

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA
VETERINÁRIA (PATOLOGIA E CIÊNCIAS
CLÍNICAS)

DISSERTAÇÃO

**Taxa de Prenhez de Vacas Leiteiras em Programa de
Inseminação Artificial em Tempo Fixo com e sem Triagem
Ginecológica Ultrassonográfica**

Gustavo Fernandes Grillo

2015



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO

INSTITUTO DE VETERINÁRIA

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
(PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS)**

**TAXA DE PRENHEZ DE VACAS LEITEIRAS EM PROGRAMA DE
INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO COM E SEM
TRIAGEM GINECOLÓGICA ULTRASSONOGRÁFICA**

GUSTAVO FERNANDES GRILLO

Sob Orientação do Professor

Marco Roberto Bourg de Mello

E Co-Orientação do Professor

Helcimar Barbosa Palhano

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Ciências Clínicas

Seropédica, RJ
Julho, 2015

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

GUSTAVO FERNANDES GRILLO

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências, no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de concentração em Ciências Clínicas.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 31/07/2015.

Marco Roberto Bourg de Mello, Dr., UFRRJ
(Orientador)

Luiz Altamiro Garcia Nogueira, Dr., UFF

Vera Lúcia Teixeira de Jesus, Dra., UFRRJ

DEDICATÓRIA

A minha formação como profissional não poderia ter sido concretizada sem a ajuda de meus amados pais Ozório e Audrey que, no decorrer da minha vida, proporcionaram-me carinho e amor, integridade moral e condições para estudar e de procurar meus objetivos. À minha esposa Gabriela e ao meu filho Gabriel, que além de me fazerem feliz, ajudaram-me durante todo o percurso, permaneceram sempre ao meu lado, nos bons e maus momentos. A vocês, além de meus sorrisos, suor e lágrimas, dedico esta dissertação.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela força e perseverança, que me fizeram alcançar meus objetivos, e pelas oportunidades e aprendizado que apareceram durante minha vida.

Aos meus pais, Ozório e Audrey, por me educarem, sempre com paciência e amor, para que me tornasse uma pessoa íntegra, e pelas oportunidades de estudo e agradável vida que me proporcionaram.

À minha família, Gabriela e Gabriel, que me fazem sorrir sempre que abro os olhos e sonhar sempre que os fecho, as razões de todos meus sorrisos.

Aos meus irmãos, Guilherme e Matheus, por estarem sempre ao meu lado, durante toda minha vida, nos momentos bons e ruins.

Aos professores Marco Roberto Bourg de Mello e Helcimar Barbosa Palhano pela oportunidade de aprendizado, pela paciência, ajuda e indispensável orientação, os quais me fizeram um profissional e uma pessoa melhor.

Aos professores e funcionários do Departamento de Reprodução e Avaliação Animal do Instituto de Zootecnia da UFRRJ, pela paciência, ensinamentos e orientação durante as aulas, estágio e monitoria. Em especial aos Professores Marco Roberto Bourg de Mello e José Eugênio Três pelas oportunidades de estágio e os conhecimentos que adquiri com estes, o alicerce da minha formação profissional.

Aos pesquisadores da PESAGRO-RJ, Dr. Oswaldo, Dr. Pedro e Dra. Rosane, pela parceria e comprometimento, por permitirem o uso das instalações e dos animais no experimento. Aos funcionários da instituição, Carlão, Paulinho e Darlei, por estarem sempre dispostos a trabalhar e auxiliar durante o experimento.

Aos meus colegas, que por estarem sempre ao meu lado, durante toda a graduação, se tornaram meus irmãos; God, Brunão, Ruan, Felipe, Jaime, Manel, Rodrigo, Gabriel, Karol e Natali.

À tia Lena, minha amiga e ajudante, que me mostrou que com simplicidade, humildade e um sorriso no rosto podemos vencer as lutas cotidianas.

À Fundação Carlos Chagas Filho de Apoio a Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), que através de recursos financeiros provenientes do edital aprovado EXTPESQ-2012, tendo o Prof. Helcimar Barbosa Palhano como Coordenador do mesmo, possibilitou a realização deste projeto de pesquisa.

RESUMO

GRILLO, Gustavo Fernandes. **Taxa de Prenhez de Vacas Leiteiras em Programa de Inseminação Artificial em Tempo Fixo com e sem Triagem Ginecológica Ultrassonográfica**. 2015. 42f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária, Ciências Clínicas). Instituto de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2015.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a importância da triagem ginecológica ultrassonográfica realizada previamente ao início do protocolo de sincronização da ovulação para realização da IATF. Para tanto, 120 vacas Girolandas, ao longo de duas estações reprodutivas (2013 e 2014), foram divididas em dois grupos: com triagem ginecológica (C/T; n=58) e sem triagem ginecológica (S/T; n=62). Os animais do grupo C/T passaram por exame ultrassonográfico imediatamente antes da sincronização da ovulação. Na triagem foram consideradas a ciclicidade (presença ou ausência de corpo lúteo - CL) e o diâmetro do maior folículo (FL) no momento da avaliação. As fêmeas que apresentaram CL ou FL com diâmetro ≥ 10 mm, em um dos ovários, foram sincronizadas com o protocolo I – “OvSynch” (OV; n=41), que consistiu na aplicação de 0,025 mg acetato de busarelina (GnRH) no primeiro dia do protocolo considerado D0; 0,15 mg d-Cloprostenol (PGF2 α) em D7 e 0,025 mg acetato de busarelina (GnRH) em D9 com IATF 24 horas após esta última aplicação. Quando nenhuma das estruturas foi diagnosticada ou então somente FL com diâmetro < 10 mm em um dos ovários, foi utilizado o protocolo II – “OvSynch” + Progesterona (OP4; n=10) ou III – “OvSynch” + P4 + LH (OP4LH; n=7), aleatoriamente. Ambos protocolos (II e III) seguiram as mesmas dosagens do “OvSynch” (Protocolo I) mas associado à introdução de dispositivo intravaginal de primeiro uso contendo 1g de progesterona em D0 e retirada em D7. Para o grupo III, o LH foi utilizado como indutor da ovulação, com aplicação de 25 mg em D9. As fêmeas do grupo sem triagem (S/T; n=62) foram divididas aleatoriamente nos três protocolos acima descritos: protocolo I- Ov (n=21), II- OvP4 (n=21) e III – OvP4LH (n=20). Foi realizado diagnóstico de gestação por ultrassonografia transretal 45 dias após a IATF, sendo que os animais vazios foram reinseminados a medida que apresentassem cio. Os parâmetros taxa de Prenhez (IATF) e taxa de prenhez total (IATF + cio de retorno) foram analisados pelos testes Chi-Quadrado ou Exato de Fisher com nível de significância de 5%. Houve diferença (p<0.05) estatística entre as taxas de prenhez das estações de 2013 (20%) e 2014 (40%), então os resultados foram analisados separadamente. Em 2013 não houve diferença estatística entre as taxas de prenhez dos protocolos dentro e entre os grupos mas a taxa de prenhez foi superior (p<0.05) no protocolo OvP4 em relação ao OvP4LH dentro e entre os grupos. Em 2014, no grupo S/T, a taxa de prenhez do protocolo OVP4 foi superior (p<0.05) em relação aos protocolos OV e OVP4LH (80%, 30% e 12,5%, respectivamente) e não houve diferença entre os dois últimos. Não houve diferença (p>0.05) entre os protocolos do grupo C/T. Em 2014, o protocolo I (C/T) foi superior ao III (S/T) assim como o I e II (S/T) ao III (C/T) (p<0.05). Analisando a taxa de prenhez total, o protocolo II (C/T) foi superior ao III (C/T), e o II (S/T) ao I e III (C/T e S/T) (p<0.05). Conclui-se desta forma que o uso da triagem ginecológica prévia em programas reprodutivos para criar diferentes categorias melhora a eficiência da IATF, além de ser uma ferramenta de grande valor para diagnóstico de gestação e rápida tomada de decisão para os técnicos a campo.

Palavras-chave: IATF, Ultrassonografia, Vacas Leiteiras.

ABSTRACT

GRILLO, Gustavo Fernandes. **Dairy Cattle Pregnancy Rate in Fixed Time Artificial Insemination Program with and without Ultrasonic Gynecologic Screening**. 2015. 42p. Dissertation (Master Science in Veterinary Medicine). Instituto de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2015.

The objective of this study was to evaluate the importance of ultrasonic gynecological screening performed before the beginning of the synchronization of ovulation protocol for carrying out the FTAI. Therefore, 120 Girolando cows, during two breeding seasons (2013 and 2014), were divided into two groups: with gynecological screening (GS; n=58) and without gynecological screening (WOGS; n=62). The GS group's cows underwent an ultrasonic examination immediately before the synchronization of ovulation protocol. During screening the cyclicity (presence or absence of corpus luteum - CL) and the diameter of the largest follicle (FL) at the time of evaluation were considered. Females showing CL or FL with diameter ≥ 10 mm in the ovaries were synchronized with Protocol I - "OvSynch" (OV; n = 41) which consisted in application of 0.025 mg buserelin acetate (GnRH) on first day of the protocol considered D0; 0.15 mg d-cloprostenol (PGF2a) on D7 and 0.025 mg buserelin acetate (GnRH) on D9 with TAI occurring 24 hours after this last GnRH application. When neither of two structures has been diagnosed or only FL with a diameter < 10 mm in ovaries, a protocol II was used - "OvSynch" + Progesterone (OP4, n=10) or III - "OvSynch" + LH + P4 (OP4LH; n=7), randomly. Both protocols (II and III) followed the same dosages of "OvSynch" (Protocol I) but they were associated with a first use intravaginal device containing 1 g of progesterone on D0 and D7 removal. In group III, the LH was used for ovulation induction, with application of 25 mg on D9. The cows from group with no gynecological screening (WOGS; n=62) were randomly divided in three protocols described above: I- Ov protocol (n=21), II OvP4 (n=21) and III - OvP4LH (n=20). Pregnancy diagnosis was done through transrectal ultrasonography, 45 days after TAI, and the animals that were not pregnant were re-inseminated when detected on heat. The pregnancy rate (IATF) and total pregnancy rate (TAI + return heat) were analyzed by Chi-square test or Fisher's exact with 5% significance level. There was statistical difference ($p < 0.05$) between conception rates of 2013 (20%) and 2014 (40%), then the results were analyzed separately. In 2013, there was no statistical difference between the protocols pregnancy rates within and between groups, but the total pregnancy rate was higher ($p < 0.05$) in OvP4 protocol than OvP4LH within and between groups. In 2014, for WOGS group, the OVP4 pregnancy rate was higher ($p < 0.05$) than OV and OVP4LH (80%, 30% and 12.5%, respectively) and there was no difference between the last two protocols. There was no difference ($p > 0.05$) among GS group protocols. In 2014, the Protocol I (GS) was higher than III (WOGS) as well as I and II (WOGS) was higher than III (GS) ($p < 0.05$). Analyzing the total pregnancy rates, protocol II (GS) was higher than III (GS) and II (WOGS) at I and III (GS and WOGS) ($p < 0.05$). We conclude therefore that the use of previous gynecological screening for reproductive programs in order to create different categories improves the efficiency of TAI as well as being a valuable tool for pregnancy diagnosis and rapid decision-making to the technical field.

Key words: FTAI, Ultrasonography, Dairy Cattle.

LISTA DE ABREVIACOES

BEN	Balanço Energético Negativo
BVD	Diarréia Viral Bovina
°C	Graus Celsius
CL	Corpo Lúteo
E2	Estradiol
ECC	Escore de Condição Corporal
eCG	Gonadotrofina Coriônica Equina
FD	Folículo Dominante
FL	Folículo
FSH	Hormônio Folículo Estimulante
GnRH	Hormônio Liberador de Gonadotrofinas
IA	Inseminação Artificial
IATF	Inseminação Artificial em Tempo Fixo
IBR	Rinotraqueíte Infecciosa Bovina
IFAT	Imunofluorescência Indireta
IPV	Vulvovaginite Pustular Infecciosa
LH	Hormônio Luteinizante
MHz	Megahertz
MN	Monta Natural
OP4	OvSynch + Progesterona
OP4LH	OvSynch + Progesterona + Hormônio Luteinizante
OV	OvSynch
P4	Progesterona
PESAGRO-RIO	Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro
PGF2 α	Prostaglandina F2alfa
PNCEBT	Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose
R\$	Reais
TP	Taxa de Prenhez
TPT	Taxa de Prenhez Total
TM	Temperatura Média
TMax	Temperatura Máxima
TMin	Temperatura Mínima
US	Ultrassonografia

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	A e B) Vacas Girolando utilizadas no projeto.....	17
Figura 2	Imagem ultrassonográfica dos ovários de vaca durante triagem ginecológica. À esquerda, imagem de dois folículos menores de 10 mm e à direita imagem de um corpo lúteo.....	19
Figura 3	Imagem ultrassonográfica dos ovários de vaca durante triagem ginecológica. À esquerda, imagem de um corpo lúteo e a direita imagem de folículo de diâmetro maior que 10 mm.....	20
Figura 4	Imagem ultrassonográfica do ovário de vaca durante triagem ginecológica. Imagem de folículo de diâmetro menor que 10 mm.....	21
Figura 5	Protocolos hormonais para IATF: “OvSynch” para fêmeas com CL ou FL ≥ 10 mm e “OvSynch” + Progesterona ou “OvSynch” + Progesterona + LH para fêmeas com FL < 10 mm.....	22
Figura 6	A) Fêmea em tronco de contenção; B) Retirada das fezes por palpação retal; C) Encaixe da palheta de sêmen descongelada em bainha de plástico descartável; D) Aplicador em posição vertical; E) Montagem do aplicador de sêmen.....	23
Figura 7	Protocolos do grupo sem triagem, “OvSynch”, “OvSynch” + P4 e “OvSynch” + P4 + LH.....	24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Número de vacas girolando nas três classes de ECC ($2.5 \leq \text{ECC} < 3$, $3 \leq \text{ECC} < 4$ e $4 \leq \text{ECC} < 4.5$) definidas para o experimento, nas estações de monta de 2013 e 2014 e taxas de prenhez e de prenhez total por classe de ECC agrupando os resultados das duas estações.....	27
Tabela 2	Taxas de prenhez e de prenhez total de vacas girolando lactantes e secas agrupando os resultados das duas estações.....	28
Tabela 3	Taxas de prenhez e de prenhez total de vacas girolandas cíclicas e acíclicas, diagnosticadas por US, agrupando os resultados das duas estações.	29
Tabela 4	Frequência absoluta e frequência relativa de vacas girolanda cíclicas e acíclicas em relação ao escore de condição corporal (ECC), agrupando os resultados das duas estações.....	30
Tabela 5	Taxa de prenhez, taxa de prenhez total nas estações de monta de 2013 e 2014.....	31
Tabela 6	Taxa de prenhez, taxa de prenhez total nas estações de monta de 2013 e 2014.....	31
Tabela 7	Taxas de prenhez dos protocolos “OvSynch”, “OvSynch” + P4 e “OvSynch” + P4 + LH dos grupos com e sem triagem, nas estações de monta de 2013 e 2014.....	32
Tabela 8	Taxa de prenhez total dos protocolos “OvSynch”, “OvSynch” + P4 e “OvSynch” + P4 + LH, dos grupos com e sem triagem, nas estações de monta de 2013 e 2014.....	33
Tabela 9	Taxa de prenhez dos protocolos “OvSynch”, “OvSynch” + P4 e “OvSynch” + P4 + LH nos grupos com e sem triagem, na estação de monta de 2013.....	33
Tabela 10	Taxa de prenhez dos protocolos “OvSynch”, “OvSynch”+P4 e “OvSynch”+P4+LH dos grupos com e sem triagem, na estação de monta de 2013.....	34
Tabela 11	Taxa de prenhez dos protocolos “OvSynch”, “OvSynch” + P4 e “Ovsynch” + P4 + LH dos grupos com e sem triagem, na estação de monta de 2014.....	35
Tabela 12	Taxa de prenhez total dos protocolos “OvSynch”, “OvSynch” + P4 e “OvSynch” + P4 + LH dos grupos com e sem triagem, na estação de monta de 2014.....	35

Tabela 13	Custo por protocolo, custo total e custo por prenhez de acordo com os protocolos (sem triagem e com triagem ginecológica), considerando ou não o custo da ultrassonografia (R\$ 12,00), agrupando os resultados das duas estações	37
Tabela 14	Custo por protocolo, custo total e custo por prenhez de acordo com os protocolos (sem triagem e com triagem ginecológica), considerando ou não o custo da ultrassonografia (R\$ 12,00), na estação de 2013.....	39
Tabela 15	Custo por protocolo, custo total e custo por prenhez de acordo com os protocolos (sem triagem e com triagem ginecológica), considerando ou não o custo da ultrassonografia (R\$ 12,00), na estação de 2014.....	40

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1 Inseminação Artificial, Histórico e Aspectos Gerais	4
2.2 Fisiologia e Controle do Ciclo Estral	5
2.2.1 Controle do recrutamento folicular	7
2.2.2 Controle da fase progesterônica	8
2.2.3 Controle da ovulação	8
2.3 Inseminação Artificial em Tempo Fixo	8
2.4 Triagem Ginecológica	12
2.5 Ultrassonografia (US)	13
3 HIPÓTESES	15
4 OBJETIVOS	15
4.1 Objetivo Geral	15
4.2 Objetivos Específicos	15
5 MATERIAL E MÉTODOS	16
5.1 Local do Estudo	16
5.2 Período do Experimento e Ambiente	16
5.3 Animais	16
5.4 Controle Sanitário do Rebanho	18
5.5 Grupo de Estudo com Triagem por Ultrassonografia	18
5.6 Grupo de Estudo sem Triagem por Ultrassonografia	24
5.7 Diagnóstico de Gestação e Cio de Retorno	24
5.8 Análise Estatística	25
5.9 Viabilidade Econômica	25
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
6.1 Resultados dos Índices Climáticos nas estações de 2013 e 2014	26
6.2 Efeito do Escore de Condição Corporal nas Taxas de Prenhez e Prenhez Total	26
6.3 Resultados de exames laboratoriais e interferência na reprodução	28
6.4 Efeito da Categoria Produtiva nas Taxas de Prenhez e Prenhez Total	28
6.5 Efeito da Ciclicidade nas Taxas de Prenhez e Prenhez Total	29
6.6 Efeito das Estações Reprodutivas Sobre as Taxas de Prenhez, de Prenhez Total e Ciclicidade dos Animais	30
6.5 Efeitos da Triagem Ginecológica Ultrassonográfica nas Taxas de Prenhez e de Prenhez Total	31
6.6 Viabilidade Econômica	37
8 CONCLUSÕES	42
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43

1 INTRODUÇÃO

O Brasil possuía em 2014 o maior rebanho comercial do mundo sendo o sexto maior produtor de leite (USDA, 2014). O país sempre foi um tradicional importador de lácteos, devido ao aumento do consumo interno, da crise econômica ocorrida em 2008 e da valorização do Real, a balança comercial de produtos lácteos do Brasil ficou negativa e fechou 2012 com um déficit de US\$ 513.835.000 (EMBRAPA, 2013).

Apesar da alta produção de leite do país, cerca de 32,3 bilhões de litros por ano, a produtividade do rebanho nacional em 2013 foi considerada baixa, cerca de 1,471 litros/vaca/ano (IBGE, 2013). As principais razões para essa baixa produtividade incluem a utilização de animais sem aptidão para produção de leite ou com baixo potencial genético, manejo alimentar inapropriado, manejo reprodutivo e sanitário inadequado, baixo nível de instrução dos produtores e falta de assistência técnica, dificultando a utilização adequada do estoque de tecnologias disponíveis (IBGE, 2006). A diminuição do intervalo de partos e o aumento da produtividade por vaca por dia poderia mudar este cenário, com capacidade de nos tornarmos exportadores desta commodity.

Neste contexto o melhoramento genético do rebanho é uma estratégia decisiva para o aumento da produtividade. A Inseminação Artificial (IA) é uma das principais ferramentas para promover o progresso genético e incrementar a produtividade do rebanho, pois permite o uso de sêmen de touros de mérito genético comprovado. A IA, apesar de ser uma tecnologia eficiente e de caráter já dominado, possui limitações para a sua expansão, uma vez que apresenta a necessidade de observação dos animais em estro, exigindo mão-de-obra qualificada e disponibilidade de tempo para que a observação seja realizada pelo menos duas vezes ao dia (BARROS et al. 1995, GAMBINI et al. 1996). Uma alternativa para otimizar tais limitações é o emprego da sincronização da ovulação para a Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF).

A IATF é utilizada de forma crescente na rotina das atividades de campo dos médicos veterinários, sendo esta técnica uma ferramenta importante do manejo reprodutivo de fêmeas bovinas ao proporcionar diversas vantagens dentre as quais destacam-se: aumento da taxa de serviço, concentração do trabalho de IA em dias pré-determinados, otimização do tempo da mão-de-obra envolvida, planejamento de partos, concentração e planejamento da desmama de bezerras e conseqüentemente da reposição do rebanho e diminuição do período de serviço, o que determina aumento da produção de leite.

O profundo conhecimento da endocrinologia do ciclo estral da fêmea bovina permitiu o desenvolvimento de protocolos de manipulação hormonal para IATF. O primeiro protocolo desenvolvido foi denominado “OvSynch” (PURSLEY et al., 1995), conceitualmente estes autores propuseram, através do uso de hormônios exógenos, que os protocolos devem produzir o recrutamento de uma nova onda, controlar a fase luteínica e induzir a ovulação para IATF. Desta forma a maioria dos protocolos age dentro desses princípios, uma nova onda folicular inicia-se somente após o término da onda anterior, por atresia ou ovulação do folículo dominante (FD), para controlar essa fase diferentes hormônios podem ser utilizados. Para induzir ovulação de um FD são encontrados no mercado de produtos veterinários o GnRH, LH ou derivados estrogênicos, como benzoato de estradiol (derivado de ação rápida), o valerato de estradiol (de ação um pouco mais lenta) e o cipionato de estradiol (de longa ação). Ao utilizar hormônios como GnRH observa-se aumento da concentração de LH, determinante para que ocorra a ovulação caso haja um folículo dominante. O mesmo ocorre com o uso de derivados estrogênicos como o benzoato de estradiol, no entanto, quando apenas folículos em fase de recrutamento estão presentes, a inibição da secreção de FSH, será o mecanismo de sincronização da onda. No evento hormonal em que nenhum dos folículos respondem ao hormônio o recrutamento de uma nova onda ocorrerá espontaneamente. Após a ovulação há liberação de um pico de FSH e assim, um novo recrutamento. A administração de LH tem como objetivo uma ação direta sobre o folículo dominante para a sua ovulação. (MELO et al., 2009; COLAZO et al., 2009; TAIRA et al., 2010; BILEGO et al., 2013; EDWARDS et al., 2014; PICARD-HAGEN et al., 2015).

O controle da fase progesterônica ou luteínica, pode ser realizado pela seu prolongamento ou pela sua redução, através do uso de P4 exógena, que inibe o pico de LH e assim a ovulação antes da segunda dose de GnRH, prolongando ou mimetizando a fase lútea. Este hormônio pode ser administrado por via oral, implantes subcutâneos ou dispositivos intravaginais. A utilização de PGF2 α exógena tem como princípio a redução da fase luteínica (luteólise) e, conjuntamente com a retirada dos dispositivos de P4, determina queda abrupta nos níveis de progesterona, simulando as condições fisiológicas do final do diestro (LIMA et al., 2009; HERLIHY et al., 2012; EDWARDS et al., 2014).

Assim como no recrutamento de uma nova onda a ovulação pode ser alcançada por diferentes métodos, como por exemplo pelo aumento das concentrações de LH, através de estímulo da hipófise anterior ou induzir a ovulação com atividade direta sobre o FD. A aplicação de GnRH ou de derivados estrogênicos, produzem uma retroalimentação positiva

(Feedback +) e induzem um pico de LH. O LH exógeno exerce atividade direta sobre seus receptores e induz ovulação. Cada fármaco apresenta um tempo entre sua aplicação e ovulação, que deve ser observado para programação da IA no momento mais adequado (PURSLEY et al., 1995; PURSLEY et al., 1997; LIMA et al. 2007; BISINOTTO et al., 2013).

O exame ultrassonográfico pode auxiliar na tomada de decisão para aplicação ou não da IATF. A triagem ginecológica prévia à IATF se mostra útil para avaliar a viabilidade reprodutiva de cada animal assim como qual protocolo pode ser o mais adequado de acordo com a ciclicidade da fêmea. A ultrassonografia (US) apresenta-se como uma técnica não invasiva, relativamente simples, segura para o técnico e para o animal, e fornece informações rápidas, com interpretação e diagnóstico imediato na maioria das situações, justificando seu uso na triagem prévia a IATF (STEVENSON et al., 2008; BISINOTTO et al., 2013).

Desta forma objetivamos com este trabalho avaliar a importância da triagem ginecológica ultrassonográfica realizada previamente ao início do protocolo de sincronização de vacas leiteiras submetidas à IATF e seu impacto nas taxas de prenhez dos protocolos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Inseminação Artificial, Histórico e Aspectos Gerais

Existem evidências que apontam o uso da Inseminação Artificial desde o século XIV pelos Árabes, porém o marco histórico data de 1780 quando o Italiano Lázaro Spallanzani inseminou com sucesso uma cadela. Na Europa o pioneiro, no uso prático da técnica em bovinos e equinos, foi o russo Ilya Ivanovic Ivanov (BARBOSA & MACHADO, 2008).

Trata-se de uma biotécnica da reprodução que consiste em introdução mecânica do gameta masculino, através de um aplicador de sêmen no trato reprodutivo feminino, para obtenção de prenhez sem a necessidade da monta natural (MN). A técnica permite o melhoramento genético do rebanho, através de transmissão de características desejáveis pelo uso de sêmen de touros testados e dentre as vantagens podemos citar: melhor aproveitamento de reprodutores de alto potencial genético, melhoramento do rebanho em menor tempo e a baixo custo, aumento do número de descendentes de um reprodutor de alto mérito genético, melhor controle sanitário do rebanho, utilização de touros com problemas adquiridos impossibilitados de efetuar a monta, padronização do rebanho com a utilização de um só reprodutor em um grande número de vacas, viabilidade e maior eficiência no teste de progênie, controle de doenças hereditárias (PALHANO et al., 2008).

A relação entre concepção e parição por Monta Natural ou IA são semelhantes, porém utilizando a IA é possível obter mais animais cobertos em um menor período de tempo (SOUZA et al., 2013), contudo esta técnica apresenta algumas limitações, como a necessidade de observação de cio duas vezes ao dia, trabalho este muitas vezes limitado em propriedades de pouca organização da jornada de trabalho, por calendários específicos como datas festivas, finais de semana, dentre outros eventos, a não detecção de cios noturnos, cios de baixa manifestação clínica, necessidade de mão de obra qualificada presente na propriedade, pouco tempo disponível pelo envolvimento do colaborador em várias atividades na propriedade e o anestro pós-parto, com impactos negativos muito significativos em gado de corte (BARROS et al. 1995, GAMBINI et al. 1996). Assim, uma alternativa para otimizar tais limitações é o emprego da sincronização da ovulação para a Inseminação Artificial em Tempo Fixo, que será abordada com maior detalhamento no tópico 2.3 desta revisão.

2.2 Fisiologia e Controle do Ciclo Estral

O profundo conhecimento da endocrinologia do ciclo estral da fêmea bovina permitiu o desenvolvimento de protocolos de manipulação hormonal para inseminação artificial em tempo fixo e outras biotécnicas da reprodução. O processo reprodutivo é cíclico e o uso de controle farmacológico de fases específicas como recrutamento, seleção e ovulação, permite a melhor aplicação da IA e maior eficiência reprodutiva do rebanho (BINELLI et al., 2006).

Em bovinos, o ciclo estral pode ser caracterizado clinicamente pela manifestação de comportamento sexual em quatro fases, sendo elas o *estro* (período de receptividade sexual e manifestação de sinais de cio) que envolve uma fase folicular com predominância estrogênica (17β -estradiol); o *metaestro*, fase que se segue à ovulação e início de luteinização do folículo ovulado, sendo um período de transição do perfil hormonal apresentando concentrações crescentes de progesterona e queda estrogênica, sem receptividade sexual para monta; o *diestro*, caracterizado pela presença de um corpo lúteo (CL) completamente desenvolvido, falta de receptividade sexual para monta e perfil endócrino de maior concentração de progesterona (P4); o *pró-estro*, caracterizado pelo reinício da receptividade sexual e queda da concentração plasmática de P4, com aumentos gradativos de 17β -estradiol, finalizando e reiniciando outro ciclo com uma nova fase de *estro* (CERRI et al., 2011a).

Analisando-se o ciclo estral pela dinâmica folicular ovariana, o ciclo sexual das fêmeas bovinas pode apresentar duas ou três ondas de crescimento folicular, em alguns casos quatro, sendo que a ovulação ocorrerá a partir do folículo dominante (FD) da última onda. Assim, o desenvolvimento folicular é um processo contínuo de crescimento e regressão de um grupo de folículos ovarianos, um dos quais se desenvolve até folículo pré-ovulatório, desta forma, as ondas de crescimento folicular podem ser subdivididas nas fases de recrutamento, seleção e dominância, seguida de ovulação ou atresia do folículo ovulatório (BÓ et al., 2014), sendo que o hormônio folículo estimulante (FSH) e o hormônio luteinizante (LH) atuam na manifestação, manutenção e suspensão destes eventos (AERTS & BOLS, 2010; PICARD-HAGEN et al., 2015).

O recrutamento folicular foi definido como um processo dinâmico, por meio do qual um grupo de folículos antrais com diâmetro de aproximadamente quatro milímetros inicia o desenvolvimento e maturação no ovário, estimulados pelo aumento das concentrações plasmáticas de FSH (BILEGO et al, 2013) e iniciam uma fase de crescimento comum por cerca de três dias (CUMMINS et al., 2012). Em sequência ocorre a predominância de

crescimento de um a dois folículos (dominante e subordinado), iniciando-se a fase de seleção folicular.

A fase de seleção folicular ocorre como um processo pelo qual somente um folículo é selecionado, caracterizando este processo o fenômeno da divergência folicular (CUMMINS et al., 2012) desenrolando-se pela diferença nas taxas de crescimento entre os dois maiores folículos, sendo marcada pela continuidade do desenvolvimento do maior folículo e declínio ou parada no crescimento dos outros (EDWARDS et al, 2014). Quando o maior dos folículos alcança determinado estágio de crescimento, o rápido desenvolvimento do mecanismo da divergência bloqueia o crescimento do segundo maior folículo, antes deste alcançar um diâmetro similar, estabelecendo-se assim a dominância folicular (ROVANI et al., 2014). Conseqüentemente, antes da seleção do folículo dominante, ocorre um processo de seleção que envolve uma ação inibindo o crescimento dos outros folículos na onda (ROVANI et al., 2014).

Sob altas concentrações de P4, produzida pelo CL formado a partir da última ovulação ocorrida, o folículo da primeira onda (para um ciclo de duas ondas) irá entrar em atresia, o que ocorrerá também, com o folículo dominante da segunda onda em um ciclo de padrão de crescimento de três ondas, pois a secreção de LH hipofisário estará bloqueada pelo respectivo hormônio. A regressão do CL (luteólise) é um fenômeno que ocorrerá pela ação da prostaglandina F2 α (PGF2 α) produzida pelo endométrio e liberada de forma pulsátil durante todo o ciclo estral, observando-se um padrão de 3-4 pulsos por dia no início do processo e 5 pulsos diários para sua completa regressão, próximo ao 18^o dia do ciclo (CERRI et al., 2011b), o que determinará conseqüente queda das concentrações plasmáticas de P4 e liberação do bloqueio hipofisário frente ao LH, cuja secreção pulsátil (pico pré-ovulatório) determinará o término do desenvolvimento folicular e conseqüente ovulação do folículo dominante (BINELLI et al., 2006, PALHANO et al., 2008, BARUSELLI et al., 2011).

O recrutamento de uma nova onda folicular sempre ocorrerá após a ovulação ou atresia do FD, em ambos os casos as concentrações de inibina e 17 β -Estradiol (E₂), hormônios produzidos pelo FD, diminuem e deixam de inibir a liberação do FSH. Deve-se, no entanto, levar em consideração que o processo de dinâmica folicular pode ser afetado pelas condições ambientais (estresse térmico, por exemplo, que pode ocasionar a parada da atividade cíclica ovariana) e nível nutricional, pois deficiência energética e protéica impacta negativamente, podendo levar, também, ao anestro (PALHANO, 2008).

Com relação ao anestro de vacas leiteiras, a literatura apresenta diferentes classificações. O anestro fisiológico é caracterizado pela falha no desenvolvimento e ovulação de folículos, de diferentes fases, sem a presença de um corpo lúteo no ovário, ou pela persistência de um CL. Em ambas o animal possui desenvolvimento folicular, porém não ocorre ovulação, os sinais de estro podem estar presentes, independentemente, causam falhas na reprodução e diminuição dos índices de fertilidade (PETER et al., 2009).

2.2.1 Controle do recrutamento folicular

Uma nova onda folicular inicia-se somente após o término da onda anterior, por atresia ou ovulação do folículo dominante, como citado anteriormente, para controlar essa fase diferentes hormônios podem ser utilizados. Para induzir ovulação de um FD são encontrados no mercado de produtos veterinários o GnRH, LH ou derivados estrogênicos, como benzoato de estradiol (derivado de ação rápida), o valerato de estradiol (de ação um pouco mais lenta) e o cipionato de estradiol (de longa ação). Ao utilizar hormônios como GnRH observa-se aumento da concentração de LH, determinante para que ocorra a ovulação caso haja um folículo dominante. O mesmo ocorre com o uso de derivados estrogênicos como o benzoato de estradiol, no entanto, quando apenas folículos em fase de recrutamento estão presentes, a inibição da secreção de FSH, será o mecanismo de sincronização da onda. No evento hormonal em que nenhum dos folículos respondem ao hormônio o recrutamento de uma nova onda ocorrerá espontaneamente. Após a ovulação há liberação de um pico de FSH e assim, um novo recrutamento. A administração de LH tem como objetivo uma ação direta sobre o folículo dominante para a sua ovulação. Sobre derivados estrogênicos deve-se considerar ainda que, o tempo necessário para que ocorra a ovulação varia com as concentrações utilizadas e o tipo de estrógeno utilizado: valerato de estradiol, benzoato de estradiol e cipionato de estradiol (MELO et al., 2009; COLAZO et al., 2009a; TAIRA et al., 2010; BILEGO et al., 2013; EDWARDS et al., 2014; PICARD-HAGEN et al., 2015).

Uma estratégia terapêutica utilizada em gado de corte para o recrutamento folicular é o uso de Gonadotrofina Coriônica Equina (eCG), que diferentemente do GnRH, LH e Benzoato de Estradiol, determinará maior desenvolvimento folicular. Assim, espera-se que o melhor desenvolvimento do FD possa dar origem a um CL de maior massa lútea e conseqüentemente diminuir os riscos de perda embrionária precoce por deficiência de progesterona. A sua utilização em gado de leite ainda apresenta resultados controversos quanto a sua eficiência (TEIXEIRA et al., 2009).

2.2.2 Controle da fase progesterônica

O controle da fase progesterônica ou luteínica, pode ser realizado pela seu prolongamento ou pela sua redução, através do uso de P4 exógena, que inibe o pico de LH e assim a ovulação antes da segunda dose de GnRH, prolongando ou mimetizando a fase lútea. Este hormônio pode ser administrado por via oral, implantes subcutâneos ou dispositivos intravaginais. A utilização de PGF2 α exógena tem como princípio a redução da fase luteínica (luteólise) e, conjuntamente com a retirada dos dispositivos de P4, determina queda abrupta nos níveis de progesterona, simulando as condições fisiológicas do final do diestro (LIMA et al., 2009; HERLIHY et al., 2012; EDWARDS et al., 2014).

2.2.3 Controle da ovulação

A ovulação pode ser alcançada por diferentes métodos, como por exemplo pelo aumento das concentrações de LH, através de estímulo da hipófise anterior ou induzir a ovulação com atividade direta sobre o FD. A aplicação de GnRH ou de derivados estrogênicos, produzem uma retroalimentação positiva (Feedback +) e induzem um pico de LH. O LH exógeno exerce atividade direta sobre seus receptores e induz ovulação. Cada fármaco apresenta um tempo entre sua aplicação e ovulação, que deve ser observado para programação da IA no momento mais adequado (PURSLEY et al., 1995; PURSLEY et al., 1997; LIMA et al. 2007; BISINOTTO et al., 2013).

2.3 Inseminação Artificial em Tempo Fixo

A IA, apesar de ser uma técnica eficiente e de caráter já dominado, possui limitações para a sua expansão, uma vez que apresenta a necessidade de observação dos animais em estro, exigindo mão-de-obra qualificada e disponibilidade de tempo para que a observação seja realizada pelo menos duas vezes ao dia (BARROS et al. 1995, GAMBINI et al. 1996). Uma alternativa para otimizar tais limitações é o emprego da sincronização da ovulação para realização da IATF. Esta técnica tem sido utilizada de forma crescente na rotina das atividades de campo dos médicos veterinários, sendo uma ferramenta importante do manejo reprodutivo de fêmeas bovinas ao proporcionar diversas vantagens dentre as quais destacam-se: aumento da taxa de serviço, concentração do trabalho de IA em dias pré-determinados,

otimização do tempo da mão-de-obra envolvida, planejamento de partos, concentração e planejamento da desmama de bezerras e conseqüentemente da reposição do rebanho e diminuição do período de serviço, o que determina aumento da produção de leite. A escolha de protocolos para IATF deverá passar por análise de características de viabilidade econômica e procedimentos de manejo reprodutivo que envolve a mão de obra da propriedade trabalhada, sendo indispensável à adoção de um manejo adequado para a sua escolha, pois do contrário esta técnica estará sujeita ao fracasso, implicando em gastos desnecessários com medicamentos.

É imprescindível o controle e monitoramento de doenças infecciosas e parasitárias que interferem na reprodução, um bom programa nutricional que atenda às demandas de manutenção, produção e reprodução de cada categoria animal, a previsão de um ambiente favorável buscando sempre condições de conforto para o rebanho. Muitos programas de IA e de IATF fracassam por não serem observadas condições mínimas de sanidade, nutrição, manejo e ambiente.

Para melhorar o controle reprodutivo Pursley et al. (1995) propuseram uma técnica em que o cio das fêmeas pudesse ser sincronizado, para inseminação artificial em tempo fixo, através do uso de protocolo hormonal denominado “OvSynch”. Este protocolo consiste em induzir uma descarga hipofisária de LH e diminuir a liberação de FSH com 100 µg GnRH exógeno, seguido da ovulação de um eventual folículo dominante ou regressão dos folículos e sincronização de uma onda folicular. Este protocolo também controla a duração da fase luteal, pela aplicação de 25 µg de (PGF2α sete dias após o GnRH, gerando assim a luteólise. A ovulação do folículo dominante é produzida por nova aplicação de 100 µg GnRH 30 à 36 horas após à PGF2α. Ainda em pesquisa com “OvSynch”, Pursley et al. (1997) observaram taxas de prenhez similares para o grupo controle e para o grupo “Ovsynch” e maiores taxas de prenhe em vacas com maiores concentrações de progesterona, nestes trabalhos foi demonstrado que o melhor tempo para inseminação após a última aplicação de GnRH ocorreu entre 16 e 24 horas. Outros estudos sobre a fisiologia folicular e controle artificial da fase lútea do ciclo estral realizados por Badinga et al. (1994) e Thatcher et al. (2001) serviram como base para diversos protocolos de sincronização da ovulação. As técnicas baseiam-se na sincronização de ondas foliculares, permitindo a realização da IATF (PURSLEY et al., 1998; STEVENSON et al., 1996).

Em animais *Bos taurus indicus* e *Bos taurus taurus*, o tratamento com o protocolo “OvSynch” seguido de IATF permite a obtenção de taxa de prenhez semelhante as taxas alcançadas em animais inseminados em cio observado, natural ou induzido (ALVAREZ et al., 2003; LIMA et.al, 2009). Este tratamento também permite alcançar maiores taxas de prenhez em um período de 90 dias em relação à IA ou monta natural, porém não aumenta a fertilidade de animais com problemas reprodutivos (ALVAREZ et al., 2003).

Lima et al. (2007) compararam o uso de GnRH e benzoato de estradiol como indutor da ovulação em vacas leiteiras, tendo como base o protocolo “OvSynch”, obtendo melhores resultados com o uso de GnRH. Ainda comparando o uso de GnRH e benzoato de estradiol como indutor da ovulação, FAGRA et al. (2001) avaliou através de ultrassonografia realizada 24 a 35 horas após a indução, a taxa de ovulação em gado leiteiro submetido a dois protocolos para IATF (GnRH + Prostaglandina + GnRH e GnRH + Prostaglandina + benzoato de estradiol), sendo ambos considerados eficientes para promover a ovulação, contudo, encontrou diferença entre ambos com melhores resultados para o grupo que utilizou o GnRH como indutor da ovulação comparado ao grupo benzoato de estradiol (100% e 87,5%, respectivamente).

O desempenho reprodutivo é influenciado por diversos fatores. Altas temperaturas ambientais o comprometem, quando presente no dia da IA ou um dia após, pois diminuem as taxas de prenhez. O uso do “OvSynch” pode incrementar estas taxas em relação aos animais em cio observado, porém, ainda se mantêm abaixo das taxas em animais sem estresse ambiental (FERREIRA et al., 2011; De RENDIS & SCARAMUZZI, 2015).

O período produtivo também interfere diretamente na reprodução. Durante as últimas semanas de gestação e início da lactação, as vacas apresentam um período de balanço energético negativo, caracterizado pela diferença entre a energia consumida e aquela necessária para manutenção e produção, estando associado à perda de peso e condição corporal, atraso na primeira ovulação pós-parto, decréscimo na atividade luteal e anestro, de modo que é indispensável uma suplementação alimentar no intuito de acelerar o reinício da ciclicidade nas vacas pós-parto, via restabelecimento da pulsatilidade normal de LH (SARTORI & GUARDIEIRO 2010). Segundo Herlihy et al. (2013) e Tiezzi et al. (2013), vacas com Escore de Condição Corporal (ECC) entre dois e meio e quatro e meio (escala de 1 a 5) estão aptas a se reproduzir, porém animais classificados com escores fora desta faixa devem ser descartados de protocolos de IATF.

Assim como a temperatura e o período produtivo, a fase de desenvolvimento folicular em que as fêmeas se apresentam no momento da primeira dose de GnRH influencia a taxa de prenhez. Melhores resultados são obtidos quando o cio é observado 12 horas antes ou após a IA (ALVAREZ et al., 2003, EL-ZARKOUNEY et al., 2004, BISINOTTO et al., 2013). Folículos de diâmetros iguais ou superiores a 10 mm podem ser induzidos à ovular em altas concentrações de LH, apesar dessa capacidade, quando folículos com diâmetro menores que 11 mm são ovulados, os CL formados produzem progesterona em menores concentrações e conseqüentemente apresentam menores taxas de gestação. No entanto, esta relação em folículos de ovulação espontânea não foi encontrada (PERRY et al., 2005).

O uso da progesterona exógena, através de dispositivos, pode incrementar a prenhez (EL-ZARKOUNEY et al., 2004; STEVENSON et al., 2006 e 2008; LIMA et al., 2009; BISINOTTO et al. 2013 e 2015). Em animais acíclicos, em proestro, estro e metaestro o uso de dispositivos de progesterona é benéfico e aumenta a taxa de prenhez ao final do protocolo. Este hormônio ainda impede uma ovulação precoce (CHEBEL et al., 2010) e prepara o útero para desenvolver uma gestação (STEVENSON et al., 2006; EL-ZARKOUNEY et al., 2004; LIMA et al, 2010; BISINOTTO et al., 2013).

Além disso, baixas concentrações de progesterona permitem maiores concentrações e duração da liberação de LH endógeno, desta forma, folículos que crescem neste quadro hormonal podem ter seus oócitos ativados prematuramente, diminuindo sua fertilidade (LUTTGENAU, 2011). Por outro lado, em altas concentrações a progesterona pode induzir a atresia folicular (BISINOTTO et al 2015) e diminuir o crescimento folicular e em animais no final do diestro o que prejudica a produção endógena de P4 (EL-ZARKOUNEY et al., 2004; LIMA et al., 2009). Ressalta-se que os benefícios deste hormônio na IATF só foram observados em animais que iniciaram o protocolo sem a presença de um CL (STEVENSON et al., 2008; COLAZO et al., 2013; BISINOTTO et al., 2013 e 2015). Quando a P4 está em concentrações muito elevadas, em animais com CL e dispositivo ou quando se usa dois dispositivos, a taxa de prenhez tende a diminuir (STEVENSON et al., 2008) ou então não promove ganhos (CHEBEL et al., 2010).

Presume-se que a aplicação exógena de LH aumente suas concentrações plásmaticas produzindo um maior folículo, que possibilitaria o desenvolvimento de um maior CL com maior produção de progesterona. Contudo, o uso de LH como indutor de ovulação ainda é controverso. Estudos realizados com novilhas por Ambrose et al.(2005) revelaram que o hormônio produziu ovulação porém com grande dispersão entre os animais, diminuindo assim

a taxa de prenhez do protocolo. Em vacas o aumento da P4 também não foi encontrado (REE et al., 2009; COLAZO et al., 2009a; TAIRA et al., 2010), mas o uso do LH como indutor de ovulação possibilita o aumento da taxa de prenhez em relação ao GnRH (COLAZO et al. 2009b).

2.4 Triagem Ginecológica

Diante da necessidade de melhorar a performance reprodutiva em bovinos, Anderson et al. (1991) e Ferreira et al. (1999) relataram a importância da triagem de fêmeas bovinas pela palpação retal, para avaliação de características reprodutivas, dentre elas: tamanho do corno uterino, tônus uterino, tamanho dos ovários, presença de estruturas ovarianas como corpo lúteo e folículos. Segundo estes autores, esta seleção poderia ser útil para a predição da fertilidade destas fêmeas.

Neste sentido, Ribeiro Filho et al. (2002) consideraram a possibilidade destas características reprodutivas influenciarem os resultados após a IATF em gado zebuino. Assim, através de triagem, avaliaram a influência da presença ou ausência de CL, do tônus uterino e da ordem de parição sobre a taxa de prenhez de vacas zebuínas frente a três protocolos de sincronização de estro e da ovulação. Eles concluíram que a avaliação das características reprodutivas influenciou positivamente nas taxas de prenhez entre os protocolos de sincronização apresentados.

Palhano et al. (2012), trabalhando com um rebanho de 490 vacas de corte aneladas, avaliaram o impacto da triagem ginecológica através da palpação retal previamente à programas de IATF. Estes autores utilizaram uma combinação de progestágenos com o protocolo “OvSynch” e com o protocolo “Co-Synch”. Foram observadas diferenças entre os grupos “OvSynch” com e sem triagem (82,4% e 48,5%), “OvSynch” +P4 com e sem triagem (85,1% e 58,2%) e *Co-Synch* com e sem triagem (80% e 41,8%) na taxa de prenhez, concluindo que a triagem de vacas, baseada na ciclicidade dos ovários, antes de programas de IATF, pode contribuir significativamente no incremento das taxas de prenhez e de prenhez total.

As mudanças cíclicas que ocorrem no ovário como desenvolvimento e regressão de um corpo lúteo e o crescimento de ondas foliculares podem dificultar a avaliação ginecológica. Chacur *et al.* (2006), através da morfometria de ovários coletados em matadouros, observaram 26% de corpos lúteos inclusos, sendo que essas estruturas podem

resultar em falhas durante o exame de palpação retal para estimar a atividade ovariana, o que dificulta a triagem de fêmeas para inserção em programas de IATF.

2.5 Ultrassonografia (US)

O diagnóstico de gestação por ultrassonografia apresenta vantagens sobre outros métodos. Por não ser invasivo e formar imagens em tempo real do trato reprodutivo da fêmea bovina, permite uma avaliação segura e melhor controle reprodutivo, possibilitando planejamento e ganhos em produção (GINTHER, 2014). Atualmente a US é utilizada rotineiramente na medicina veterinária, principalmente nas avaliações obstétricas e ginecológicas, por apresentar grande potencial para o entendimento dos processos reprodutivos e maximização da eficiência reprodutiva (GINTHER, 2014). A técnica é eficaz para diagnóstico precoce de prenhez aos 25 dias, para avaliação das perdas embrionárias de 25 a 45 dias e fetais dos 45 aos 60, além da sexagem aos 60 dias, permitindo abreviar o intervalo de partos (IP) para ganhos em produtividade (ADEYINKA et al., 2014).

A US permite ainda avaliar a dinâmica folicular e é utilizada por pesquisadores para avaliar eficácia de protocolos de IATF no recrutamento de uma onda folicular, seleção de um folículo dominante e ovulação (BARUSELLI et al. 2009; TAIRA et al, 2010; BARBOSA et al.; 2011).

O exame ultrassonográfico pode auxiliar na tomada de decisão para aplicação ou não da IATF. A triagem ginecológica prévia à IATF se mostra útil para avaliar a viabilidade reprodutiva de cada animal assim como qual protocolo pode ser o mais adequado de acordo com a ciclicidade da fêmea. A US apresenta-se como uma técnica não invasiva, relativamente simples, segura para o técnico e para o animal, e fornece informações rápidas, com interpretação e diagnóstico imediato na maioria das situações, justificando seu uso na triagem prévia a IATF (STEVENSON et al., 2008; BISINOTTO et al., 2013).

Em medicina veterinária, para efeitos de diagnóstico da conformação e das alterações dos órgãos e tecidos moles internos, utilizam-se transdutores com frequências entre um e dez MHz (SCULLY et al., 2015). No entanto, para a generalidade dos exames de rotina do foro reprodutivo em bovinos, as frequências entre 5,0, 7,5 e 10,0 MHz são as mais adequadas.

O transdutor (sonda ecográfica) é constituído por cristais que, por deformação, podem receber as ondas reflectidas e transformá-las em energia elétrica. Esta capacidade de transformação de energia elétrica em energia radiante mecânica e vice-versa denomina-se efeito piezoelétrico (LEE, 2010). Em menos de um milésimo de segundo o equipamento emite

de 3 a 6 ciclos de ultrassons, sendo os ecos recebidos antes de uma nova emissão pelos mesmos cristais que os emitiram (LEE, 2010). Após detecção, os impulsos são transformados em corrente elétrica proporcional à sua intensidade. Estes sinais elétricos são amplificados e processados para posterior visualização (LEE, 2010).

Quanto maior for a frequência (a resolução acústica aumenta com o aumento da frequência), menor será a sua capacidade de penetração nos meios de propagação. Por este motivo utilizam-se frequências iguais ou menores que 5 MHz para efetuar diagnósticos ecográficos em tecidos ou órgãos localizados mais profundamente em relação à superfície do animal (FISH, 1990). Desta forma, quanto menor a frequência da onda utilizada (3,0 e 3,5 MHz), maior é a penetração do feixe sonoro, visualizando-se tecidos mais profundos, contudo, com uma menor resolução de imagem, ocorrendo o inverso com frequências maiores, tomando imagens mais superficiais (5,0; 7,5 e 10,0 MHz) e de melhor resolução (LEE, 2010, GINTHER, 2014). Assim, tecidos de grande capacidade de reflexão do eco, e tecidos de maior densidade, apresentam imagens em tons mais claros, dizendo-se que a imagem é mais ecogênica. Superfícies com ar refletem quase totalmente as ondas emitidas, gerando uma imagem clara, branca. Os tecidos de baixa densidade apresentarão menor capacidade de reflexão do eco. O líquido apresenta baixa ecogenicidade (hipoecogênico ou anecóico) por ser um meio de baixa densidade.

Na maioria das fazendas o uso de manejos reprodutivos se estendem à todo rebanho da mesma forma, porém a separação em grupos pode gerar melhores resultados. O uso da ultrassonografia é comprovadamente eficaz para avaliar a presença de estruturas ovarianas no início do protocolo e assim manejar os animais de acordo com sua ciclicidade (STEVENSON et al., 2008; BISINOTTO et al., 2013).

Atualmente o uso de ultrassonografia na rotina de médicos veterinários à campo se tornou mais comum, um dos fatores que contribui para esta realidade é que o custo de um aparelho reduziu durante os anos, sendo possível adquirir um ultrassom com investimento de cerca de R\$ 11.000,00 o que melhora o custo benefício da aquisição.

3 HIPÓTESES

- A triagem ginecológica ultrassonográfica realizada previamente ao início do protocolo de sincronização da ovulação melhora as taxas de prenhez e de prenhez total de vacas leiteiras em programas de IATF.
- O uso do LH como indutor da ovulação em protocolos de IATF incrementa a taxa de prenhez de vacas leiteiras em programas de IATF.
- Utilizar dispositivos intravaginais de progesterona em protocolos de IATF melhora as taxas de prenhez.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo Geral

- Avaliar a importância da triagem ginecológica ultrassonográfica realizada previamente ao início do protocolo de sincronização de vacas leiteiras submetidas à IATF.

4.2 Objetivos Específicos

- Avaliar o efeito da progesterona acrescida ao protocolo de IATF na taxa de prenhez de fêmeas que se apresentavam acíclicas no início do tratamento;
- Avaliar o LH como indutor da ovulação em protocolos de IATF;
- Avaliar a viabilidade econômica da triagem ginecológica em programas de IATF de vacas leiteiras.
- Avaliar o efeito do ECC sobre as taxas de prenhez e prenhez total dos protocolos.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Local do Estudo

Este experimento foi desenvolvido na Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro (PESAGRO-RIO) na área de Bovinos de Leite do Centro Estadual de Pesquisa em Agricultura Orgânica localizada no município de Seropédica-RJ (latitude: 22° 46'56.S; longitude: 43° 39'41.O).

5.2 Período do Experimento e Ambiente

O estudo foi realizado de acordo com o manejo reprodutivo da referida instituição, que adota duas estações de montas. A primeira estação compreendida entre os meses de janeiro a março e a segunda estação de junho a agosto. O experimento foi realizado na primeira estação (janeiro a março) dos anos de 2013 e 2014.

5.3 Animais

Foram utilizadas 120 vacas Girolando (Figuras 1A e 1B), secas (n=61) ou em lactação (n=59), mantidas em sistema semi-intensivo, em piquetes de capim-Braquiária (*Brachiaria decumbens*) com acesso à água e sal mineral *ad libitum*. Foram selecionadas para o experimento vacas multíparas com período voluntário de espera maior que 45 dias e pelo escore de condição corporal (ECC) $\geq 2,5$ em escala de 1 a 5 (1 muito magra e 5 muito gorda). Para avaliar o efeito do ECC sobre as taxas de prenhez e de prenhez total, os animais foram divididos em três grupos: $2.5 \leq \text{ECC} < 3$; $3 \leq \text{ECC} < 4$ e $4 \leq \text{ECC} < 4.5$, e para avaliar o efeito sobre a ciclicidade foram divididos em animais pesados ($3 \leq \text{ECC} \leq 4.5$) ou moderados ($2.5 \leq \text{ECC} < 3$). Nenhum animal com escore menor que 2.5 ou maior que 4.5 foi incluído no trabalho.



Figura 1. A e B. Vacas Girolando utilizadas no projeto.

5.4 Controle Sanitário do Rebanho

O rebanho possui controle de Brucelose e Tuberculose como preconizado pelo Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT), com imunização com a vacina B19 para fêmeas de 3 a 8 meses de idade e animais com mais de 24 meses testados para Brucelose e Tuberculose. Também é realizada vacinação para prevenção de Febre Aftosa. Para o experimento foram realizados exames laboratoriais de vírus neutralização para diagnóstico de Rinotraqueíte Infecciosa Bovina (IBR), Diarréia Viral Bovina (BVD) e Vulvovaginite Pustular Infecciosa (IPV), de soroglutinação microscópica para Leptospirose (sorovares: *Hardjo*, *Pomona*, *Wolffi*, *Autumnalis*, *Castellonis*, *Australis*) e de imunofluorescência indireta (IFAT) para Neosporose. Todos os exames foram realizados no ano de 2013 por amostragem, enviados para o Instituto Biológico de São Paulo e para Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Não foram realizados exames para diagnóstico de Trichomonose e Campilobacteriose pelo uso exclusivo de IA na instituição.

5.5 Grupo de Estudo com Triagem por Ultrassonografia

As 120 fêmeas do plantel, selecionadas pelos critérios descritos no item 5.3, foram divididas aleatoriamente em dois grupos: com e sem triagem. Os animais do grupo com triagem (n=58) passaram por exame ultrassonográfico (Mindray DP 2200-Vet, transdutor retal multifrequencial utilizando frequência de 5 MHz), realizado pelo mesmo veterinário, imediatamente antes da sincronização, para avaliar a ciclicidade (presença ou ausência de corpo lúteo - Figura 2) e presença de folículo no início do protocolo. O diâmetro do folículo foi mensurado através das duas maiores medidas que formavam ângulos de 90° na imagem ultrassonográfica.



Figura 2. Imagem ultrassonográfica dos ovários de vaca durante triagem ginecológica. À esquerda, imagem de dois folículos menores de 10 mm e a direita imagem de um corpo lúteo.

As fêmeas que apresentaram CL ou FL com diâmetro ≥ 10 mm (Figura 3), detectado em um dos ovários, foram sincronizadas com o protocolo **I – “OvSynch”** (OV; n=41). Este consistiu da aplicação de 1 ml de GnRH (0.025 mg acetato de buserelina) no primeiro dia do protocolo, considerado D0; 2 ml de PGF2 α (0.15 mg d-Cloprostenol) em D7; uma segunda dose de 1 ml de GnRH em D9 com IATF 24 horas após esta última aplicação (Figura 5).

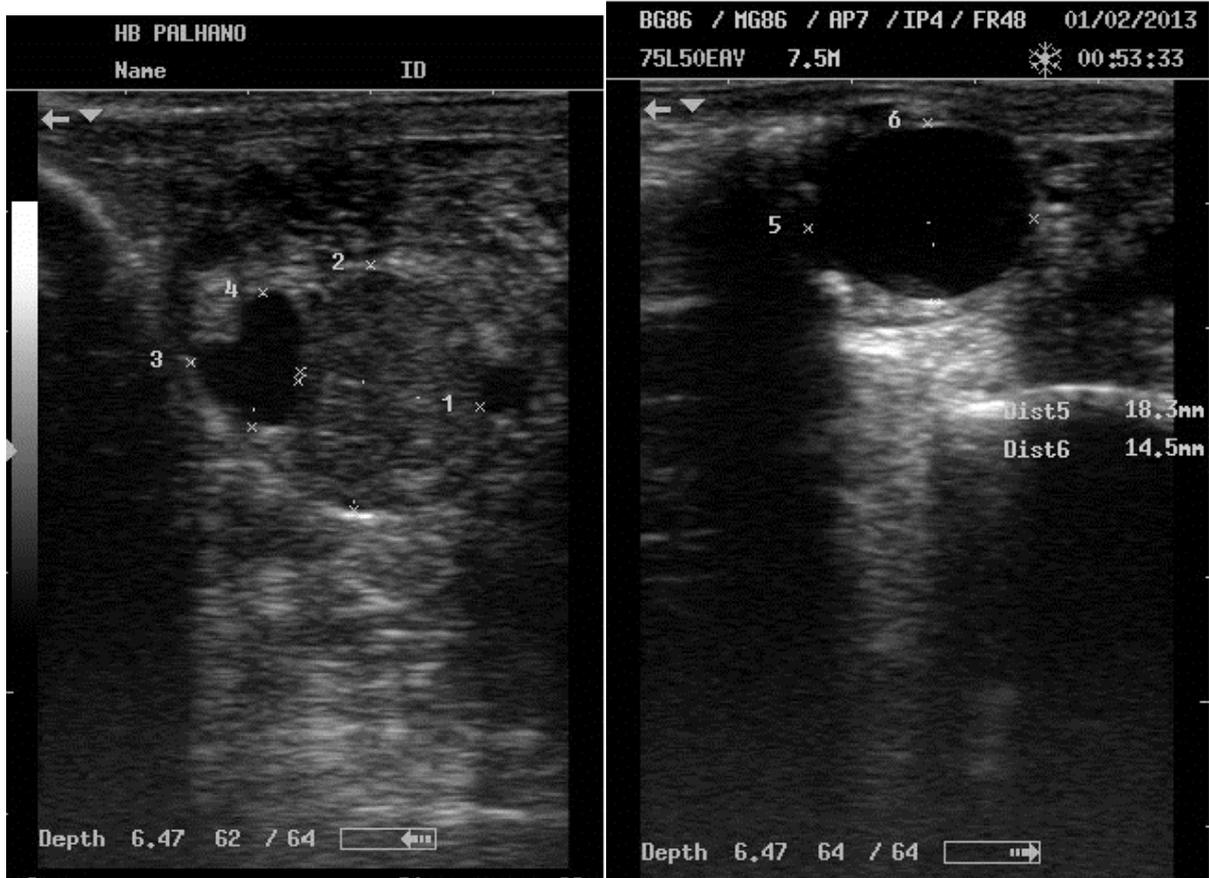


Figura 3. Imagem ultrassonográfica dos ovários de vaca durante triagem ginecológica. À esquerda, imagem de um corpo lúteo e a direita imagem de folículo de diâmetro maior que 10 mm.

Quando nenhuma das estruturas foi diagnosticada ou então somente FL com diâmetro <10 mm (Figura 4) em um dos ovários, foi utilizado o protocolo **II** – “OvSynch” + **Progesterona** (OP4; n=10) ou **III** – “OvSynch” + **P4** + **LH** (OP4LH; n=7), aleatoriamente (Figura 5). Ambos os grupos seguiram as mesmas dosagens do “OvSynch” porém foi associado ao **OvSynch** um dispositivo intravaginal de primeiro uso contendo 1g de progesterona sendo este inserido em D0 e retirado em D7. Para o grupo III, o LH foi utilizado como indutor da ovulação, com aplicação de 2 mL (25 mg) em D9. Todas as aplicações foram feitas por via intramuscular pelo mesmo técnico.



Figura 4. Imagem ultrassonográfica do ovário de vaca durante triagem ginecológica. Imagem de folículo de diâmetro menor que 10 mm.

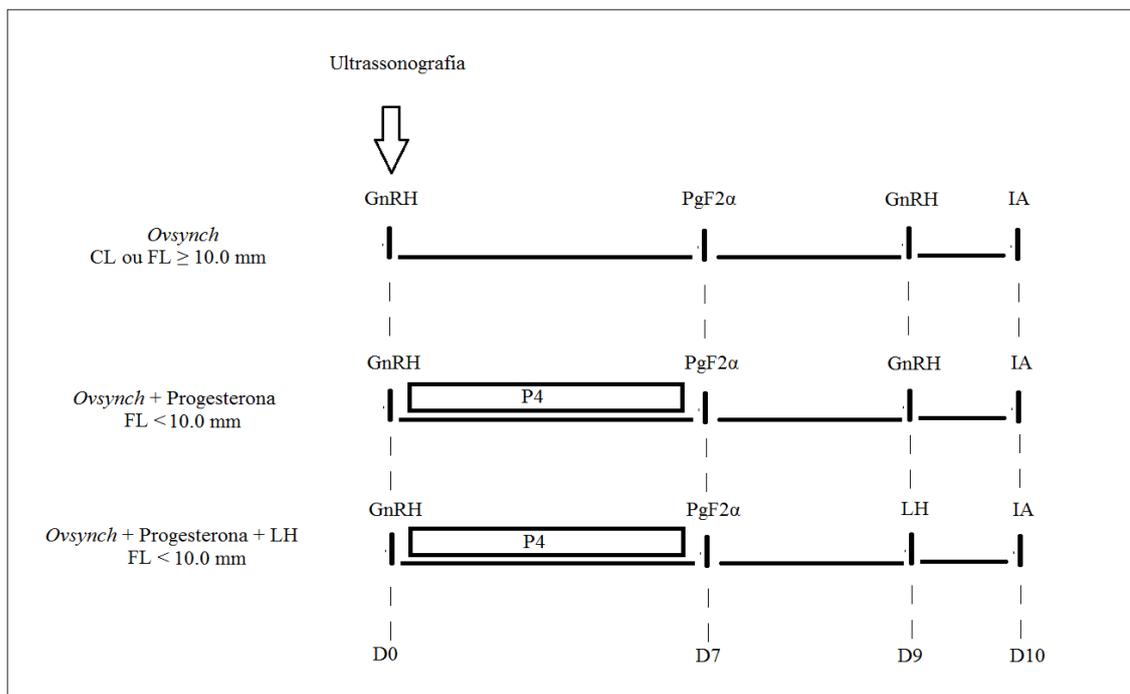


Figura 5. Protocolos hormonais para IATF: “OvSynch” para fêmeas com CL ou FL ≥ 10 mm e “OvSynch” + Progesterona ou “OvSynch” + Progesterona + LH para fêmeas com FL <10 mm.

As inseminações foram realizadas utilizando sêmen congelado de dois touros previamente escolhidos para acasalamento pelo técnico responsável pela instituição. As doses foram mantidas em botijão separado e lacrado com verificações mensais do nível de nitrogênio. O descongelamento foi auxiliado por aparelho de banho-maria com termômetro para manter a temperatura em torno de 37°C. Os animais foram inseminados em tronco de contenção para facilitar o manejo, sempre no começo da manhã ou no final da tarde, após a realização da ordenha, para evitar o estresse térmico, obedecendo ainda o horário após a indução de ovulação (24 horas).



Figura 6. A) Fêmea em tronco de contenção; B) Retirada das fezes por palpação retal; C) Encaixe da palheta de sêmen descongelada em bainha de plástico descartável; D) Aplicador em posição vertical; E) Montagem do aplicador de sêmen.

5.6 Grupo de Estudo sem Triagem por Ultrassonografia

As fêmeas do grupo sem triagem (n=62) foram divididas aleatoriamente nos mesmos três protocolos do grupo com triagem: **I-“OvSynch”** (OV; n=21); **II-“OvSynch” + Progesterona** (OP4; n=21); **III-“OvSynch” + Progesterona + LH** (OP4LH; n=21) (Figura 7). As inseminações e as aplicações ocorreram do mesmo modo realizado no grupo com triagem.

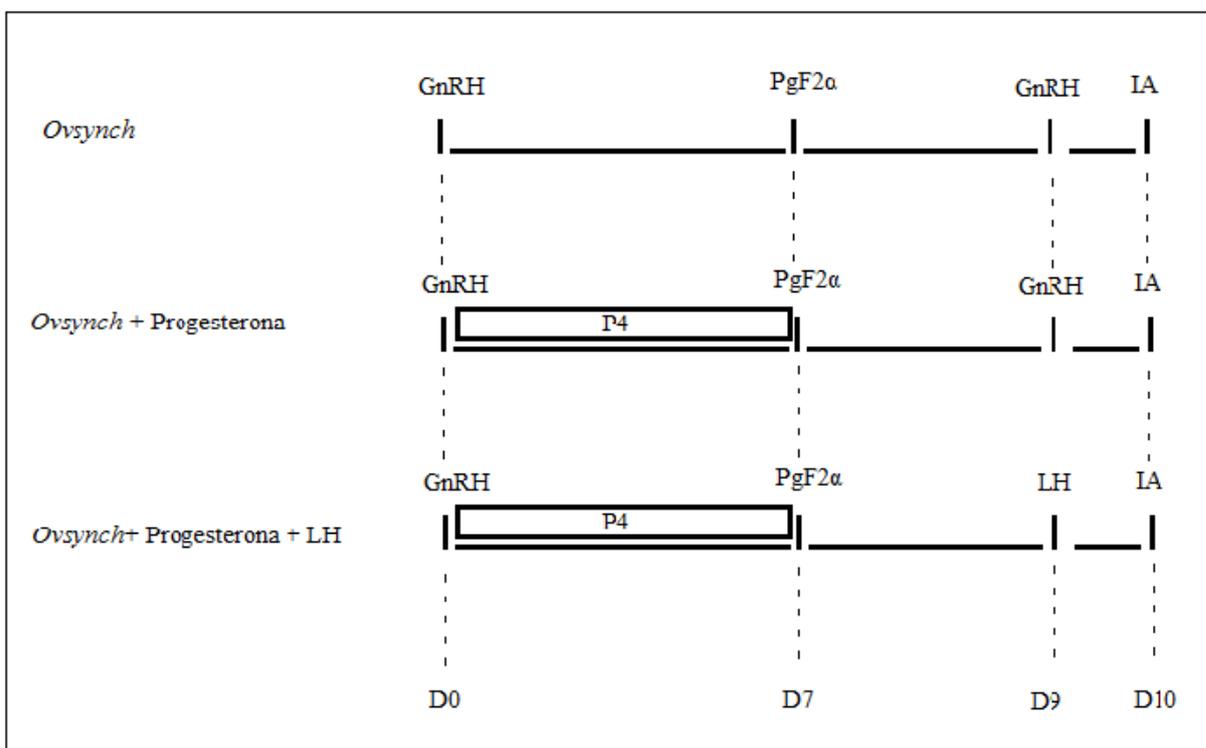


Figura 7. Protocolos do grupo sem triagem, “OvSynch”, “OvSynch” + P4 e “OvSynch” + P4 + LH.

5.7 Diagnóstico de Gestação e Cio de Retorno

Após a IATF os animais foram submetidos à observação de cio duas vezes ao dia (manhã e tarde) e aqueles que apresentaram cio, à partir de 24 horas depois da IA, foram considerados vazios. As fêmeas que apresentaram cio foram reinseminadas 12 horas após a identificação do mesmo. Passados 45 dias após a inseminação, foi realizado diagnóstico de gestação por ultrassonografia transretal, sendo que os animais diagnosticados vazios continuaram sob observação de cio sendo reinseminados 12 horas após a manifestação.

5.8 Análise Estatística

Foram avaliados os seguintes parâmetros: taxa de prenhez (número de fêmeas gestantes da IATF / número de fêmeas protocoladas) e taxa de prenhez total (número de fêmeas gestantes da IATF + do cio de retorno / número de fêmeas protocoladas). Foram comparados todos os protocolos dentro e entre os grupos. Também foram avaliadas as taxas de prenhez e de prenhez total em relação às estações de monta (2013 e 2014), ao ECC e à fase produtiva do animal (lactante ou seca). A análise estatística foi realizada pelo teste de Qui-quadrado com nível de significância de 5%. Quando este teste não pode ser utilizado foi usado o teste Exato de Fisher com significância de 5%. O teste Z foi utilizado, com nível de significância de 5% para avaliar a interferência da Neosporese nos parâmetros reprodutivos da instituição.

5.9 Viabilidade Econômica

Para identificar o protocolo mais viável economicamente (mais efetivo com menor custo), foi levado em consideração o custo por prenhez (custo total / número de animais prenhez) de cada protocolo. O custo total foi calculado pelo preço do protocolo, definido pela soma do valor da dose de sêmen mais os valores das doses de hormônios (GnRH, PGf2 α e LH) e 1/3 do valor do dispositivo de progesterona (considerando que os dispositivos podem ser utilizados até três vezes) quando incluídos no protocolo, multiplicado pelo número de animais. Foi avaliada também a viabilidade da triagem ultrassonográfica, considerando duas hipóteses: se a propriedade mantém assistência veterinária fixa, o custo da US por animal não foi contabilizado; se a propriedade não possui assistência veterinária fixa, foi adicionado ao cálculo este custo (R\$ 12 / animal). Estes parâmetros foram desenvolvidos pela equipe de pesquisa para avaliar a viabilidade econômica dos protocolos dos diferentes grupos.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Resultados dos Índices Climáticos nas estações de 2013 e 2014

Em 2013, a primeira estação apresentou Temperatura Média Máxima (TM _{MÁX}) de 31,8° C, Temperatura Média Mínima (TM _{MÍN}) de 24,15° C, Temperatura Média (TM) de 28° C e umidade relativa do ar de 76%. Em 2014, a TM _{MÁX} foi de 32,24° C, T _{MÍN} de 24,8° C, TM de 29,24° C e umidade relativa do ar de 68%.

Foi observada diferença estatística entre as taxas de prenhez nas estações de 2013 e 2014 (20,0% e 40,0%, respectivamente), porém não houve nas taxas de prenhez total (61,5% e 67,3%, respectivamente). As diferenças encontradas podem ser atribuídas por alterações climáticas, como encontrado por Ferreira et al. (2011) e relatado por De Rensis et al. (2015), contudo, este experimento não foi delineado para avaliar o impacto do clima na reprodução.

6.2 Efeito do Escore de Condição Corporal nas Taxas de Prenhez e PrenhezTotal

O número de animais em cada classe de acordo com o ECC assim como as taxas de prenhez e de prenhez total por grupo estão apresentados na tabela 1. Não houve diferença estatística entre o número de animais em cada grupo de ECC nas estações de monta de 2013 e 2014. Também não houve diferença entre as taxas de prenhez total dos animais nas três diferentes classes. Não houve diferença ($p > 0.05$) ainda, da taxa de prenhez total (IATF + cio de retorno) dos animais dos três grupos de escore corporal.

Tabela 1. Número de vacas girolando nas três classes de ECC ($2.5 \leq \text{ECC} < 3$, $3 \leq \text{ECC} < 4$ e $4 \leq \text{ECC} < 4.5$) definidas para o experimento, nas estações de monta de 2013 e 2014 e taxas de prenhez e de prenhez total por classe de ECC agrupando os resultados das duas estações.

ECC	Número de animais em 2013 (n=65)	Número de animais em 2014 (n=55)	Taxa de Prenhez (n=120)	Taxa de Prenhez Total (n=120)
$2.5 \leq \text{ECC} < 3$ (n=24)	13	11	05/24 (20,8%)	16/24 (66,7%)
$3 \leq \text{ECC} < 4$ (n=79)	41	38	28/79 (35,4%)	52/79 (65,8%)
$4 \leq \text{ECC} < 4.5$ (n=17)	11	06	02/17 (11,8%)	09/17 (52,9%)

ECC = Escore de Condição Corporal (escala de 1 a 5)

Taxa de Prenhez = Número de animais prenhez à IATF dividido pelo número de animais inseminados

Taxa de Prenhez Total = Número de animais prenhez à IATF + Cio de Retorno dividido pelo número de animais inseminados

Com relação ao impacto do escore de condição corporal sobre a taxa de prenhez nos grupos analisados, observou-se resultados pouco satisfatórios quando o ECC foi superior a 4 (taxa de prenhez = 11,8%) e entre 2,5 a 3 (taxa de prenhez = 20,8%) mas não houve diferença estatística. Desta forma, nossos resultados diferem dos dados apresentados por Herlihy et al. (2013) e Tiezzi et al. (2013) que indicaram perdas na taxa de prenhez quando as fêmeas encontram-se muito pesadas ($\text{ECC} > 4$), ou muito magras ($\text{ECC} < 2,5$). Uma explicação para o fato de distintas classes de ECC não apresentarem diferença entre as taxas de prenhez pode ser o reduzido número de animais em alguns grupos (protocolos) do presente trabalho. Ainda com relação ao impacto do ECC na atividade reprodutiva, a ciclicidade não foi afetada pela condição corporal, não tendo sido observada diferença significativa na ciclicidade entre animais de peso moderado ($2.5 \leq \text{ECC} < 3$; 50% cíclicos) ou animais pesados ($3 < \text{ECC} \leq 4.5$, 65%; cíclicos), não estando de acordo com os dados relatados por Stevenson et al. (2006) e Herlihy et al. (2013) que relatam diferenças significativas em fêmeas de alta produção, podendo o efeito estar relacionado ao acelerado metabolismo geral dos animais deste perfil genético.

6.3 Resultados de exames laboratoriais e interferência na reprodução

Com relação aos exames de IBR, BVD, IPV e Leptospirose, o rebanho foi testado para essas doenças não observando incidência das mesmas no rebanho, tendo apresentado 27,5% de vacas positivas para Neosporose, em um total de 80 vacas testadas, contudo, não tendo sido detectado efeito de reação de Neospora sobre as taxas de prenhez e desenvolvimento da gestação nos animais trabalhados, segundo análise estatística. Atualmente o rebanho também apresenta resultados negativos para Brucelose e Tuberculose.

6.4 Efeito da Categoria Produtiva nas Taxas de Prenhez e Prenhez Total

A média de lactação dos animais foi de 13.5 litros. Não houve diferença estatística ($p>0.05$) entre as taxas de prenhez e prenhez total entre as duas categorias (Tabela 2).

Tabela 2. Taxas de prenhez e de prenhez total de vacas girolando lactantes e secas agrupando os resultados das duas estações.

	Categoria Produtiva	
	Lactantes (n=59)	Secas (n=61)
Taxa de Prenhez (n=120)	19/59 (32,2%)	16/61 (26,2%)
Taxa de Prenhez Total (n=120)	42/59 (71,2%)	35/61 (57,4%)

Taxa de Prenhez = Número de animais prenhez à IATF dividido pelo número de animais inseminados

Taxa de Prenhez Total = Número de animais prenhez à IATF + Cio de Retorno dividido pelo número de animais inseminados

Segundo Sartori & Guardieiro (2010), fêmeas em início da lactação e balanço energético negativo (BEN) apresentam com maior frequência falhas de ciclicidade e de prenhez o que dificulta o estabelecimento de uma nova prenhez, o que não foi observado neste estudo quando foram comparadas as taxas de prenhez e de prenhez total entre vacas lactantes e secas, o que pode estar relacionado a um baixo perfil metabólico em função da baixa média de produção leiteira (13.5litros/vaca/dia) do rebanho da PESAGRO-RIO, assim o balanço energético negativo, não influenciou negativamente a reprodução, quando avaliada a ciclicidade e a taxa de prenhez encontrada para a população estudada.

6.5 Efeito da Ciclicidade nas Taxas de Prenhez e Prenhez Total

Foram diagnosticados 29,3% (17/58) dos animais sem CL ou FL com diâmetro < 10 mm, sendo estes animais considerados acíclicos ou em anestro. Neles, foram utilizados protocolos com dispositivo de progesterona. Não houve diferença estatística ($p>0.05$) entre a taxa de prenhez em relação a ciclicidade dos animais (cíclicos 36,6% e acíclicos 11,8%). Também não foi encontrada diferença estatística ($p>0.05$) entre as taxas de prenhez, sendo que 71,0% dos animais que se apresentaram cíclicos ficaram prenhes e 52,9% dos animais acíclicos foram diagnosticados positivos para prenhez na ultrassonografia (Tabela 3).

Tabela 3. Taxas de prenhez e de prenhez total de vacas girolandas cíclicas e acíclicas, diagnosticadas por US, agrupando os resultados das duas estações.

	Ciclicidade	
	Cíclicos (n=41)	Acíclicos (n=17)
Taxa de Prenhez (n=58)	15/41 (36,6%)	02/17 (11,8%)
Taxa de Prenhez Total (n=58)	34/41 (70,7%)	09/17 (52,9%)

Taxa de Prenhez = Número de animais prenhez à IATF dividido pelo número de animais inseminados.

Taxa de Prenhez Total = Número de animais prenhez à IATF + Cio de Retorno dividido pelo número de animais inseminados.

Foi avaliada também a influência do escore de condição corporal sobre a ciclicidade dos animais. Assim, 50% (5/10) das fêmeas do grupo com peso moderado apresentaram CL ou Fl >10 mm e 65% (35/48) das vacas pesadas apresentavam estas estruturas ao exame ultrassonográfico. Não houve diferença estatística ($p>0.05$) na proporção de animais cíclicos entre os grupos (Tabela 4).

Tabela 4. Frequência absoluta e frequência relativa de vacas girolanda cíclicas e acíclicas em relação ao escore de condição corporal (ECC), agrupando os resultados das duas estações.

ECC	Acíclico (n=18)	Cíclico (n=40)
2.5 ≤ ECC < 3 (Moderado, n=10)	05/10 (50,0%)	05/10 (50,0%)
3 ≤ ECC ≤ 4.5 (Pesado, n=48)	13/48 (27,08%)	35/48 (72,92%)

ECC = Escore de Condição Corporal (escala de 1 a 5)

No presente estudo, 29,3% (17/58) dos animais que passaram por triagem foram considerados acíclicos, estando de acordo com os dados de Stevenson et al. (2006 e 2008), Lima et.al., (2009), Chebel et al. (2010) e Denicol et al. (2012) que relatam a ocorrência de 5 a 40% de animais acíclicos nos rebanhos leiteiros estudados. Não houve diferença na taxa de prenhez à IATF quando comparados animais cíclicos e acíclicos (36,6% e 11,8%, respectivamente), contrapondo os achados de Stevenson et al. (2006, 2008), Lima et.al., (2009), Chebel et al. (2010), Denicol et al. (2012), que observaram menores taxas de prenhez em animais em anestro. Também não se observou diferença significativa na taxa de prenhez total (IATF + IA cio de retorno) entre fêmeas cíclicas e acíclicas deste experimento (80,0% e 71,0%, respectivamente) diferindo daquelas encontradas por Chebel et al.(2010). Estes resultados demonstram que a triagem para direcionamento de protocolos pode equiparar as taxas de prenhez de animais independente de sua ciclicidade corroborando com os dados relatados por Stevenson et al. (2008). Assim como nos estudos de Chebel et al. (2010) e Bisinotto et al. (2013), esperava-se que a manutenção da gestação de animais acíclicos fosse menos eficiente, fundamentada pelo ambiente uterino inadequado relacionado a insuficiente concentração plasmática de progesterona, contudo, este efeito não foi encontrado na população estudada.

6.6 Efeito das Estações Reprodutivas Sobre as Taxas de Prenhez, de Prenhez Total e Ciclicidade dos Animais

O experimento ocorreu na primeira estação de monta, janeiro a março, dos anos de 2013 e 2014. A taxa de prenhez do ano de 2014 foi superior ao de 2013 ($p < 0.05$). Porém, quando comparada a taxa de prenhez total entre os anos, não houve diferença estatística

($p > 0.05$) entre 2013 e 2014 (61,5% e 67,3%, respectivamente), conforme demonstrado na tabela 5. A percentagem de animais cíclicos e acíclicos não variou entre as estações (Tabela 6).

Tabela 5. Taxa de prenhez, taxa de prenhez total nas estações de monta de 2013 e 2014.

	Taxas de Prenhez e Prenhez Total	
	Taxa de Prenhez (n=120)	Taxa de Prenhez Total (n=120)
2013 (n=65)	13/65 (20%) ^b	40/65 (61,5%)
2014 (n=55)	22/55 (40%) ^a	37/55 (67,3%)

^{a,b} Valores com letras sobrescritas diferentes dentro da mesma coluna apresentam diferença estatística ($p < 0,05$).

Tabela 6. Frequência absoluta e frequência relativa de fêmeas girolando cíclicas e acíclicas nas estações de 2013 e 2014.

	Ciclicidade (n=58)	
	Acíclicos (n=18)	Cíclicos(n=40)
2013 (n=31)	11/31 (35,5%)	20/31 (64,5%)
2014 (n=27)	7/27 (25,9%)	20/27 (74,1%)

Houve disparidade entre os resultados de 2013 e 2014, no primeiro ano foram próximos aos encontradas por Chebel et al. (2010) porém inferiores ao trabalho de Stevenson et al.(2006), já em 2014 o contrário ocorreu. Como discutido anteriormente estas diferenças podem ter sido geradas por alterações climáticas, como encontrado por Ferreira et al. (2011) e relatado por De Rensis et al. (2015), contudo, este experimento não foi delineado para avaliar o impacto do clima na reprodução.

6.5 Efeitos da Triagem Ginecológica Ultrassonográfica nas Taxas de Prenhez e de Prenhez Total

Quando os resultados das duas estações de monta foram analisados conjuntamente e dentro do mesmo grupo, houve diferença estatística ($p < 0.05$) apenas no grupo sem triagem (ST), no qual o protocolo II (OP4) foi superior ao protocolo III (OP4LH) (Tabela 7). Entretanto, na avaliação dos protocolos entre os diferentes grupos foram encontradas

diferenças ($p < 0.05$) entre os protocolos I (OV) / com triagem (CT) com III / ST (OP4LH) e III CT (OP4LH) com II / ST (OP4). Não houve diferença estatística entre as taxas de prenhe total dos grupos com e sem triagem ($p > 0,05$).

Tabela 7. Taxas de prenhez dos protocolos “OvSynch”, “OvSynch” + P4 e “OvSynch” + P4 + LH dos grupos com e sem triagem, nas estações de monta de 2013 e 2014.

Protocolos e Taxa de Prenhez				
	OV (n=62)	OP4 (n=31)	OP4LH (n=27)	Total (n=120)
Com Triagem (n=58)	37,0% (15/41) ^A	20,0% (02/10) ^{AB}	0,0% (00/07) ^B	28,8% (17/58)
Sem Triagem (n=62)	28,6% (06/21) ^{ab}	47,6% (10/21) ^{aA}	9,5% (02/20) ^{bB}	29,0% (18/62)

^{ab}Valores com letras minúsculas sobrescritas diferentes dentro da mesma linha apresentam diferença estatística.

^{AB}Valores com letras maiúsculas sobrescritas diferentes entre linhas apresentam diferença estatística.

OV = “OvSynch”; OP4 = “OvSynch” + P4; OP4LH = “OvSynch” + P4 + LH.

Como demonstrado houveram diferenças entre as taxas de prenhez 2013 e 2014, no primeiro ano esta taxa foi próximo ao encontrado por Chebel et al. (2010) porém inferiores ao trabalho de Stevenson et al.(2006), quando as mesmas comparações foram realizadas com as taxas de 2014 o contrário ocorreu. Como discutido anteriormente estas diferenças podem ser atribuídas à alterações climáticas ou com uma combinação do efeito do inseminador.

Na avaliação da taxa de prenhez total das duas estações conjuntamente, os protocolos OV e OP4 (I e II, respectivamente), tanto para o grupo CT como para o ST, foram superiores ao protocolo OP4LH (III). Esta diferença também está presente na comparação entre os protocolos dos dois grupos (Tabela 8). Não houve diferença estatística entre as taxas de prenhez total dos grupos com e sem triagem ($p > 0,05$).

Tabela 8. Taxa de prenhez total dos protocolos “OvSynch”, “OvSynch” + P4 e “OvSynch” + P4 + LH, dos grupos com e sem triagem, nas estações de monta de 2013 e 2014.

	Protocolos e Taxa de Prenhez Total			
	OV (n=62)	OP4 (n=31)	OP4LH (n=27)	Total (n=120)
Com Triagem (n=58)	29/41 (70,7%) ^{aA}	8/10 (80,0%) ^{aA}	1/7 (14,3%) ^{bB}	38/58 (65,5%)
Sem Triagem (n=62)	15/21 (71,4%) ^{aA}	16/21 (76,2%) ^{aA}	8/20 (40,0%) ^{bB}	39/62 (62,9%)

^{ab}Valores com letras minúsculas sobrescritas diferentes dentro da mesma linha apresentam diferença estatística.

^{AB}Valores com letras maiúsculas sobrescritas diferentes entre linhas apresentam diferença estatística.

OV = “OvSynch”; OP4 = “OvSynch” + P4; OP4LH = “OvSynch” + P4 + LH.

Não houve diferença entre os grupos com triagem e sem triagem de 2013 (22,5% e 17,6%) ou 2014 (37% e 42,9%), assim como não houve entre as taxas de prenhez em 2013 (64,5% e 55,9%) e 2014 (60,3% e 71,4%) pra os dois grupos, indicando que a triagem ginecológica prévia pode proporcionar bons resultados com o uso de protocolos de menor custo na maioria dos animais.

Na estação de monta de 2013, a taxa de prenhez foi de 20% (13/65), sendo que o grupo com triagem apresentou 22,5% (7/31) e o grupo sem triagem 17,6% (6/34), não sendo observada diferença estatística entre os grupos (Tabela 9).

Tabela 9. Taxa de prenhez dos protocolos “OvSynch”, “OvSynch” + P4 e “OvSynch” + P4 + LH nos grupos com e sem triagem, na estação de monta de 2013.

2013	Protocolos e Taxa de Prenhez			
	OV (n=32)	OP4 (n=17)	OP4LH (n=16)	Total (n=65)
Com Triagem (n=31)	7/21 (33,3%)	0/6 (0%)	0/4 (0%)	7/31 (22,5%)
Sem Triagem (n=34)	3/11 (27,3%)	2/11 (18,2%)	1/12 (8,3%)	6/34 (17,6%)

OV = “OvSynch”; OP4 = “OvSynch” + P4; OP4LH = “OvSynch” + P4 + LH.

Não foram encontradas diferenças ($p>0.05$) quando comparados os protocolos com triagem e os protocolos do grupo sem triagem. Na estação de monta de 2013, não houve diferença entre a taxa de prenhez total dos grupos com triagem e sem triagem. Foram

encontradas diferenças ($p < 0,05$) nas comparações dos protocolos do grupo com triagem (OV = 76,2% e OP4LH = 0,0%) e do grupo sem triagem (OV = 81,8% e OP4LH = 33,4%). Esta diferença ($p < 0,05$) também esteve presente na comparação destes protocolos entre os dois grupos (Tabela 10).

Tabela 10. Taxa de prenhez dos protocolos “OvSynch”, “OvSynch”+P4 e “OvSynch”+P4+LH dos grupos com e sem triagem, na estação de monta de 2013.

2013		Protocolos e Taxa de Prenhez Total		
Grupos	OV (n=32)	OP4 (n=17)	OP4LH (n=16)	Total (n=65)
Com Triagem (n=31)	16/21 (76,2%) ^{aA}	4/6 (66,7%) ^{ab}	0/4 (0,0%) ^{bB}	20/31 (64,5%)
Sem Triagem (n=34)	9/11 (81,8%) ^{aA}	6/11 (54,5%) ^{ab}	4/12 (33,4%) ^{bB}	19/34 (55,9%)

^{ab}Valores com letras minúsculas sobrescritas diferentes dentro da mesma linha apresentam diferença estatística.

^{AB}Valores com letras maiúsculas sobrescritas diferentes entre linhas apresentam diferença estatística.

OV = “OvSynch”; OP4 = “OvSynch” + P4; OP4LH = “OvSynch” + P4 + LH.

Na estação de monta de 2014, não foram encontradas diferenças nas taxas de prenhez total dos grupos com e sem triagem. Não houve diferença ($p > 0,05$) entre os protocolos do grupo com triagem. Dentre os protocolos do grupo sem triagem, o OP4 foi superior diferindo estatisticamente ($p < 0,05$) dos protocolos OV e OP4LH e não houve diferença entre os dois últimos. Quando comparados os protocolos entre os grupos foram encontradas diferenças entre o protocolo I (OV) CT com o III (OP4LH) ST, entre os protocolos OV e OP4 (I e II, respectivamente) ST com o protocolo OP4LH (III) CT, e entre o protocolo II (OP4) ST com o I (OV) CT (Tabela 11).

Tabela 11. Taxa de prenhez dos protocolos “OvSynch”, “OvSynch” + P4 e “Ovsynch” + P4 + LH dos grupos com e sem triagem, na estação de monta de 2014.

2014		Protocolos e Taxas de Prenhez		
Grupos	OV(n=30)	OP4(n=14)	OP4LH(n=11)	Total (n=55)
Com Triagem (n=27)	8/20 (40,0%) ^{AE}	2/4 (50,0%)	0/3 (0%) ^D	10/27 (37,0%)
Sem Triagem (n=28)	3/10 (30,0%) ^{bC}	8/10 (80,0%) ^{aCF}	1/8 (12,5%) ^{bB}	12/28 (42,9%)

^{ab}Valores com letras minúsculas sobrescritas diferentes dentro da mesma linha apresentam diferença estatística.

^{AB}Valores com letras maiúsculas sobrescritas diferentes entre linhas apresentam diferença estatística.

^{CD}Valores com letras maiúsculas sobrescritas diferentes entre linhas apresentam diferença estatística.

^{EF}Valores com letras maiúsculas sobrescritas diferentes entre linhas apresentam diferença estatística.

OV = “OvSynch”; OP4 = “OvSynch” + P4; OP4LH = “OvSynch” + P4 + LH.

Não houve diferença estatística entre as taxas de prenhez total dos grupos em 2014. O grupo com triagem apresentou diferença estatística ($p < 0.05$) entre os protocolos OP4 e OP4LH. Entre os protocolos do grupo sem triagem o OP4 foi o mais efetivo (100%), diferindo estatisticamente ($p < 0.05$) dos outros dois protocolos do grupo (OV = 60% e OP4LH = 50%), não houve diferença entre os dois últimos. Quando comparados os protocolos entre os grupos foram encontradas diferenças ($p < 0.05$) entre o II (OP4) ST com os protocolos I e III (OV e OP4LH, respectivamente) CT (Tabela 12). No grupo sem triagem três abortos foram causados em 2013 após a aplicação de prostaglandina.

Tabela 12. Taxa de prenhez total dos protocolos “OvSynch”, “OvSynch” + P4 e “OvSynch” + P4 + LH dos grupos com e sem triagem, na estação de monta de 2014.

2014		Protocolos e Taxa de Prenhez Total		
Grupos	OV(n=30)	OP4(n=14)	OP4LH(n=11)	Total (n=55)
Com Triagem (n=27)	13/20(65%) ^B	4/4 (100%) ^a	0/3 (0%) ^{bB}	17/27(60,3%)
Sem Triagem (n=28)	6/10 (60%) ^b	10/10 (100%) ^{Aa}	4/8 (50%) ^b	20/28 (71,4%)

^{ab}Valores com letras minúsculas sobrescritas diferentes dentro da mesma linha apresentam diferença estatística.

^{ABCD}Valores com letras maiúsculas sobrescritas diferentes entre linhas apresentam diferença estatística.

OV = “OvSynch”; OP4 = “OvSynch” + P4; OP4LH = “OvSynch” + P4 + LH.

Em 2014, entre os animais do grupo sem triagem, o protocolo mais efetivo foi o OP4, diferindo estatisticamente entre os outros dois protocolos do grupo (OV e OP4LH), que não diferiram entre si. Estes resultados estão de acordo aos resultados encontrados por Stevenson

et al. (2006) e Chebel et al (2010), quando o uso de P4 exógena aumentou as taxas de prenhez, entretanto, não estão de acordo com os achados de Lima et al. (2009). Neste caso o uso de dispositivos de progesterona impediu a ovulação precoce e proporcionou um bom desenvolvimento folicular, mimetizando um CL, como descrito por Stevenson et al. (2006) e Lima et al. (2009). Contrariando os resultados de Bisinotto et al.(2013) e Stevenson et al. (2008), o uso da P4 exógena não influenciou negativamente os animais cíclicos e provavelmente proporcionou o bom desenvolvimento do FL em animais sem CL, e por isso foi superior aos protocolos OV e OP4LH. Neste experimento, o LH não foi um bom indutor de ovulação, talvez por ter causado uma ovulação muitas horas antes da IA ou, como citado por Denicol (2012), pode ter causado a maturação precoce do oócito prejudicando a fertilização.

Ao contrário do que era esperado, pelos resultados descritos por Palhano et al. (2008), Stevenson et al. (2008) e Bisinotto et al.(2013), quando foi comparado o uso do OV entre os grupos com e sem triagem, na estação de 2014, não foi encontrada diferença estatística. Contudo, quando o protocolo OV foi comparado ao OP4, sem triagem, houve diferença proporcionando este último, melhores resultados em taxa de prenhez. O uso do protocolo OV direcionado a animais aptos a responder ao primeiro GnRH ou com CL não incrementou as taxas de prenhez e não proporcionou resultados semelhantes aqueles protocolos que utilizam P4 exógena, demonstrando que o uso de dispositivos de progesterona é indispensável em protocolos de animais cíclicos, contrapondo os resultados de Stevenson et al. (2008) e Bisinotto et al. (2015).

Não houve diferença entre as taxas de prenhez do grupo OP4 com triagem e os outros protocolos do grupo sem triagem. Estes resultados indicam que o uso da P4 exógena pode incrementar a taxa de prenhez de animais acíclicos, contrariando os achados de Lima et al. (2009) e condizendo com Stevenson (2006).

Na IATF o protocolo com LH como indutor de ovulação, independente do grupo, só diferiu estatisticamente do protocolo OP4 sem triagem, e suas taxas de prenhez foram menores que as dos protocolos OV e OP4 do grupo sem triagem, estando de acordo com os achados de Colazo et al. (2009), em que seu uso com indutor de ovulação não foi eficiente, por causar ovulação ou maturação do oócito precocemente.

A triagem permitiu avaliar animais acíclicos, mas não produziu o efeito desejado. O uso de protocolos específicos em fêmeas em diferentes estágios cíclicos devem passar por estudos mais aprofundados para que a técnica proporcione melhor eficiência.

6.6 Viabilidade Econômica

O protocolo mais viável economicamente foi o OP4 ST, seguido pelo OV ST considerando o custo da ultrassonografia. O uso do LH como indutor de ovulação se mostrou inviável sem ou com triagem ginecológica prévia. A triagem para indicar o uso de dispositivos de progesterona aumentou o custo por prenhez dos protocolos do grupo com triagem, quando o custo da US não foi contabilizado o protocolo OV CT passou à ser o segundo protocolo de menor custo, o preço do OVP4 também diminuiu substancialmente (Tabela 13).

Tabela 13. Custo por protocolo, custo total e custo por prenhez de acordo com os protocolos (sem triagem e com triagem ginecológica), considerando ou não o custo da ultrassonografia (R\$ 12,00), agrupando os resultados das duas estações .

ST	Vacas Prenhes	Custo por Protocolo + Sêmen	Custo total	Custo por prenhez	Custo Total + US (R\$ 12,00)	Custo por prenhez + US
OV (n=21)	6	R\$ 30,24	R\$ 637,14	R\$106,19	-	-
OP4 (n=21)	10	R\$ 34,27	R\$ 719,67	R\$ 71,96	-	-
OP4LH (n=20)	2	R\$ 36,18	R\$ 723,8	R\$ 361,9	-	-
<hr/>						
CT						
OV (n=41)	15	R\$ 30,24	R\$1.239,84	R\$ 82,65	R\$ 1.735,94	R\$ 115,73
OP4 (n=10)	2	R\$ 34,27	R\$ 342,7	R\$ 171,35	R\$ 462,7	R\$ 231,35
OP4LH (n=7)	0	R\$ 36,18	R\$ 253,33	R\$ 253,33	R\$ 295,26	R\$ 295,26

OV = “OvSynch”; OP4 = “OvSynch” + P4; OP4LH = “OvSynch” + P4 + LH;
CT = com triagem; ST = sem triagem; US = Ultrassonografia

Os grupos com triagem (n=58) e sem triagem (n=62) tiveram o número de animais muito próximos e não apresentaram diferenças estatísticas nas taxas de prenhez (28,8% e 29% respectivamente), consideramos então o custo total em cada grupo para avaliar a viabilidade da triagem ginecológica ultrassonográfica prévia. O grupo CT foi mais viável quando não foi

contabilizado o custo da ultrassonografia (considerando propriedades com assistência veterinária), porém foi menos viável com este custo contabilizado. Ressalta-se porém que os custos dos abortos ocorridos em 2013 devem ser adicionados ao grupo sem triagem. Foram considerados para este cálculo o custo de três protocolos, sendo um “OvSynch” e dois “OvSynch” + P4 + LH (R\$ 102,7) e os dias em lactação (45 dias) que os animais deixaram de produzir multiplicado pela média de litros de leite por vaca por dia de 13,5 litros, com o preço do leite a R\$1,00/litro (R\$ 1.822,50 em perdas por leite não produzido), este custo gerou um prejuízo R\$ 1.925,2 causado pelos três abortos, em função de falhas na escrituração zootécnica ou no manejo. O uso da ultrassonografia para triagem de vacas a serem alocadas em programas de IATF, possibilita a prevenção de erros de manejo, ao permitir um diagnóstico preciso da fisiologia reprodutiva das respectivas vacas. O prejuízo causado com essas perdas quase se iguala aos valores gastos com todos os protocolos de cada grupo.

Na estação de 2013 o custo da prenhez foi menor com o protocolo OV do grupo com triagem seguido pelo mesmo protocolo do grupo sem triagem. Considerando o custo da US o OV com triagem passa a ter o segundo melhor custo benefício (Tabela14).

Tabela 14. Custo por protocolo, custo total e custo por prenhez de acordo com os protocolos (sem triagem e com triagem ginecológica), considerando ou não o custo da ultrassonografia (R\$ 12,00), na estação de 2013.

ST	Vacas Prenhes	Custo por Protocolo + Sêmen	Custo total	Custo por prenhez	Custo por Protocolo + Sêmen + US (R\$ 12.00)	Custo por prenhez + US
OV (n=11)	3	R\$ 30.24	332.64	110.88	-	-
OP4 (n=11)	2	R\$ 34.27	376.97	188.485	-	-
OP4LH (n=12)	1	R\$ 36.18	434.16	434.16	-	-
CT						
OV (n=21)	7	R\$ 30.24	635.04	90.72	887.04	126.72
OP4 (n=6)	0	R\$ 34.27	205.62	205.62	277.62	277.62
OP4LH (n=4)	0	R\$ 36.18	144.72	144.72	192.72	192.72

OV = “OvSynch”; OP4 = “OvSynch” + P4; OP4LH = “OvSynch” + P4 + LH;
 CT = com triagem; ST = sem triagem; US = Ultrassonografia

Se considerarmos somente a estação de 2014, o protocolo OP4 ST e OV CT foram os que apresentaram os menores custos. O protocolo OVP4LH continuou sendo o mais caro. Quando a ultrassonografia não foi contabilizada os preços dos protocolos do grupo C/T caíram consideravelmente (Tabela 15).

Tabela 15. Custo por protocolo, custo total e custo por prenhez de acordo com os protocolos (sem triagem e com triagem ginecológica), considerando ou não o custo da ultrassonografia (R\$ 12,00), na estação de 2014.

ST	Vacas Prenhes	Custo por Protocolo + Sêmen	Custo total	Custo por prenhez	Custo por Protocolo + Sêmen + US (R\$ 12,00)	Custo por prenhez + US
OV (n=10)	3	R\$ 30,24	R\$ 302,4	R\$ 100,8	-	-
OP4 (n=10)	8	R\$ 34,27	R\$ 342,7	R\$ 42,83	-	-
OP4LH (n=8)	1	R\$ 36,18	R\$ 289,44	R\$ 289,44	-	-
<hr/>						
CT						
OV (n=20)	8	R\$ 30,24	R\$604,8	R\$ 75,6	R\$ 844,8	R\$ 105,6
OP4 (n=4)	2	R\$ 34,27	R\$ 137,08	R\$ 68,54	R\$ 185,08	R\$ 92,54
OP4LH (n=3)	0	R\$ 36,18	R\$ 108,54	R\$ 108,54	R\$ 144,54	R\$ 144,54

OV = “OvSynch”; OP4 = “OvSynch” + P4; OP4LH = “OvSynch” + P4 + LH;
 CT = com triagem; ST = sem triagem; US = Ultrassonografia

Na maioria das propriedades leiteiras o uso de manejos reprodutivos se estendem a todo rebanho da mesma forma, porém a separação em grupos pode gerar melhores resultados. Financeiramente o uso da triagem possibilitou melhorar a viabilidade do protocolo “OvSynch”, porém aumentou o custo da prenhez do protocolo OP4, isto deve ter ocorrido pela exclusividade de animais que não ovularam ao primeiro GnRH neste grupo. Considerando o custo total de propriedades com assistência, o capital investido foi menor utilizando a US, alcançando as mesmas taxas de prenhez. Quando o custo da US foi contabilizado este quadro se inverteu.

Em 2013 três abortos ocorreram durante o protocolo, pela ação luteolítica da prostaglandina aplicada em D7. A inclusão de animais prenhes no estudo ocorreu

provavelmente por falha na detecção de cio, na escrituração zootécnica ou erro de diagnóstico pela palpação retal. Os resultados desses animais não foram descartados do experimento, porém, causaram prejuízo ao sistema de produção da instituição, apesar de ser um fato aleatório, demonstra a importância da aplicação da US na condução de programas de IATF, pois os prejuízos que poderiam ser evitados pela triagem viabilizariam o pagamento da IATF em qualquer uma das projeções realizadas, além do mais, na maioria das situações em assistência técnica a propriedades de leite, a ultrassonografia é computada no custo fixo da assistência não sendo assim contabilizada nos custos dos protocolos e da prenhez.

8 CONCLUSÕES

- O uso da ultrassonografia para triagem prévia ao uso de programas hormonais para IATF, possibilitou alcançar melhor custo benefício na utilização dos protocolos.
- O uso de progesterona favoreceu a taxa de prenhez de animais cíclicos e acíclicos.
- O emprego do LH como indutor da ovulação não melhorou as taxas de prenhez e de prenhez total de vacas leiteiras submetidas ao programa de IATF com o protocolo avaliado.
- Usar a triagem ginecológica prévia é uma ferramenta de grande valor para diagnóstico de gestação e rápida tomada de decisão para os técnicos a campo.
- Fêmeas com ECC maiores que 2.5 e menores que 4.5 não apresentam diferenças nas taxas de prenhez á IATF e em sua ciclicidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADEYINKA, F.D.; LAVEN R.A.; LAWRENCE K.E.; VAN DEN BOSCH M.; BLANKENVOORDE G.; PARKINSON, T.J. Association between placentome size, measured using transrectal ultrasonography, and gestational age in cattle. *New Zealand Veterinarian Journal*, v.62, p.51-56, 2014.

AERTS, J.M.J.; BOLS, P.E.J. Ovarian follicular dynamics: a review with emphasis on the bovine species. Part II: Antral development, exogenous influence and future prospects. *Reproduction in Domestic Animals*, v.45, p.180-187, 2010.

ALVAREZ, R.H.; MARTINEZ, A.C.; CARVALHO, J.B.P. ARCARO, J.R.P.; PIRES, R.M.L.; OLIVEIRA, C.A. Eficácia do tratamento "OvSynch" associado à inseminação artificial prefixada em rebanhos *Bos taurus* e *Bos indicus*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília v.38, p.317-323, 2003.

AMBROSE, D.J.; KASTELIC, J.P.; RAJAMAHENDRAN, R.; ALI, M.; DINN, N. Progesterone Releasing Device Fixed Timed Artificial Insemination Protocols using GnRH, pLH e eCP in Dairy Heifers. Ovarian and Endocrine Responses and Pregnancy Rates. *Theriogenology*, v 64, p.1457-1474, 2005.

ANDERSON, K.J.; LEFEVER, D.G.; BRINKS, J.S.; ODDE, K.G. The use of reproductive tract scoring in beef heifers. *Agricultural Practice*, v.12, p.19-26, 1991.

BADINGA L.; THATCHER, W.W.; WILCOX, C.J. *et al.* Effect of season on follicular dynamics and plasma concentrations of estradiol- 17 beta, progesterone and luteinizing hormone in lactating Holstein cows. *Theriogenology*, v.42, p.1263-1274, 1994.

BARBOSA, C.F.; JACOMINI, J.O.; DINIZ, E.G.; SANTOS, R.M.; TAVARES, M. Inseminação Artificial em tempo fixo e diagnóstico precoce de gestação em vacas leiteiras mestiças. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.40, p 77-89, 2011.

BARBOSA, R.T.; MACHADO, R.. Panorama da inseminação artificial em bovinos. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Pecuária Sudeste. São Carlos, SP, doc. 84, 2008.

BARROS, C.M.; FIGUEIREDO, R.A.; PINHEIRO, O.L. Estro, ovulação e dinâmica folicular em zebuínos. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, Belo Horizonte, v. 19, p. 9-22, 1995.

BARUSELLI P.S.; MADUREIRA E.H.; BINELLI M.; GASPAR P.S.; ALMEIDA A.B.; BERTAN C.M.; ROSSA L.A.F; MAZZA P.H. Efeito da Gonadotrofina Coriônica Equina ou Benzoato de Estradiol associado ao Norgestomet na taxa de concepção de vacas de corte submetidas a Inseminação Artificial em Tempo Fixo no pós-parto. *Brasilian Journal of Reseach Animal Science*, v.46,p. 199-200, 2009.

BILEGO, U.O.; SANTOS, F.C.; PORTO, R.N.; PIRES, B.C.; OLIVEIRA FILHO, B.D.; VIU M.A.; GAMBARINI, M.L. Ovarian evaluation of Girolando (Holstein × Gir) heifers submitted to a GnRH-PGF2 α -GnRH protocol in the dry or rainy seasons in the tropical savannah. *Tropical Animal Health Production*, v. 45, p.1461-1467, 2013.

BINELLI M.; IBIAPINA B.T.; BISINOTTO R.S. Physiological, pharmacological and endocrine basis of treatments aiming synchronization and ovulation of follicles in cattle. *Acta Scientiae Veterinariae*. Porto Alegre, v. 34, p. 1-7, 2006.

BISINOTTO, R. S.; RIBEIRO, E. S.; LIMA, F. S.; MARTINEZ, N.; GRECO, L. F.; BARBOSA, L.F.S. P.; BUENO, P. P.; SCAGION, L. F. S.; THATCHER, W. W.; SANTOS, J.E.P. Targeted progesterone supplementation improves fertility in lactating dairy cows without a corpus luteum at the initiation of the timed artificial insemination protocol. *Journal of Dairy Science*, v. 96, p. 2214-2225, 2013.

BISINOTTO, R.S.; PANSANI, M.B.; CASTRO, L.O. ; NARCISO, C.D.; SINEDINO, L.D.P.; MARTINEZ, N. ; CARNEIRO, P.E.; THATCHER, W.W. ; SANTOS, J.E.P. Effect of progesterone supplementation on fertility responses of lactating dairy cows with corpus luteum at the initiation of the “Ovsynch” protocol. *Theriogenology*, v. 83, p. 257-265, 2015.

BÓ, G.A.; MAPLETOFT, R.J. Historical perspectives and recent research on superovulation in cattle. *Theriogenology*, v. 81, p. 38-48, 2014.

CERRI, R.L.; CHEBEL, R.C.; RIVERA, F.; NARCISO, C.D.; OLIVEIRA, R.A.; THATCHER, W.W.; SANTOS, J.E. Concentration of progesterone during the development of the ovulatory follicle: I. Ovarian and embryonic responses. *Journal of Dairy Science*, v. 94, p. 3342-3351, 2011.

CERRI, R.L.; CHEBEL, R.C.; RIVERA, F.; NARCISO, C.D.; OLIVEIRA, R.A.; AMSTALDEN M.; BAEZ-SANDOVAL, G.M.; OLIVEIRA, L.J.; THATCHER, W.W.; SANTOS, J.E. Concentration of progesterone during the development of the ovulatory follicle: II. Ovarian and uterine responses. *Journal of Dairy Science*, v. 94, p.3352-3365, 2011.

CHACUR, M.G.M.; VALENTIN, N.C.; MARTINEZ, A.I.S.; TOSTES, R.A.; KRONKA, S.N. Morfometria de ovários de fêmeas zebu *Bos taurus indicus* coletados em matadouro. *Acta Scientiae Veterinariae*, Porto Alegre, v. 34, p. 65-70, 2006.

CHEBEL, R. C.; AL-HASSAN, M.J.; FRICKE, P.M.; SANTOS, J.E. P.; LIMA, J.R.; MARTEL, C.A.; STEVENSON, J.S.; GARCIA, R.; AX, R.L. Supplementation of Progesterone via Controlled Internal Release Inserts During Ovulation Synchronization Protocols in Lactating Dairy Cows. *Journal os Dairy Science*, v. 93, p. 922-931, 2010.

COLAZO, M.G.; DOUREY, A.; RAJAMAHENDRAN, R.; AMBROSE, D. J. Progesterone Supplementation Before Fixed Timed Artificial Insemination Protocols and Pregnancy per Artificial Insemination, and Supplementation after Timed Artificial Insemination Reduced Pregnancy Losses in Lactating Dairy Cows. *Theriogenology*, v. 79, p. 833-841, 2013.

COLAZO, M.G.; GORDON, M.B.; RAJAMAHENDRAN, R.; MAPLETOFT, R.J.; AMBROSE, D.J. Pregnancy Rates to Timed Artificial Insemination in Dairy Cows Treated with Gonadotrophin Releasing Hormone or Porcine Luteinizing Hormone. *Theriogenology*, v.72, p.262-270, 2009a.

COLAZO, M.G.; REE, T.O.; EMMANUEL, D.G.V.; AMBROSE, D.J. Plasma LH in Cows Given Repeated Treatments or Three Different Doses of GnRH. *Theriogenology*, v.71, p.984-992, 2009b.

CUMMINS, S.B.; LONERGAN, P.; EVANS, A.C.; BUTLER, S.T. Genetic merit for fertility traits in Holstein cows: II. Ovarian follicular and corpus luteum dynamics, reproductive hormones, and estrus behavior. *Journal of Dairy Science*, v.95, p. 3698-3710, 2012.

De RENSIS, F.; Garcia-Ispuerto, I.; López-Gatius, F. Seasonal heat stress: Clinical implications and hormone treatments for the fertility of dairy cows. *Theriogenology*, 2015.

EDWARDS, S.A.; ATKINSON, P.C.; SATAKE, N.; BOE-HANSEN, G.; MCGOWAN, M.R. Ovarian dynamics in response to two modified intravaginal progesterone releasing device and oestradiol benzoate based ovulation synchronisation protocols designed for use in Brahman heifers. *Animal Reproduction Science*, v.148, p.18-25, 2014.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Conjuntura do Mercado de Lácteos. *Embrapa gado de Leite*, Juiz de Fora, a. 6, n. 46, 2013.

FERREIRA, M.B.D.; LOPES, B.C.; DANTAS, M.S.; MOURÃO, G.B.; VALE FILHO, V.R. Escore do aparelho reprodutivo pré-estação de monta em novilhas Zebu aos dois anos de idade. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.23, p. 160-162, 1999.

FERREIRA, R.M.; AYRES, H.; CHIARATTI, M.R.; FERRAZ, M.L.; ARAÚJO, A.B.; RODRIGUES, C.A.; WATANABE, Y.F.; VIREQUE, A.A.; JOAQUIM, D.C.; SMITH, L.C.; MEIRELLES, F.V.; BARUSELLI, P.S. The low fertility of repeat-breeder cows during summer heat stress is related to a low oocyte competence to develop into blastocysts. *Journal of Dairy Science*, v. 94, p.2383-2392, 2011.

GAMBINI, A.L.G.; MOREIRA, M.B.P.; BARROS, C.M. Sincronização da ovulação em vacas Nelore, usando GnRH e PGF2. *Arquivos da Faculdade de Veterinária*, Porto Alegre, v. 24, p. 209-211, 1996.

GINTHER, O.J. How ultrasound technologies have expanded and revolutionized research in reproduction in large animals. *Theriogenology*, v.81, p. 112-125, 2014.

HERLIHY, M.M.; CROWE, M.A.; BERRY, D.P.; DISKIN, M.G.; BUTLER, S.T. Factors associated with fertility outcomes in cows treated with protocols to synchronize estrus and ovulation in seasonal-calving, pasture-based dairy production systems. *Journal of Dairy Science*, v. 96, p. 1485-1498, 2013.

HERLIHY, M.M.; CROWE, M.A.; DISKIN, M.G.; BUTLER, S.T. Effects of synchronization treatments on ovarian follicular dynamics, corpus luteum growth, and circulating steroid hormone concentrations in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.95, p.743-754, 2012.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Censo Agropecuário IBGE, 2006.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Pesquisa Pecuária Municipal IBGE, 2013.

LEE, J.J. Formação e Processamento de Imagens de Ultrassom. 60 p. *Dissertação* (Mestrado-Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica em Processamento de Sinais e Instrumentação) Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, SP, 2010.

LIMA, F.A; VERAS, M.B; SALES, J.N.S.; CREPALDI, G.A.; MAIO, J.R.G.; BARUSELLI, P.S. Adequação da dose de GnRH em vacas holandesas de alta produção submetidas a sincronização da ovulação com protocolos ovsynch ou heatsynch. In: *XXII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões, Acta Scientiae Veterinariae*, Porto Alegre, R, p. 1116, 2007.

LIMA, J.R.; RIVERA, F.A.; NARCISO, C.D.; OLIVEIRA, R.; CHEBEL, R.C.; SANTOS, J.E.P. Effect of increasing amounts of supplemental progesterone in a timed artificial insemination protocol on fertility of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.92, p. 5436–5446, 2009.

LÜTTGENAU, J.; BEINDORFF, N.; ULBRICH, S.E.; KASTELIC, J.P.; BOLLWEIN, H. Low plasma progesterone concentrations are accompanied by reduced luteal blood flow and increased size of the dominant follicle in dairy cows. *Theriogenology*, v. 76, p. 12-22, 2011.

MELO, C.L. Dinâmica folicular de vacas de corte tratadas com três protocolos de sincronização da ovulação. 2009. 41p. *Dissertação* (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre-RS, 2009.

PALHANO, H.B.; JESUS, V.L.T.; ABIDU-FIGUEIREDO, M.; BALDRIGHI, J.M.; MELLO, M.R.B. Efeito da ciclicidade de vacas nelore sobre as taxas de concepção e de prenhez após protocolos de sincronização para inseminação artificial em tempo fixo. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v.34, p.63-68, 2012.

PALHANO, H.B.; JESUS, V.L.T.; TRÉS, J.E.; JACOB, J.C.F.; ALVES, P.A.M; FOLHADELLA, I.M.; RAMOS, A.A.; MELLO, MRB. Reprodução em Bovinos, Fisiopatologia, Terapêutica, Manejo e Biotecnologia. 2.ed. Rio de Janeiro, *LF Livros*, p.181-224, 2008.

PERRY, G.A.; SMITH, M.F.; LUCY, M.C.; GREEN, J.A.; PARKS, T.E.; MACNEIL, M.D.; ROBERTS, A.J.; GEARY, T.W. Relationship between follicle size at insemination and pregnancy success. *PNAS*, v. 102, p. 5268-5273, 2005.

PETER, A.T.; VOS, P.L.A.M.; AMBROSE, D.J. Postpartum anestrus in dairy cattle a Review. *Theriogenology*, v. 71, p.1333–1342, 2009.

PICARD-HAGEN, N.; LHERMIE, G.; FLORENTIN, S.; MERLE, D.; FREIN, P.; GAYRARD, V. Effect of gonadorelin, leirelin, and buserelin on LH surge, ovulation, and progesterone incattle. *Theriogenology*, v. 84, p. 177-183, 2015.

PURSLEY, J. R.; MEE, M. O.; WILTBANK, M. C.. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2a and GnRH. *Theriogenology*, p. 44-915, 1995.

PURSLEY, J.R.; WILTBANK, M.C.; SILCOX, R.W. Effect of time of artificial insemination on pregnancy rates, calvin rates, pregnancy loss, and gender ratio after synchronization of ovulation in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* v. 81, p. 2139-1244, 1998.

PURSLEY, J.R.; WILTBANK, M.C.; STEVENSON, J.S.; OTTOBRE, J.S.; GAVERICK, 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 Science*, v.80, p. 295-300, 1997.

REE, T.O.; COLAZO, M.G.; LAMONT, A.G.A.; KASTELIC, J.P.; DYCK, M.K.; MAPLETOFT, R.J.; AMETAJ, B.N.; AMBROSE, D.J. The Effect of pLH in the Synchronization of Ovulation and *Corpus Luteum* Formation in Nonlactating cows. *Theriogenology*, v. 72, p. 120-128, 2009.

RIBEIRO FILHO, A.L.; PORTELA, A.P.M.; CHALHOUB, M.; QUINTELA, A.T.; BITTENCOURT, R.F.; OLIVEIRA, J.V.L.; GUSMAO, A.L.; VALE FILHO, V. Desempenho reprodutivo de vacas zebus, submetidas à prévia classificação reprodutiva e sincronizadas com diferentes protocolos para inseminação artificial em tempo fixo. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 26, p. 221-223, 2002.

ROCHA, J.L. Sincronização hormonal da onda folicular e do estro em novilhas de corte mestiças monitoradas por radiotelemetria. 125 p. *Tese* (Doutorado em Reprodução Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 2000.

ROVANI, M.T.; GASPERIN, B.G.; ILHA, G.F.; FERREIRA, R.; BOHRER, R.C.; DUGGAVATHI, R.; BORDIGNON, V.; GONÇALVES, P.B. Expression and molecular consequences of inhibition of estrogen receptors in granulosa cells of bovine follicles. *Journal of Ovarian Research*, v. 23, p. 7-96, 2014.

SARTORI, R.; GUARDIEIRO, M.M. Fatores nutricionais associados à reprodução da fêmea bovina. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v.39, p. 422-432, 2010.

SCULLY, S.; EVANS, A.C.; CARTER, F.; DUFFY, P.; LONERGAN, P.; CROWE, M.A. Ultrasound monitoring of blood flow and echotexture of the corpus luteum and uterus during early pregnancy of beef heifers. *Theriogenology*, v.83, p. 449-458, 2015

SOUSA, G.G.T. Eficiência reprodutiva em bovinos de leite através da monta natural e inseminação artificial. *Acta Tecnológica*, São Luiz, v. 8, n. 2, p. 12 – 18, 2013.

STEVENSON, J.S.; KOBATASHI, Y.; SHIPKA, M.P. Altering conception of dairy cattle by gonadotropin-releasing hormone preceding luteolysis induced by prostaglandin F2 α . *Journal of Dairy Science*, v.79, p. 402-410, 1996.

STEVENSON, J.S.; PURSLEY, J.R.; GARVERICK, H.A.; FRICKE, P.M.; KESLER, D.J.; OTTOBRE, J.S.; WILTBANK, M.C. Treatment of Cycling and Noncycling Lactating Dairy Cows with Progesterone During Ovsynch. *Journal of Dairy Science*, v.89, p.2567–2578, 2006.

STEVENSON, J.S.; TENHOUSE, D.E.; KRISHER, R.L.; LAMB, G.C.; LARSON, J.E.; DAHLEN, C.R.; PURSLEY, J.R.; BELLO, N.M.; FRICKE, P.M.; WILTBANK, M.C.; BRUSVEEN, D.J.; BURKHART, M.; YOUNGQUIST, R. S.; GARVERICK, H. A. Detection of Anovulation by Heatmount Detectors and Transrectal Ultrasonography Before Treatment with Progesterone in a Timed Insemination Protocol. *Journal Dairy Science*, v. 91, p. 2901-2915, 2008.

TAIRA, E.M.; PINTO, F.I.; DI RAIMO, L; CAMARGO NETO, W.D.; GIUFFRIDA, R.; CASTILHO, C. Uso de LH como indutor de ovulação em protocolo de IATF para novilhas nelore. *Colloquium Agrariae*, v. 6, p. 43-49, 2010.

TEIXEIRA, C.C.; PALHANO, H.B.; COUTINHO, D. Análise comparativa da taxa de gestação ao primeiro serviço entre os protocolos ovsynch, ovsynch + P4, ovsynch + P4 + eCG em vacas leiteiras mestiças. *A Hora Veterinária*, v. 29, p. 35-38, 2009.

THATCHER W.W.; MOREIRA F.; SANTOS J.E.P. Effects of hormonal treatments on reproductive performance and embryo production. *Theriogenology*, v.55, p.75-89; 2001.

TIEZZI, F.; MALTECCA, C. ; CECCHINATO, A.; PENASA, M.; BITTANTE, G. Thin and fat cows, and the nonlinear genetic relationship between body condition score and fertility. *Journal of Dairy Science*, v. 96, p. 6730–6741, 2013

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. USDA Foreign Agricultural Service. Disponível em <<http://apps.fas.usda.gov/psdonline/>>. Acesso em junho de 2015.