

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**ESTRATÉGIAS DE MANEJO PARA AUMENTAR A EFICIÊNCIA
REPRODUTIVA DE BOVINOS LEITEIROS: PROTOCOLO DE CICLO
CURTO PARA A SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO E MÉTODOS
AUXILIARES DE DETECÇÃO DO ESTRO**

Thiago Vilar Silva

Orientadora: Profa. Dra. Maria Lúcia Gambarini Meirinhos

GOIÂNIA

2016

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR AS TESES E DISSERTAÇÕES ELETRÔNICAS (TEDE) NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: Dissertação Tese

2. Identificação da Tese ou Dissertação

Autor (a): Thiago Vilar Silva

E-mail: thiagovil@hotmail.com

Seu e-mail pode ser disponibilizado na página? Sim Não

Vínculo empregatício do autor

Agência de fomento:

Sigla:

País:

UF:

CNPJ:

Título: Estratégias de manejo para aumentar a eficiência reprodutiva de bovinos leiteiros: protocolo de ciclo curto para a sincronização da ovulação e métodos auxiliares de detecção do estro

Palavras-chave: manejo reprodutivo, análise econômica, detecção do estro

Título em outra língua: Strategies to improve reproductive efficiency in dairy cattle: use of a short cycle protocol for synchronization of ovulation and auxiliary methods for estrus detection

Palavras-chave em outra língua: reproductive management, economic analysis, estrus detection

Área de concentração: Produção animal

Data defesa: (22/02/2016)

Programa de Pós-Graduação: Ciência Animal

Orientador (a): Maria Lúcia Gambarini Meirinhos

E-mail: mlgambarini@hotmail.com

Co-orientador: Benedito Dias de Oliveira Filho E-mail: bene@vet.ufg.br

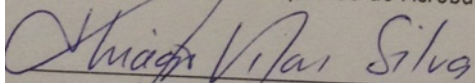
Co-orientador: Marco Antônio de Oliveira Viu E-mail: marcoviu@gmail.com

3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento SIM NÃO¹

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF ou DOC da tese ou dissertação.

O sistema da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações garante aos autores, que os arquivos contendo eletronicamente as teses e ou dissertações, antes de sua disponibilização, receberão procedimentos de segurança, criptografia (para não permitir cópia e extração de conteúdo, permitindo apenas impressão fraca) usando o padrão do Acrobat.



Assinatura do (a) autor (a)

Data: Goiânia, 08 de março de 2016.

THIAGO VILAR SILVA

**ESTRATÉGIAS DE MANEJO PARA AUMENTAR A EFICIÊNCIA
REPRODUTIVA DE BOVINOS LEITEIROS: PROTOCOLO DE CICLO
CURTO PARA A SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO E MÉTODOS
AUXILIARES DE DETECÇÃO DO ESTRO**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor
em Ciência Animal junto à Escola de Veterinária e
Zootecnia da Universidade Federal de Goiás

Área de Concentração:

Produção Animal

Orientadora:

Profa. Dra. Maria Lúcia G. Meirinhos - EVZ/UFG

Comitê de Orientação:

Prof. Dr. Benedito Dias de O. Filho - EVZ/UFG

Prof. Dr. Marco Antônio de O. Viu –UFG/Jataí

GOIÂNIA

2016

Ficha catalográfica elaborada automaticamente
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a), sob orientação do Sibi/UFG.

Vilar Silva, Thiago

Estratégias de manejo para aumentar a eficiência reprodutiva de bovinos leiteiros: protocolo de ciclo curto para a sincronização da ovulação e métodos auxiliares de detecção de estro [manuscrito] / Thiago Vilar Silva. - 2016.

xvi, 73 f.: il.

Orientador: Profa. Dra. Maria Lúcia Gambarini Meirinhos; co orientador Dr. Benedito Dias de Oliveira Filho; co-orientador Dr. Marco Antônio de Oliveira Viu.

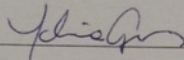
Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia (EVZ) , Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Goiânia, 2016.

Bibliografia.

1. Manejo reprodutivo. 2. Análise econômica. 3. Detecção de estro. I. Gambarini Meirinhos, Maria Lúcia, orient. II. Dias de Oliveira Filho, Benedito , co-orient. III. Título.

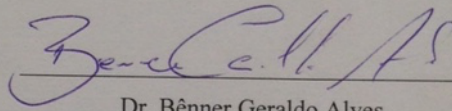
Thiago Vilar Silva

Tese defendida e aprovada em 22/02/2016 pela Banca Examinadora constituída pelos professores:

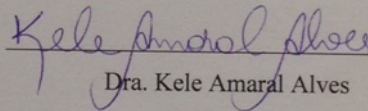


Profª. Dra. Maria Lúcia Gambarini Meirinhos

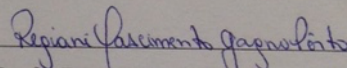
(ORIENTADOR (A))



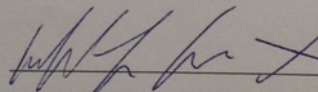
Dr. Bêner Geraldo Alves



Dra. Kele Amaral Alves



Profª. Dra. Regiani Nascimento Gagno Pôrto



Prof. Dr. Klayto José Gonçalves dos Santos

A todos que me apoiaram de alguma maneira para que eu chegasse até aqui, em especial à minha família, amigos e colegas que ajudaram durante os experimentos e tempo de permanência nos Estados Unidos.

AGRADECIMENTOS

A todos que me ajudaram de alguma maneira durante o período em que estive na Universidade Federal de Goiás, em especial à professora Maria Lúcia Gambarini, pela amizade, conhecimento e paciência a mim transferidos.

Ao professor José Eduardo P. Santos, por me aceitar junto ao seu grupo de alunos, por depositar confiança em mim e dedicar parte do seu tempo ao meu crescimento pessoal e profissional.

Ao pessoal de Gainesville: Rafael Azevedo, Felipe Amaro, Beatriz Micai, André Dias, Rafael Bizinotto, Eduardo Ribeiro, Pedro Leopoldo, Gobikrushanth Mohanathas (Gobi), Leandro Greco, Gabriel Gomes, Francisco Lourenço, José Freitas, Sergji Sennikov, Rafael Martins, João Bittar, Klíbs Galvão, Fábio Lima, Dr. Thatcher, Eric Diepersloot e Grady Byers.

Um agradecimento especial a Beatriz Micai, que me ajudou sem limites durante todo o tempo do meu primeiro experimento. Da mesma maneira, gostaria de agradecer a Federico e a Filipe Magalhães pelo suporte e amizade durante a minha estada na Califórnia, onde desenvolvi o meu segundo experimento. Também gostaria de agradecer a César Narciso, médico veterinário no estado da Califórnia, que se mostrou extremamente prestativo e generoso em todos os momentos.

Aos proprietários e funcionários da fazenda Alliance (Trenton, Flórida, EUA), da fazenda River Ranch Dairy, High Roller Dairy e John de Jong, sendo as três últimas situadas em Hanford, Califórnia, Estados Unidos. Também gostaria de agradecer a todos os funcionários da fazenda da Universidade da Flórida (Dairy Research Unit - DRU).

Muito obrigado!

*“O grande desafio é saber identificar o sofrimento que vale a
pena ser sofrido”*

Pe. Fábio de Melo

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – Considerações iniciais.....	1
1 Introdução.....	1
1.2 Sincronização da ovulação.....	2
1.2.1 Hormônios envolvidos nos protocolos.....	2
1.2.1.1 Prostaglandinas.....	2
1.2.1.2 GnRH e seus análogos.....	3
1.2.1.3 Progesterona.....	4
1.2.2 Protocolo de ciclo curto em novilhas.....	4
1.3 Detecção de estro em vacas lactantes.....	12
1.3.1 Detecção visual.....	13
1.3.2 Pedômetro.....	14
1.4 Referências.....	15
CAPÍTULO 2 - O uso da sincronização da ovulação para a primeira inseminação melhora o desempenho reprodutivo e reduz o custo por prenhez em novilhas leiteiras...	19
2.1 Introdução.....	21
2.2 Material e métodos.....	23
2.2.1 Animais, instalações e alimentação.....	23
2.2.2 Delineamento experimental e tratamento.....	23
2.2.3 Diagnóstico de gestação, avaliação da P/IA e perda gestacional na primeira IA.....	26
2.2.4 Prenhez por IA na reinseminação e intervalo para a prenhez.....	26
2.2.5 Análise econômica.....	27
2.2.6 Análise de cenários.....	28
2.2.7 Análise estatística.....	29
2.3 Resultados.....	31
2.3.1 Eficiência reprodutiva na primeira IA.....	31
2.3.2 Eficiência reprodutiva após a primeira IA.....	33
2.3.3 Análise econômica.....	38
2.3.4 Análise de cenários.....	40
2.4 Discussão.....	42
2.5 Conclusão.....	46
2.6 Referências.....	47
CAPÍTULO 3 – Eficiência do método de pintura da cauda e do sistema de pedômetro	

na detecção de estro em vacas leiteiras.....	49
3.1 Introdução.....	51
3.2 Material e métodos.....	53
3.2.1 Animais, alimentação e instalações.....	53
3.2.2 Manejo reprodutivo.....	53
3.2.3 Detecção do estro.....	54
3.2.4 Ultrassonografia dos ovários e produção de leite.....	54
3.2.5 Amostra de sangue, análise de progesterona e ECC.....	55
3.2.6 Desenho experimental e análise estatística.....	56
3.3 Resultados.....	58
3.3.1 Atividade ovariana na pré-sincronização.....	58
3.3.2 Detecção de estro e número de eventos.....	58
3.3.3 Caracterização do estro.....	61
3.3.4 Fatores de risco à prenhez.....	64
3.4 Discussão.....	65
3.5 Conclusão.....	69
3.6 Referências.....	70
CAPÍTULO 4 – Considerações finais.....	72

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

- FIGURA 1 - Média (\pm ep) da concentração plasmática de P₄ (ng/mL) em vacas que receberam uma injeção de 25 mg de dinoprost de trometamina (setas) e um novo (●) ou um usado (Δ) CIDR no 8^o dia do ciclo estral. Vacas do grupo controle (o) não receberam PGF_{2 α} no 8^o dia do ciclo estral. Os dispositivos foram removidos no d-17 do ciclo estral..... 7
- FIGURA 2 - Protocolo de sincronização da ovulação de ciclo curto proposto por Bridges et al.⁸. A variação se deu em relação ao tempo entre o uso da prostaglandina e o GnRH+IA (60 vs. 72h). 9
- FIGURA 3 - Percentual de métodos utilizados por região nos Estados Unidos na detecção do estro durante 12 meses..... 12

CAPÍTULO 2

- FIGURA 1 - Diagrama das atividades do experimento. Novilhas que foram inseminadas artificialmente após a detecção do estro (Controle), do d 0 ao d 84, ou inseminação artificial em tempo fixo (IATF) usando o protocolo IATF-5d como demonstrado na figura, para a primeira inseminação artificial seguido pela detecção de estro para os 84 dias do restante dos estudos. CIDR = dispositivo intravaginal de progesterone previamente utilizado; GnRH = injeção de 100 mcg de diacetato tetrahidratado de gonadorelina. PGF_{2 α} = injeção de 25 mg de dinoprost de trometamina..... 25
- FIGURA 2 - Histograma de dias do estudo na segunda inseminação artificial para 111 novilhas do grupo Controle e 107 novilhas do grupo IATF que receberam a segunda inseminação durante os 84 dias do estudo. A média (\pm ep) e mediana de dias do estudo foram, respectivamente, 36,3 \pm 1,5 e 33,0 para o grupo Controle, 26,8 \pm 1,5 e 23,0 para grupo IATF (P < 0,001)..... 35
- FIGURA 3 - Curva de sobrevivência para o tempo à prenhez de novilhas do estudo inseminadas após a detecção do estro (Controle) ou inseminação artificial em tempo fixo (IATF) para a primeira IA. Novilhas controle foram observadas diariamente quanto à expressão de estro baseado na remoção do bastão de cera e/ou monta natural. Novilhas do grupo

receberam o protocolo IATF-5d para a primeira IA, seguido de inseminações artificiais através da detecção do estro. Foi detectado efeito de tratamento ($P < 0,001$; AHR = 1,60; IC 95% = 1,35 – 1,89)..... 36

CAPÍTULO 3

- FIGURA 1 - Diagrama das avaliações ultrassonográficas durante a pré-sincronização com prostaglandina e dentro do Ovsynch. As setas indicam o momento do início das avaliações ultrassonográficas. Uma amostra de sangue para dosagem de progesterona foi coletada 72 horas após o uso de prostaglandina. 55
- FIGURA 2 - Percentual de distribuição de vacas que demonstraram estro até o quinto dia após o uso de 25 mg de dinoprost de trometamina. As injeções foram realizadas no dia 41 ± 3 e dia 55 ± 3 de lactação..... 62
- FIGURA 3 - Média \pm ep da atividade, mensurada em passos por hora, de vacas primíparas e múltiparas que apresentaram estro (dia 0). * $P < 0,05$; ** $P < 0,001$ 63
- FIGURA 4 - Média da atividade (\pm ep) dos animais que apresentaram estro de acordo com a classificação de ECC (baixo, moderado e alto). Dia 0: dia do estro. Letras indicam haver diferença estatística entre as médias dentro do dia analisado ($P < 0,05$)..... 63

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

TABELA 1 -	Efeito da injeção inicial de GnRH na fertilidade de novilhas leiteiras submetidas ao protocolo de IATF-5d.....	8
TABELA 2 -	Desempenho reprodutivo de vacas que receberam o protocolo de sincronização 7-d ou 5-d CoSynch.....	10
TABELA 3 -	Resultados de taxa de concepção em novilhas utilizando diferentes estratégias de manejo reprodutivo.....	11
TABELA 4 -	Método de avaliação da eficácia de um teste.....	13

CAPÍTULO 2

TABELA 1 -	Efeito do tratamento sobre a fertilidade de novilhas leiteiras na primeira IA.....	32
TABELA 2 -	Efeito do tratamento na fertilidade de novilhas leiteiras aos 84 dias de estudo.....	34
TABELA 3 -	Modelo de COX para tempo à prenhez.....	37
TABELA 4 -	Efeito do tratamento (Controle vs. IATF) no custo por novilha ou por prenhez.....	39
TABELA 5 -	Diferenças econômicas por prenhez entre o Controle e IATF de acordo com o observado e com valores simulados.....	41

CAPÍTULO 3

TABELA 1 -	Sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e acurácia do método de pintura da cauda e do sistema de pedômetro na predição do estro em vacas leiteiras.....	60
TABELA 2 -	Média \pm ep de passos por hora e variação da atividade acordo com o ECC, paridade e produção de leite de animais no dia do estro, e taxa de prenhez por IA de acordo com o ECC, paridade e produção de leite.....	62

LISTA DE ABREVIATURAS

Ac	- Acurácia
AHR	- hazard ratio ajustada
AOR	- odds ratio ajustada
°C	- graus célsius
CIDR	- dispositivo de progesterona
CL	- corpo lúteo
d	- dia
ECC	- Escore de condição corporal
ep	- erro padrão da média
FSH	- hormônio folículo estimulante
GnRH	- hormônio liberador de gonadotrofina
IA	- Inseminação artificial
IATF	- inseminação artificial em tempo fixo
IC	- intervalo de confiança
IR	- Taxa de inseminação
kg	- quilograma
LH	- hormônio luteinizante
mcg	- microgramas
mg	- miligrama
mm	- milímetro
MS	- matéria seca
ng	- nanograma
P ₄	- progesterona
PGF _{2α}	- prostaglandina F _{2α}
P/IA	- prenhez por inseminação artificial
Se	- Sensibilidade
Sp	- Especificidade
TMR	- Dieta total
VPN	- Valor preditivo negative
VVP	- Valor preditivo positivo

RESUMO

Estratégias reprodutivas são de grande importância para reduzir o custo operacional das fazendas leiteiras. Dessa forma, diferentes modelos de manejo são desenvolvidos a fim de melhorar a eficiência reprodutiva, seja por meio da nutrição, pelo desenvolvimento de novos protocolos de sincronização da ovulação, estratégias de manejo ou outros. Nesse contexto, as estratégias reprodutivas em novilhas ganham destacado interesse, pois essa categoria animal representa grande parte dos custos totais da fazenda. Outro ponto crítico ao sistema se trata da capacidade de detecção do estro em vacas lactantes. Segundo levantamentos oficiais do governo dos Estados Unidos, o custo anual com a má detecção do estro em vacas leiteiras é de mais de 300 milhões de dólares. Sendo assim, foram conduzidos dois estudos: o primeiro objetivou avaliar a viabilidade econômica do uso do protocolo de oito dias na primeira IA, ao início do manejo reprodutivo de novilhas, objetivando reduzir o tempo ao primeiro parto, e assim reduzir o custo da alimentação com a categoria. Os resultados demonstraram taxas de concepção similares às obtidas após a inseminação realizada com a detecção visual do estro, reduzindo o tempo à prenhez, e assim diminuindo o custo com a alimentação; o segundo estudo foi realizado para constatar a sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e acurácia dos dois principais métodos auxiliares utilizados na detecção de estro em vacas leiteiras de alta produção: o método da pintura de cauda e o sistema de pedômetro. Observou-se com o segundo estudo que boas taxas de detecção de estro podem ser obtidas com a utilização de ambos os métodos, mas o sistema automatizado apresenta melhores resultados de detecção. Variáveis tais como o escore de condição corporal, número de lactações, paridade e produção de leite, se incorporadas ao modelo de predição de estro, podem aumentar a acurácia de detecção de estro pelo dispositivo.

Palavras-Chave: manejo reprodutivo, análise econômica, detecção de estro

ABSTRACT

Reproductive strategies are of great importance to reduce the operational cost of dairy farms. Thus, different management models are developed to improve reproductive efficiency by changes on nutrition, development of new protocols for synchronization of ovulation, management strategies, or others. In this context, reproductive strategies in heifers has great importance, as this category of animal represents most of the total costs of the farm. Another critical point to the dairy farm is the estrus detection capability in lactating cows. According to official surveys of the US government, the annual cost of poor estrus detection in dairy cows is more than \$ 300 million. Therefore, two studies were conducted: the first aimed to evaluate the economic viability of the eight-day protocol to perform the first AI at the beginning of the reproductive management against AI performed only after estrus detection in dairy heifers. The results showed similar conception rates to those obtained after insemination performed through visual estrus detection, resulting in reduced time to pregnancy, and thus lower cost with feeding; The second study was conducted to verify the sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value and accuracy of the two mainly methods used for estrus detection in dairy cows of high production: tail painting and pedometer system. It was observed with the second study that good estrus detection rates can be obtained using both methods but the automated system performs better detection. Variables such as body condition score, number of lactation, parity and milk production if incorporated into estrus prediction model can increase the accuracy of detection of estrus by the device.

Keywords: reproductive management, economic analysis, estrus detection

Capítulo 1 – Considerações iniciais

1. Introdução

Estratégias de manejo reprodutivo visam reduzir os custos, bem como maximizar o ganho, através da seleção e descarte animais, aumento da produção de leite, redução de gastos com alimentação e aumento do número de animais de reposição. A redução do intervalo de partos reduz a média de dias em lactação do rebanho, melhorando a relação econômica de custo-benefício¹.

O valor da prenhez é influenciado pelo número de lactações, produção de leite, persistência de lactação, entre outros². Esse valor foi estimado entre 200 e 278 dólares, enquanto que o valor da perda de uma prenhez foi estimada em mais de 550 dólares². Já um dia em aberto da vaca lactante foi estimado entre 0,50 e 2,75 dólares, variando de acordo com o estágio de lactação, número de lactações e produção de leite³. Portanto, estratégias para aumentar a taxa de inseminação nos rebanhos são de extrema importância^{4,5}.

A criação de novilhas também representa um grande custo para a fazenda leiteira. Por esse motivo, estratégias de manejo são desenvolvidas especificamente para essa categoria a fim de reduzir a idade ao primeiro parto⁶. Segundo Ribeiro et al.¹, novilhas são inseminadas pela primeira vez com idade aproximada de 400 dias, com peso entre 50 a 55% do adulto, ingerindo 13 kg de matéria seca (MS) por dia. O custo com alimentação durante este período pode variar entre 2,50 a 3,50 dólares por dia⁷.

Objetivando melhorar a estratégia reprodutiva de novilhas, Bridges et al.⁸ desenvolveram um protocolo de sincronização da ovulação de ciclo curto, totalizando oito dias entre o início do protocolo e a inseminação. Com esse protocolo, Rabaglino et al.⁹ observaram taxas de prenhez por inseminação (P/IA) acima de 50%, sendo esse resultado reiterado por Lima et al.⁶ e Lima et al.¹⁰. Assim, acredita-se que a aplicação desse protocolo em novilhas possa resultar em benefícios econômicos, podendo ser, portanto, uma das formas de reduzir o custo com essa categoria. No entanto, existe historicamente uma resistência ao uso de protocolos de sincronização da ovulação em novilhas, tanto pelos resultados que já foram obtidos¹¹⁻¹³ quanto pela alta taxa de detecção do estro alcançada⁷.

Diferentemente de novilhas, a detecção do estro em vacas lactantes ainda permanece um grande problema para a produção leiteira. Por isso, as estratégias de manejo em vacas se concentram na realização de protocolos de sincronização e no uso de métodos auxiliares de detecção de estro^{14,15}.

1.2. Sincronização da ovulação

O desenvolvimento do primeiro protocolo de sincronização da ovulação ocorreu por volta da metade da década de 90, a partir do uso combinado do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) e a prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$)¹⁴. Desde então os protocolos de sincronização foram difundidos por todo o mundo, onde ganharam diversas modificações para melhor se adaptar à categoria animal e à espécie animal (*Bos indicus* vs. *Bos taurus*). A base dos protocolos se faz de duas formas, ou pela indução da ovulação com o uso de GnRH¹⁴ ou pela atresia folicular através do uso associado de estradiol e progesterona¹⁶. Porém, ambos os métodos levam a emergência de uma nova onda de crescimento folicular que é essencial aos protocolos. Essa nova onda é manipulada para fazer com que o folículo dominante presente nela ovule em intervalo de tempo determinado e assim se proceda a inseminação artificial^{14,16}.

O objetivo do protocolo de sincronização é coordenar de forma precisa o desenvolvimento dos folículos e do corpo lúteo (CL), levando os animais a ovularem, e assim se tornarem gestantes. As taxas de P/IA apresentam variações em função das mais diferentes variáveis. Entretanto, independente do protocolo estipulado, os hormônios utilizados são basicamente os mesmos, diferindo em relação a quantidade e momento de administração¹⁷.

1.2.1. Hormônios envolvidos nos protocolos

1.2.1.1. Prostaglandinas

Estudos conduzidos durante as décadas de 70 e 80, avaliando a eficácia da prostaglandina durante o ciclo estral, despertaram interesse de uma possível sincronização da ovulação utilizando hormônios¹⁸⁻²⁰. O uso de prostaglandina em vacas lactantes, quando realizado de forma estratégica, reduz consideravelmente o intervalo do parto ao primeiro serviço e o intervalo do parto e a concepção pela inseminação artificial^{18,21}. Tais resultados se dão devido a tendência de concentrar os estros de animais responsivos a prostaglandina no segundo e terceiro dia após a aplicação do fármaco^{18,20,21}.

A princípio, a prostaglandina era o único composto utilizado rotineiramente no auxílio da indução do estro e ovulação¹⁸, pois sua utilização durante o diestro leva a regressão do corpo lúteo em mais de 80% dos casos, reduzindo a concentração de progesterona (P_4) sanguínea para níveis abaixo de um ng/mL dentro de 24 horas¹⁹. Todavia, sabe-se que a $PGF_{2\alpha}$ age com eficiência entre 5^o e 16^o dia do ciclo estral, embora haja receptores de alta

afinidade à prostaglandina durante os primeiros dias após a formação do CL²². Também é de conhecimento que alguns animais não conseguem regredir o CL mesmo estando durante uma fase do ciclo estral em que se acredita haver resposta ao fármaco²¹.

As prostaglandinas são compostos formados a partir da degradação de fosfolipídios presentes na membrana plasmática das células, sendo essenciais aos protocolos de sincronização da ovulação, pois atuam no desenvolvimento, manutenção e regressão do corpo lúteo, que nada mais é do que uma glândula endócrina formada a partir de um folículo ovulatório²³.

O mecanismo exato pelo qual o CL é refratário às prostaglandinas ainda é pouco compreendido, acreditando-se que haja tanto uma ação local quanto sistêmica²³. Estudos *in vitro* demonstram que há liberação de P₄ pelas células luteais logo após o uso de análogos da prostaglandina, bem como aumento da mobilização de Ca²⁺ intracelular, além da diminuição da viabilidade celular e aumento da contratilidade da artéria ovariana²⁴. A diminuição do fluxo sanguíneo pode interferir no aporte de substâncias essenciais para a manutenção do CL, podendo estar relacionado ao seu tempo de sobrevivência. De fato, os mecanismos que envolvem a regressão do corpo lúteo ainda permanecem por ser elucidados^{23,24}.

Ainda na década de 80, alguns importantes experimentos foram realizados na tentativa de combinar o uso de prostaglandina com gonadotrofina ou estradiol^{20,25}, gerando resultados favoráveis nos índices reprodutivos de vacas leiteiras.

1.2.1.2. GnRH e seus análogos

O GnRH é um hormônio sintetizado no corpo dos neurônios da região médio-basal do hipotálamo, sendo liberado na rede capilar da eminência média (sistema porta-hipotalâmico-hipofisário), provocando a liberação do hormônio luteinizante (LH) e do hormônio folículo estimulante (FSH) pela hipófise. Com a identificação da estrutura do GnRH diversos análogos foram desenvolvidos, estando presentes em diversos produtos comerciais no Brasil, na forma de acetado de gonadorelina, ou acetato de lecirelina, ou acetato de busarelina. Todos os compostos atuam diretamente no CL e nos folículos ovarianos, diferindo entre eles em relação a potência e ao tempo de ação. Dependendo do momento do ciclo estral em que o GnRH é administrado, pode haver o prolongamento do tempo de sobrevivência do CL e alteração da secreção de progesterona²⁶. Os protocolos de sincronização da ovulação utilizam 100 mcg de GnRH para ocasionar os efeitos necessários^{6,10}. Considerando esse fator, as companhias fabricantes de produtos estabeleceram

uma concentração de 50 mcg/mL de gonadorelina como padrão. Sendo assim, independente do produto utilizado e do princípio ativo, sabe-se que a administração de dois mililitros é o volume necessário nos protocolos básicos de sincronização da ovulação em que se utiliza o GnRH.

Segundo Benmrad e Stevenson²⁵, o uso de GnRH causa alta taxa de ovulação (75%) em vacas leiteiras. Além disso, uma dose de PGF_{2α} após o uso de GnRH tendeu sincronizar a ovulação. Os resultados desse estudo, analisados nos dias de hoje, nos demonstra que houve grande avanço na sincronização do crescimento folicular. Porém somente quase dez anos após a publicação desse estudo foi que houve o desenvolvimento do primeiro protocolo de sincronização da ovulação para vacas leiteiras, através combinação de diferentes hormônios [(GnRH (d-0 – 100 mcg) + PGF_{2α} (d-7 – 35 mg) + GnRH (d-9 – 100 mcg) + IA (d-10)] e IA, ficando conhecido como “Ovsynch”¹⁴.

1.2.1.3. Progesterona

Os protocolos de sincronização da ovulação em animais leiteiros de alta produção podem ou não utilizar dispositivos contendo progesterona. Os protocolos com GnRH, como por exemplo o Ovsynch, não utilizam a progesterona devido à alta taxa de resposta frente ao uso do GnRH^{14,25}. Essa situação é diferente de quando se utiliza protocolos que têm como base o uso de estradiol¹⁶. Devido à grande responsividade ao GnRH e também a menores taxas de ciclicidade ao início do protocolo, o uso do dispositivo de P₄ é dispensável. Os benefícios do uso de um dispositivo intravaginal para vacas lactantes não está associado a melhores resultados de P/IA, mas a menor incidência de ovulações precoces e maior concentração do estro de retorno após a IA²⁷. O mesmo não é válido para novilhas, pois o uso do dispositivo aumenta consideravelmente a P/IA^{9,6,10,14}.

1.2.2. Protocolo de ciclo curto em novilhas

Diferente do preconizado para vacas lactantes, os protocolos de sincronização da ovulação em novilhas não têm como objetivo eliminar a capacidade de detecção do estro, uma vez que altas taxas são observadas nessa categoria⁷. Num levantamento realizado nos Estados Unidos²⁸, constatou-se que o número de fazendas utilizando protocolos de sincronização da ovulação em novilhas é baixo em comparação à detecção visual do estro ou mesmo em comparação à detecção através do uso de bastões de cera tipo batom.

Historicamente, novilhas apresentaram menores taxas de prenhez quando inseminadas após a sincronização da ovulação do que quando inseminadas após a detecção visual do estro^{9,12}. No primeiro protocolo de sincronização desenvolvido para bovinos leiteiros¹⁴, as novilhas apresentaram resultados de prenhez inferiores aos de vacas. Este resultado levou a continuidade do manejo reprodutivo através da detecção visual do estro, utilizando ou não PGF_{2α}, pois taxas de concepção acima de 60% poderiam ser obtidas⁷. No entanto, a detecção do estro ainda se fazia necessária. Dessa forma, o protocolo chamado Select Synch (d-0: GnRH; d-7: PGF_{2α} + detecção do estro) foi desenvolvido levando a uma maior concentração dos estros das novilhas. Todavia os resultados ainda eram abaixo do esperado, mesmo utilizando diversas variações dos protocolos^{29,30}.

Um protocolo de sincronização da ovulação ideal deve buscar o menor custo com tratamento hormonal, minimizar o número de manejos com os animais, maximizar a prenhez, diminuir o custo com mão de obra, além de ser inserido de forma simples no manejo diário da fazenda. Para o desenvolvimento de um protocolo mais adequado em novilhas, o entendimento de algumas particularidades fisiológicas é importante. Normalmente 81% das novilhas apresentam três ondas de crescimento folicular, com taxa de crescimento folicular média entre 3,6 e 5,4 mm/dia até o máximo diâmetro, dependendo da onda, e duração de crescimento de 2,3 a 5 dias para atingir o máximo diâmetro, dependendo da onda³¹. Por esses motivos, novilhas podem expressar estro logo após receberem PGF_{2α}³². Esse desenvolvimento se diferencia quando comparado a vacas. Novilhas atingem mais precocemente o *plateau* de crescimento folicular, sendo em média dois dias mais precoce³³. No estudo conduzido por Silva et al.⁷, observou-se que 26,9% das novilhas apresentaram estro antes da IATF. Isso se deve ao rápido crescimento dos folículos ovarianos após a queda dos níveis circulantes de progesterona³¹.

O estudo de Pursley et al.¹⁴ demonstrou que a taxa de ovulação ao primeiro GnRH do protocolo é menor em novilhas do que em vacas (54% vs. 90%; $P < 0,01$). Diferentemente desse estudo, outras pesquisas conduzidas com novilhas também encontraram menores respostas ao GnRH quando ele foi administrado em estágios aleatórios do ciclo estral, variando entre 34,4%¹⁰ e 39,3%³⁴. A taxa de crescimento folicular diária apresenta tendência a ser maior (1,53 vs. 1,34 mm; $P = 0,06$) para novilhas do que para vacas na emergência da onda de crescimento folicular após o uso de GnRH¹⁴.

O protocolo Ovsynch em novilhas produz taxas de P/IA muito inferiores em comparação a animais inseminados após a detecção do estro^{9,14}. Comparando as taxas de P/IA com o uso do Ovsynch *versus* a detecção de estro, Pursley et al.¹² encontraram,

respectivamente, 35,1 e 74,4% ($P < 0,01$). Normalmente no início do protocolo mais de 80% das novilhas apresentam CL ao exame ultrassonográfico, fazendo com que o efeito de indução da ovulação pelo GnRH no início do protocolo seja menor¹⁰. Cinco dias após a aplicação do GnRH, 3,7%, 73,4% e 22,9% dos animais apresentaram, respectivamente, nenhum, um ou dois CL nos ovários⁹.

Os protocolos de sincronização foram adaptados ao manejo dos animais de modo que a IA fosse realizada concomitantemente com a última aplicação do GnRH. Esse protocolo recebeu o nome de CoSynch³⁵. Outra variação foi a adição de dispositivos de progesterona associados ao GnRH no início do protocolo. Essa P₄ tem como função impedir uma eventual luteólise prematura e a ovulação espontânea. Independente da presença do dispositivo de P₄, o uso do GnRH objetiva causar a emergência de uma nova onda pela ovulação do folículo dominante. O uso do GnRH + P₄ no início do protocolo leva ao maior número de novos CL após cinco dias, comparado ao uso somente de P₄ (20,1 vs. 34,4%; $P < 0,01$)¹⁰. No entanto, a taxa de regressão do CL após o uso de PGF_{2α} é semelhante, independente da quantidade de CL.

A quantidade de progesterona influencia fortemente o desenvolvimento folicular. A concentração de P₄ durante o protocolo de sincronização pode variar dependendo do momento do ciclo estral em que o protocolo é iniciado, bem como do protocolo utilizado, e quantidade de usos a que os dispositivos intravaginais já foram submetidos (Figura 1). A quantidade de folículos pequenos (3 – 4 mm) e médios (5 – 9 mm) presentes na onda de crescimento folicular varia conforme a concentração de progesterona³³. Elevados níveis circulantes de P₄ reduzem a concentração sanguínea de LH, causando menor taxa de ovulação do folículo dominante e diminuição da concentração de LH durante seu pico¹⁰. Entretanto, o uso de GnRH associado ao dispositivo de progesterona no d-0 é mais eficaz do que quando se utiliza somente o dispositivo. O experimento realizado por Lima et al.¹⁰ demonstrou haver diferença na taxa de P/IA aos 32 e aos 60 dias quando se utilizou P₄ + GnRH no início do protocolo de ciclo curto em comparação ao mesmo protocolo, porém sem GnRH (Tabela 1).

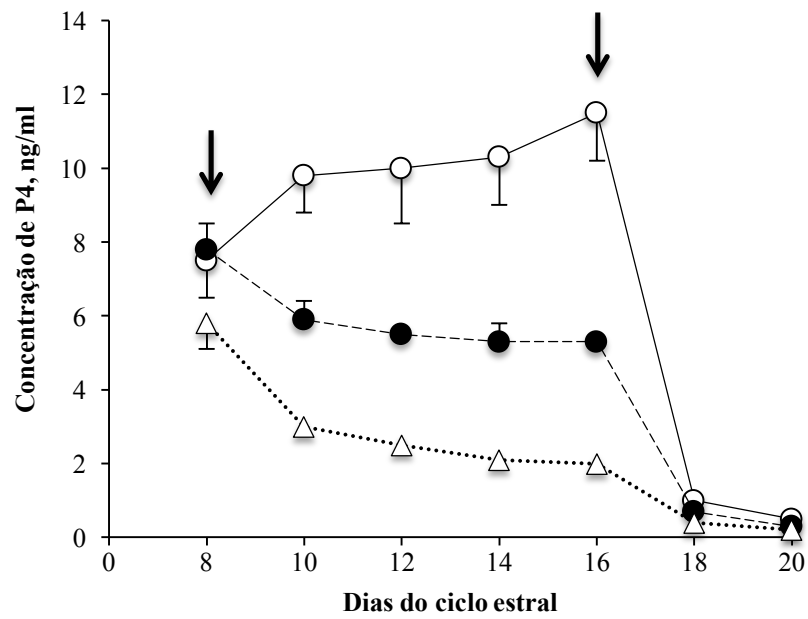


FIGURA 1 – Média \pm ep da concentração plasmática de P₄ (ng/mL) em vacas que receberam uma injeção de 25 mg de dinoprost de trometamina (setas) e um novo (●) ou um usado (Δ) CIDR no 8^o dia do ciclo estral. Vacas do grupo controle (o) não receberam PGF_{2 α} no 8^o dia do ciclo estral. Os dispositivos foram removidos no d-17 do ciclo estral.

Fonte: Adaptado de SAVIO et al.³³

TABELA 1 - Efeito da injeção inicial de GnRH na fertilidade de novilhas leiteiras submetidas ao protocolo de IATF-5d

Item	Tratamentos ¹ , % (n ^o / n ^o total)		
	P4	P4+GnRH	Valor de P
Estro na IA ²	74,4 (523/703) ^a	78,6 (564/718) ^b	0,02
Prenhez			
d 32	55,0 (383/696) ^a	61,7 (439/711) ^b	0,003
d 60	51,6 (359/696) ^a	59,1 (420/711) ^b	0,001
Perda gestacional ³	6,3 (24/383)	4,3 (19/439)	0,15

^{a,b} Diferentes letras dentro da linha indicam diferença ($P < 0,05$).

¹Grupo P₄ = d-0 dispositivo intravaginal de P₄ (CIDR), d-5 injeção de PGF_{2α} e remoção do CIDR, d-6 injeção de PGF_{2α}, d-8 injeção de GnRH + IA; Grupo P4+GnRH = d-0 dispositivo intravaginal de P₄ (CIDR) + GnRH, d-5 injeção de PGF_{2α} e remoção do CIDR, d-6 injeção de PGF_{2α}, d-8 injeção de GnRH + IA.

²Avaliação baseada no uso do bastão de cera tipo batom.

³Cálculo baseado no número de animais que perderam a gestação entre 32 e 60 dias dividido pelo número de animais gestantes aos 32 dias.

Fonte: Adaptado de Lima et al.¹⁰

Estudando protocolos de sincronização da ovulação, Bridges et al.⁸ hipotetizaram que se a secreção de estradiol pelo folículo dominante pudesse ser antecipada no protocolo CoSynch, e se a ovulação de folículos de reduzida capacidade estrogênica fosse diminuída, a taxa de prenhez poderia ser aumentada. Ainda segundo os autores, pesquisas anteriores pelo mesmo grupo sugeriram que a redução do tempo entre a aplicação do GnRH e da PGF_{2α}, associado a retirada do dispositivo de P₄ no momento da PGF_{2α}, aumentaria a fertilidade de novilhas.

A maior concentração de estradiol no momento da IA está associada a maiores taxas de prenhez^{36,37}. Segundo Bridges et al.⁸, maiores concentrações de estradiol podem ser atingidas pelo folículo ovulatório se a regressão luteal for prematura e a retirada do dispositivo de P₄ for precoce em relação à emergência da onda folicular. Ainda segundo os autores, uma maior concentração de estradiol está presente quanto mais curta for a onda de crescimento, uma vez que folículos novos apresentam maior potencial de produção de estradiol comparado a folículos mais velhos, sendo potencializada pelo maior tempo entre a aplicação de PGF_{2α} e o segundo GnRH. *In vitro*, folículos em crescimento com idade de

quatro dias após a emergência da onda, possuem maior capacidade de produção de estradiol, apresentando maiores concentrações dentro dos folículos³⁸. Com base no novo conhecimento da fisiologia do desenvolvimento folicular, produção hormonal e particularidades fisiológicas de novilhas, Bridges et al.⁸ propuseram o protocolo de ciclo curto para vacas de corte, conforme ilustrado na Figura 2. Ainda nesse estudo, houve comparação entre a manutenção do CIDR por 7 vs. 5 dias, bem como comparação da IA realizada 60 vs. 72 horas da aplicação da PGF_{2α}. Os resultados desse estudo foram favoráveis ao CO-synch de 5 dias (Tabela 2).

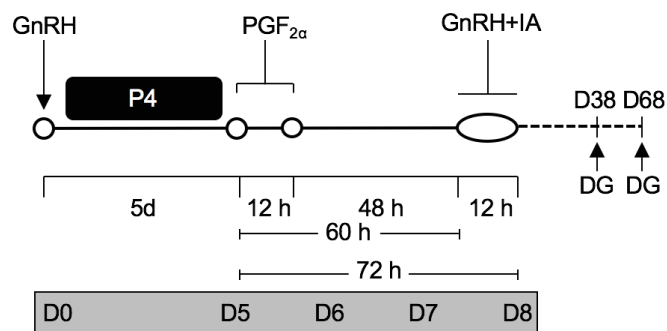


FIGURA 2 - Protocolo de sincronização da ovulação de ciclo curto proposto por Bridges et al. (2008). A variação se deu em relação ao tempo entre o uso da prostaglandina e o GnRH+IA (60 vs. 72h).

Fonte: Bridges et al.⁸

TABELA 2 – Desempenho reprodutivo de vacas que receberam o protocolo de sincronização 7-d ou 5-d CoSynch¹

Variável	7CO-60 vs. 5CO-60 ²		7CO-60 vs. 5CO-72 ^{2,3}		7CO-60 vs. 5CO-72 ^{2,4}	
	7d	5d	7d	5d	7d	5d
No.	112	111	111	105	201	199
Ciclando (%)	41,1	40,5	11,7	8,6	63,2	65,8
Taxa de prenhez (%)	52,7	56,8	66,7 ^a	80,0 ^b	56,2 ^a	65,3 ^b

¹ Todos os animais do experimento receberam 100 mcg de GnRH e um CIDR no d-0. No quinto (5CO) ou no sétimo (7CO) dia do protocolo o CIDR foi retirado e os animais receberam PGF_{2α}. Uma segunda dose de PGF_{2α} foi administrada 12 horas após a primeira.

² Os animais dos tratamentos receberam 100 mcg de GnRH+IA 60 (7CO-60, 5CO-60) ou 72 horas (5CO-72) após a aplicação da última PGF_{2α}.

³ Os animais receberam dinoprost de trometamina como agente luteolítico.

⁴ Os animais receberam cloprostenol sódico como agente luteolítico.

^{a, b} Médias percentuais entre os tratamentos diferem (P < 0,05).

Fonte: Adaptado de Bridges et al.⁸

Frente aos resultados obtidos com os protocolos já existentes, Rabaglino et al.⁹ propuseram a realização do protocolo de ciclo curto (5d CoSynch-72) para novilhas leiteiras, obtendo resultados favoráveis. A taxa de P/IA observada para esse protocolo foi de 50,7%, havendo 4% de perda de prenhez. A taxa de ciclicidade das novilhas foi confirmada com o exame ultrassonográfico no momento da primeira PGF_{2α}, demonstrando haver um ou dois CL em 73,4 e 22,9% dos animais, respectivamente. Infelizmente o estudo não avaliou a resposta ao primeiro GnRH do protocolo. Todavia, outros estudos observaram em novilhas uma resposta próxima a 30% de ovulação ao primeiro GnRH^{10,34}, ou menor³⁹. Devido ao curto intervalo entre a formação do CL e o uso de PGF_{2α}, duas doses de PGF_{2α} foram preconizadas para a completa regressão do CL⁸. A necessidade das duas doses pode ser questionada em casos de baixa resposta ao primeiro GnRH, não havendo diferença na taxa de regressão do CL quando se utiliza uma ou duas doses (86,9 vs. 92,8%; P = 0,21)⁹. Mesmo assim, o uso de duas doses continuou sendo preconizado em protocolos de ciclo curto^{6,7}, pois o corpo lúteo acessório não será responsivo a somente uma dose de PGF_{2α}²⁷. Da mesma maneira, o uso do primeiro GnRH pode ser questionado também devido a menor taxa de resposta quando há uma grande taxa de ciclicidade ao início do protocolo⁶.

O uso do dispositivo de progesterona no protocolo de ciclo curto tende (P = 0,07) a aumentar a taxa de prenhez⁹. Acredita-se que a P₄ possa evitar o estro e a ovulação antes do dia da IA, bem como evitar a perda precoce da gestação por causar benefícios no eixo

hipotalâmico-hipofisário-gonadal. A alta taxa de P/IA obtida no protocolo de ciclo curto sugere que esse tipo de protocolo pode ser utilizado como método alternativo aos programas reprodutivos de novilhas quando a detecção do estro não for utilizada (Tabela 3)¹⁰. Economicamente o uso do protocolo 5-d CoSynch pode ser mais vantajoso do que a realização da IA pela detecção de estro, por aumentar a taxa de inseminação, desde que se obtenha resultados de taxa de prenhez semelhantes aos de novilhas inseminadas após a detecção do estro⁷.

TABELA 3 – Resultados de taxa de concepção em novilhas utilizando diferentes estratégias de manejo reprodutivo

	Protocolo	Taxa de concepção (%)
Pursley et al. ¹²	Ovsynch	35,1
Pursley et al. ¹²	Detecção de estro	74,4
Silva et al. ⁷	Detecção de estro	62,3
Silva et al. ⁷	5d CoSynch	65,5
Rabaglino et al. ⁹	5d CoSynch	61,5
Lima et al. ¹⁰	5d CoSynch	61,7
Thatcher et al. ²⁶	Select synch	61,9 ^a
Thatcher et al. ²⁶	Select synch	56,5 ^b
Lima et al. ¹⁰	5d-CIDR+ PGF _{2α} (d5)+GnRH+IA (d8)	52,9

^a Protocolo: Buserelina (d-0); PGF_{2α} (d-8)

^b Protocolo: Buserelina (d-0); PGF_{2α} (d-7)

1.3. Detecção do estro em vacas lactantes

Entre os principais problemas das fazendas produtoras de leite, a detecção do estro possui destacado papel, mesmo com o avanço da tecnologia nas fazendas. A não utilização de ferramentas que auxiliem a detecção de estro em animais de alta produção é um fator intrigante. Um levantamento feito pelo governo dos Estados Unidos nos 17 principais estados produtores de leite do país constatou que as fazendas pouco utilizavam métodos eletrônicos auxiliares na detecção do estro, conforme ilustrado na Figura 3²⁸.

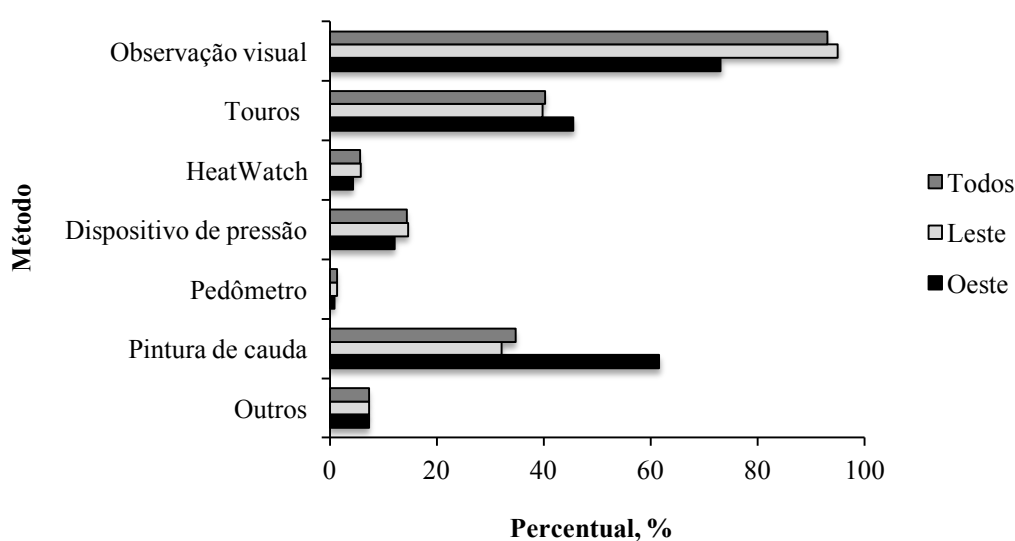


FIGURA 3 – Percentual de métodos utilizados por região nos Estados Unidos na detecção do estro durante 12 meses.

Fonte: NAHMS²⁸

A produtividade individual por animal tem aumentado significativamente nos últimos anos. Para isso, um intenso trabalho de melhoramento genético vem sendo realizado, gerando um animal com alto metabolismo e, por consequência, alta produção de leite. O alto metabolismo da vaca leiteira de alta produção dificulta a detecção do seu estro devido a menor concentração sanguínea de estradiol, menor tempo de duração do estro e menor número de montas efetuadas⁴⁰. O aumento do fluxo sanguíneo hepático ocasionado pela alta ingestão de matéria seca conduz à degradação mais rápida da P₄ e estrógeno, interferindo na expressão de estro. A duração do estro tem correlação negativa com produção de leite ($r = -0,51$; $P < 0,0001$)⁴¹. Sendo assim, o uso de mecanismos auxiliares de detecção de estro se faz quase que essencial ao sistema.

Diferentes métodos auxiliares de detecção de estro podem ser utilizados. Dentre eles a pintura de cauda é um dos mais simples. Porém, independente do método utilizado, a capacidade de detecção de estros verdadeiros e falsos deve ser levado em consideração. Além do mais, o mesmo método pode apresentar diferentes resultados dependendo do parâmetro fisiológico utilizado para se determinar a ocorrência do estro verdadeiro⁴. Uma combinação de eventos internos e externos estão relacionados à expressão de estro⁴¹, o que justifica os diferentes métodos empregados para a predição do estro verdadeiro. A sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e acurácia dos testes são calculadas conforme demonstrado na tabela 4.

TABELA 4 – Método de avaliação da eficácia de um teste

Teste em análise	Teste de referência (Gold standard)		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	a	b	a + b
Negativo	c	d	c + d
Total	a + c	b + d	

Sensibilidade (%) = $a/(a+c) \times 100$; especificidade (%) = $d/(b+d) \times 100$; VPP (%) = $a/(a+b) \times 100$; VPN (%) = $d/(c+d) \times 100$; acurácia (%) = $(a + d) / (a+b+c+d) \times 100$. a = verdadeiro positivo, b = falso positivo; c = falso negativo, d = verdadeiro negativo.

Fonte: Adaptado de Roelofs et al.⁴²

1.3.1. Detecção visual

Quando a detecção visual do estro é utilizada, a hora do dia e o tempo despendido na avaliação dos animais têm grande impacto na taxa de detecção. O número de dias em lactação, número de lactações, tipo de instalações, tamanho do rebanho, número de vacas em estro e outros fatores interferem grandemente na capacidade de expressão e detecção do estro⁴². Além disso, o observador pode exercer forte impacto na taxa de detecção do estro⁴². Van Eedenburg et al.⁴³ desenvolveram um método para a detecção visual de estro levando em consideração uma escala de pontuação para as atitudes comportamentais das vacas quando suspeitas. Cada comportamento, como o reflexo de Flehmen, cheirar a vulva de outro animal, montar, inquietação, colocar o queixo sobre a cauda de outro animal, entre outros, recebe uma pontuação específica. Se a somatória dessa pontuação ultrapassar um valor estabelecido, essa vaca é considerada como estando em estro.

Quase 40% das fazendas leiteiras dos Estados Unidos utilizam a pintura de cauda no auxílio da detecção do estro. Taxas de concepção acima de 45% podem ser obtidas em sistemas de confinamento^{13,44}. Também a associação entre pintura de cauda e a observação visual do estro pode ser realizada para aumentar a taxa de detecção⁴⁵. O método consiste na pintura da parte superior da base da cauda, utilizando tinta ou cera tipo batom. Essa pintura tem dimensão média de 15 X 3 cm e normalmente é realizada com diferentes colorações, facilitando o manejo reprodutivo da fazenda. As pinturas são reforçadas diariamente durante a verificação do estro. A monta e o esfregar de queixo, sinais característicos do estro, removem parcialmente ou totalmente a pintura da base da cauda. Essa remoção por si não deve ser interpretada como estro verdadeiro, devendo sempre serem observadas outras características. A experiência do observador é extremamente importante, pois a detecção errônea do estro pode resultar em alta taxa de animais inseminados quando em diestro ou mesmo quando gestantes, resultando em altas taxas de morte embrionária ou fetal^{46,47}. Comparando a detecção do estro com a IATF ou com ambos os métodos associados, Galvão et al.⁴⁴ puderam constatar que o uso de ambos resulta em maiores benefícios econômicos.

1.3.2. Pedômetro

Esse método leva em consideração o estado de inquietação dos animais durante o período do estro. Um bom dispositivo automático de detecção do estro deve possuir um algoritmo capaz de detectar vacas que apresentam diferentes intensidades de comportamento, manifestados em diferentes espaços de tempo^{41,48}. Um dos mecanismos de avaliação do pedômetro é pelo uso do número de passos por hora manifestado pelo animal durante um determinado espaço de tempo. Essa atividade é contabilizada por uma pulseira acoplada ao redor da região do metatarso das vacas. Nas grandes fazendas leiteiras a leitura desse dispositivo normalmente é realizada no momento de acesso das vacas a sala de ordenha.

Diferentes algoritmos foram desenvolvidos e publicados na literatura internacional para tentar melhor prever o estro^{48,49}. Entretanto, deve ser levado em consideração que os diferentes dispositivos e empresas presentes no mercado possuem diferentes algoritmos que resultam em diferentes taxas de detecção do estro⁴, o que pode gerar altas taxas de detecção⁵⁰, ou mesmo ser capazes de ocasionar perdas desastrosas à fazenda^{46,47}.

1.4. Referências

1. Ribeiro ES, Galvão KN, Thatcher WW, Santos JEP. Economic aspects of applying reproductive technologies to dairy herds. *Anim Reprod.* 2012; 9: 370-87.
2. De Vries A. Economic value of pregnancy in dairy cattle. *J Dairy Sci.* 2006; 89: 3876-85.
3. Groenendaal H, Galligan DT, Mulder HA. An Economic Spreadsheet Model to Determine Optimal Breeding and Replacement Decisions for Dairy Cattle. *J Dairy Sci.* 2004; 87: 2146-57.
4. Roelofs JB, Van Eerdenburg FJCM, Soede NM, Kemp B. Pedometer readings for estrus detection and as predictor for time of ovulation in dairy cattle. *Theriogenology.* 2005a; 64: 1690-703.
5. Stenvenson JS, Hill SL, Nebel RL, Dejarnette M. Ovulation timing and conception risk after automated activity monitoring in lactating dairy cows. *J Dairy Sci.* 2014; 97: 4296-308.
6. Lima FS, Ayres H, Favoreto MG, Bisinotto RS, Greco LF, Ribeiro ES, Baruselli PS, Risco CA, Thatcher WW, Santos JEP. Effects of gonadotropin-releasing hormone at initiation of the 5-d timed artificial insemination (AI) program and timing of induction of ovulation relative to AI on ovarian dynamics and fertility of dairy heifers. *J Dairy Sci.* 2011; 94: 4997-5004.
7. Silva TV, Lima FS, Thatcher WW, Santos JEP. Synchronized ovulation for first insemination improves reproductive performance and reduces cost per pregnancy in dairy heifers. *J Dairy Sci.* 2015; 98: 7810-22.
8. Bridges GA, Helser LA, Grum DE, Mussard ML, Gasser CL, Day ML. Decreasing the interval between GnRH and PGF_{2α} from 7 to 5 days and lengthening proestrus increases timed-AI pregnancy rates in beef cows. *Theriogenology.* 2008; 69: 843-51.
9. Rabaglino MB, Risco CA, Thatcher MJ, Kim IH, Santos JEP, Thatcher WW. Application of one injection of prostaglandin F_{2α} in the five-day Co-Synch + CIDR protocol for estrous synchronization and resynchronization of dairy heifers. *J Dairy Sci.* 2010; 93:1050-58.
10. Lima FS, Ribeiro ES, Bisinotto RS, Greco LF, Martinez NM, Amstalden M, Thatcher WW, Santos JEP. Hormonal manipulations in the 5-day timed artificial insemination protocol to optimize estrous cycle synchrony and fertility in dairy heifers. *J Dairy Sci.* 2013; 96: 7054-65.
11. Schmitt EJ, Diaz PT, Drost M, Thatcher WW. Use of a gonadotropin-releasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin for timed insemination in cattle. *J Anim Sci.* 1996; 74: 1084-91.
12. Pursley JR, Wiltbank MC, Stevenson JS, Ottobre JS, Garverick HA, Anderson LL. Pregnancy rates per artificial insemination for cows and heifers inseminated at a synchronized ovulation or synchronized estrus. *J Dairy Sci.* 1997; 80: 295-300.
13. Rivera H, Lopez H, Fricke PM. Fertility of Holstein dairy heifers after synchronization of ovulation and timed AI after removed tail chalk. *J Dairy Sci.* 2004; 87: 2051-61.
14. Pursley JR, Mee MO, Wiltbank MC. Synchronization of ovulation in dairy cows using

- PGF_{2α} and GnRH. *Theriogenology*. 1995; 44: 915-23.
15. Chanvallon A, Coyral-Castel S, Gatien J, Lamy JM, Ribaud D, Allain C, Clement P, Salvetti P. Comparison of three devices for the automated detection of estrus in dairy cows. *Theriogenology*. 2014; 82: 734-41.
 16. Baruselli PS, Sales JNS, Sala RV, Vieira LM, Sá Filho MF. History, evolution and perspectives of timed artificial insemination programs in Brazil. *Anim Reprod*. 2012; 9: 139-52.
 17. Wiltbank MC, Shiao TF, Bergfelt DR, Ginther OJ. Prostaglandin F_{2α} receptors in the early bovine corpus luteum. *Biol Reprod*. 1995; 52: 74-8.
 18. Lauderdale JW, Seguin BE, Stelflug JN, Chenault JR, Thatcher WW, Vicent CK, Loyancano AF. Fertility of cattle following PGF_{2α} injection. *J Anim Sci*. 1974; 38: 964-67.
 19. Chenault JR, Thatcher WW, Kalra PS, Abrams RM, Wilcox CJ. Plasma progestins, estradiol, and luteinizing hormone following prostaglandin F_{2α} injection. *J Dairy Sci*. 1976; 59: 1342-46.
 20. Dailey RA, Price JC, Simmons KR, Meisterling EM, Quinn PA, Washburn SP. Synchronization of estrus in dairy cows with prostaglandin F_{2α} and estradiol benzoate. *J Dairy Sci*. 1986; 69: 1110-14.
 21. Plunkett SS, Stevenson JS, Call EP. Prostaglandin F₂ alpha for lactating dairy cows with a palpable corpus luteum but unobserved estrus. *J Dairy Sci*. 1984; 67: 380-87.
 22. Wiltbank MC, Pursley JR. The cow as induced ovulatory: Timed AI after synchronization of ovulation. *Theriogenology*. 2014; 81: 170-85.
 23. Arosh JA, Banu SK, Chapdelaine P, Madore E, Sirois J, Fortier MA. Prostaglandin biosynthesis, transport, and signaling in corpus luteum: a basis for autoregulation of luteal function. *J Endocrinol*. 2004; 145: 2551-60.
 24. Korzekwa AJ, Lukasik K, Pilawski W, Piotrowska-Tomala KK, Jaroszewski JJ, Yoshioka S, Okuda K, Skarzynski DJ. Influence of prostaglandin F_{2α} analogues on the secretory function of bovine luteal cells and ovarian arterial contractility in vitro. *Vet J*. 2014; 199: 131-37.
 25. Benmrad M, Stevenson JS. Gonadotropin-releasing hormone and prostaglandin F₂ alpha for postpartum dairy cows: estrous, ovulation, and fertility traits. *J Dairy Sci*. 1986; 69: 800-811.
 26. Thatcher WW, Drost M, Savio JD, Macmillan KL, Entwistle KW, Schmitt EJ, De La Sota RL, Morris GR. New clinical uses of GnRH and its analogues in cattle. *Anim Reprod Sci*. 1993; 33: 27-49.
 27. Chebel RC, Al-Hassan MJ, Fricke PM, Santos JEP, Lima JR, Martel CA, Stevenson JS, Garcia R, Ax RL. Supplementation of progesterone via controlled internal drug release inserts during ovulation synchronization protocols in lactating dairy cows. *J Dairy Sci*. 2010; 93: 922-31.
 28. NAHMS (National Animal Health Monitoring System). Reproduction practices on US dairy operations. Centers for Epidemiology and Animal Health, US Department of Agriculture: Animal and Plant Health Inspection Service: Veterinary Services, Fort Collins, 2009.

29. Stevenson JS, Kobayashi Y, Thompson KE. Reproductive performance of dairy cows in various programmed breeding systems including Ovsynch and combinations of gonadotropin-releasing hormone and prostaglandin F_{2α}. *J Dairy Sci.* 1999; 82: 506-15.
30. Stevenson JS, Smith JF, Hawkins DE. Reproductive outcomes for dairy heifers treated with combinations of prostaglandin F_{2α}, Norgestomet, and Gonadotropin-Releasing Hormone. *J Dairy Sci.* 2000; 83: 2008-15.
31. Savio JD, Keenan L, Boland MP, Roche JF. Pattern of growth of dominant follicles during the oestrous cycle of heifers. *J Reprod Fertil.* 1988; 83: 663-71.
32. Rivera H, Lopez H, Fricke PM. Use of intravaginal progesterone-releasing inserts in a synchronization protocol before timed AI and for synchronizing return to estrus in Holstein heifers. *J Dairy Sci.* 2005; 88: 957-68.
33. Savio JD, Thatcher WW, Morris GR, Entwistle K, Drost M, Mattiacci MR. Effects of induction of low plasma progesterone concentrations with a progesterone-releasing intravaginal device on follicular turnover and fertility in cattle. *J Reprod Fertil.* 1993; 98: 77-84.
34. Rivera H, Sterry RA, Fricke PM. Presynchronization with gonadotropin-releasing hormone does not improve fertility in Holstein heifers. *J Dairy Sci.* 2006; 89: 3810-16.
35. Geary TW, Whittier JC. Effects of a timed insemination following synchronization of ovulation using the Ovsynch or Co-synch protocol in beef cows. *Prof Anim Scient.* 1999; 14: 217-20.
36. Perry GA, Smith MF, Lucy MC, Green JA, Parks TE, Macneil MD, Roberts AJ, Geary TW. Relationship between follicle size at insemination and pregnancy success. *Proceedings of the National Academy of Sciences, Washington,* 2005; 102: 5268-5273,
37. Lopes AS, Butler ST, Gilbert RO, Butler WR. Relationship of pre-ovulatory follicle size, estradiol concentrations and season to pregnancy outcome in dairy cows. *Anim Reprod Sci.* 2007; 99: 34-43.
38. Valdez KE, Cuneo SP, Gorden PJ, Turzillo AM. The role of thecal androgen production in the regulation of estradiol biosynthesis by dominant bovine follicles during the first follicular wave. *J Anim Sci.* 2005; 83: 597-603.
39. Stevenson JL, Dalton JC, Santos JEP, Sartori R, Ahmadzadeh A, Chebel RC. Effect of synchronization protocols on follicular development and estradiol and progesterone concentrations of dairy heifers. *J Dairy Sci.* 2008; 91: 3045–56.
40. Lopez H, Satter LD, Wiltbank MC. Relationship between level of milk production and estrus behavior of lactating dairy cows. *Anim Reprod Sci.* 2004; 80: 209-23.
41. Wiltbank MC, Lopez H, Sartori R, Sangsritavong S, Gümen A. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due elevated steroid metabolism. *Theriogenology.* 2006; 65: 17-29.
42. Roelofs JB, López-Gatius F, Hunter RH, Van Eerdenburg FJ, Hanzen CH. When is a cow in estrus? Clinical and practical aspects. *Theriogenology.* 2010; 2010; 74: 327-44.
43. Van Eerdenburg FJ, Loeffler HS, Van Vliet JH. Detection of oestrus in dairy cows: a new approach to an old problem. *Vet Quart.* 1996; 18: 52-54.
44. Galvão KN, Federico P, De Vries A, Schuenemann GM. Economic comparison of reproductive programs for dairy herds using estrus detection, timed artificial

- insemination, or a combination. *J Dairy Sci.* 2013; 96: 2681-93.
45. Xu ZZ, McKnight DJ, Vishwanath R, Pitt CJ, Burton LJ. Estrus detection using radiotelemetry or estrus observation and tail painting for dairy cows on pasture. *J Dairy Sci.* 1998; 81: 2890-96.
 46. Nebel RL, Whittier WD, Casell BG, Britt JH. Comparison of on-farm and laboratory milk progesterone assays for identifying errors in detection of estrus and diagnosis of pregnancy. *J Dairy Sci.* 1987; 70: 1471-76.
 47. Sturman H, Oltenacu EAB, Foote RH. Importance of inseminating only cows in oestrus. *Theriogenology.* 2000; 39: 1657-67.
 48. Roelofs JB, Van Eerdenburg FJCM, Soede NM, Kemp B. Various behavioral signs of estrus and their relationship with time of ovulation in dairy cattle. *Theriogenology.* 2005b; 63: 1366-77.
 49. Lovendahl P, Chagunda MGG. On the use of physical activity monitoring for estrus detection in dairy cows. *J Dairy Sci.* 2010; 93: 249-59.
 50. Et-Taras EE, Spahr SL. Detection and characterization of estrus in dairy cattle with an electronic heatmount detector and an electronic activity tag. *J Dairy Sci.* 2001; 84: 792-98.

Capítulo 2 – O uso da sincronização da ovulação para a primeira inseminação melhora o desempenho reprodutivo e reduz o custo por prenhez em novilhas leiteiras

RESUMO

Esse estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar o desempenho reprodutivo e o custo por prenhez de novilhas leiteiras que recebem dois tratamentos distintos: a - uma inseminação artificial (IA) no primeiro manejo reprodutivo através da sincronização da ovulação; b - inseminação somente pela detecção do estro espontâneo. Foram avaliadas 612 novilhas da raça Holandesa, com aproximadamente 400 dias de idade, oriundas de três fazendas. Seis dias antes da mudança para o curral de inseminação e início do manejo reprodutivo, os animais foram incluídos aleatoriamente nos tratamentos, de modo a receber uma IA após a detecção do estro, entre o dia 0 e 84 (Controle, n = 306) do estudo, ou receber uma IA em tempo fixo (IATF, n = 305), seguido pela detecção do estro. Novilhas do grupo de IATF tiveram sua ovulação sincronizada (d -6) pelo uso do protocolo de cinco dias (IATF-5d: -6, GnRH e um dispositivo de progesterona; d -1, PGF_{2α} e remoção do dispositivo; d 0, PGF_{2α}; d 2, GnRH + IA), realizando-se a IA a partir do d 1 caso o animal apresentasse estro. Iniciando no d 0, os animais foram observados diariamente quanto a expressão de estro. Novilhas que demonstraram estro foram inseminadas na mesma manhã em que se realizou a detecção. Animais do grupo controle que não foram detectados em estro até o d 7 receberam uma dose de PGF_{2α}, sendo esse tratamento repetido a cada duas semanas até a percepção de estro e realização da IA. O estudo teve duração de 84 dias, de modo a permitir o desenvolvimento de quatro ciclos estrais de 21 dias de duração. A análise econômica comparou os custos dos dois tratamentos em diferentes cenários, levando em consideração a variação de 50 a 80% na taxa de detecção de estro após a primeira IA. O intervalo para a IA foi 8 dias menor para o grupo IATF do que para o Controle. O percentual de novilhas gestantes à primeira IA não foi diferente entre os dois grupos (Controle = 58,3 vs. IATF = 62,8%). Em contraste, animais do grupo IATF demonstraram maior P/IA comparados ao grupo Controle quando se utilizou sêmen sexado (Controle = 31,6 vs. IATF = 54,8%). A taxa de inseminação a cada 21 dias (ciclo estral) foi maior para o grupo IATF (91,4%) do que o Controle (84,2%), mesmo quando avaliada após os primeiros 21 dias do estudo (IATF = 77,1% vs. Controle = 68,2). O aumento da taxa de inseminação a cada 21 dias impactou positivamente na taxa de prenhez de 47,9% do grupo Controle para 57,2% no grupo IATF. O risco para uma prenhez foi 60% maior para IATF do que para o Controle. O aumento da taxa de prenhez na IATF reduziu a mediana para a prenhez em 12 dias (IATF = 14,0 vs. Controle = 2,0) e aumentou a proporção de novilhas gestantes em 6,3% ao final do estudo (IATF = 91,5% vs. Controle = 85,2). O custo por prenhez foi reduzido em cerca de \$17,00 para IATF quando comparado ao Controle. Em conclusão, a inseminação de todas as novilhas dentro de dois dias com o uso do protocolo IATF-5d mantém a P/IA, melhora a taxa de prenhez, além de reduzir o custo da prenhez quando comparado com a inseminação após a detecção do estro.

Palavras-Chave: protocolo de ciclo curto, IATF, reprodução

Chapter 2 – Synchronized Ovulation for First Insemination Improves Reproductive Performance and Reduces Cost per Pregnancy in Dairy Heifers

ABSTRACT

The objectives were to evaluate the effects of synchronizing estrus and ovulation to implement a timed artificial insemination (AI) at first insemination on reproductive performance and cost per pregnancy in dairy heifers. Six-hundred and twelve Holsteins heifers at approximately 400 d of age from three farms were enrolled in the study. Six days before moving to the breeding pens, heifers were allocated randomly to AI after detected estrus from study d 0 to 84 (Control, n = 306), or to timed AI for first AI followed by detected estrus for the remainder of the 84-d study (TAI, n = 305). Heifers receiving TAI were enrolled in the 5-d timed AI protocol on study d -6 (d -6, GnRH and a progesterone insert; d -1, PGF_{2α} and insert removal; d 0, PGF_{2α}; d 2, GnRH + AI), and they were allowed to be bred the day before scheduled timed if detected in estrus. Starting on study d 0, estrus was detected daily. Heifers in estrus were inseminated on the same morning of detected estrus. Control heifers not inseminated by study d 7 received PGF_{2α} and this treatment was repeated every 2 weeks until AI. The study lasted 84 d to allow a period of breeding equivalent to four 21-d estrous cycles. Sensitivity analysis compared economic differences between the two treatments under different input scenarios when detection of estrus after the first AI varied from 50 to 80%. Interval to first AI was 8 d shorter for TAI than for Control. Pregnancy at first AI did not differ between treatments (Control = 58.3 vs. TAI = 62.8%). In contrast, TAI increased P/AI compared with Control in heifers inseminated with sex-sorted semen (Control = 31.6 vs. TAI = 54.8%). The 21-d cycle insemination rate was greater for TAI (91.4%) than Control (82.4%), even when evaluated after the first 21 d in the study (Control = 68.2 vs. TAI = 77.1%). The increased insemination rate improved the 21-d cycle pregnancy rate from 47.9% in Control to 57.2% in TAI heifers. In fact, the hazard of pregnancy was 60% greater for TAI than Control. The increased pregnancy rate in TAI reduced the median days to pregnancy by 12 d (Control = 2.0 vs. TAI = 14.0) and increased the proportion of pregnant heifers by 6.3 percentage points by study d 84 (Control = 85.2 vs. TAI = 91.5%). The cost per pregnancy was \$17.00 less for TAI than Control. Collectively, inseminating all heifers within 2 d of breeding with the 5-d timed AI protocol maintains P/AI, improves pregnancy rate, and reduces cost per pregnancy compared with insemination after detected estrus.

Keywords: 5-d timed AI, economics of reproduction, dairy heifer

2.1 Introdução

A adoção de estratégias reprodutivas utilizando a inseminação artificial em tempo fixo para novilhas leiteiras é baixa quando comparado ao uso em vacas lactantes¹. Historicamente, programas de sincronização da ovulação para novilhas leiteiras baseados no uso de GnRH e PGF_{2α} resultam em menor taxa de prenhez por inseminação artificial (P/IA) quando comparado com resultados de P/IA obtidos após a detecção do estro²⁻⁴. Essa inabilidade de atingir resultados semelhantes em termos de P/IA provavelmente se deve à inadequada sincronização do crescimento folicular e ovulação de novilhas leiteiras. A menor taxa de P/IA em programas de IATF, os quais utilizam de GnRH e PGF_{2α}, provavelmente explica a baixa utilização de protocolos de sincronização no manejo reprodutivo de novilhas leiteiras. Além do mais, a taxa de detecção do estro em novilhas é alta.

Recentemente o protocolo de cinco dias (IATF-5d) desenvolvido por Rabaglino et al.⁵, extensivamente revisado por Lima et al.^{6,7}, resultou em taxas de P/IA acima de 59% na primeira inseminação artificial e taxas acima de 55% na segunda inseminação de novilhas mestiças. Tais resultados se assemelham àqueles obtidos quando a IA foi realizada após a detecção do estro espontâneo ou após o uso de PGF_{2α} na indução do estro⁸. Os resultados descritos por Lima et al.⁷ sugerem que a sincronização da ovulação utilizando o protocolo IATF-5d é uma alternativa atrativa para produtores rurais, e que sua implementação pode aumentar a taxa de inseminação, além de reduzir o tempo à prenhez. Por consequência, haveria redução do custo de alimentação na criação das novilhas. No entanto, ainda não está bem estabelecido se a implementação de um programa de IATF melhora o desempenho reprodutivo de novilhas além do que é observado em programas que se utilizam da detecção do estro. A possibilidade de os programas de sincronização da ovulação em novilhas resultar em taxas de P/IA semelhantes aos encontrados na inseminação durante o estro é ainda desconhecido. Rabaglino et al.⁵ demonstraram não haver diferença na P/IA entre animais reinseminados utilizando o protocolo IATF-5d ou estro de retorno. Todavia, o estudo de Rabaglino et al.⁵ não tinha como objetivo estudar a diferença entre a inseminação durante o estro e o protocolo IATF-5d. Lima et al.⁷ demonstraram que possivelmente pode-se atingir altos índices de P/IA utilizando o protocolo IATF-5d no manejo reprodutivo de novilhas.

O maior custo dos programas de reposição de animais nas fazendas leiteiras é atribuído à alimentação, contabilizando quase 45% do custo total na Holanda⁹ e acima de 64% nas fazendas norte-americanas¹⁰. Quando o intervalo à prenhez é aumentado, o custo com a alimentação se torna mais elevado, pois os animais irão parir numa idade mais

avançada. Cada dia adicional nesse aumento de dias representa 12 a 14 kg de ingestão de MS por novilha. Sendo assim, o manejo reprodutivo com o protocolo IATF-5d pode resultar na melhoria da taxa de prenhez, vindo reduzir a idade ao primeiro parto, tornando-se um método mais atrativo na criação de novilhas devido a redução nos custos de alimentação.

A primeira hipótese do estudo foi que a sincronização da ovulação utilizando o protocolo IATF-5d na primeira inseminação resultaria em taxa de prenhez similar àquelas das novilhas do grupo Controle, inseminadas somente após a detecção do estro, resultando em aumento da taxa de inseminação e redução do tempo à prenhez. A segunda hipótese do estudo foi de que o aumento da taxa de inseminação e da taxa de prenhez com a utilização do protocolo IATF-5d resultaria em benefícios econômicos devido a redução do custo da prenhez quando comparado com novilhas do grupo Controle. Portanto, esse estudo foi realizado com os objetivos de avaliar a taxa de P/IA, taxa de prenhez, e o custo de produção de uma prenhez em novilhas leiteiras submetidas ao protocolo de sincronização da ovulação para a primeira inseminação artificial, seguido por inseminações sucessivas através da detecção de estro, comparando com novilhas que foram inseminadas somente após a detecção de estro.

2.2 Material e métodos

Todos os procedimentos realizados no estudo foram previamente aprovados pelo comitê de pesquisa da Universidade da Flórida.

2.2.1 Animais, instalações e alimentação

O estudo contou com 612 novilhas da raça Holandesa, oriundas de três fazendas da região central do estado da Califórnia, Estados Unidos. Na fazenda 1, fazenda 2 e fazenda 3 foram utilizados, respectivamente, 149, 126 e 337 animais. As novilhas foram alocadas semanalmente aos tratamentos, totalizando 10 semanas, com uma variação de inclusão de 31 a 121 animais em cada bloco, e idade mínima de 384 dias. A média \pm dp de idade no momento da inclusão foi de $400,9 \pm 11,8$, $400,0 \pm 10,3$ e $400,9 \pm 8$ dias de idade na fazenda 1, fazenda 2 e fazenda 3, respectivamente. As novilhas foram mantidas em currais com sistema “self-locking” na linha de alimentação, de modo a facilitar o manejo. O estudo foi conduzido durante os meses de abril, maio e junho de 2014, sendo o último diagnóstico de gestação realizado em novembro de 2014. As novilhas foram alimentadas com dieta total (TMR) uma vez ao dia, entre 07:00 e 08:30 h, atendendo as demandas exigidas para novilhas da raça Holandesa pesando 360 kg e com ganho de peso diário na ordem de 0,9 kg/dia (NRC, 2001). Em todas as três fazendas as dietas eram compostas de silagem de trigo, silagem de sorgo, feno de alfafa, feno de trigo, glúten de milho, caroço de algodão, polpa cítrica, premix com minerais, vitaminas e monensina sódica.

2.2.2 Delineamento experimental e tratamentos

O experimento foi delineado em blocos casualizados. A randomização foi previamente designada para cada fazenda em forma de blocos, com duas novilhas cada, sendo ambos os tratamentos representados dentro de cada bloco. A alocação de cada novilha dentro dos blocos foi completamente aleatória, baseado na sequência de identificação dentro dos currais. As novilhas permaneceram em currais de recria até serem transferidas para o curral de inseminação, sendo esse dia designado como dia 0 (d 0) do estudo sendo igual a todas as fazendas.

A sincronização da ovulação iniciou-se seis dias (d -6) antes da mudança para o curral de inseminação. Dessa forma, as novilhas foram alocadas aos blocos pela sequência

de identificação no curral e, dentro do bloco, aleatoriamente distribuídas aos tratamentos. Os tratamentos foram implementados de modo a iniciar a inseminação no dia d 0 do estudo no grupo Controle. Os tratamentos foram: IA após a detecção do estro espontâneo ou o estro induzido pelo uso de $\text{PGF}_{2\alpha}$ entre o d 0 e d 84 (Controle, n = 306), ou IATF-5d para a primeira inseminação, seguido pela detecção de estro e inseminação até o final do período de estudo (IATF, n = 305). Para o tratamento IATF a ovulação foi sincronizada pelo protocolo IATF-5d (LIMA et al., 2013) iniciado no d -6. O protocolo consistiu de uma injeção intramuscular com 100 μg de GnRH (50 mcg/mL de diacetato tetrahidratado de gonadorelina; Ovacyst, Bayer HealthCare Animal Health, Whippany, NJ) e um dispositivo intravaginal (CIDR) previamente utilizado e auto-clavado, originalmente contendo 1,38 g de progesterona (Eazi-Breed CIDR Cattle Insert, Zoetis, Florham Park, NJ)¹¹. No d -1, o dispositivo foi removido e as novilhas receberam uma injeção intramuscular de 25 mg de prostaglandina (5 mg/mL de dinoprost de trometamina; ProstaMate, Bayer HealthCare Animal Health, Whippany, NJ). No d 0 as novilhas receberam uma segunda injeção intramuscular de $\text{PGF}_{2\alpha}$ e foram transferidas para o curral de inseminação. A inseminação artificial foi realizada no d 2, concomitantemente com a última injeção de GnRH (Figura 1). Qualquer novilha do grupo IATF que apresentasse estro no d 1, dia anterior a data pré-programada, foi inseminada e recebeu a injeção final de GnRH junto com a IA. Dessa forma, o tratamento IATF foi uma combinação da inseminação após a detecção do estro no d 1 e a inseminação em tempo fixo no d 2 do estudo.

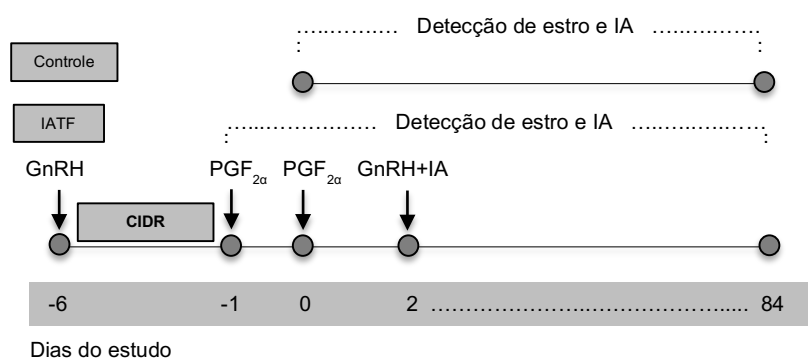


FIGURA 1 - Diagrama das atividades do experimento. Novilhas que foram inseminadas artificialmente após a detecção do estro (Controle), do d 0 ao d 84, ou inseminação artificial em tempo fixo (IATF) usando o protocolo IATF-5d como demonstrado na figura, para a primeira inseminação artificial seguido pela detecção de estro para os 84 dias do restante dos estudos. CIDR = dispositivo intravaginal de progesterone previamente utilizado; GnRH = injeção de 100 mcg de diacetato tetrahidratado de gonadorelina; PGF_{2α} = injeção de 25 mg de dinoprost de trometamina.

Iniciando no d 0, todas as novilhas foram movidas para o curral de inseminação, tendo a região superior da cauda pintada com um bastão de cera (All Wather Paintstik, LA-CO Industries Inc., Elk Grove Village, IL). A remoção da cera foi interpretada como indicador de estro. Os animais foram avaliados diariamente, sempre durante as manhãs, imediatamente após a alimentação. Qualquer novilha que apresentou sinais de aceitação de monta ou remoção da cera foi inseminada na mesma manhã. Novilhas do grupo Controle que não apresentaram estro dentro de sete dias após entrarem no curral de inseminação, receberam uma injeção de PGF_{2α}. O uso de PGF_{2α} foi repetido a cada duas semanas no grupo Controle até que primeira IA fosse realizada. Na fazenda 1, as novilhas foram inseminadas por dois técnicos utilizando sêmen de seis touros, dos quais quatro foram sêmen sexado e dois foram convencionais. Na fazenda 2, as novilhas foram inseminadas também por dois técnicos, com sêmen oriundo de sete diferentes touros, dos quais dois eram sêmen sexado e os outros cinco convencional. Na fazenda 3, os animais foram inseminados por cinco diferentes técnicos utilizando sêmen de oito touros distintos, sendo seis com doses de sêmen convencional e dois com doses convencionais e sexadas. No total foram utilizados 14 diferentes touros no estudo,

havendo a utilização de touros em comum entre as fazendas. O uso de touros e do tipo de sêmen foi distribuído de forma aleatória entre os tratamentos. Um total de 130 novilhas foram inseminadas com sêmen sexado na primeira inseminação, sendo 57 do Controle (19,2% das IA) e 73 na IATF (23,9% das IA). Após a primeira IA, somente doses convencionais de sêmen foram utilizadas nas inseminações.

O estudo teve duração de 84 dias, permitindo que o período de manejo reprodutivo do estudo perdurasse o equivalente a quatro ciclos estrais, de 21 dias cada.

2.2.3 Diagnóstico de gestação, avaliação da P/IA e perda gestacional na primeira IA

A gestação foi avaliada aos 32 ± 3 dias após a inseminação artificial, tanto no grupo Controle quanto no grupo IATF. O diagnóstico de gestação foi realizado por ultrassonografia transretal, utilizando um aparelho portátil equipado com transdutor linear retal de 7.5 MHz (Easi-Scan, BCF Technology, Rochester, MN). O critério utilizado para a determinação da prenhez foi a presença do embrião associado ao seu batimento cardíaco. Animais diagnosticados como gestantes foram reavaliados aos 60 ± 3 dias de gestação para reconfirmar a prenhez e identificar o percentual de perda. Novilhas que demonstraram estro após a primeira IA e antes do diagnóstico de gestação foram consideradas como não gestantes. A prenhez por IA foi calculada dividindo o número de animais gestantes aos 32 ou 60 dias pelo número de animais inseminados. A perda gestacional foi calculada dividindo o número de animais que perderam a gestação entre 32 e 60 dias pelo número de animais com prenhez confirmada aos 60 dias após a IA.

2.2.4 Prenhez por IA na reinseminação e intervalo para a prenhez

Após a primeira inseminação, todos os animais que retornaram ao estro foram reinseminados, tanto no grupo Controle quanto no grupo IATF. Novilhas que retornaram ao estro foram consideradas como não gestantes. A gestação foi avaliada pela ultrassonografia transretal aos 60 ± 3 dias após todas as reinseminações. Para o cálculo do intervalo à prenhez, as novilhas foram consideradas gestantes baseado no diagnóstico de gestação aos 60 dias após a IA.

2.2.5 Análise econômica

Um orçamento parcial foi desenvolvido para calcular as diferenças econômicas existentes entre os dois tratamentos instituídos no experimento, utilizando valores específicos para cada animal em cada uma das fazendas. A estrutura orçamental desenvolvida inclui as despesas dos hormônios utilizados para a sincronização da ovulação, custos associados a aplicação dos hormônios, detecção do estro e IA, sêmen e materiais relacionados a IA, custo do diagnóstico de gestação, e custos com a alimentação. Os valores descritos são baseados no valor obtido em cada uma das fazendas. Dessa forma, foi calculada uma média para cada um dos custos relacionados aos tratamentos instituídos.

O custo com os hormônios para a sincronização do estro e da ovulação foi baseado no preço do mercado durante a realização do experimento, sendo: \$2.00/dose de GnRH e PGF_{2α}. O custo de mercado do CIDR foi de \$8.00, mas considerou-se dois usos por dispositivo¹¹ e os custos associados com limpeza e autoclavagem, resultando num preço de \$4.19 por uso. Um adicional de \$0.02 foi calculado para cada injeção de modo a sanar os gastos com seringas e agulhas utilizadas para cada fazenda. Os custos com mão de obra foram baseados no salário de \$10.00/hora. Os tratamentos foram avaliados por trabalhador em cada uma das fazendas, estimando o custo da mão de obra associado a aplicação dos hormônios, detecção do estro e inseminação artificial. Cada trabalhador foi avaliado como sendo capaz de realizar as seguintes tarefas por hora de trabalho: administrar injeções a 120 novilhas, ou aplicar 40 CIDR, ou remover 80 dispositivos. No total, o custo para implementar cada protocolo foi calculado em \$12.87. O número de utilizações de prostaglandina foi considerado para o tratamento Controle. A detecção do estro foi baseada na aplicação diária do bastão de cera sobre a cauda dos animais e cada pessoa seria capaz de trabalhar com 120 novilhas por hora. O custo associado ao sêmen foi de \$6.00 para a dose de sêmen convencional e \$18.00 para o sêmen sexado. Nesse valor estão inclusos os materiais associados a IA. Cada pessoa seria capaz de inseminar 30 novilhas por hora. O diagnóstico de gestação foi calculado em \$2.00 dólares por animal. Novilhas que foram diagnosticadas gestantes aos 32 dias receberam uma avaliação adicional aos 60 dias.

Cada dia adicional até a gestação, após o dia de entrada no curral de inseminação, resulta em custos adicionais de alimentação devido ao animal vir a conceber em uma idade mais avançada. Para as novilhas que se tornaram gestantes, o custo adicional de alimentação foi baseado no valor médio da TMR de novilhas ao final de gestação, estabelecido em \$0.17/kg de MS, e ingestão de 13,0 kg de MS para cada dia de atraso até o

parto. A dieta foi fornecida atendendo as exigências nutricionais de novilhas holandesas com peso aproximado de 580 kg e 23 meses de idade, consumindo aproximadamente 2,25% do peso corporal em MS por dia, e ganho de peso médio de 0,9 kg¹². Para novilhas que permaneceram não gestantes durante os 84 dias do estudo, o custo adicional da dieta total foi de \$0.20/kg de MS, estimando um consumo diário de 9.0 kg/dia de MS para cada dia do estudo. Essa ingestão atende as exigências nutricionais de novilhas holandesas com peso aproximado de 400 kg e 14 meses de idade, consumindo aproximadamente 2,25% do seu peso corporal por dia em MS, de modo a gerar um ganho de 0,9 kg de peso corporal por dia¹².

O custo final foi resumido para cada valor apresentado no orçamento final, calculado para cada novilha incluída no estudo e também por novilha gestante ao final do período de 84 dias de manejo reprodutivo.

2.2.6 Análise de cenários

Foram criados cinco cenários para investigar os efeitos da variação do custo de alimentação, mão de obra, tratamento hormonal, preço do sêmen e P/IA. Cada cenário foi construído com base em diferentes taxas de inseminação após os primeiros 21 dias do início do estudo. A taxa de inseminação para o primeiro período de 21 dias foi observada como sendo 100% para o grupo IATF e 93,5% para o Controle. No período de 21 dias subsequentes (dias 22 a 84), a taxa de detecção do estro variou de 50 a 80%, com escala de 10% entre os cenários criados, sendo iguais para ambos os tratamentos. Portanto, em cada cenário somente uma variável (custo de alimentação, mão de obra, custo com tratamento hormonal, preço de sêmen, ou P/IA) sobre as distintas taxas de inseminação foi avaliada, e o restante dos valores foi mantido constante baseado nos resultados do estudo.

Os cálculos iniciais utilizaram os valores observados da taxa de inseminação e P/IA do estudo, gerando a taxa de prenhez para cada período de 21 dias e a média de dias à prenhez em cada um dos tratamentos. O primeiro cenário avaliou o impacto da variável custo de alimentação para cada dia extra à prenhez após a entrada no curral de inseminação. Foi assumido que cada dia extra resultaria num custo adicional de alimentação de uma novilha em período final de gestação, com consumo diário de 13 kg de MS¹², com variação de custo de \$0.15, \$0.18 ou \$0.21/kg de MS. No segundo cenário, o custo do tratamento hormonal variou de \$10.00, \$13.00 ou \$16.00 para a implementação do protocolo de sincronização, e \$1.67, \$2.17 ou \$2.67 para a administração de PGF_{2α} nas novilhas do grupo Controle. Todas as novilhas do grupo IATF receberam ao menos uma inseminação, enquanto que 64% dos

animais do grupo Controle receberam PGF_{2α}. No terceiro cenário, foi assumido que somente doses de sêmen convencional seriam utilizadas e o preço do sêmen e suporte para a inseminação seria de \$4.00, \$7.00 ou \$10.00. No quarto cenário, o custo com a mão de obra variou de \$8.00, \$11.00 ou \$14.00 por hora trabalhada. No último cenário, a P/IA foi alterada para resultar em 90%, 80% ou 70% do observado no grupo IATF e no Controle, de modo a avaliar o impacto econômico dos dois diferentes tratamentos sobre os diferentes cenários de fertilidade das novilhas.

Todas as análises sensitivas são apresentadas como diferenças no custo observado entre o grupo Controle menos o grupo IATF para obter uma prenhez durante os 84 dias de manejo reprodutivo.

2.2.7 Análise estatística

O tamanho amostral foi calculado com base numa taxa de prenhez estimada para o grupo Controle, e na expectativa de aumento de 30% para o grupo IATF. O número de unidades experimentais foi suficiente para detectar uma diferença (teste de duas caudas; $\alpha = 0,05$; $\beta = 0,20$) na taxa de prenhez quando a taxa de prenhez diária para novilhas do Controle é 2,0% (exemplo: 42 prenhezes de 100 novilhas elegíveis do grupo Controle em 21 dias de manejo reprodutivo), o risco relativo à prenhez é 1,3% (30% maior que o Controle) e o tempo de estudo de 84 dias¹³. Assumindo tal situação, 270 novilhas seriam necessárias para cada tratamento, totalizando 540 animais. Devido ao potencial de atribuição ao estudo, 612 novilhas foram alocadas no estudo.

O modelo estatístico para análise dos dados incluiu o tratamento (Controle vs. IATF), a fazenda (1, 2, 3), a interação entre o tratamento e fazenda, como efeitos fixos, e o bloco como efeito aleatório. Covariáveis aleatórias como, por exemplo, o técnico dentro de fazenda e tipo de sêmen (convencional vs. sexado), foram incluídas no modelo quando a análise univariada indicou efeito estatístico ($P < 0,10$). Respostas binárias foram analisadas utilizando-se a regressão logística, através do PROC GLIMMIX, do programa computacional SAS 9.4 (SAS/STAT, SAS institute Inc., Cary, NC, USA). A odds ratio ajustada (AOR) e o intervalo de confiança de 95% (IC) foram devidamente calculados. As variáveis relacionadas ao tempo, utilizadas no modelo foram: o intervalo de dias entre o início do estudo (d 0) e o dia da IA ou prenhez. Novilhas que não receberam nenhuma IA ou aquelas que permaneceram não gestantes, foram vendidas ou movidas para o curral de touro antes do final do estudo,

foram censuradas na análise de sobrevivência. A mediana e a média de dias para a prenhez foram obtidas através do PROC LIFETEST do SAS.

Custos associados aos tratamentos foram analisados utilizando o PROC MIXED do SAS. Os modelos incluíram como efeitos fixos o tratamento, a fazenda e a interação tratamento e fazenda. O bloco foi avaliado como efeito aleatório. O método de Kenward-Roger foi utilizado para calcular o denominador aproximado do grau de liberdade para o teste de F no modelo misto.

Diferenças com $P \leq 0,05$ foram consideradas significativas e diferenças com $0,05 > P < 0,10$ foram consideradas como tendência.

2.3 Resultados

Foram incluídas 612 novilhas no estudo. No entanto, uma novilha do grupo IATF foi retirada da análise por ter sido diagnosticada como tendo somente um corno uterino. Dessa forma, 611 novilhas foram incluídas na análise estatística.

2.3.1 Eficiência reprodutiva na primeira IA

A mediana de dias entre a entrada no curral de inseminação e a primeira IA foi 8 dias menor ($P < 0,001$) para novilhas do grupo IATF do que do Controle (Tabela 1). Aproximadamente 26,9% de todas as novilhas que receberam IATF (82 de 305 novilhas) foram inseminadas no d 1 do estudo por apresentaram sinais de estro. O restante dos animais, 223 novilhas, foram inseminados somente no dia programado (d 2) do estudo. No dia da IA, 66,4% do total de novilhas IATF demonstraram estro baseado na remoção da cera, resultando no total de 75,4% de animais demonstrando estro (230/305). A P/IA foi menor numericamente para novilhas que não demonstraram estro (sem estro = 58,1% vs. estro = 67,8%), mas não houve diferença estatística ($P = 0,13$) para a P/IA entre os tratamentos. Da mesma forma, a P/IA não diferiu entre os animais inseminados no d 1 ou no d 2 ($P = 0,85$), sendo, respectivamente, 64,6 e 65,8%.

De todos os 306 animais do grupo Controle, 139 foram inseminados sem receber $\text{PGF}_{2\alpha}$, enquanto que 167 (54,6%) receberam ao menos uma dose de $\text{PGF}_{2\alpha}$ antes da primeira inseminação. Novilhas do grupo Controle receberam $\text{PGF}_{2\alpha}$ por não terem sido detectadas em estro dentro da primeira semana após a mudança de curral. Esse grupo de animais que recebeu prostaglandina foi inseminado, em média, 9 dias ($P < 0,001$) após o grupo de animais que não recebeu prostaglandina (5,2 vs. 14,4 dias). Um total de 193 doses (0,64/novilha) de $\text{PGF}_{2\alpha}$ foram administradas aos animais do Controle antes da primeira IA. Foram perdidos 14 CIDR (4,6%) antes do dia programado da remoção (d 5). Todas as novilhas do grupo IATF foram inseminadas, enquanto que nove pertencentes ao grupo Controle deixaram o estudo antes de serem detectadas em estro ou inseminadas.

O tratamento não afetou a taxa de P/IA para a primeira inseminação, sendo de 63,9% no d 32 após a IA e 60,6% no d 60 de gestação (Tabela 1). A perda de gestação entre o d 32 e o d 60 não diferiu entre os tratamentos, com média de 5,2%. Houve efeito de fazenda ($P < 0,001$) na P/IA, menor na fazenda 1, que normalmente utilizou sêmen sexado na primeira inseminação (fazenda 1 = 50,0% vs. fazenda 2 = 64,0% vs. fazenda 3 = 70,5%). Não foi

detectado interação entre tratamento e fazenda para a P/IA ou para a perda de prenhez.

O inseminador não afetou a taxa de prenhez por inseminação no d 32 ou no d 60 após a inseminação ou mesmo a perda de gestação. O uso do sêmen sexado reduziu ($P < 0,01$) a P/IA (convencional = 68,6 vs. 46,9%). A interação ($P = 0,02$) entre o tratamento e o tipo de sêmen foi detectada para a P/IA, pois as novilhas que foram inseminadas com sêmen sexado apresentaram ($P < 0,01$) maior P/IA no d 32 e 60 após a inseminação quando receberam IATF em relação aos animais do Controle (Tabela 1).

TABELA 1 - Efeito do tratamento sobre a fertilidade de novilhas leiteiras na primeira IA

	Tratamento ¹		AOR ² (95% IC)	P
	Controle	IATF		
Dias para a primeira IA				
Mediana (95% IC)	10,0 (9,0-11,0)	2,0 (1,0-2,0)	-----	0,001
Média ± ep	10,4 ± 0,4	1,7 ± 0,1	-----	-----
Novilhas inseminadas, %	97,1 (297/306)	100 (305/305)	-----	-----
Prenhez na primeira IA ³				
Dia 32, % (n/n)	62,3 (185/297)	65,5 (199/304)	1,18 (0,82-1,69)	0,36
Dia 60, % (n/n)	58,3 (173/297)	62,8 (191/304)	1,28 (0,90-1,85)	0,17
Perda de prenhez, % (n/n)	6,5 (12/185)	4,0 (8/199)	0,60 (0,24-1,52)	0,28
Prenhez aos 60 d de acordo com o tipo de sêmen ⁴				
Convencional, % (n/n)	64,6 (155/240)	65,4 (151/231)	1,04 (0,71-1,51)	0,86
Sexado, % (n/n)	31,6 (18/57)	54,8 (40/73)	2,63 (1,26-5,46)	0,01

¹ Controle = inseminação artificial após a detecção do estro espontâneo ou estro induzido por PGF_{2α} do dia d 0 ao dia d 84 do estudo; IATF = inseminação artificial em tempo fixo usando o protocolo IATF-5d para a primeira IA, seguido por detecção do estro para as inseminações subsequentes dos 84 dias do estudo.

² AOR = odds ratio ajustada. O controle é a referência para a comparação.

³ Nove novilhas do grupo Controle deixaram o estudo antes de serem detectadas em estro e inseminadas. Uma novilha foi diagnosticada como tendo somente um corno uterino, sendo removida do estudo, e outra foi movida ao curral de touro um dia após ser inseminada.

⁴ A interação entre o tipo de sêmen ($P = 0,02$) foi observada para a P/IA aos 32 e 60 dias após a inseminação.

2.3.2 Eficiência reprodutiva após a primeira IA

A taxa de inseminação foi maior ($P < 0,001$) para os 84 dias de estudo nos animais do grupo IATF do que do Controle (Tabela 2). Mesmo após os primeiros 21 dias de ciclo, novilhas recebendo IATF também demonstraram ($P = 0,005$) maior taxa de inseminação do que novilhas controle. A repetição da inseminação ocorreu 10 dias antes ($P < 0,001$) no grupo IATF do que no Controle (Figura 2). Muitos animais do Controle receberam a segunda inseminação somente 30 dias após o início do estudo, enquanto que a maioria do grupo IATF foi reinseminado dentro de 26 dias. Num contexto geral, o tratamento não afetou a P/IA para todas as IA realizadas ou mesmo para as inseminações realizadas após a primeira inseminação. A P/IA para todas as inseminações foi de 56,7% baseado no diagnóstico aos 60 dias após a inseminação. Por causa do aumento da taxa de inseminação, a taxa de prenhez no ciclo de 21 dias foi maior ($P = 0,008$) para IATF do que para o Controle. Após o primeiro ciclo de 21 dias, a taxa de prenhez foi somente numericamente superior nos animais do IATF do que para as novilhas controle. De maneira similar, novilhas recebendo IATF possuem 60% a mais de risco ($P < 0,001$) para a prenhez (AHR = 1,60; 95% IC = 1,35 a 1,89) do que novilhas do Controle (Tabela 3; Figura 3). Esse aumento da taxa de prenhez resulta na redução média de 12 dias para uma prenhez (Tabela 3), e um adicional de 6,2% de prenhez ao final do estudo. A fazenda influencia diretamente a taxa de prenhez, possuindo maior número de dias para a prenhez ($P < 0,05$) na fazenda 1, e menores taxas de prenhez na fazenda 2 e 3. Nenhuma interação foi detectada entre o tratamento e a fazenda para as variáveis estudadas.

TABELA 2 - Efeito do tratamento na fertilidade de novilhas leiteiras aos 84 dias de estudo

	Tratamento ¹		AOR ² (95% CI)	P
	Controle	IATF		
Taxa de inseminação a cada 21 dias				
Todos os ciclos, %	82,4 (449/545)	91,4 (446/488)	3,51(1,93-6,41)	0,001
Após o primeiro ciclo, %	68,2 (163/239)	77,1 (141/183)	2,67 (1,35-5,26)	0,005
Prenhez por IA aos 60 d				
Todas IA, %	56,0 (261/466)	57,4 (279/486)	1,14 (0,86-1,50)	0,37
Repetidas IA, %	52,1 (88/169)	48,4 (88/182)	0,90 (0,58-1,39)	0,63
Taxa de prenhez no ciclo de 21 d ³				
Todos os ciclos de 21 d, %	47,9 (261/545)	57,2 (279/488)	1,47 (1,11-1,94)	0,008
Após o 1º ciclo de 21 d, %	34,7 (83/239)	38,8 (71/183)	1,37 (0,88-2,13)	0,17

¹ Controle = inseminação artificial após a detecção do estro espontâneo ou estro induzido por PGF_{2α} entre o d 0 e d 84 do estudo; IATF = inseminação artificial em tempo fixo usando o protocolo IATF-5d para a primeira IA, seguido por detecção do estro para as inseminações subsequentes dos 84 dias do estudo.

² AOR = odds ratio ajustada; AHR = Taxa de risco ajustada. O controle é a referência para a comparação.

³ A prenhez foi baseada no diagnóstico aos 60 dias após a IA.

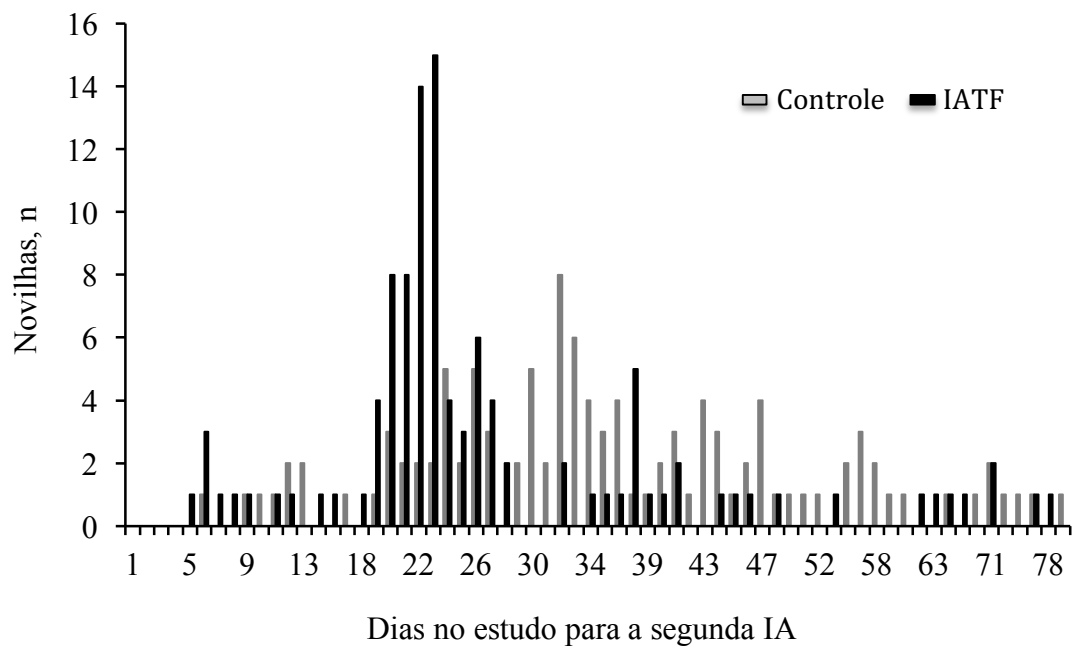


FIGURA 2 - Histograma de dias do estudo na segunda inseminação artificial para 111 novilhas do grupo Controle e 107 novilhas do grupo IATF que receberam a segunda inseminação durante os 84 dias do estudo.

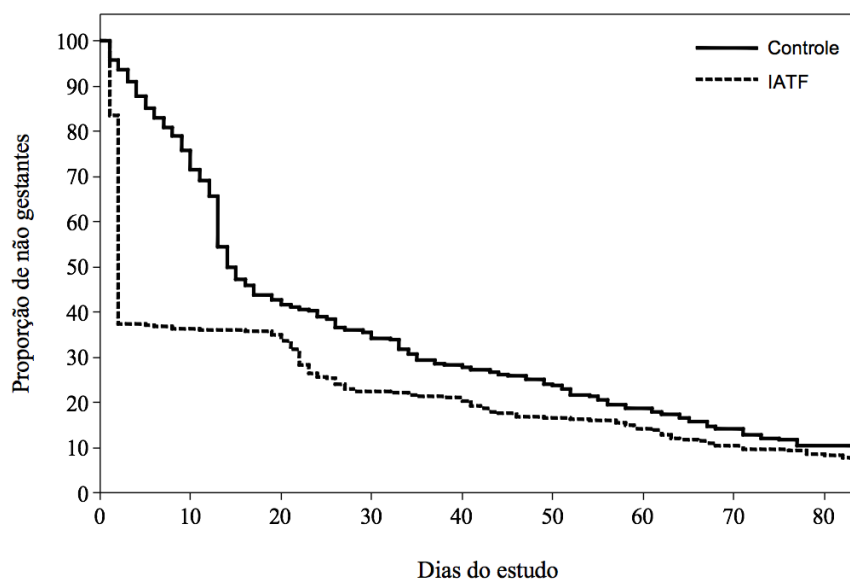


FIGURA 3 - Curva de sobrevivência para o tempo à prenhez de novilhas do estudo inseminadas após a detecção do estro (Controle) ou inseminação artificial em tempo fixo (IATF) para a primeira IA. Novilhas controle foram observadas diariamente quanto a expressão de estro baseado na remoção do bastão de cera e/ou monta natural. Novilhas do grupo receberam o protocolo IATF-5d para a primeira IA, seguido de inseminações artificiais através da detecção do estro.

TABELA 3 – Modelo de COX para tempo à prenhez

	Dias à prenhez ¹		Prenhez, % (n/n)	AHR ² (95% CI)	P
	Mediana (95% IC)	Média ± ep			
Tratamento ³					
Controle	14,0 (13,0-17,0)	28,9 ± 1,6	85,3 (261/306)	Referência	---
IATF	2,0 (1,0-2,0)	18,9 ± 1,6	91,5 (279/305)	1,60 (1,35-1,89)	0,001
Fazenda					
1	22,0 (11,0-30,0)	30,4 ± 2,4	89,2 (132/148)	Referência	---
2	12,5 (6,0-16,0)	20,9 ± 2,2	92,9 (117/126)	1,32 (1,03-1,69)	0,03
3	12,0 (7,0-13,0)	21,6 ± 1,5	86,4 (291/337)	1,23 (1,00-1,52)	0,05

¹ A prenhez foi baseada no diagnóstico de gestação após os 60 dias da IA.

² AHR = Taxa de risco ajustada.

³ Controle = inseminação artificial após a detecção do estro espontâneo ou estro induzido por PGF_{2α} entre o d 0 e d 84 do estudo; IATF = inseminação artificial em tempo fixo usando o protocolo IATF-5d para a primeira IA, seguido por detecção do estro para as inseminações subsequentes dos 84 dias do estudo.

2.3.3 Análise Econômica

O tratamento influenciou todas as variáveis consideradas no custo das novilhas alocadas no estudo. Novilhas recebendo IATF tiveram ($P < 0,05$) maior custo associado ao tratamento hormonal, sêmen, inseminação artificial e diagnóstico de gestação quando comparadas às novilhas controle (Tabela 4). Entretanto, a implementação da IATF resultou na redução ($P < 0,05$) dos custos com a detecção do estro e custos extras com alimentação na criação de novilhas quando comparado ao grupo Controle. Houve tendência ($P = 0,08$) para a redução do custo total de \$9.43 por novilha no grupo IATF comparado com o Controle (Tabela 4).

Quando os custos foram calculados por gestação, então a diferença entre os tratamentos favoreceu ainda mais o tratamento IATF em relação ao Controle (Tabela 4). Novilhas recebendo IATF têm maior custo ($P < 0,01$) associado ao tratamento hormonal do que o grupo Controle para gerar uma prenhez, enquanto que o oposto também foi observado para custos associados com a detecção do estro e custos adicionais de alimentação. O custo do sêmen e do diagnóstico de gestação não diferiu entre os tratamentos quando calculados por prenhez. O custo calculado para gerar uma prenhez no IATF foi \$17,00 mais barato ($P < 0,01$) do que no controle (Tabela 4).

TABELA 4 - Efeito do tratamento (Controle vs. IATF) no custo por novilha ou por prenhez

Item ²	Tratamento ¹		ep	Diferença ³	P
	Controle	IATF			
Custo por novilha, US \$					
Tratamento hormonal	1,31	12,87	0,06	-11,56	< 0,01
Deteccção de estro	4,57	3,92	0,10	0,65	< 0,01
Sêmen e IA	13,28	14,50	0,40	-1,22	0,03
Diagnóstico de gestação	3,68	3,86	0,05	-0,18	< 0,01
Alimentação extra	62,11	40,43	3,46	21,68	< 0,01
Custo total	85,00	75,57	3,88	9,43	0,08
Custo por prenhez, US \$					
Tratamento hormonal	1,54	14,07	0,08	-12,53	< 0,01
Deteccção de estro	5,37	4,28	0,11	1,09	< 0,01
Sêmen e IA	15,56	15,83	0,45	-0,27	0,68
Diagnóstico de gestação	4,31	4,22	0,05	0,09	0,22
Alimentação extra	72,82	44,17	3,91	28,65	< 0,01
Custo total	99,59	82,59	4,36	17,00	< 0,01

¹ Controle = inseminação artificial após a deteccção do estro espontâneo ou estro induzido por PGF_{2α} entre o d 0 e d 84 do estudo; IATF = inseminação artificial em tempo fixo usando o protocolo IATF-5d para a primeira IA, seguido por deteccção do estro para as inseminações subsequentes dos 84 dias do estudo.

² Ver material e métodos para detalhes dos valores utilizados. Os custos foram calculados por novilha incluídas em cada tratamento e por prenhez obtida aos 84 dias de manejo reprodutivo.

³ Calculado como custo do grupo Controle menos o custo para a IATF. Os valores positivos denotam um custo maior para o Controle do que para a IATF. Valores negativos demonstram valores menores para o Controle do que para o IATF.

2.3.4 Análise de cenários

Incrementos no custo por kg de MS aumentaram as vantagens econômicas da IATF sobre o controle para gerar uma prenhez (Tabela 5). O benefício foi detectado utilizando a taxa de inseminação do estudo, bem como sobre as diferentes taxas de inseminação após os primeiros 21 dias do estudo. É notável que a taxa de inseminação aumentou o benefício da IATF sobre o controle, reduzindo o valor gasto com alimentação no grupo IATF em relação ao grupo Controle em todos os cenários avaliados. As variações com o valor da mão de obra impactaram pouco na diferença entre o grupo Controle e o grupo IATF. Utilizando valores extremos de mão de obra, ainda sim a IATF foi vantajosa economicamente sobre o controle para as diferentes taxas de inseminação avaliadas (Tabela 5). Aumentos no custo da sincronização reduziram os benefícios da IATF em relação ao Controle. Independente, quando o custo com a sincronização foi alto, \$16.00 para IATF e \$2.67 para PGF_{2α}, o grupo IATF ainda permaneceu melhor economicamente em relação ao Controle. Mesmo quando a taxa de inseminação foi fixada em 80%, aproximadamente \$3.9 pode ser economizado para gerar uma prenhez pela implementação da IATF. O custo com sêmen e materiais para a inseminação apresentaram menor impacto econômico entre os tratamentos. Manipulando a P/IA de 90 a 70%, o estudo constatou valores distintos no padrão das diferenças econômicas entre os tratamentos, variando de acordo com as taxas de inseminação consideradas. Quando a taxa de inseminação foi baixa, como 50%, por exemplo, com redução da P/IA de 90 para 70% como observado no estudo, o benefício da IATF sobre o controle prevaleceu. Por outro lado, o aumento da taxa de inseminação, de 60 para 80%, e redução da P/IA, faz com que haja diminuição do benefício econômico da P/IA do grupo IATF em relação ao grupo Controle. De fato, quando a P/IA foi de 70% como observado no estudo, então o benefício econômico foi detectado somente se a taxa de inseminação foi de 80%.

TABELA 5 - Diferenças econômicas por prenhez entre o Controle e IATF de acordo com o observado e com valores simulados

Cenários ³	Custo por prenhez do Controle menos IATF ¹ , US \$				
	Estudo IR ⁴	Taxa de inseminação simulada (IR) ²			
		50%	60%	70%	80%
Alimentação, \$/kg MS					
0,15	11,35	10,51	8,06	6,04	4,33
0,18	18,21	17,30	14,40	11,92	9,78
0,21	25,07	24,15	20,68	17,73	15,22
Mão de obra, \$/hora					
8,00	11,71	10,71	8,00	5,71	3,77
11,00	11,09	10,21	7,44	5,11	3,12
14,00	10,48	9,71	6,88	4,50	2,48
Custo de sincronização, \$					
10,00 (1,67)	17,99	17,30	14,46	12,06	10,01
13,00 (2,17)	14,89	13,87	11,17	8,88	6,94
16,00 (2,67)	11,79	10,45	7,87	5,70	3,87
Custo do sêmen, \$/dose					
4,00	10,04	9,38	6,53	4,10	2,04
7,00	11,93	10,87	8,18	5,91	3,99
10,00	11,79	10,92	8,17	5,84	3,86
P/IA, % do observado no estudo					
90%	11,59	10,59	7,45	4,80	2,56
80%	11,95	10,86	7,25	4,21	1,63
70%	12,41	11,20	6,99	3,42	0,41

¹ Controle = inseminação artificial após a detecção do estro espontâneo ou estro induzido por PGF_{2α} entre o d 0 e d 84 do estudo; IATF = inseminação artificial em tempo fixo usando o protocolo IATF-5d para a primeira IA, seguido por detecção do estro para as inseminações subsequentes dos 84 dias do estudo.

² Valores simulados na taxa de inseminação aplicado após os primeiros 21 dias do período reprodutivo e mantidos constantes para os três subsequentes 21 dias ciclo.

³ Cenários distintos foram utilizados para o preço da alimentação em kg de MS, custo com mão de obra, sincronização para a IATF ou uso de PGF_{2α} para o Controle (valores entre o parênteses mostram o custo da PGF_{2α} para o Controle), valor de sêmen, e valores relativos de P/IA em percentual para cada tratamento utilizado no estudo.

⁴ Taxas de inseminação foram observadas para cada um dos quatro períodos de 21 dias de manejo reprodutivo dos tratamentos.

2.4 Discussão

A inseminação das novilhas pela combinação da IATF e detecção de estro, pelo protocolo IATF-5d, resultou em taxas de P/IA similares aos resultados observados nas novilhas inseminadas somente em estro. Todas as novilhas do grupo IATF foram inseminadas dentro das primeiras duas semanas do estudo, o que aumentou a taxa de inseminação e prenhez, reduzindo o intervalo ao primeiro parto. O benefício de inseminar todas as novilhas nos primeiros dois dias do estudo persistiu por todos os 84 dias do estudo, resultando em 6,2 gestações a mais a cada 100 animais inseminados quando comparado ao controle.

Pursley et al.³ foram os primeiros a avaliar o protocolo Ovsynch para sincronizar a ovulação de novilhas. Os autores demonstraram que a ovulação ao primeiro GnRH do protocolo Ovsynch foi menor em novilhas do que em vacas, sugerindo que o protocolo era menos efetivo na sincronização do crescimento folicular de novilhas comparado com vacas em lactação. De fato, estudos subsequentes do mesmo grupo¹⁴ e de outros², demonstraram que os resultados do Ovsynch em termos de P/IA em novilhas foi menor quando da utilização do protocolo do que quando inseminadas somente após a detecção de estro. Baseado no trabalho realizado em vacas lactantes¹⁵, presumiu-se que se a IATF levasse a resultados de P/IA similar aos de animais inseminados após a detecção de estro, a taxa de prenhez poderia ser maior para animais sincronizados. O atual estudo demonstrou que a implementação do IATF-5d aumentou a taxa de inseminação durante os 84 dias de período reprodutivo comparado ao controle. A taxa de P/IA na primeira e nas subsequentes inseminações para o grupo Controle e o grupo IATF foram similares, mas houve uma maior taxa de inseminação nos 21 dias de ciclo para animais do grupo IATF, aumentando o risco de prenhez em 60%. Em resumo, a taxa de prenhez a cada 21 dias do grupo IATF o beneficiou principalmente devido aos primeiros 21 dias de manejo reprodutivo.

Na maioria das fazendas dos Estados Unidos, as novilhas leiteiras são artificialmente inseminadas após serem detectadas em estro¹. A baixa adoção de protocolos de sincronização para novilhas se deve, principalmente, à alta taxa de detecção de estro nessa categoria, tornando o uso de PGF_{2α} atrativo. Também é importante ressaltar que o protocolo de sincronização mais utilizado para vacas em lactação, o protocolo Ovsynch, não é ideal para novilhas leiteiras^{2,14}. A inabilidade do Ovsynch ou CoSynch em resultar em alta taxa P/IA tem sido observado mesmo quando novilhas são pré-sincronizadas com a injeção de gonadorelina, 6¹⁶ ou 7 dias¹⁷ antes do início do protocolo. Por outro lado, quando a IA foi realizada utilizando GnRH no d 0 e uma segunda dose PGF_{2α} no d 6 do protocolo IATF-5d⁷,

então a P/IA se torna similar àquela obtida tradicionalmente ao padrão produtivo⁸. Dessa maneira, os resultados do presente estudo demonstram que a P/IA em novilhas leiteiras utilizando o protocolo IATF-5d foi similar ao resultado observado na inseminação após a detecção do estro.

A interação entre o tratamento e o tipo de sêmen foi detectada devido às novilhas do grupo IATF apresentarem maior P/IA comparado ao grupo Controle quando da utilização de sêmen sexado. Uma das possíveis explicações para os melhores resultados é de que a indução da ovulação com o protocolo IATF-5d resultou numa melhor taxa de ovulação e relação entre o tempo de ovulação e a deposição do sêmen. Sabe-se que o resultado da P/IA com sêmen sexado é pior quando comparado com a inseminação utilizando sêmen convencional¹⁸. A redução da taxa de P/IA é atribuída a menor quantidade de espermatozoides presentes na dose de sêmen sexado e aos danos atribuídos aos espermatozoides causado pelo processo de separação¹⁸. A taxa de P/IA aumenta quando a IA e ovulação são otimizados¹⁹, e os espermatozoides do sêmen sexado têm menor viabilidade no trato reprodutivo do que espermatozoides de doses convencionais¹⁸. O que não pode ser concluído a partir do estudo realizado é se o tempo de ovulação relativo a IA foi melhor para os animais do grupo IATF do que do Controle. Outros estudos realizados caracterizaram o percentual de novilhas que ovularam ao primeiro GnRH e regrediram o corpo lúteo com uma ou duas doses de PGF_{2α} no protocolo IATF-5d⁵⁻⁷. Entretanto, desconhece-se dados na literatura que descrevem o exato momento da ovulação e a distribuição das ovulações após a última aplicação de GnRH ao protocolo IATF-5d. Normalmente mais de 70% das novilhas demonstram sinais de estro no momento da inseminação artificial⁷, o que também foi observado no presente estudo. A ovulação normalmente ocorre 26 a 28 horas após o início do estro²⁰ ou após a última aplicação de GnRH no protocolo Ovsynch³. Talvez a administração de GnRH no momento da IA reduza a variação no intervalo da ovulação na IATF comparado ao controle, o que ajudaria a explicar o aumento da P/AI quando o sêmen sexado foi utilizado no grupo IATF. Apesar disso, a administração do GnRH concomitante ao início do estro espontâneo em novilhas leiteiras e 12 horas antes não aumentou a P/IA²¹. É digno de nota que programas reprodutivos baseados somente na detecção do estro em novilhas leiteiras são sujeitos a erros humanos na identificação da manifestação do estro, o que poderia contribuir para uma reduzida P/IA em novilhas do grupo Controle, inseminadas com sêmen sexado. Talvez a combinação da melhoria da sincronização da ovulação com a IATF e a ausência da acurácia na detecção do estro ajudem a explicar o aumento da P/IA em novilhas que receberam sêmen sexado para IATF comparado ao controle.

Um dos objetivos do presente estudo foi determinar se a implementação da IATF poderia apresentar benefícios econômicos por reduzir o custo por prenhez quando comparado com novilhas inseminadas somente após a detecção do estro. A criação de novilhas representa o segundo maior custo na produção de leite da maioria das fazendas leiteiras, e, dentro desse custo, a alimentação é o principal componente na criação das novilhas de reposição^{9,10}. O manejo reprodutivo adequado tem papel fundamental na criação de novilhas por determinar o momento em que elas se tornarão gestantes e, dessa forma, reduzir o custo associado ao programa reprodutivo e de alimentação. Na maioria das fazendas, as novilhas são inseminadas após a detecção do estro¹ provavelmente devido a expressão do estro não ser empecilho para um adequado programa reprodutivo. Estudos anteriores com protocolos de IATF resultaram em P/IA abaixo de 46%^{2,4,17,22}, o que provavelmente desencoraja os produtores a implementarem o protocolo Ovsynch ou o CoSynch. Somente 4% das fazendas leiteiras nos Estados Unidos avaliadas em estudos na última década¹ relataram que a IATF era o principal método de inseminação de novilhas leiteiras. Entretanto, taxas de P/IA similares entre o grupo IATF e o Controle do presente estudo, observado em todas as três fazendas, indicou que o protocolo IATF-5d deve ser considerado como método de manejo reprodutivo em novilhas, particularmente para a primeira inseminação.

A análise econômica foi realizada de modo a fornecer uma informação compreensiva entre os benefícios no desempenho reprodutivo pela implementação da IATF, de modo a reduzir os custos de produção obtidos para uma prenhez. O estudo prévio de Ribeiro et al.²³ sugeriu que a implementação da IATF era atrativa financeiramente para o manejo reprodutivo de novilhas leiteiras, mas esses benefícios foram somente observados quando a taxa de detecção do estro e de inseminação foi abaixo de 70%. Os benefícios da IATF são exacerbados quando a detecção do estro e a taxa de inseminação são baixos²⁴. De forma interessante, o presente estudo demonstrou que a implementação da IATF para a primeira inseminação resultou na redução de \$17.00 por prenhez, de acordo com os valores atuais de mercado para hormônios, sêmen, mão de obra, diagnóstico de gestação e alimentação. O menor custo da prenhez associada ao protocolo de sincronização foi observado apesar da alta taxa de detecção do estro e taxa de inseminação observada para novilhas do grupo Controle (82,4%). Mesmo sobre a situação da alta taxa de inseminação nos primeiros 21 dias de estudo, a implementação do IATF para todas as novilhas a partir do momento elegível para a inseminação se faz financeiramente atrativa. As vantagens observadas para a IATF incluíram o ganho de oito dias para a primeira IA, 12 dias a menos para gerar uma prenhez, e aumento da taxa diária de prenhez em 60%, o que reduz o custo por

prenhez em \$17.00. O maior componente na redução do custo por prenhez na IATF foi o gasto com a dieta total. É importante ressaltar que não somente o custo por prenhez foi reduzido, mas também foi obtido um maior número de novilhas gestantes dentro dos 84 dias de estudo.

A análise econômica dos diferentes cenários demonstrou que, quando o custo da alimentação foi baixo e a taxa de inseminação após o primeiro ciclo de 21 dias foi alta, a vantagem econômica se tornou inaparente. A taxa de inseminação para animais do grupo Controle após o primeiro ciclo (21 dias) foi de 68,2%. O motivo da queda na taxa de inseminação para novilhas controle após os primeiros 21 dias foi causada pelo atraso da inseminação após o início do manejo reprodutivo, atrasando por consequência todo manejo reprodutivo subsequente. Após a primeira IA, as novilhas poderiam receber somente PGF_{2α} na indução do estro, uma vez diagnosticadas não gestantes, o que normalmente ocorreu a cada 30 dias após a IA. A redução de oito dias no grupo IATF foi observada não somente para a primeira inseminação, mas também para segunda, devido a maior taxa de detecção de estro de retorno dos animais não gestantes do grupo IATF nos 21 dias de ciclo estral em relação ao grupo Controle. Também foi adicionado ao cálculo o uso de 193 doses (0,64/novilha) de PGF_{2α} antes da primeira inseminação no grupo Controle, objetivando aumentar a taxa de inseminação. O percentual de novilhas inseminadas após o uso de PGF_{2α} é alto devido a habilidade de indução de estro causada pelo composto. Os resultados da taxa de inseminação dentro dos primeiros 21 dias nos animais do grupo Controle estão de acordo com os reportados por Stevenson et al.²⁵. Nenhuma das fazendas do estudo obteve nos primeiros 21 dias de manejo reprodutivo uma taxa de inseminação acima de 70% nas novilhas do grupo Controle. Porém, se alguma delas atingisse 80% ou mais, a vantagem da IATF poderia ser diminuída. Quando o custo associado à sincronização hormonal foi alto, então o benefício da IATF foi drasticamente reduzido. Em geral, o custo com mão de obra, sêmen, gastos associados à inseminação e diminuição relativa da P/IA, impactaram pouco no benefício econômico entre os tratamentos. Esse baixo impacto é explicado pela similar fertilidade e mão de obra despendidas aos tratamentos. Embora a maioria das novilhas terem sido inseminadas com sêmen convencional, a redução de 80 ou 70% da taxa de P/IA que foi observada no estudo ainda resulta benefícios econômicos para a realização de IATF como alternativa ao manejo reprodutivo de novilhas. Isso significa que mesmo em situações onde somente o sêmen sexado é utilizado, o que normalmente reduz a prenhez para 80% do observado para sêmen convencional¹⁸, ou quando a fertilidade do sêmen convencional é baixa, o custo para se obter uma prenhez poderia ainda ser menor para a IATF do que para o Controle.

2.5 Conclusão

A implementação do protocolo IATF-5d para a inseminação de novilhas leiteiras não alterou taxas de prenhez na IATF em relação ao controle, que utilizou a detecção do estro como estratégia de manejo reprodutivo. A IATF melhorou a P/IA em novilhas que receberam sêmen sexado, reduziu os dias para a primeira IA, e aumentou a taxa de inseminação. O uso combinado da maior taxa de inseminação com a taxa de P/IA similar entre os grupos, aumenta a taxa diária de prenhez em 60%, resultando na redução de 12 dias para a prenhez e aumentando a proporção de novilhas gestantes ao final dos 84 dias de estudo. Os benefícios da IATF foram maiores, apesar da alta taxa de inseminação para novilhas do grupo Controle. A melhora do desempenho reprodutivo do grupo IATF resultou na redução do custo por prenhez em \$17.00, demonstrando o benefício econômico observado nos diferentes cenários de sincronização hormonal, mão de obra, sêmen, alimentação e fertilidade.

2.6 Referências

1. NAHMS (National Animal Health Monitoring System). Reproduction practices on US dairy operations. Centers for Epidemiology and Animal Health, US Department of Agriculture: Animal and Plant Health Inspection Service: Veterinary Services, Fort Collins, 2009.
2. Schmitt EJ, Diaz PT, Drost M, Thatcher WW. Use of a gonadotropin-releasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin for timed insemination in cattle. *J Anim Sci.* 1996; 74: 1084-91.
3. Pursley JR, Mee MO, Wiltbank MC. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF_{2α} and GnRH. *Theriogenology.* 1995; 44: 915-923.
4. Rivera H, Lopez H, Fricke PM. Fertility of Holstein dairy heifers after synchronization of ovulation and timed AI after removed tail chalk. *J Dairy Sci.* 2004; 87: 2051–61.
5. Rabaglino MB, Risco CA, Thatcher MJ, Kim IH, Santos JEP, Thatcher WW. Application of one injection of prostaglandin F_{2α} in the five-day Co-Synch + CIDR protocol for estrous synchronization and resynchronization of dairy heifers. *J Dairy Sci.* 2010; 93:1050-58.
6. Lima FS, Ayres H, Favoreto MG, Bisinotto RS, Greco LF, Ribeiro ES, Baruselli PS, Risco CA, Thatcher WW, Santos JEP. Effects of gonadotropin-releasing hormone at initiation of the 5-d timed artificial insemination (AI) program and timing of induction of ovulation relative to AI on ovarian dynamics and fertility of dairy heifers. *J Dairy Sci.* 2011; 94: 4997-5004.
7. Lima FS, Ribeiro ES, Bisinotto RS, Greco LF, Martinez NM, Amstalden M, Thatcher WW, Santos JEP. Hormonal manipulations in the 5-day timed artificial insemination protocol to optimize estrous cycle synchrony and fertility in dairy heifers. *J Dairy Sci.* 2013; 96: 7054-65.
8. Kuhn MT, Hutchison JL, Wiggans GR. Characterization of Holstein heifer fertility in the United States. *J Dairy Sci.* 2006; 89: 4907–20.
9. Mohd Nor N, Steeneveld W, Mourits MCM, Hogeveen H. Estimating the costs of rearing young dairy cattle in the Netherlands using a simulation model that accounts for uncertainty related to diseases. *Prev. Vet. Med.* 2012; 106: 214–224.
10. Gabler MT, Tozer PR, Heinrichs AJ. Development of a cost analysis spreadsheet for calculating the costs to raise a replacement dairy heifer. *J Dairy Sci.* 2000; 83: 1104-109.
11. Cerri RLA, Rutigliano HM, Bruno RGS, Santos JEP. Progesterone concentration, follicular development and induction of cyclicity in dairy cows receiving intravaginal progesterone inserts. *Anim Reprod Sci.* 2009; 110: 56-70, 2009.
12. NRC. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad. Sci., Washington, DC., 2001.
13. Machin D, Campbell MJ, Fayers PM, Pinol APY. 2008. Sample size tables for clinical studies. 3rd ed. Wiley, Hoboken, NJ.
14. Pursley JR, Wiltbank MC, Stevenson JS, Ottobre JS, Garverick HA, Anderson LL. Pregnancy rates per artificial insemination for cows and heifers inseminated at a synchronized ovulation or synchronized estrus. *J Dairy Sci.* 1997b; 80: 295-300.

15. Pursley JR, Kosorok MR, Wiltbank MC. Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. *J Dairy Sci.* 1997a; 80: 301-306.
16. Stevenson JL, Dalton JC, Santos JEP, Sartori R, Ahmadzadeh A, Chebel RC. Effect of synchronization protocols on follicular development and estradiol and progesterone concentrations of dairy heifers. *J Dairy Sci.* 2008a; 91: 3045–56.
17. Rivera H, Sterry RA, Fricke PM. Presynchronization with gonadotropin-releasing hormone does not improve fertility in Holstein heifers. *J Dairy Sci.* 2006; 89: 3810-16.
18. Seidel GE Jr. Update on sexed semen technology in cattle. *Animal.* 2014; 8: 160-164.
19. Saacke RG. Insemination factors related to timed AI in cattle. *Theriogenology.* 2008; 70: 479-484.
20. Stevenson JS, Hill SL, Nebel RL, Dejarnette JM. Ovulation timing and conception risk after automated activity monitoring in lactating dairy cows. *J Dairy Sci.* 2014; 97: 4296-308.
21. Sá Filho MF, Ayres H, Ferreira RM, Nichi M, Fosado M, Campos Filho EP, Baruselli PS. Strategies to improve pregnancy per insemination using sex-sorted semen in dairy heifers detected in estrus. *Theriogenology.* 2010; 74: 1636-42.
22. Stevenson JS, Smith JF, Hawkins DE. Reproductive outcomes for dairy heifers treated with combinations of prostaglandin F₂alpha, norgestomet, and gonadotropin-releasing hormone. *J Dairy Sci.* 2000; 83: 2008-15.
23. Ribeiro ES, Galvão KN, Thatcher WW, Santos JEP. Economic aspects of applying reproductive technologies to dairy herds. *Anim Reprod.* 2012; 9: 370-87.
24. Tenhagen BA, Drillich M, Surholt R, Heuwieser W. Comparison of timed AI after synchronized ovulation to AI at estrus: Reproductive and economic considerations. *J Dairy Sci.* 2004; 87: 85-94.
25. Stevenson JL, Rodrigues JA, Braga FA, Bitente S, Dalton JC, Santos JEP, Chebel RC. Effect of breeding protocols and reproductive tract score on reproductive performance of dairy heifers and economic outcome of breeding programs. *J Dairy Sci.* 2008b; 91: 3424-38.

Capítulo 3 – Eficiência do método de pintura da cauda e do sistema de pedômetro na detecção de estro em vacas leiteiras

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo avaliar a eficiência de dois diferentes métodos auxiliares de detecção de estro, pintura de cauda e pedômetro, amplamente utilizados em fazendas leiteiras de alta produção, bem como investigar os fatores impactantes na expressão de estro, e também identificar fatores de risco associados a expressão de estro e P/IA. A detecção do estro pela pintura da cauda foi realizada mediante o uso de bastões de cera coloridos (All-weather Paintstick, LA-CO Industries, Chicago, IL). Já o monitoramento da atividade foi realizado por meio de dispositivos afixados à perna dos animais (AfiTag, AfiMilk Ltd., Kibbutz Afikim, Israel), e interpretados pelo software do dispositivo. A análise contou com estros induzidos pelo uso de prostaglandina e estros espontâneos. O dia do estro foi comparado com três dias antecedentes a ele e com três dias posteriores a ele. As variáveis analisadas foram: escore de condição corporal (ECC), número de passos por hora, aumento relativo da atividade, paridade, número de lactações e produção de leite. No estudo foram utilizadas 150 vacas holandesas lactantes, com média de 2,14 lactações. Os dados foram analisados por correlação de Pearson, correlação poliserial, ANOVA e regressão logística. No total foram analisados 312 episódios de estro e 151 inseminações atreladas ao protocolo Ovsynch-56. O pedômetro detectou um maior número de animais em estro se comparado a pintura da cauda. A sensibilidade (Se) e o valor preditivo positivo (VPP) do pedômetro, durante o estro induzido, foi de 80,4 e 95,8%, respectivamente. Para a pintura de cauda esses valores foram, respectivamente, de 66,4% e 90,5%. O VPP da pintura de cauda de animais com estro espontâneo foi de 68,9%, enquanto que para o pedômetro esse valor foi de 92,2%. A atividade no dia do estro foi afetada pelo ECC ($P < 0,05$). A atividade no dia do estro é maior para estro espontâneo ($P < 0,001$; $265,8 \pm 4$ vs. $220,8 \pm 3$). A média de produção de leite não foi afetada pela manifestação de estro ($P = 0,38$), seja ele induzido ou espontâneo. Não houve efeito de dia para a produção de leite em vacas que manifestaram estro ($P = 0,49$). No entanto, vacas com produção de leite acima da média apresentaram maior atividade no dia do estro ($P < 0,05$). O aumento relativo da atividade no dia do estro possui correlação negativa com a produção de leite ($P < 0,01$; $r = -0,17$). A prenhez não foi afetada pela paridade ($P = 0,43$) ou pelo aumento de atividade no dia do estro ($P = 0,72$). No entanto, o ECC afetou significativamente a prenhez ($P < 0,01$). Houve correlação poliserial negativa entre a prenhez e os níveis sanguíneos de P_4 ($r = -0,49$; $P < 0,05$), e correlação positiva com a variação de atividade no dia do estro ($r = 0,19$; $P < 0,05$). Em conclusão, a taxa de detecção de estro com bastão de cera é inferior à taxa de detecção de estro pelo pedômetro, apresentando poucos benefícios quando ambos os métodos foram utilizados em conjunto. A paridade, o ECC, o número de lactações e a produção de leite são fatores que devem ser levados em consideração no algoritmo desenvolvido para sistemas eletrônicos, objetivando assim aumentar a acurácia do método em questão.

Palavras-Chave: Manejo reprodutivo; detecção de estro; reprodução

Chapter 3 – Efficiency of the tail painting and pedometer device to detect estrus in dairy cows

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the efficiency of two different methods used to aid estrus detection, tail painting and pedometer, as well as investigate factors which has positive effect on estrus expression and decrease the ability of a method to predict estrus and also identify factors associated with measurements of estrus expression and P/AI. Tail head of each cows was painting by an appropriate chalk (All-weather Paintstick, LA-CO Industries, Chicago, IL), whereas activity was monitored by a sensor attached to the right-rear limb above distal expansion of the metacarpal bone of each cow (AfiTag, AfiMilk Ltd., Kibbutz Afikim, Israel), and read by the software. For the analysis were taking into account two types of estrus, induced by prostaglandin or spontaneous. Data were compare between three days before estrus, day of estrus e the subsequent three days after estrus. Variables included for analysis were body conditions score (BCS), number of steps, relative increase of activity, parity, number of lactations and milk yield. A total of 312 episodes of estrus and 151 inseminations from 150 cows were recorded. All inseminations were performed only after synchronization of ovulation. Average lactations number was 2.14. Data were analyzed by Pearson correlation, polyserial correlation, ANOVA and logistic regression. Pedometer device detected a higher number of estrus compared to tail painting method. Sensibility (Se) and positive predict value (PPV) for pedometer during induced estrus were, respectively, 80.4 and 95.8%. These values for tail painting were, respectively, 66.4 and 90.5%. When both methods were combined the Se increased to 83.9%. PPV for tail painting during spontaneous estrus was 68.9%, whereas this value for pedometer was 92.2%. Activity at the day of estrus was affected by BCS ($P < 0.05$). Likewise, activity at the day of estrus was higher for spontaneous estrus compared to induced estrus ($P < 0.001$; 265.8 ± 4 vs. 220.8 ± 3). Number of lactations affected the activity at the day of estrus. Average milk yield was not affected by estrus ($P = 0.38$), been it induced or spontaneous. There was no effect of day for milk yield in those animals that showed estrus ($P = 0.49$). However, cows with milk production above the average showed higher activity at the day of estrus ($P < 0.05$). Relative increase in activity at the day of estrus was negative correlated with milk yield ($P < 0.01$; $r = -0.17$). Pregnancy was not affected by parity ($P = 0.43$) or activity at the day of estrus ($P = 0.72$). Cows with lower BCS had lower pregnancy rates ($P < 0.05$). A negative polyserial correlation was observed between pregnancy and P_4 concentration ($r = -0.49$; $P < 0.05$), whereas a positive correlation was detected between pregnancy and relative increase of activity at the day of estrus ($r = 0.19$; $P < 0.05$). In conclusion, estrus detection rate that could be obtained by tail painting method is lower than the rate that could be obtained by pedometer device, and when both methods were combined few benefits were added. Parity, BCS, number of lactations and milk yield are factors that should be taking into account to maximize estrus detection in automatic systems and also increase the accuracy of the a device.

Keywords: Reproductive management; estrus detection; reproduction

3.1 Introdução

Mesmo com o desenvolvimento de novas tecnologias, a detecção do estro em vacas leiteiras ainda permanece como um dos pontos críticos no manejo dos rebanhos. O aumento da produção de leite nas últimas décadas tem levado ao aumento do metabolismo individual, que é necessário para a síntese de grandes quantidades de leite, mas que por outro lado atenua a manifestação de estro, impactando negativamente na sua capacidade de detecção pelo homem^{1,2}. A associação negativa entre os níveis de produção de leite e duração do tempo de estro em vacas leiteiras já é bem descrito¹, sendo sugerido que mudanças na concentração de esteroides circulantes nas vacas leiteiras é resultado do aumento do catabolismo hepático, principalmente por causa do aumento da ingestão de matéria seca².

De acordo com o Sistema Nacional de Monitoramento de Saúde Animal (NAHMS), o principal instituto auxiliador de fazendas leiteiras dos Estados Unidos, o principal método utilizado para detectar animais em estro ainda permanece como sendo a observação visual, seguido pelo uso de rufiões e pintura de cauda, respectivamente³. As razões para o não uso de tecnologias possivelmente estão relacionadas ao preço dos diferentes sistemas disponíveis, bem como o questionamento da eficiência da capacidade desses dispositivos em aumentar a taxa de detecção de estro, levando, por exemplo, ao aumento do número de animais gestantes após 150 dias do parto. Da mesma maneira, a autoconfiança na capacidade de detectar animais em estro, a facilidade envolvida no processo, estratégias de manejo e outros, também estão envolvidos como argumentos para o não investimento em tecnologias que auxiliem a detecção do estro em vacas leiteiras. Porém, cabe lembrar que a detecção errônea do estro pode culminar em mais de 40% de vacas inseminadas durante o diestro ou mesmo quando gestantes⁴. A dificuldade de identificar corretamente vacas em estro foi reiterada no estudo de Nebel et al.⁵, onde 19% de todas as inseminações foram realizadas sob alta concentração de progesterona, resultando em aproximadamente 17% de morte embrionária ou aborto. Por esse motivo diferentes métodos e estratégias objetivando a facilitação da detecção do estro têm sido desenvolvidas^{6,7}. Independentemente do método escolhido, uma das considerações que deve ser mantida em mente é que existe uma relação entre a sensibilidade e a especificidade do teste utilizado para predizer estro⁸.

A pintura da base da cauda utilizando um bastão de cera colorido como método auxiliar da detecção de estro tem sido empregado em mais de 30% de todas as fazendas dos Estados Unidos³. Entretanto, existem poucos estudos demonstrando a eficácia desse método,

embora seja mundialmente utilizado⁹. Esse método aparenta ser bastante eficiente em sistema a pasto⁶.

Em razão do baixo número de fazendas que utilizam qualquer dispositivo para auxiliar a detecção de estro, e baseado em dados publicados pelo NAHMS em 2009, diversas empresas desenvolveram sistemas eletrônicos auxiliares na detecção de estro durante a última década¹⁰. Cada empresa possui seu próprio método de detecção de estro, sendo baseado em um algoritmo, o qual pode incluir o número de passos efetuados por hora⁸, movimentos realizados^{10,11}, e outros fatores desconhecidos. Assim, os dados publicados sobre pedômetros têm uma grande variação nos resultados de sensibilidade^{8,11}. Algumas características para aumentar a capacidade de detecção do estro, tais como o número de lactações, produção de leite, estação do ano e tipo de piso do galpão devem ser levadas em consideração¹². Outro importante ponto de discussão é o melhor fenômeno fisiológico que caracteriza um animal em estro. Esse critério pode explicar em parte a grande variação entre os estudos publicados, e possivelmente contribui na decisão por parte dos produtores rurais em investir ou não em alguma tecnologia.

O presente estudo teve como objetivo caracterizar o desempenho de um dos métodos tradicionais utilizados na detecção de estro em vacas leiteiras, a pintura de cauda, bem como avaliar um dispositivo eletrônico na forma de pedômetro, fazendo comparações entre eles em termos de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e acurácia. Além disso, objetivou-se com o presente estudo identificar fatores de risco relacionados a atividade durante o estro e a prenhez por inseminação.

3.2 Material e métodos

Todos os procedimentos envolvendo animais do estudo foram previamente autorizados pelo comitê de pesquisa da Universidade da Flórida, Estados Unidos da América.

3.2.1 Animais, alimentação e instalações

O experimento foi conduzido entre setembro de 2013 e fevereiro de 2014, na fazenda experimental da Universidade da Flórida, localizada na região centro-norte do estado da Flórida, Estados Unidos da América. O estudo foi conduzido utilizando vacas primíparas ($n = 59$) e multíparas ($n = 91$) da raça Holandesa, com média de 2,14 lactações e 10.675 kg/lactação. Os animais foram alocados em galpões apropriados, equipados com ventiladores e aspersores, sendo ordenhados duas vezes ao dia. A alimentação foi composta em forma de dieta total (TMR), composta por silagem de milho, farelo de milho, farelo de soja, casca de soja, caroço de algodão, feno, minerais e vitaminas, de modo a atender ou exceder a exigência nutricional para vacas lactantes produzindo 45 kg de leite por dia, com 3,5% de proteína verdadeira¹³,

3.2.2 Manejo reprodutivo

O estudo foi inserido de modo oportuno no manejo reprodutivo da fazenda leiteira, de modo a minimizar o seu impacto sobre os animais. O manejo reprodutivo adotado consistiu de uma pré-sincronização com duas injeções de 25 mg de prostaglandina cada (5 mL de Lutalyse Sterile Solution, dinoprost tromethamine, equivalente a 5 mg de dinoprost/mL, Zoetis, Madison, NJ), administradas em intervalo de 14 dias. As administrações de $\text{PGF}_{2\alpha}$ da pré-sincronização foram realizadas aos 41 ± 3 e 55 ± 3 dias pós-parto, sendo os animais inseminados em tempo fixo através do protocolo Ovsynch-56, iniciado aos 67 ± 3 de dias de lactação. Transcorridos 30 ± 2 dias da inseminação artificial, o diagnóstico de gestação foi realizado por meio de um aparelho de ultrassonografia portátil (Easi-Scan, BCF Technology, Rochester, MN), equipado com um transdutor linear de 7,5 MHz, através da visualização fetal e detecção do seu batimento cardíaco. Em caso de não prenhez, foram novamente submetidos ao protocolo Ovsynch-56, recebendo uma nova inseminação. Todas as inseminações foram realizadas após o uso do Ovsynch. A prenhez foi diagnosticada pela presença do embrião e sua vesícula embrionária dentro do útero.

3.2.3 Detecção do estro

A base da cauda de cada uma das vacas começou a ser pintada diariamente pelo uso de um bastão de cera colorido (All-weather Paintstick, LA-CO Industries, Chicago, IL), aos 35 dias de lactação. Além disso, os animais receberam um dispositivo comercial na forma de pedômetro (AfiTag, AfiMilk Ltd., Kibbutz Afikim, Israel) logo após o parto e com ele permaneceram até o fim do estudo. Esse dispositivo permaneceu fixado a região que recobre o metatarso direito dos animais, permitindo sua identificação na sala de ordenha, e enviando a atividade realizada por cada um dos animais a um computador central equipado com o software da empresa que interpretou os dados, baseado em passos realizados por hora. Dados de três dias anteriores e posteriores ao dia do estro foram utilizados na análise de dados. Com o uso do pedômetro, a vaca foi considerada em estro através do alerta emitido pelo software do Afikim. Para ser considerada em estro pelo método da pintura da cauda, a cera deveria ser removida parcial ou totalmente, bem como sinais secundários de estro tais como mucosa vaginal hiperêmica e aparência úmida deveriam estar presentes.

Para a análise dos dados de detecção de estro, os animais submetidos ao protocolo de sincronização não foram considerados, uma vez que o comportamento do estro é afetado pela indução da ovulação através do uso do GnRH.

3.2.4 Ultrassonografia dos ovários e produção de leite

Todas as vacas do estudo tiveram seus ovários examinados pela mesma pessoa durante todo o estudo, sempre pelas manhãs, utilizando um ultrassom portátil equipado com transdutor linear (Easi-Scan, BCF Technologies Ltd., Rochester, MN) na frequência de 7,5 MHz. Foram avaliadas 117 vacas (primípara, $n = 53$; múltípara, $n = 64$) na primeira $\text{PGF}_{2\alpha}$, e 113 vacas (primípara, $n = 44$; múltípara, $n = 69$) na segunda $\text{PGF}_{2\alpha}$, totalizando 230 eventos relacionados ao uso de $\text{PGF}_{2\alpha}$. A primeira ultrassonografia foi realizada no mesmo dia da administração da $\text{PGF}_{2\alpha}$, seguido por avaliações sequenciais 48, 72, 96 e 120 horas após a primeira (Figura 1). Um desenho esquemático de cada um dos ovários foi realizado para todas as avaliações, determinando-se o tamanho e posicionamento dos folículos no ovário. A ovulação foi definida como o desaparecimento do folículo dominante dentro de dois dias de avaliações consecutivas associado ao baixo nível de P_4 três dias após a aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$. O CL foi considerado regredido quando o mesmo foi encontrado em um dos ovários no dia da

primeira avaliação e a concentração de P_4 plasmática foi ≤ 1 ng/mL 72 horas após a aplicação de $PGF_{2\alpha}$.

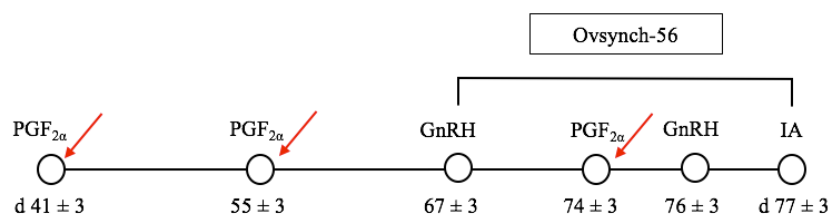


FIGURA 1 – Diagrama das avaliações ultrassonográficas durante a pré-sincronização com prostaglandina e dentro do Ovsynch. As setas indicam o momento do início das avaliações ultrassonográficas. Uma amostra de sangue para dosagem de progesterona foi coletada 72 horas após o uso de prostaglandina.

No total 150 vacas foram submetidas ao protocolo Ovsynch-56. Para esse grupo de vacas, os ovários foram avaliados no dia da administração da prostaglandina (d 7), e novamente 48 (d 9) e 120 (d 12) horas após seu uso. O desaparecimento do folículo dominante após a injeção de prostaglandina foi considerado como ovulação.

Vacas que expressaram estro fora do período de pré-sincronização foram consideradas como um grupo a parte, sendo considerados como animais que manifestaram estro espontâneo. A detecção desse estro foi baseada na pintura da cauda, e esse grupo de animais teve seus ovários avaliados no dia da detecção e novamente 48 horas após a primeira avaliação. Uma amostra de sangue para dosagem de progesterona foi coletada no dia da detecção do estro.

Todos os animais foram ordenhados duas vezes ao dia, durante todo o período experimental. A média de produção diária foi utilizada para a análise dos dados.

3.2.5 Amostra de sangue, análise de progesterona e ECC

As amostras de sangue de todos os animais foram coletadas da veia ou artéria coccígea, utilizando tubos contendo EDTA-K₂ (Vacutainer; Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ). No grupo de animais que recebeu $PGF_{2\alpha}$, as amostras sanguíneas foram coletadas após 72 horas da injeção. Já as vacas de estro espontâneo tiveram amostras de sangue coletadas no dia do estro. Os tubos foram mantidos em caixa térmica refrigerada, sendo

transportados ao laboratório dentro de uma hora da coleta. Os tubos foram então centrifugados a 2,500 g X 15 min em centrífuga refrigerada a 5°C. As amostras de plasma sanguíneo foram congeladas a -20°C para a posterior análise de progesterona através de radioimunoensaio (RIA). Duas amostras de plasma sanguíneo com concentrações conhecidas de P₄ foram inseridas durante o ensaio de P₄ para controle de qualidade do teste. As amostras foram analisadas em duplicata, tendo o teste demonstrado sensibilidade de 0,01 ng/mL e coeficientes de variação da amostra e entre amostras de 6,3% e 4,7%, respectivamente. O valor de corte da P₄ para prever a presença do CL foi especificado em 1 ng/mL.

Todas as vacas tiveram seu escore de condição corporal em cada um dos eventos avaliados, segundo o critério adotado por Ferguson et al.¹⁴.

3.2.6 Desenho experimental e análise estatística

Embora somente 150 vacas tenham sido avaliadas no estudo, um mesmo animal pode ter contribuído mais de uma vez como unidade experimental para a análise, uma vez que o objetivo do estudo foi avaliar métodos de detecção do estro, e esse evento ocorreu em diferentes tempos dentro do manejo reprodutivo. Portanto, foram avaliados no total 304 eventos, sendo 230 relacionados a prostaglandina e 74 relacionados a estros espontâneos. Algumas variáveis categóricas foram divididas para a análise. A paridade foi agrupada pelo número de lactações em 1 ou ≥ 2 (primípara vs. múltipara), o ECC foi categorizado como baixo (≤ 2.50), moderado (≥ 2.75 e ≤ 3.00), ou alto (≥ 3.25), e a média de produção de leite foi classificada dentro de paridade como sendo baixa ou alta, tendo como critério a média de produção geral dos animais dentro de paridade, sendo 31,9 litros para primíparas e 42,7 litros para múltiparas.

As análises de frequência para calcular a sensibilidade (Se), especificidade (Sp), valor preditivo positivo (VPP), valor preditivo negativo (VPN) e acurácia (Ac) foram realizadas utilizando o PROC FREQ do SAS 9.4 (versão 9.4; SAS Institute Inc., Cary, NC). Diferenças de frequência entre variáveis qualitativas envolvendo o estro foram comparadas através do teste de Chi-quadrado utilizando o PROC FREQ do SAS. O padrão fisiológico utilizado para calcular esses valores e prever o estro, seja espontâneo ou induzido, foi a baixa concentração de progesterona (≤ 1 ng/mL) e ovulação. Os animais do grupo Ovsynch não foram utilizados nas análises de predição de estro devido ao uso do indutor de ovulação (GnRH).

Correlações entre diâmetro folicular e atividade, produção de leite e variação da atividade no dia do estro foram determinadas pela correlação de Pearson utilizando o PROC CORR do SAS. Correlação poliserial (Polyseria correlation) entre a prenhez e variação da atividade, prenhez e diâmetro folicular, prenhez e média de produção de leite foram realizadas utilizando o PROC CORR do SAS. Efeitos do estro sobre a atividade e produção de leite foram analisados por ANOVA para medidas repetidas, utilizando para isso o PROC MIXED do SAS, com um modelo contendo estro (sim ou não), paridade (primíparas vs. múltíparas) e dia relativo ao estro (- 3 a +3) como efeitos fixos, e vaca aninhada dentro de estro como efeito aleatório. A variação de atividade no dia do estro foi comparada pelo PROC GLM do SAS, utilizando como variáveis independentes e de efeitos fixos o estro, produção de leite, condição corporal, paridade e interações. Respostas binárias, tal como a P/IA, foram analisadas por regressão logística utilizando o PROC LOGISTIC do SAS, com um modelo que incluiu paridade, categorias de ECC, categorias de produção de leite e suas interações. Um modelo de regressão foi utilizado contendo o método backward stepwise. As variáveis foram continuamente removidas do modelo pelo critério estatístico de Wald quando a significância foi $P > 0,10$.

Diferenças com valores de $P \leq 0,05$ foram considerados significativas, enquanto que valores de P entre 0,06 e 0,10 foram considerados como tendência para uma diferença.

3.3 Resultados

3.3.1 Atividade ovariana na pré-sincronização

O anestro esteve presente em 34,1 e 22,1% ($P < 0,05$) das vacas avaliadas no momento da aplicação da primeira e segunda dose de prostaglandina, respectivamente. Uma tendência ($P = 0,06$) para um maior número de regressões de CL foi observada após o segundo uso de prostaglandina (87,5 vs. 76,6%), não havendo, porém, diferença na taxa de ovulação após essa regressão entre os momentos avaliados (81,3 vs. 81,8%; $P = 0,94$). Portanto, o uso aleatório de prostaglandina ocasionou a regressão do CL e ovulação em 41,0% e 55,7% dos casos ($P < 0,05$) quando utilizada aos 41 ± 3 e 55 ± 3 dias após o parto, respectivamente. Alguns animais ovularam sem a presença de um CL prévio (33/65), não tendo sido considerados como influenciados pela ação da prostaglandina, mas sendo considerados na análise dos dados de estro devido ao critério utilizado no estudo.

3.3.2 Detecção de estro e número de eventos

Baseado no método utilizado para a predição do estro, concentração de progesterona ≤ 1 ng/mL associado a ovulação, pode-se constatar 194 eventos de estro, sendo 143 induzidos e 51 espontâneos.

De todos os estros induzidos, a pintura de cauda detectou 66,4% (95/143), enquanto o pedômetro detectou 80,4% (115/143) ($P < 0,001$). O VPP para o pedômetro foi de 95,8% (115/120), enquanto que para a pintura de cauda esse valor foi de 90,5% (95/105), demonstrando haver um menor número de falso positivos para o uso do pedômetro. A associação de ambos os métodos na tentativa de maximizar a detecção do estro se mostrou positiva, revelado pela maior sensibilidade (83,9%). Porém o VPP foi mantido constante em relação a pintura da cauda e apresentou-se menor em relação ao pedômetro (Tabela 1). Em termos gerais, a acurácia do pedômetro como ferramenta de predição de estro foi maior em comparação ao uso da pintura de cauda (85,7 vs. 74,8).

O estro espontâneo foi detectado pelo uso direto da pintura da cauda através de um bastão de cera colorido. Dessa forma, foram observados 74 possíveis episódios. Todavia, 31% dos casos foram tratados como falso positivos, baseado no critério estabelecido pelo estudo. A baixa concentração de P_4 esteve presente em 79,7% (59/74) de todas as vacas, enquanto que 13,5% (8/59) dos animais com essa característica não ovularam até o quinto dia

da detecção do estro. Levando em consideração todos os episódios de estro, o sistema de pedômetro demonstrou sensibilidade de 92,1% (47/51) e VPP de 85,5% (47/55).

Vacas submetidas ao protocolo de sincronização da ovulação têm sua manifestação de estro atenuada pela utilização do indutor de ovulação, demonstrado pelo baixo VPN dos testes, sendo 26,4% para a pintura de cauda, 29,7% para o pedômetro, e 31,5% quando ambos os sistemas foram utilizados em associação, justificando o não uso desses dados para as análises estatísticas de predição de estro para os métodos estudados.

TABELA 1 - Sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e acurácia do método de pintura da cauda e do sistema de pedômetro na predição do estro em vacas leiteiras

	Medidas de confiabilidade ¹				
	Sensibilidade	Especificidade	Valor preditivo positivo	Valor preditivo negativo	Acurácia
Estro induzido					
Pintura de cauda	66,4% (95/143)	88,5% (77/87)	90,5% (95/105)	61,6% (77/125)	74,8% (172/230)
Pedômetro	80,4% (115/143)	94,3% (82/87)	95,8% (115/120)	74,5% (82/110)	85,7% (197/230)
Métodos associados	83,9% (120/143)	85,4% (76/89)	90,2% (120/133)	76,8% (76/99)	84,5% (196/230)
Estro espontâneo					
Pintura da cauda	---	---	68,9% (51/74)	---	---
Pedômetro	85,5% (47/55)	78,9% (15/19)	92,2% (47/51)	65,2% (15/23)	83,8% (62/74)

¹Sensibilidade = (número de alertas verdadeiros corretamente detectados pelo método/número total de estros verdadeiros) x 100; Especificidade = (número de alertas falsos corretamente detectados pelo método/número total de estros falsos) x 100; Valor Preditivo Positivo = (número de alertas verdadeiros corretamente detectados pelo método/número total de estros detectados) x 100; Valor Preditivo Negativo = (número de alertas falsos corretamente detectados pelo método/número total de estros não detectados) x 100; Acurácia = (número de alertas verdadeiros corretamente detectados pelo método + número de alertas falsos corretamente detectados pelo método) / número total de testes realizados x 100.

3.3.3 Caracterização do estro

A maior concentração da manifestação de estro para animais induzidos por prostaglandina se deu no terceiro dia após seu uso (Figura 1). Houve interação entre estro, paridade e dia ($P < 0,001$) para a atividade das vacas, mensurada em passos por hora, sendo o dia do estro marcado por maior atividade ($P < 0,001$; Tabela 2). Esse aumento de atividade durante o estro foi mais acentuado em primíparas do que em múltiparas ($P < 0,001$; $270,2 \pm 9,6$ vs. $211,2 \pm 8,0$; Figura 3), e superior em animais que demonstraram estro espontâneo em relação ao estro induzido ($P < 0,001$; $265,8 \pm 4$ vs. $220,8 \pm 3$). A variação do aumento de atividade no dia do estro foi marcadamente mais acentuada em animais de primeira e segunda lactação, apresentando padrão decrescente conforme a progressão do número de lactações. Vacas de primeira lactação apresentaram aumento médio de 170% no seu padrão de atividade. Já vacas de segunda e terceira lactação demonstraram, respectivamente, média de 130 e 95% de aumento de atividade. A média da variação do crescimento de atividade para o dia do estro em vacas com lactação igual ou superior a três foi 76%, havendo pouca oscilação entre vacas de terceira a sexta lactação. Essa variação de atividade possui correlação negativa com a produção de leite ($P < 0,01$; $r = -0,17$). A interação entre ECC, estro e dia foi significativa ($P < 0,05$), demonstrando haver menor atividade para o dia do estro em vacas com $ECC \leq 2,5$ ($P < 0,05$) quando comparado a vacas com $ECC \geq 3,25$ (Figura 4). A média de produção de leite não foi afetada pela manifestação de estro ($P = 0,38$), seja ele induzido ou espontâneo, sendo maior em múltiparas ($P < 0,001$; $43,0 \pm 0,6$ vs. $32,0 \pm 0,5$). Não houve efeito de dia para a produção de leite dentro de paridade para animais com manifestação de estro ($P = 0,49$).

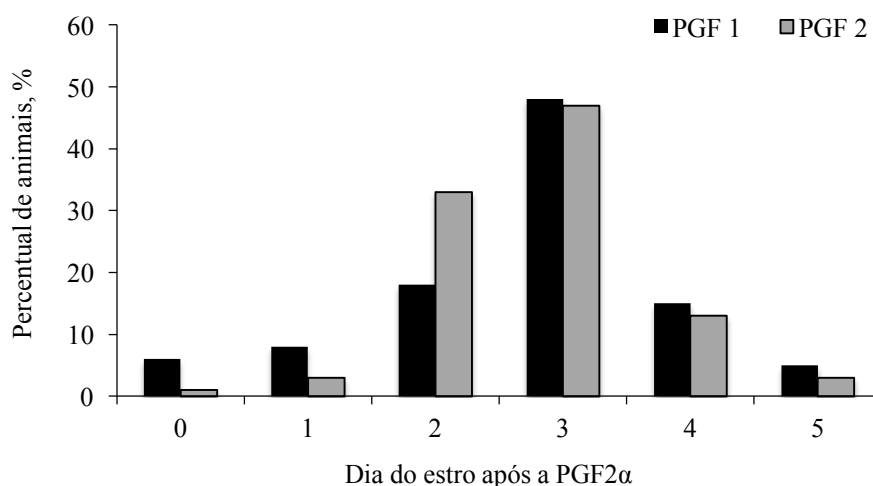


FIGURA 2 – Percentual de distribuição de vacas que demonstraram estro até o quinto dia após o uso de 25 mg de dinoprost de trometamina. As injeções foram realizadas no dia 41 ± 3 e dia 55 ± 3 de lactação.

TABELA 2 – Média \pm ep de passos por hora, variação da atividade e taxa de P/IA de acordo com o ECC, paridade e produção de leite de animais no dia do estro, e taxa de prenhez por IA de acordo com o ECC, paridade e produção de leite.

Variável	Atividade ¹		Taxa de prenhez por IA (%)
	Média de passos por hora	Aumento relativo (%)	
ECC			
Baixo ($\leq 2,5$)	$230,7 \pm 19,3^a$	$126,9 \pm 15,6$	$14,6 (6/41)^a$
Moderado (2,75 a 3,00)	$239,2 \pm 9,9^a$	$143,4 \pm 9,5$	$43,4 (23/53)^b$
Alto ($\geq 3,25$)	$252,1 \pm 9,2^b$	$160,0 \pm 9,7$	$45,6 (26/57)^b$
Paridade			
Primípara	$270,2 \pm 9,6^a$	$170,3 \pm 10,2^a$	$46,1 (20/43)$
Múltipara	$211,2 \pm 8,0^b$	$116,6 \pm 7,5^b$	$32,4 (35/108)$
Produção de leite			
Baixa	$225,4 \pm 9,4^a$	$134,3 \pm 8,0$	$32,9 (26/79)$
Alta	$256,0 \pm 8,6^b$	$152,6 \pm 10,7$	$40,2 (29/72)$

^{a,b} Diferentes letras indicam diferença entre variáveis dentro de colunas ($P < 0,05$).

¹Atividade medida em animais que apresentaram estro, baseado na baixa concentração de progesterona e ovulação, agrupando-se animais de estro espontâneo ou induzido pelo uso de prostaglandina.

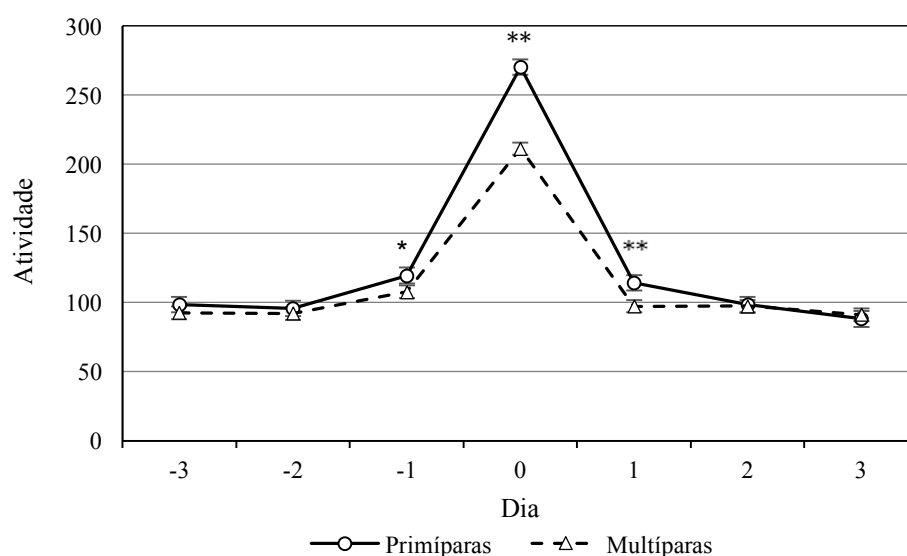


FIGURA 3 – Média (\pm ep) da atividade, mensurada em passos por hora, de vacas primíparas e múltíparas que apresentaram estro (dia 0). * $P < 0,05$; ** $P < 0,001$.

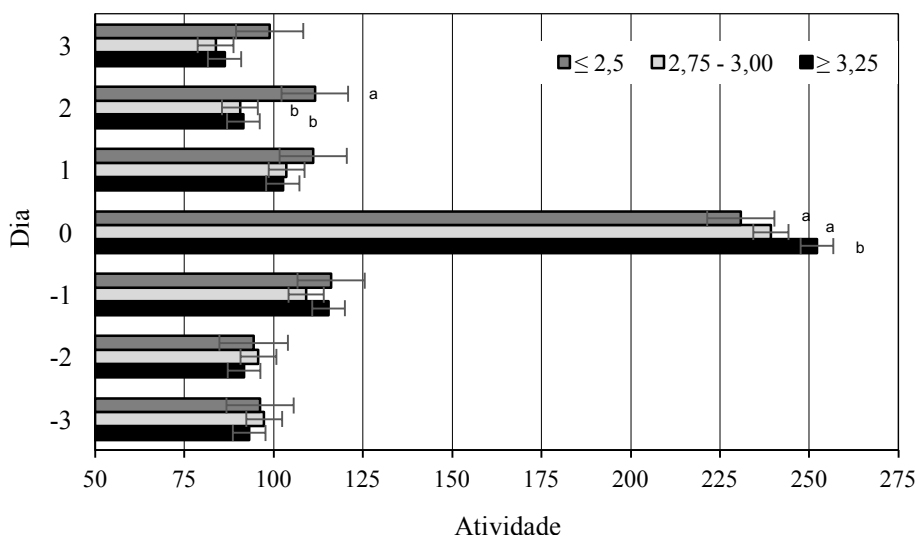


FIGURA 4 – Média da atividade (\pm ep) dos animais que apresentaram estro de acordo com a classificação de ECC (baixo, moderado e alto). Dia 0: dia do estro. Letras indicam haver diferença estatística entre as médias dentro do dia analisado ($P < 0,05$).

3.3.4 Fatores de risco à prenhez

A taxa média de P/IA foi de 36,4%. A prenhez não foi afetada pela paridade ($P = 0,43$) ou pelo aumento de atividade no dia do estro ($P = 0,72$). No entanto, o ECC afetou significativamente a prenhez ($P < 0,01$), onde animais de menor ECC têm menor chance de prenhez (Tabela 2). Houve interação entre paridade e níveis de produção de leite ($P < 0,05$), com maior taxa de prenhez em primíparas que produziram acima da média ($> 39,2$ litros; 85,0 vs. 15%) e em múltíparas que produziram abaixo da média ($< 42,7$ litros; 65,7 vs. 34,4%). A prenhez demonstrou correlação poliserial negativa com níveis sanguíneos de P_4 ($r = -0,49$; $P < 0,05$), e correlação positiva com a variação de atividade no dia do estro ($r = 0,19$; $P < 0,05$).

3.4 Discussão

Poucos estudos sobre o uso da pintura de cauda como ferramenta auxiliar na detecção de estro estão disponíveis na literatura, embora se saiba que esse método é amplamente difundido como estratégia de manejo reprodutivo nas fazendas leiteiras³. Com a realização do presente experimento pode-se observar a eficiência tanto do método da pintura da cauda quanto do pedômetro, ambos comumente utilizados como ferramentas auxiliares na detecção do estro. Com isso, pode-se constatar a maior eficiência do pedômetro avaliado em relação a pintura da cauda, caracterizada pela maior Se e maior VPP, tanto para estro induzido quanto para estro espontâneo. Essa habilidade de detectar estros verdadeiros é muito importante, caso contrário um grande número de animais pode ser inseminado erroneamente^{5,7}, resultando em altas taxas de morte embrionária ou aborto⁴, além de aumentar os custos com mão de obra, nutrição, protocolos de sincronização, sêmen e outros. Segundo De Vries¹⁵, o valor da perda de prenhez em vacas leiteiras custa em torno de 555 dólares, o que torna fundamental o uso de um método auxiliar para a detecção de estros verdadeiros.

Alertas falso positivos representaram menos de 10% de todos os alertas emitidos pelo pedômetro. Em outras palavras, se o fazendeiro optar pelo uso somente do pedômetro como método de detecção do estro em vacas leiteiras, poderia se esperar que a cada dez vacas, uma poderia ser inseminada erroneamente quando não estando em estro ou mesmo gestante. Já o método de pintura da cauda demonstrou VPP semelhante para estro induzido, mas com a Se menor. No entanto, para estro espontâneos, o VPP diminuiu por volta de 20%. Essa variação percentual no VPP da pintura de cauda entre estro induzido e espontâneo ainda permanece por ser compreendida, uma vez que se esperava uma maior facilidade de detecção de estro em situações espontâneas, justificado pela maior atividade das vacas no dia do estro quando esse foi espontâneo, o que aumentaria o número de montas efetuadas e, por consequência, removeria maior quantidade de tinta facilitando a detecção. Diferentemente do imaginado, quando os dois métodos foram utilizados ao mesmo tempo, objetivando aumentar a detecção de estros, pouco efeito foi adicionado quando comparado ao uso individual somente do pedômetro.

O número de falsos positivos detectados pelo pedômetro varia grandemente entre os estudos publicados^{8,16,17}. Provavelmente esse fato se deve aos diferentes dispositivos avaliados, dietas, instalações, manejos reprodutivos adotados, entre outros. Diferentes parâmetros podem ser utilizados para prever estro, o que justifica em parte a variabilidade dos resultados observados entre as pesquisas. Isso é demonstrado no estudo de Roelofs et al.⁸,

no qual o percentual de estros verdadeiros variou de 51 a 87%, dependendo do modelo matemático empregado. O estudo de Madureira et al.¹¹ observou VPP para o pedômetro de 85,5%, ficando abaixo do observado no presente estudo. Já o estudo de Chanvallon et al.¹⁸ demonstrou VPP ainda mais baixo, de 71%. Essas variações de resultados se devem em parte a diferentes parâmetros fisiológicos utilizados para definir estro.

Segundo Roelofs et al.¹², o estro pode ser definido como um sinal comportamental interno e externo de ovulação. Nesse contexto, muitos parâmetros podem ser utilizados, como a regressão do CL, ovulação, valores de progesterona, sinais comportamentais secundários, entre outros. Portanto, acredita-se que um parâmetro fisiológico adequado que define estro foi utilizado no presente estudo, sendo o baixo valor de progesterona (≤ 1 ng/mL) e ovulação. Para exemplificar, quando outro parâmetro fisiológico, como por exemplo a regressão do CL e ovulação, foi utilizado na predição de estro do presente estudo, os valores relacionados à capacidade do dispositivo de prever estro se modificaram. Nesse exemplo, a Se e o VPP foram, respectivamente, de 71,2 e 75,2% para o método de pintura de cauda durante o estro induzido. Também é de conhecimento que alguns animais que apresentam comportamento de estro falham em ovular¹⁹. Chanvallon et al.¹⁸ detectou 9,4% de falha de ovulação até 36 horas após o pico de atividade. Essa mesma falha da ovulação foi constatada no presente estudo, onde 13,5% dos animais que regrediram o corpo lúteo não ovularam até 120 horas da administração de prostaglandina.

Algumas variáveis demonstraram ser importantes na predição do estro por estarem diretamente relacionadas ao aumento de atividade, o que é a base para dispositivos na forma de pedômetro. Entretanto, cada empresa mantém seu método sob segredo. A paridade, o número de lactações, a condição corporal e a produção de leite demonstraram pelo presente estudo que são variáveis importantes a serem utilizadas dentro dos modelos criados para a predição de estro. Com a inclusão de tais variáveis acredita-se que melhores ajustes poderiam ser obtidos, o que aumentaria a taxa de inseminação, resultando num maior número de vacas gestantes. Outro fator importante é o conhecimento já existente da relação entre o tempo de início do estro e a ovulação^{8,10,20}, podendo ser estabelecido o melhor tempo para a realização da inseminação artificial após a detecção do estro^{21,22}.

Desde que algumas publicações demonstraram a dificuldade em detectar estro em vacas leiteiras de alta produção^{1,2}, e também o baixo percentual do uso de sistemas automáticos de detecção³, a indústria tem buscado a melhoria dos métodos de detecção já existentes, bem como desenvolver novos dispositivos. Segundo Roelofs et al.¹², a detecção do estro ainda permanece um grande problema, e sua detecção incorreta tem gerado prejuízo

anual de mais de 300 milhões de dólares para a indústria americana, justificando assim o investimento em tecnologias. É importante ressaltar que os métodos automáticos já existentes demonstram grande capacidade de detecção^{8,10}.

Os benefícios da utilização dos dispositivos na identificação do estro em vacas leiteiras são bastante evidentes. Uma pesquisa conduzida através de questionário aos produtores rurais revelou que o tempo gasto na detecção visual do estro foi reduzido após a instalação de um dispositivo automático, assim como o número de protocolos de sincronização da ovulação, sendo admitido por 93% dos fazendeiros uma melhora na taxa de detecção do estro²³. Comparando dois manejos reprodutivos em que as vacas foram inseminadas após a detecção do estro por um dispositivo automático versus o protocolo Presynch-Ovsynch-56, constatou-se que a taxa de prenhez aos 150 dias de lactação para o dispositivo foi 1,3 vezes maior do que grupo que se utilizou do protocolo de sincronização¹⁰. Esse resultado demonstra o benefício que pode ser atingido pelo uso de um dispositivo na detecção do estro. Segundo Stevenson et al.¹⁰, em 2010 o dispositivo mais vendido atingiu a marca de aproximadamente um milhão de produtos vendidos, demonstrando a grande capacidade de absorção do mercado para tal tecnologia.

A produção de leite não se modificou no dia do estro ($P = 0,49$), corroborando com o resultado encontrado por outros^{24,25}. Entretanto, no estudo realizado por Schofield et al.²⁶, algumas vacas reduziram consideravelmente a produção de leite durante o estro. Essa redução poderia ser explicada em parte pelo comportamento de inquietação das vacas durante o estro, o que reduz o tempo de alimentação e ruminação, mais pronunciado em primíparas do que múltiparas²⁷. O estudo de Pahl et al.²⁵ observou uma diminuição no tempo gasto com a alimentação, bem como uma redução no tempo gasto com a ruminação no momento do estro, mas não observaram redução na produção de leite. No experimento desenvolvido por Madureira et al.¹¹, pouca correlação foi encontrada entre a produção de leite e atividade, semelhante ao observado no presente estudo. Entretanto, foi observado no presente estudo que animais com produtividade acima da média apresentaram maior aumento relativo da atividade no dia do estro. Em resumo, a produção de leite não diminui no dia do estro e essa variável deve ser observada com cautela se inserida no modelo de predição de estro dos dispositivos automáticos.

O ECC foi um dos fatores de grande impacto na atividade dos animais, ou seja, a manifestação de estro em animais com $ECC \leq 2,5$ é mais branda, o que aumenta a chance de não detecção. O mesmo foi encontrado no estudo conduzido por Madureira et al.¹¹, onde se observou menor atividade dos animais e também menor aumento relativo da atividade no dia

do estro. Como a variação do ECC reflete o ganho ou a perda de peso²⁸, acredita-se que o peso possa ser incluído como variável no modelo de predição de estro, podendo ser utilizado em algumas fazendas que contam com a pesagem diária dos animais. Outro fator a ser levado em consideração na redução do aumento relativo da atividade no dia do estro é o número de lactações. Constatou-se que conforme o número de lactações progride, o aumento relativo de atividade no dia do estro diminui. Esse fator de influência também foi observado por Chanvallon et al.¹⁸.

A P/IA de 36,4% foi similar ao observado por outros quando da realização da inseminação pelo Ovsynch¹⁰. Entretanto, o uso de um dispositivo automático de detecção de estro pode resultar num maior número de animais gestantes aos 150 dias de lactação quando comparado ao uso exclusivo de protocolos de inseminação artificial em tempo fixo devido ao aumento da taxa de detecção de estro¹⁰. A prenhez foi afetada pela condição corporal na inseminação, fato também constatado por Madureira et al.¹¹. A correlação negativa moderada com a progesterona ($r = -0,49$) indica de certa forma que esta poderia ser utilizada como alternativa fisiológica na predição de estro, bem como estimar o risco de concepção. A concentração elevada de P₄ próximo a IA pode reduzir drasticamente a fertilidade. Segundo Wiltbank et al.²⁹, a variação na concentração de P₄ em vacas inseminadas através da detecção de estro afeta negativamente a taxa de concepção e, da mesma forma, maiores concentrações de P₄ durante protocolos de IATF refletem a incompleta luteólise, diminuindo a taxa de concepção.

3.5 Conclusão

Em conclusão, o pedômetro testado no presente estudo demonstrou maior acurácia de detecção do estro do que o método de pintura de cauda, demonstrando maiores valores de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo. Quando ambos os métodos foram utilizados ao mesmo tempo, a sensibilidade aumenta, mas pouco ou nenhum efeito foi adicionado na especificidade, VPP, VPN e acurácia. Em outras palavras, quando ambos os métodos são utilizados em conjunto pode-se obter um maior número de animais identificados, mas há aumento de casos falsos positivos do que se somente o pedômetro fosse utilizado. As variáveis paridade, número de lactações e condição corporal, podem ser opções utilizadas para aumentar a acurácia dos dispositivos. Animais com maior ECC apresentam maior atividade durante o estro, além de maior taxa de P/IA. Vacas com menores níveis circulantes de progesterona demonstram maiores taxas de P/IA, demonstrando a grande importância de uma luteólise efetiva nos programas de sincronização da ovulação.

3.6 Referências

1. Lopez H, Satter LD, Wiltbank MC. Relationship between level of milk production and estrus behavior of lactating dairy cows. *Anim Reprod Sci.* 2004; 80: 209-23.
2. Wiltbank MC, Lopez H, Sartori R, Sangsritavong S, Gümen A. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due elevated steroid metabolism. *Theriogenology.* 2006; 65: 17-29.
3. NAHMS (National Animal Health Monitoring System). Reproduction practices on US dairy operations. Centers for Epidemiology and Animal Health, US Department of Agriculture: Animal and Plant Health Inspection Service: Veterinary Services, Fort Collins, 2009.
4. Sturman H, Oltenacu EAB, Foote RH. Importance of inseminating only cows in oestrus. *Theriogenology.* 2000; 39: 1657-67.
5. Nebel RL, Whittier WD, Casell BG, Britt JH. Comparison of on-farm and laboratory milk progesterone assays for identifying errors in detection of estrus and diagnosis of pregnancy. *J Dairy Sci.* 1987; 70: 1471-76.
6. Xu ZZ, McKnight DJ, Vishwanath R, Pitt CJ, Burton LJ. Estrus detection using radiotelemetry or estrus observation and tail painting for dairy cows on pasture. *J Dairy Sci.* 1998; 81: 2890-96.
7. Rivera H, Lopez H, Fricke PM. Fertility of Holstein dairy heifers after synchronization of ovulation and timed AI or AI after removal tail chalk. *J Dairy Sci.* 2004; 87: 2051-61.
8. Roelofs JB, Van Eerdenburg FJCM, Soede NM, Kemp B. Pedometer readings for estrus detection and as predictor for time of ovulation in dairy cattle. *Theriogenology.* 2005a; 64: 1690-703.
9. Cavaliero DZ, Weigel KA, Fricke PM, Wiltbank MC, Fiorent MJ, Cook NB, Nordlund KV, Zwald N.R, Rawson CL. Survey of management practices on reproductive performance of dairy cattle on large US commercial farms. *J Dairy Sci.* 2006; 89: 4723-35.
10. Stenvenson JS, Hill SL, Nebel RL, Dejarnette M. Ovulation timing and conception risk after automated activity monitoring in lactating dairy cows. *J Dairy Sci.* 2014; 97: 4296-308.
11. Madureira AML, Silper BF, Burnett TA, Polsky L, Cruppe LH, Vasconcelos JLM, Cerri RLA. Factors affecting expression of estrus measured by activity monitors and conception risk of lactating dairy cows. *J Dairy Sci.* 2015; 98: 7003-14.
12. Roelofs J, López-Gatiús F, Hunter RH, Van Eerdenburg FJ, Hanzen CH. When is a cow in estrus? Clinical and practical aspects. *Theriogenology.* 2010; 74: 327-44.
13. NRC. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad. Sci., Washington, DC., 2001.
14. Ferguson JD, Galligan DT, Thomsen N. Principal description of body conditions score in Holstein cows. *J Dairy Sci.* 1994; 77: 2695-703.
15. De Vries A. Economic value of a pregnancy in dairy cattle. *J Dairy Sci.* 2006; 89: 3876-85.

16. Peter AT, Bosu WTK. Postpartum ovarian activity in dairy cows: correlation between behavioral estrus, pedometer measurements and ovulations. *Theriogenology*. 1986; 26: 111-15.
17. Moore AS, Spahr SL. Activity monitoring and enzyme immunoassay for milk progesterone to aid in the detection of estrus. *J Dairy Sci*. 1991; 74: 3857-62.
18. Chanvallon A, Coyral-Castel S, Gatien J, Lamy JM, Ribaud D, Allain C, Clement P, Salvetti P. Comparison of three devices for the automated detection of estrus in dairy cows. *Theriogenology*. 2014; 82: 734-41.
19. Sartori R, Haughian JM, Shaver RD, Rosa GJM, Wiltbank MC. Comparison of ovarian function and circulating steroids in estrous cycles of Holstein heifers and lactating cows. *J Dairy Sci*. 2004; 87: 905-20.
20. Roelofs JB, Van Eerdenburg FJCM, Soede NM, Kemp B. Various behavioral signs of estrus and their relationship with time of ovulation in dairy cattle. *Theriogenology*. 2005b; 63: 1366-77.
21. Maatje K, Loeffler SH, Engel B. Optimal time of insemination in cows that show visual signs of estrus by estimating onset of estrus with pedometers. *J Dairy Sci*. 1997; 80: 1098-105.
22. Dransfield MGB, Nebel RL, Person RE, Warnick LD. Timing of insemination for dairy cows identified in estrus by radiotelemetric estrus detection system. *J Dairy Sci*. 1998; 81: 1874-82.
23. Michaelis I, Hasenpusch E, Heuwieser W. Estrus detection in dairy cattle: Changes after the introduction of an automated monitoring system. *Tierärz. Praxis*. 2013; 41: 159-65.
24. Rajamahendran R, Robinson J, Desbottes S, Walton J.S. Temporal relationships among estrus, body temperature, milk yield, progesterone and luteinizing hormone levels, and ovulation in dairy cows. *Theriogenology*. 1989; 31: 1173-82.
25. Pahl C, Hartung E, Mahlkow-Nerge K, Haeussermann A. Feeding characteristics and rumination time of dairy cows around estrus. *J Dairy Sci*. 2014; 98: 1-7.
26. Schofield SA, Phillips CJC, Owens AR. Variation in the milk production, activity rate and electrical impedance of cervical mucus over the oestrus period of dairy cows. *Anim Reprod Sci*. 1991; 24: 231-48.
27. Reith S, Hoy S. Relationship between daily rumination time and estrus of dairy cows. *J Dairy Sci*. 2012; 95: 6416-20.
28. Berry DP, Macdonald KA, Penno JN, Roche J.R. Association between body condition score and live weight in pasture-based Holstein-Friesian dairy cows. *J Dairy Sci*. 2006; 73: 487-91.
29. Wiltbank MC, Souza AH, Giordano JO, Nascimento AB, Vasconcelos JM, Pereira MHC, Fricke PM, Surjus RS, Zinsly FCS, Carvalho PD, Bender RW, Sartori R. Positive and negative effects of progesterone during timed AI protocols in lactating dairy cattle. *Anim Reprod*. 2012; 9: 231-41.

CAPÍTULO 4 – Considerações finais

Diversos métodos de manejo de novilhas e de vacas leiteiras estão disponíveis para serem incorporados a fazenda. Dentre eles, os protocolos de sincronização da ovulação para novilhas ganham especial atenção, pois pouco são utilizados devido aos baixos resultados de P/IA já registrados com seu uso. Todavia, esses protocolos de sincronização da ovulação para novilhas têm sido melhorados, e já apresentam taxas de P/IA semelhantes aos de animais inseminados após a detecção visual do estro.

Poucas fazendas utilizam IATF para novilhas, principalmente em função da facilidade de detecção do estro, e dos bons resultados obtidos quando da inseminação artificial após a detecção visual do estro. Além do disso, o pensamento de se economizar com protocolos reprodutivos ainda se faz presente. Entretanto, o presente trabalho demonstrou que o uso do protocolo de IATF-5d resulta em taxas de P/IA satisfatórias, aumento da taxa de inseminação e redução do tempo à prenhez, podendo ser utilizado como estratégia para aumentar a eficiência reprodutiva da fazenda, e assim diminuir os custos com a criação de novilhas.

Acredita-se que o estudo relacionado a novilhas descrito na presente tese servirá como marco do surgimento de uma nova metodologia a ser empregada no manejo de novilhas leiteiras, pois enfatiza a capacidade de se alcançar taxas de P/IA semelhantes àquelas obtidas pela inseminação artificial após a detecção visual do estro, além de demonstrar benefícios econômicos associados quando do uso da IATF para o primeiro manejo reprodutivo devido à maior taxa de inseminação alcançada. Mesmo nos diferentes cenários criados, o que reflete grande parte do território dos Estados Unidos, os benefícios econômicos são evidentes. A incorporação de tal manejo é simples e diminui o gasto com mão de obra para o manejo com novilhas leiteiras.

O uso do bastão de cera como ferramenta auxiliar na estratégia de detecção de estro é amplamente difundido entre as fazendas leiteiras. No entanto, sabe-se que a detecção de estro continua como entrave ao sistema. O aumento da produção de leite por vaca tem resultado num estro mais curto e de menor intensidade, o que reforça a necessidade do uso de uma ferramenta auxiliar. O presente estudo demonstrou a capacidade auxiliar do método da pintura da cauda para a detecção do estro, e também demonstrou o maior benefício do uso do dispositivo automático Afitag[®] (AfilMilk[®]) em relação a pintura de cauda. O dispositivo automático avaliado em questão demonstrou maior capacidade de detecção de estro e também

revelou um menor percentual de falso positivos. Entretanto, os valores encontrados para o presente dispositivo automático avaliado no estudo não podem ser estendidos aos demais dispositivos automáticos.

O real benefício econômico da implementação de um dispositivo automático na fazenda ainda permanece por ser estabelecido. Acredita-se que um dispositivo automático seja capaz de aumentar a taxa de inseminação, gerando resultados de P/IA maiores do que os obtidos através da detecção visual do estro, pois aumentaria a capacidade de detecção de estros verdadeiros e diminuiria o número de falsos positivos. Se isso de fato acontecer os benefícios econômicos serão iminentes, pois haverá menor gasto com sêmen, equipamentos relacionados a inseminação, hormônios, mão de obra, entre outros.