gestacionais ocorre antes dos 45 dias de gestação. Diversos autores observaram perdas gestacionais entre o primeiro (25 a 32

dias após a IA) e o segundo diagnóstico de prenhez (39 a 46 dias após a IA) de 14 a 28% (VASCONCELOS et al., 1999; CARTMILL et al., 2001a; MOREIRA et al., 2001; GÁBOR et al., 2008), enquanto que Cartmill et al. (2001b) observaram taxas de 40%. Assim, esses estudos corroboram com as taxas verificadas nesta dissertação. No presente experimento, não se verificou efeito de estação na perda gestacional. Esse resultado está de acordo com estudos anteriores (HUMBLOT, 2001; LOPES et al., 2007; SOUZA, 2008; SANTOS et al., 2009). De acordo com Santos et al. (2004), vários fatores estão associados com as perdas gestacionais, entre eles podemos citar a presença de folículos persistentes que apresentam baixa qualidade oocitária, a duração do pró-estro e da fase luteínica, concentração de progesterona no diestro após a IA, o ambiente uterino, o reconhecimento da gestação, o estresse térmico, o escore de condição corporal, a condição cíclica e afecções clínicas.

A maioria dos trabalhos científicos não verificou diferença na perda gestacional entre IA e IATF (CARTMILL et al. 2001a; CERRI et al. 2003; GÜMEN et al., 2003; CHEBEL et al., 2004; SANTOS et al., 2004). A perda gestacional dos animais do G-IATF na primeira inseminação tendeu a ser maior quando comparada ao G-Controle (Tabela 3). Apesar de todas as fêmeas terem sido avaliadas por palpação retal no início do experimento e excluídas do estudo as vacas com involução uterina incompleta e endometrites, provavelmente uma porcentagem não apresentava condição uterina adequada para manter a gestação. Ainda, as vacas do G-IATF foram inseminadas em média 60 dias pós-parto e muitas não apresentavam CL no D0 (n=280), enquanto que as fêmeas do G-Controle foram inseminadas após a observação de cio, quando já haviam restabelecido a ciclicidade. Neste sentido, Galvão et al. (2004) observaram que vacas em anestro apresentaram maior risco de perda gestacional. Ainda, em estudo anteriores, as fêmeas que se encontravam em anestro apresentaram perda gestacional numericamente maior do que as fêmeas cíclicas (SANTOS et al., 2004; in press³). Esses achados podem explicar, em parte, a tendência de aumento perda gestacional no G-IATF

Os intervalos parto/primeira IA e parto/segunda IA foram menores para as fêmeas inseminadas após a sincronização da ovulação. Neste sentido, Norman et al. (2009) analisaram os resultados em mais de 23.000 rebanhos leiteiros nos EUA entre os anos de 1995 e 2008. Os mesmos verificaram que a inseminação em tempo fixo reduziu em 18 dias o intervalo parto/primeira IA. Ainda, Tenhagen et al. (2004) em estudo comparando o protocolo Ovsynch com a inseminação após a observação de cio relataram que o protocolo

-

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup> BISINOTTO, R. S.; CHEBEL, R. C.; SANTOS, J. E. P. Follicular wave of the ovulatory follicle and not cyclic status influences fertility of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, in press, 2010.

diminuiu em 16 dias e em 44 dias o intervalo parto/primeira IA em um rebanho com alta e baixa taxa de serviço, respectivamente. Esses dados confirmam o resultado encontrado no presente experimento uma vez que, o grupo inseminado em tempo fixo apresentou menor intervalo parto/primeira IA. Outros estudos também confirmaram efeito positivo da IATF no intervalo entre o parto e a primeira inseminação (DE LA SOTA, 1998; JOBST et al., 2000). Assim, uma grande vantagem da IATF é a antecipação das inseminações no período pósparto.

O intervalo entre as duas primeiras inseminações foi maior para o G-IATF chegando próximo de completar dois ciclos estrais. Consequentemente houve também menor taxa de serviço para esse grupo entre 21 e 42 dias após o período voluntário de espera (período que as vacas vazias da IATF seriam reinseminadas). Supõe-se que uma porcentagem das vacas do G-IATF não estava apta para manter a gestação com 60 dias pós-parto. Possivelmente, essas fêmeas não responderam ao protocolo de sincronização da ovulação para IATF e não estavam ciclando por volta de 23 dias após a primeira IA, apresentando um atraso na manifestação de cio e reinseminação. No G-Controle isso não foi observado, uma vez que, as vacas foram inseminadas conforme demonstraram cio durante o período pós-parto. Outro fator que pode ter contribuído para o aumento do intervalo entre a primeira e a segunda inseminação foi devido aos animais do G-IATF terem sido inseminados nas segundas-feiras. Os diagnósticos de gestação foram feitos nas sextas-feiras com 32 dias pós-IA. Sendo assim, as vacas que estavam vazias e apresentaram CL receberam uma dose de PGF2a, e manifestaram o cio por volta de 35 dias após a primeira IA, enquanto que os animais do grupo controle foram inseminados em dias aleatórios, conforme manifestaram o cio e foram diagnosticados a partir de 28 dias após a inseminação (antecipando o tratamento com PGF2α e o retorno ao cio). Ainda, pode ter ocorrido atraso na segunda inseminação para o G-IATF devido à tendência de aumento na perda gestacional desse grupo quando comparada ao G-Controle. Há duas formas de ocorrer falhas de gestação, por problemas na fertilização e por perda gestacional. Quando o intervalo entre ciclos estrais ou entre ovulações apresenta-se maior em animais ciclando, essa característica geralmente indica mortalidade embrionária (VAN CLEEFF et al., 1991; HUMBLOT, 2001).

Com relação ao intervalo entre o parto e a concepção, esse foi significativamente menor para o grupo IATF. Isso pode ser explicado pela antecipação da primeira e da segunda inseminação pós-parto, e também, pelas taxas de concepção semelhantes entre os grupos. Sendo assim, a sincronização e a antecipação da primeira inseminação foram eficientes em diminuir o IPC. Alguns trabalhos verificaram que a proporção de animais

prenhes com menos dias em lactação foi maior em grupos submetidos à IATF (DE LA SOTA et al., 1998; TENHAGEN et al., 2004). Contudo, ao final do período do presente experimento a porcentagem de vacas prenhes foi igual nos grupos de tratamento. Esse fato pode ser explicado pela alta taxa de serviço na propriedade. Tenhagen et al. (2004) obteve resultados parecidos no estudo que avaliou a eficiência reprodutiva em diferentes rebanhos. Em ambos, a IATF foi superior considerando somente o desempenho reprodutivo. Entretanto, ao final do experimento, no rebanho com alta taxa de serviço, o grupo submetido ao Ovsynch apresentou mesma porcentagem de animais prenhes que o grupo inseminado após observação de cio. O mesmo não ocorreu no rebanho com baixa taxa de serviço, sendo que o Ovsynch foi superior durante todo o estudo (TENHAGEN et al., 2004).

A detecção de estro ineficiente limita o sucesso econômico de fazendas comerciais de leite, por diminuir drasticamente a eficiência reprodutiva. Quanto maior o número de vacas em lactação no rebanho, maior a dificuldade de observação do cio, levando a perdas econômicas devido à diminuição de vacas gestantes e o aumento do intervalo entre partos. A utilização de protocolos de sincronização da ovulação para IATF elimina a necessidade de detecção de cio, e aumenta as taxas de serviço. Neste sentido, alguns estudos mostraram que a IATF aumentou o número de animais inseminados em relação aos observados em cio (DE LA SOTA et al., 1998; TENHAGEN et al., 2004). Da mesma forma, o presente estudo verificou maior taxa de serviço nos 21 dias após o período voluntário de espera para o G-IATF comparado ao G-Controle. Porém, devido ao maior intervalo entre a primeira e a segunda inseminação no G-IATF, a taxa de serviço foi menor no período entre 21 e 42 dias após o PVE.

As concentrações plasmáticas de P4 não diferiram entre os grupos nos diferentes momentos de coleta. Entretanto, sabe-se que os protocolos para IATF induzem precocemente a ovulação do folículo que ovula com menor diâmetro (VASCONCELOS et al., 1999; COLAZO et al., 2003; MUSSARD et al., 2007). Assim, pode-se pressupor que fêmeas sincronizadas ovulam um folículo menor, formando um corpo lúteo de menor diâmetro com reduzida capacidade esteroidogênica comparadas àquelas observadas em cio. Porém, a possível explicação de não ter diferença nas concentrações plasmáticas de P4 seria de que o uso da eCG no momento da retirada do implante auricular poderia ter estimulado o crescimento folicular e a capacidade do CL de produzir P4 devido sua ação de FSH e LH prolongada. Neste sentido, Souza et al. 2009 verificaram maiores concentrações circulantes de progesterona em alguns momentos do diestro subsequente ao protocolo de sincronização da ovulação em vacas de leite tratadas com eCG.

No presente estudo foi observado efeito de paridade para algumas variáveis respostas. Alguns estudos demonstraram que vacas primíparas apresentam maiores taxas de concepção aos 30 e 60 dias pós IA quando comparadas às vacas pluríparas (TENHAGEN et al., 2001; 2004; SANTOS et al., 2009). Segundo Santos et al. (2009), maiores taxas de concepção 60 dias após a IA em primíparas se devem, em parte, à menor perda gestacional nessa categoria animal. Esses resultados corroboram com os verificados na presente dissertação.

Apesar de alguns estudos verificarem intervalos mais longos em primíparas quando comparadas com pluríparas (WATHES et al., 2007; MEIKLE et al., 2004), no presente experimento primíparas apresentaram menor intervalo parto/concepção quando comparadas as vacas pluríparas. Weller et al. (1985) observaram resultados semelhantes e que este variava de acordo com a produção de leite. Ansari-Lari et al. (in press<sup>4</sup>) não verificaram efeito de paridade no IEP, dias em aberto e parto/primeira IA. Entretanto, as primíparas apresentaram menor serviço por concepção.

\_

<sup>&</sup>lt;sup>4</sup> ANSARI-LARI, M.; KAFI, M.; SOKHTANLO, M.; AHMADI, H. N. Reproductive performance of Holstein dairy cows in Iran. **Tropical Animal Health and Production**, 2010 in press (DOI 10.1007/s11250-010-9561-y).

### 8 CONCLUSÃO

As hipóteses iniciais do presente estudo foram parcialmente comprovadas.

As vacas submetidas à IATF na primeira inseminação apresentaram antecipação do intervalo parto/concepção.

Ainda, o G-IATF obteve taxas de concepção semelhantes ao grupo observado em cio e os intervalos parto/primeira IA e parto/segunda IA também foram antecipados no G-IATF, confirmando a hipótese inicial do experimento.

A hipótese de que ao final do período experimental (150 dias pós-parto) o número de vacas prenhes seria maior no grupo IATF foi rejeitada.

## **IMPLICAÇÕES**

Este estudo teve por objetivos avaliar o efeito do protocolo de IATF na eficiência reprodutiva (taxas de concepção e intervalo parto/concepção) de vacas de leite de alta produção. Assim, considerando os resultados do estudo, o grupo submetido à IATF obteve desempenho superior. Em fazendas que apresentam grande número de vacas em lactação, as falhas de detecção de cio são as principais causas de ineficiência reprodutiva. Porém, o uso de protocolos de IATF isoladamente, pode não solucionar o problema de rebanhos leiteiros. Outros fatores parecem estar associados entre eles, volumosos de baixa qualidade, problemas sanitários, estresse térmico e falta de cuidados no periparto.

Devido a todos os problemas que afetam a eficiência reprodutiva, torna-se fundamental a implementação de uma rotina reprodutiva dentro das propriedades de modo que os índices produtivos e reprodutivos possam ser monitorados e avaliados constantemente. As fazendas que trabalham semanalmente com a palpação de vacas, diagnóstico de gestação precoce, uso de protocolos de IATF e outros, apresentam vantagens em termos de realização de tarefas por terem facilidade e eficácia.

Os achados dessa dissertação podem ser utilizados por produtores, pesquisadores e profissionais que trabalham com rebanhos leiteiros e pretendem estabelecer uma rotina reprodutiva em propriedades de leite. Os resultados apontam que os protocolos de IATF podem ser utilizados como ferramenta na decisão do momento de inseminar o rebanho, uma vez que aumentam a taxa de serviço sem comprometer a taxa de concepção. E, ainda tem a vantagem de induzir o retorno da ciclicidade em animais em anestro pós-parto.

## **REFERÊNCIAS**

- ALLRICH, R. D. Endocrine and neural control of estrus in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 77, p. 2738–2744, 1994.
- AMBROSE, D. J.; COLAZO, M. G. Reproductive status of dairy herds in Alberta: a closer look. In: Proceedings of the 2007 Western Canadian Dairy Seminar. **Advances in Dairy Technology**, v. 19, p. 227–244, 2007.
- ANSARI-LARI, M.; KAFI, M.; SOKHTANLO, M.; AHMADI, H. N. Reproductive performance of Holstein dairy cows in Iran. **Tropical Animal Health and Production**, 2010 in press (DOI 10.1007/s11250-010-9561-y).
- AUSTIN, E. J.; MIHM, M.; RYAN, M. P.; WILLIAMS, D. H.; ROCHE, J. F. Effect of duration of dominance of the ovulatory follicle on onset of estrus and fertility in heifers. **Journal of Animal Science,** v. 77, p. 2219–2226, 1999.
- AYRES, H.; PENTEADO, L.; TORRES-JÚNIOR, J. R. S.; SOUZA, A. H.; BARUSELLI, P. S. Taxa de concepção de vacas nelore lactantes sincronizadas com implante auricular de progestágeno associado ao benzoato ou ao cipionato de estradiol. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 34, p. 410, 2006.
- BARUSELLI, P. S.; MARQUES, M. O.; NASSER, L. F.; REIS, E. L.; BÓ, G. A. Effect of eCG on pregnancy rates of lactating zebu beef cows treated with CIDR-B devices for timed artificial insemination. **Theriogenology**, v. 59, p. 214, 2003. Abstract.
- BARUSELLI, P. S.; REIS, E. L.; MARQUES, M. O.; NASSER, L. F.; BÓ, G. A. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrous beef cattle in tropical climates. **Animal Reproduction Science**, v. 82, p. 479-486, 2004.
- BARUSELLI, P.S.; REIS, E. L.; CARVALHO, N. A. T.; CARVALHO, J. B. P. eCG increases ovulation rate and plasmatic progesterone concentration in Nelore (*Bos indicus*) heifers treated with progesterone releasing device. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION 14., 2004, Porto Seguro. **Proceedings...** 2004b. v.1, p. 117.
- BISINOTTO, R. S.; CHEBEL, R. C.; SANTOS, J. E. P. Follicular wave of the ovulatory follicle and not cyclic status influences fertility of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, 2010 (in press).
- BÓ, G.A.; ADAMS, G.P.; NASSER, L.F; PIERSON, R.A.; MAPLETOFT, R.J. Effect of estradiol valerate on ovarian follicles, emergence of follicar waves and circulating gonadotropins in heifers. **Theriogenology**, v.40, p.225-239,1993.
- BÓ, G. A.; ADAMS, G. P.; PIERSON, R. A.; TRIBULO, H. E.; CACCIA, M.; MAPLETOFT, R. J. Follicular wave dynamics after estradiol-17ß treatment of heifers with or without a progestogen implant. **Theriogenology**, v. 41, p.1555-1569, 1994.
- BÓ, G. A.; ADAMS, G. P.; CACCIA, M.; MARTINEZ, M.; PIERSON, R. A.; MAPLETOFT, R. J. Ovarian follicular wave emergence after treatment with progestagen and estradiol in cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 39, p. 193–204, 1995a.

- BÓ, G. A.; ADAMS, G. P.; PIERSON, R. A.; MAPLETOFT, R. J. Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. **Theriogenology**, v. 43, p. 31-40, 1995b.
- BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S.; MORENO, D.; CUTAIA, L.; CACCIA, M.; TRÍBULO, R.; MAPLETOFT, R. J. The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. **Theriogenology**, v. 57, p. 53-72, 2002.
- BORSBERRY, S.; DOBSON, H. Periparturient diseases and their effect on reproductive performance in five dairy herds. **Veterinary Records**, v. 124, p. 217–219, 1989.
- BOUSFIELD, G. R.; BUTNEV, V. Y.; GOTSCHALL, R. R.; BAKER, V. L.; MOORE, W. T. Structural features of mammalian gonadotropins. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 125, p. 3-19, 1996.
- BUTLER, W. R. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 60, p.449–457, 2000.
- BUTLER, S. T.; MARR, A. L.; PELTON, S. H.; RADCLIFF, R. P.; LUCY, M. C.; BUTLER, W. R. Insulin restores GH responsiveness during lactation-induced negative energy balance in dairy cattle: effects on expression of IGF-I and GH receptor 1A. **Journal of Endocrinology**, v. 176, p. 205–217, 2003.
- CACCIA, M.; BÓ, G. A. Follicle wave emergence following treatment of CIDR-B implanted beef heifers with estradiol benzoate and progesterone. **Theriogenology**, v. 49, p. 341, 1998. Abstract.
- CAIROLI, F.; MOLLO, A.; VERONESI, M. C.; RENAVILLE, B.; FAUSTINI, M.; BATTOCCHIO, M. Comparison between Cloprostenol-induced and Spontaneous Oestrus Fertility in Dairy Cows. **Reproduction of Domestic Animals**, v. 45, p.175-179, 2006.
- CARTMILL, J. A.; EL-ZARKOUNY, S. Z.; HENSLEY, B. A.; LAMB, G. C.; STEVENSON, J. S. Stage of cycle, incidence, and timing of ovulation, and pregnancy rates in dairy cattle after three timed breeding protocols. **Journal of Dairy Science,** v. 84, p. 1051–1059, 2001a.
- CARTMILL, J. A.; EL-ZARKOUNY, S. Z.; HENSLEY, B. A.; ROZELL, T. G., SMITH, J. F.; STEVENSON, J. S. An alternative AI breeding protocol for dairy cows exposed to elevated ambient temperatures before or after calving or both. **Journal of Dairy Science**, v. 84, p. 799–806, 2001b.
- CAVALIERI, J.; RUBIO, I.; KINDER, J. E.; ENTWISTLE, K. W.; FITZPATRICK, L. A. Synchronization of estrus and ovulation and associated endocrine changes in *Bos indicus* cows. **Theriogenology**, v. 47, p. 801-814, 1997.
- CERRI, R. L. A.; GALVÃO, K. N.; JUCHEM, S. O.; CHEBEL, R. C.; SANTOS, J. E. P. Timed AI (TAI) with estradiol cypionate (ECP) or insemination at detected estrus in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 181, 2003. Supplement, 1. Abstract.

- CERRI, R. L. A.; CHEBEL, R. C.; RIVERA, F.; NARCISO, C. D.; OLIVEIRA, R. A.; SANTOS J. E. P. Effect of progesterone concentration during follicular development on fertilization and embryo quality in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 91, p. 463, 2008b. Supplement, 1. Abstract.
- CERRI, R. L. A.; RIVERA, F.; NARCISO, C. D.; OLIVEIRA, R. A.; CHEBEL, R. C.; AMSTALDEN, M.A.; THATCHER, W. W.; SANTOS, J. E. P. Progesterone concentration during follicular development affects follicular fluid composition and uterine release of PGF2α in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 91, p. 245, 2008a. Supplement, 1. Abstract.
- CHEBEL, R. C.; SANTOS, J. E. P.; REYNOLDS, J. P.; CERRI, R. L. A.; JUCHEM, S. O.; OVERTON, M. Factors affecting conception rate after artificial insemination and pregnancy loss in lactating dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v. 84, p.239-255, 2004.
- COLAZO, M. G.; KASTELIC, J. P.; MAPLETOFT, R. J. Effects of estradiol cypionate (ECP) on ovarian follicular dynamics, synchrony of ovulation, and fertility in CIDR-based, fixed-time AI programs in beef heifers. **Theriogenology**, v. 60, p. 855-865, 2003.
- COLE, H.H.; HART, G. H. Potency of blood serum of mares in progressive stages of pregnancy in effecting the sexual maturity of the immature rat. **American Journal of Physiology**, v. 93, p. 57-58, 1930.
- CUTULLIC, E.; DELABY, L.; CAUSEUR, D.; MICHEL, G.; DISENHAUSA, C. Hierarchy of factors affecting behavioural signs used for oestrus detection of Holstein and Normande dairy cows in a seasonal calving system. **Animal Reproduction Science,** v. 113, p.22-37, 2009.
- DAELS, P. F.; ALBRECHT, B. A.; MOHAMMED, H. Equine Chorionic Gonadotropin regulates luteal steroidogenesis in pregnant mares. **Biology Reproduction**, v. 59, p. 1062-1068, 1998.
- DE LA SOTA, R. L.; BURKE, J. M.; RISCO, C. A.; MOREIRA, F.; DELORENZO, M. A.; THATCHER, W. W. Evaluation of timed insemination during summer heat stress in lactating dairy cattle. **Theriogenology**, v. 49, p. 761–770, 1998.
- DE SILVA, A. W. M. V.; ANDERSON, G. W.; GWAZDAUSKAS, F. C.; MC GILLIARD, M. L.; LINEWEAVER, J. A. Interrelationships with estrous behavior and conception in dairy cattle. Journal of Dairy Science, v. 64, p. 2409–2418, 1981.
- DE RENSIS, F.; SCARAMUZZI, R. J. Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow a review. **Theriogenology**, v. 60, p. 1139-1151, 2003.
- DISKIN, M. G.; AUSTIN, E. J.; ROCHE, J. F. Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 23, n. 1-2, p. 211-228, 2002.
- DOBSON, H.; SMITH, R. F. What is stress, and how does it affects reproduction. **Animal Reproduction Science**, v. 60–61, p. 743–752, 2000.

- DRANSFIELD, M. G. B.; NEBEL, R. L.; PEARSON, R. E.; WARNICK, L. D. Timing of insemination for dairy cows identified in estrus by a radiotelemetric estrus detection system. **Journal of Dairy Science,** v. 81, p. 1874–1882, 1998.
- ELSDEN, R. P.; NELSON, L. D.; SEIDEL, G. E. Superovulating cows with FSH and PMSG. **Theriogenology**, v. 9, p. 529-534, 1978.
- ESSLEMONT, R. J.; KOSSAIBATI, M. A.; ALLCOCK, J. Economics of fertility in dairy cows. WORKSHOP HELD IN EDINBURG. RECORDING AND EVALUATION OF FERTILITY TRAITS IN UK DAIRY CATTLE. 2001. Edinburgh, Scotland.2001. In **Proceedings...** p. 19–29
- FANNING, M. D.; SPITZER, J. C.; BURNS, G. L.; PLYLER, B. B. Luteal function and reproductive response in suckled beef cows after metestrus administration of a norgestomet implant and injection of estradiol valerate with various dosages of injectable norgestomet. **Journal of Animal Science**, v. 70, n.5, p. 1352-1356, 1992.
- FERGUSON, J. D.; GALLIGAN, D. T.; THOMSEN, N. Principal descriptors of body condition score in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 77, p. 2695–26703, 1994.
- FOURICHON, C.; SEEGERS, H.; MALHER, D. X. Effect of disease on reproduction in the dairy cow: a meta-analysis. **Theriogenology**, v. 53, p. 1729-1759, 2000.
- GÁBOR, G.; TÓTH, F.; ÓZSVÁRI, L.; ABONYI-TÓ, Z.S.; SASSER, R. G. Factors influencing pregnancy rate and late embryonic loss in dairy cattle. **Reproduction Domestic Animals**, v.43, p. 53-58, 2008.
- GALVÃO, K. N.; SANTOS, J. E. P.; JUCHEM, S. O.; CERRI, R. L.; COSCIONI, A. C. VILLASÑOR, M. Effect of addition of a progesterone intravaginal insert to a timed insemination protocol using estradiol cypionate on ovulation rate, pregnancy rate, and late embryonic loss in lactating dairy cows. **Journal of Animal Science**, v. 82, p. 3508–3517, 2004.
- GONZALES, A.; WANG, H.; CARRUTHERS, T. D.; MURPHY B. D.; MAPLEOTOFT, R. J. Superovulation in the cow with pregnant mare serum gonadotrophin: effects of dose and antipregnant mare serum gonadotrophin serum. **The Canadian Veterinary Journal,** v. 35, p. 158-162, 1994.
- GONZALEZ-MENICO, F.; MANNS, J.; MURPHY, B. D. FSH and LH activity of PMSG from mares at different stages of gestation. **Animals Reproduction Sciencie**, v. 1, p. 137-144, 1978.
- GOSPODAROWICS, D. Purification and physiochemical properties of the pregnant mare serum gonadotropin (PMSG). **Endocrinology,** v. 91, p. 101-106, 1972.
- GUMEN, A.; GUENTHER, J. N.; WILTBANK, M. C. Follicular size and response to ovsynch versus detection of estrus in anovular and ovular lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 3184–3194, 2003.

- HANLON, D. W.; WILLIAMSON, N. B.; WICHTELL, J. J.; STEFFERT, I. J.; CRAIGIE, A. L.; PFEIFFER, D. U. The effect of estradiol benzoate administration on estrus response and synchronized pregnancy rate in dairy heifers after treatment with exogenous progesterone. **Theriogenology**, v. 45, p. 775-785, 1996.
- HANSEL, W.; MALVEN, P. V.; BLACK, D. L. Estrous cycle regulation in the bovine. **Journal of Animal Science**, v. 20, p. 621, 1961.
- HARRISON, R. O.; FORD, S. P.; YOUNG, J. W.; CONLEY, A. J.; FREEMAN, A. E. Increased milk production versus reproductive and energy status of high producing dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 73, p. 2749–2758, 1990.
- HARRISON, R. O.; YOUNG, J. W.; FREEMAN, A. E.; FORD, S. P. Effects of lactational level on reactivation of ovarian function, and interval from parturition to first visual oestrus and conception in high-producing Holstein cows. **Animal Production**, v. 49, p. 23–28, 1989.
- HERATH, S.; DOBSON, H.; BRYANT, C. E.; SHELDON, I. M. Use of the cow as a large animal model of uterine infection and immunity. **Journal of Reproductive Immunology,** v. 69, p. 13–22, 2006.
- HUMBLOT, P. Use of pregnancy specific proteins and progesterone assays to monitor pregnancy and determine the timing, frequencies and sources of embryonic mortality in ruminants. **Theriogenology**, v. 56, p. 1417–1433, 2001.
- INSKEEP, E. K. Potential uses of prostaglandins in control of reproductive cycles of domestic animals. **Journal of Animal Science**, v. 36, p. 1149–1157, 1973.
- JACKSON, P. S.; JOHNSON, C. T.; FURR, B. J.; BEATTIE, J. F. Influence of stage of oestrous cycle on the time to oestrus following cloprostenol treatment in the bovine. **Theriogenology**, v. 12, p. 153–167, 1979.
- JAINUDEEN, H. R.; HAFEZ, E. S. E.; GOLLMICK, P. D.; MOUSTAFA, L. F. Antigonadotropin in the serum of cows following repeated therapeutic pregnant mare serum injections. **American Journal of Veterinary Research**, v. 27, p. 669-675, 1966.
- JOBST, S. M.; NEBEL, R. L.; MCGILLIARD, M. L.; PELZER, K.D. Evaluation of reproductive performance in lactating dairy cows with prostaglandin F2a, Gonadotropin-releasing hormone, and timed artificial insemination. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 2366–72, 2000.
- KASTELIC, J. P.; GINTHER, O. J. Factors affecting the origin of the ovulatory follicle in heifers with induced luteolysis. **Animal Reproduction Science**, v. 26, n. 1-2, p. 13-24, 1991.
- KASTELIC, J. P.; KNOPF, L.; GINTHER, O. J. Effect of day of prostaglandin F2α treatment on selection and development of the ovulatory follicle in heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 23, n. 3, p. 169-180, 1990.

- KERBLER, T. L.; BUHR, M. M.; JORDAN, L. T.; LESLIE, K. E.; WALTON, J. S. Relationship between maternal plasma progesterone concentration and interferon-tau synthesis by the conceptus in cattle. **Theriogenology**, v. 47, p. 703-714, 1997.
- LARSON, L. Regulation of estrous cycles in dairy cattle: A review. **Theriogenology**, v. 38, p. 255-267, 1992.
- LEBLANC, S. J.; DUFFIELD, T. F.; LESLIE, K. E.; BATEMAN, K. G.; KEEFE, G. P.; WALTON, J. S.; JOHNSON, W. H. Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 2223–2236, 2002.
- LEGARDINIER, S.; CAHOEAU, C.; KLETT, D.; COMBARNOUS, Y. Involvement of equine chorionic gonadotropin (eCG) carbohydrate side chains in its bioactivity: lessons from recombinant hormone expressed in insect cells. **Reproduction Nutrition Development**, v. 45, p. 255-259, 2005.
- LEROY, J. L.; VANHOLDER, T.; VAN KNEGSEL, A. T.; GARCIA-ISPIERTO, I.; BOLS, P. E. Nutrient prioritization in dairy cows early postpartum: mismatch between metabolism and fertility? **Reproduction in Domestic Animals**, v. 43, p. 96–103, 2008.
- LIEFERS, S. C.; VEERKAMP, R. F.; TE PAS, M. F. W.; CHILLIARD, Y.; VAN DER LENDE, T. Genetics and physiology of leptin in periparturient dairy cows. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 29, p. 227–238, 2005.
- LOPEZ-GATIUS, F. Is fertility declining in dairy cattle? A retrospective study northeastern Spain. **Theriogenology**, v. 60, p. 89-99, 2003.
- LOPEZ, H.; SATTER, L. D.; WILTBANK, M. C. Relationship between level of milk production and estrous behavior of lactating dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v. 81, p. 209-223, 2004.
- LYIMO, Z. C.; NIELEN, M.; OUWELTJES, W.; KRUIP, T. A. M.; VAN EERDENBURG, F. J. C. M. Relationships among estradiol, cortisol and intensity of estrous behavior in dairy cattle. **Theriogenology,** v. 53, p. 1783-1795, 2000.
- MACMILLAN, K. L.; BURKE, C. R. Effects of oestrous cycle control on reproductive efficiency. **Animal Reproduction Science**, v. 42, n. 1-4, p. 307-320, 1996.
- MANN, G. E.; HARESIGN, W. Effect of oestradiol treatment during GnRH-induced ovulation on subsequent PGF2 (alpha) release and luteal life span in anoestrous ewes. **Animal Reproduction Science,** v. 67, p. 245-252, 2001.
- MARQUES, M. O.; AYRES, H.; REIS, E. L.; MAPLETOFT, R. J.; BARUSELLI, P. S. Efeito do Cipionato e do Benzoato de estradiol na taxa de prenhez de vacas nelore inseminadas em tempo fixo. **Acta Scientiae Veterinária**, v. 32, p. 222, 2004.
- MARTINS, C. M.; CASTRICINI, E. S. C.; SÁ FILHO, M. F.; GIMENES, L. U.; BARUSELLI, P. S. Dinâmica folicular de vacas nelore tratadas com Cipionato ou Benzoato

- de estradiol em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 33, p. 285, 2005.
- MARTINEZ, M. F.; KASTELIC, J. P.; ADAMS, G. P.; COOK, R. B; OLSON, W. O.; MAPLETOFT, R. J. The use of progestins in regimens for fixed-time artificial insemination in beef cattle. **Theriogenology**, v. 57, p. 1049-1059, 2002.
- MARTINEZ, M. F.; KASTELIC, J. P.; BÓ, G. A.; CACCIA, M.; MAPLETOFT, R. J. Effects of oestradiol and some of this esters on gonadotrophin releasing and ovarian follicular dynamics in CIDR-treated beef cattle. Animal Reproduction Science, v. 86, p. 37–52, 2005.
- MEIKLE, A.; KULCSAR, M.; CHILLIARD, Y.; FEBEL, H.; DELAVAUD, C.; CAVESTANY, D.; CHILIBROSTE, P. Effects of parity and body condition at parturition on endocrine and reproductive parameters of the cow. **Reproduction**, v. 127, p. 727–737, 2004.
- MENZER, C.; SCHAMS, D. Radioimmunoassay for PMSG and its application to in vivo studies. **Journal Reproduction Fertility**, v. 55, p. 339-345, 1979.
- MOENTER, S. M.; CARATY, A.; KARSCH, F. J. The estradiol-induced surge of gonadotropin-releasing hormone in the ewe. **Endocrinology**, v. 127, p. 1375-1384, 1990.
- MOREIRA, F.; DE LA SOTA, R. L.; DIAZ, T.; THATCHER, W. W. Effect of day of the estrous cycle at the initiation of a timed artificial insemination protocol on reproductive responses of dairy heifers. **Journal of Animal Science**, v. 78, p. 1568–1576, 2000a.
- MOREIRA, F.; ORLANDI, C.; RISCO, C. A.; MATTOS, R.; LOPES, F.; THATCHER, W. W. Effects of pre-synchronization and bovine somatotropin on pregnancy rates to a timed artificial insemination protocol in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science,** v. 84, p. 1646–1659, 2001.
- MOREIRA, F.; RISCO, C. A.; PIRES, M. F. A.; AMBROSE, J. D.; DROST, M.; THATCHER, W. W. Use of bovine somatotropin in lactating dairy cows receiving timed artificial insemination. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p.1237–1247, 2000b.
- MUSSARD, M. L.; BURKE, C. R.; BEHLKE, E. J.; GASSER, C. L.; DAY, M. L. Influence of premature induction of a luteinizing hormone surge with gonadotropin-releasing hormone on ovulation, luteal function, and fertility in cattle. **Journal of Animal Science,** v. 85, p.937-943, 2007.
- NEBEL, R. L.; JOBST, S. M.; DRANSFIELD, M. B.; PANDOLFI, S. M.; BAILEY, T. L. Use of a radio frequency data communication system, HeatWatch®, to describe behavioral estrus in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 179, 1997. Abstract.
- NORMAN, H. D.; WRIGHT, J. R.; HUBBARD, S. M.; MILLER, R. H.; HUTCHISON, J. L. Reproductive status of Holstein and Jersey cows in the United States. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 3517-3528, 2009.
- ODDE, K. G. A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. **Journal of Animal Science**, v. 68, n. 3, p. 817-830, 1990.

- OKUDA, K.; MIYAMOTO, Y.; SKARZYNSKI, D. J. Regulation of endometrial prostaglandin F2α synthesis during luteolysis and early pregnancy in cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 23, n. 1-2, p. 255-264, 2002.
- PANCARCI, S. M.; JORDAN, E. R.; RISCO, C. A.; SCHOUTEN, M. J.; LOPES, F. L.; MOREIRA, F.; THATCHER, W. W. Use of estradiol cypionate in a presynchronized timed artificial insemination program for lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science,** v. 85, p. 122-131, 2002.
- PARFET, J. R.; SMITH, C. A.; COOK, D. L.; SKYER, D. M.; YOUNGQUIST, R. S.; GARVERICK, H. A. Secretory patterns of LH and FSH and follicular growth following administration of PGF2α during the early luteal phase in cattle. **Theriogenology**, v. 31, n. 3, p. 513-524, 1989.
- PENTEADO, L.; SÁ FILHO, M. F.; MARTINS, C. L.; GIMENES, L. U.; AYRES, H.; BARUSELLI, P. S. Taxas de concepção em vacas Nelore tratadas com dispositivo de progesterona associado ao benzoato de estradiol e ao cipionato de estradiol. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 33, p. 260, 2005. Abstract.
- PETER, A. T.; BOSU, W. T. K. Postpartum ovarian activity in dairy cows: correlation between behavioral estrus; pedometer measurements and ovulations. **Theriogenology**, v. 26, p. 111–115, 1986.
- PETERSSON, K. -J.; GUSTAFSSON, H.; STRANDBERG, E.; BERGLUND, B. Atypical progesterone profiles and fertility in Swedish dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 89, 2529–2538, 2006.
- 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.; WILTBANK, M. C.; STEVENSON, J. S.; OTTOBRE, J. S.; GARVERICK, H. A.; ANDERSON, L. L. Pregnancy rates per artificial insemination for cows and heifers inseminated at a synchronized ovulation or synchronized estrus. **Journal of Dairy Sciencen**, v. 80, p. 295–300, 1997.
- RATHBONE, M. J.; KINDER, J. E.; FIKE, K.; KOJIMA, F.; CLOPTON, D.; OGLE, C. R.; BUNT, C. R. Recent advances in bovine reproductive endocrinology and physiology and their impact on drug delivery system design for the control of the estrous cycle in cattle. **Advance Drug Delivery Reviews**, v. 50, n. 3, p. 277-320, 2001.
- REIS, E. L.; GIMENES, L. U.; MARQUES, M. O.; CARVALHO, J. B. P.; MAPLETOFT, R. J; BARUSELLI, P. S. Efeitos do Cipionato e do Benzoato de estradiol na dinâmica folicular e luteínica de vacas nelore. **Acta Scientiae Veterinariae**, vol. 32, p. 236, 2004.
- REFSAL, R. K.; SEGUIN, B. E. Effect of stage of diestrus and number of cloprostenol (ICI 80,996) injections on interval to estrus, LH peak and ovulation in heifers. **Theriogenology**, v. 14, n. 1, p. 37-48, 1980.
- REVAH, I.; BUTLER, W. R. Prolonged dominance of follicles and reduced viability of bovine oocytes. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 106, n. 1, p. 39-47, 1996.

- RODRIGUES, C. A.; AYRES, H.; REIS, E. L.; MADUREIRA, E. H.; BARUSELLI, P. S. Increased pregnancy rate in Nelore cows treated with eCG in different post partum periods for fixed time artificial insemination. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32, p. 220, 2004.
- RODRIGUES, C. A.; AYRES, H.; FERREIRA, R. M.; TEIXEIRA, A. A.; MANCILHA, R. F.; OLIVEIRA, M. E. F.; SOUZA, A. H.; BARUSELLI, P.S. Taxa de concepção à inseminação artificial e à transferência de embriões em vacas holandesas de alta produção. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 35, p. 1254, 2007.
- SÁ FILHO, M. F.; REIS, E. L.; VIEL JR, J. O.; NICHI, M.; MADUREIRA, E. H.; BARUSELLI, P. S. Dinâmica folicular de vacas Nelore em anestro tratadas com implante auricular, eCG e GnRH. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32, p. 235, 2004. Abstract.
- SANGSRITAVONG, S.; COMBS, D. K.; SARTORI, R.; ARMENTANO, L. E.; WILTBANK, M. C. High feed intake increases liver blood flow and metabolism of progesterone and estradiol-17β in dairy cattle. **Journal of Dairy Science,** v. 85, p. 2831–2842, 2002.
- SANTOS, J. E. P.; THATCHER, W. W.; CHEBEL R.C.; CERRI, R. L. A.; GALVÃO, K. N. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. **Animal Reproduction Science**, v. 82-83, p. 513-535, 2004
- SANTOS, J. E. P.; RUTIGLIANO, H. M.; SÁ FILHO, M. F. Risk factors for resumption of postpartum estrous cycles and embryonic survival in lactating dairy cows. **Animal Reproduction Science,** v. 110, p. 207-221, 2009.
- SARTORI, R.; ROSA, G. J. M.; WILTBANK, M. C. Ovarian structures and circulating steroids in heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in winter. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 2813–2822, 2002.
- SENGER, P. L. The estrus detection problem: new concepts, tecnologies, and possibilities. **Journal of Dairy Science,** v. 77, p. 2745-2753, 1994.
- SHELDON, I. M.; DOBSON, H. Postpartum uterine health in cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 82-83, p. 295–306, 2004.
- SILVA, R. C. P.; RODRIGUES, C. A.; MARQUES, M. O.; AYRES, H.; REIS, E. L.; NICHI, M.; MADUREIRA, E. H.; BARUSELLI, P. S. Efeito do eCG e do GnRH na taxa de prenhez de vacas Nelore lactantes inseminadas em tempo fixo. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.32, p.221, 2004.
- SOUZA, A. H. Inseminação artificial em tempo fixo em vacas Holandesas de alta produção. 2008. 152p. Tese (Doutorado em Reprodução Animal). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.
- SOUZA, A. H.; VIECHNIESKI, S.; LIMA, F. A.; SILVA, F. F.; ARAÚJO, R.; BÓ G. A.; WILTBANK, M. C.; BARUSELLI, P. S. Effects of equine chorionic gonadotropin and type of ovulatory stimulus in a timed-AI protocol on reproductive responses in dairy cows. **Theriogenology**, v. 72, p.10-21, 2009.

- TENHAGEN, B. A.; DRILLICH, M.; SURHOLT, R.; HEUWIESER, W. Comparison of timed AI after synchronized ovulation to AI at estrus: reproductive and economic considerations. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 85–94, 2004.
- TENHAGEN, B. A.; DRILLICH, M.; HEUWIESER, W. Analysis of cow factors influencing conception rates after two-timed breeding protocols. **Theriogenology**, v. 56, p. 831–838, 2001.
- THATCHER, W. W.; MOREIRA, F.; PANCARCI, S. M.; BARTOLOME, J. A; SANTOS, J. E. Strategies to optimize reproductive efficiency by regulation of ovarian function. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 23, p. 243-254, 2002.
- THURMOND, M. C.; PICANSO, J. P.; JAMESON, C. M. Considerations for use of descriptive epidemiology to investigate fetal loss in dairy cows. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 197, p. 1305–1312, 1990.
- URWIN, V. E.; ALLEN, W. R. Pituitary and chorionic gonadotrophic control of ovarian function during early pregnancy in equids. **Journal of Reproduction Fertility**, v. 32, p. 371, 1982.
- VAN CLEEFF, J.; DROST, M.; THATCHER, W.W. Effects of postinsemination progesterone supplementation on fertility and subsequent estrous response of dairy heifers. **Theriogenology**, v. 36, p. 795–807, 1991.
- VAN EERDENBURG, F. J. C. M.; KARTHAUS, D.; TAVERNE, M. A. M.; MERICS, I.; SZENCI, O. The relationship between estrous behavioral score and time of ovulation in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 58, p. 1150–1156, 2002.
- VASCONCELOS, J. L. M.; SILCOX, R. W.; PURSLEY, J. R.; WILTBANK, M. C. Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v. 52, p. 1067–1078, 1999.
- WARD, D. N.; MOORE JR, W. T. Comparative study of mammalian glycoprotein hormones. In: ANIMAL MODELS FOR RESEARCH IN FERTILITY AND CONTRACEPTION. **Baltimore: Harper and Row**, 1979. p. 151.
- WASHBURN, S. P.; SILVIA, W. J.; BROWN, C. H.; MCDANIEL, B. T.; MCALLISTER, A. J. Trends in reproductive performance in southeastern Holstein and Jersey DHI herds. **Journal of Dairy Science,** v. 85, p. 244–251, 2002.
- WATHES, D. C.; CHENG, Z.; BOURNE, N.; TAYLOR, V. J.; COFFEY, M. P.; ROTHERSTONE, S. Differences between primiparous and multiparous dairy cows in the inter-relationships between metabolic traits, milk yield and body condition score in the periparturient period. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 33, p. 203–225, 2007.
- WELLER, J. I.; BAR-ANAN, R.; OSTERKORN K. Effects of Days Open on Annualized Milk Yields in Current and Following Lactations. **Journal of Dairy Science**, v. 68, p. 1241-1249, 1985.

- WHITE, F. J.; WETTEMANN, R. P.; LOOPER, M. L.; PRADO, T. M.; MORGAN, G. L. Seasonal effects on estrous behavior and time of ovulation in nonlactating beef cows. **Journal of Animal Science,** v. 80, p. 3053-3059,2002.
- WILLIAMS, E. J.; FISCHER, D. P.; NOAKES, D. E.; ENGLAND, G. C.; RYCROFT, A.; DOBSON, H.; SHELDON, I. The relationship between uterine pathogen growth density and ovarian function in the postpartum dairy cow. **Theriogenology**, v. 68, p. 549–559, 2007.
- WILTBANK, J. N.; ZIMMERMAN, D. R.; INGALLS, J. E.; ROWDEN, W. W. Use of progestacional compounds alone or in combination with estrogen for synchronization of estrus. **Journal of Animal Science**, v. 24, p. 990-994, 1965.
- WILTBANK, M. C. How information of hormonal regulation of the ovary has improved understanding of timed breeding programs. **Theriogenology**, v. 48, n. 1, p. 83-97, 1997.
- WILTBANK, M. C.; GÜMEN, A.; SARTORI, R. Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. **Theriogenology**, v. 57, p. 21-52, 2002.
- WILTBANK, M. C.; HERNANDO, L.; SARTORI, R.; SANGSRITAVONG, S.; GUMEN, A. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. Theriogenology, v. 65, p. 17-29, 2006.
- WOLFENSON, D.; ROTH, Z.; MEIDAN, R. Impaired reproduction in heat-stressed cattle: basic and applied aspects. **Animal Reproduction Science**, v. 60-61, p. 535-547, 2006.
- YÁNIZ, J. L.; MURUGAVEL, K.; LÓPEZ-GATIUS, F. Recent developments in oestrous synchronization of postpartum dairy cows with and without ovarian disorders. **Reproduction Domestic Animals**, v. 39, p. 86-93, 2004.
- ZUREK, E.; FOXCROFT, G. R.; KENNELLY, J. J. Metabolic status and interval to first ovulation in postpartum dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 78, p. 1909–1920, 1995.