

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**FATORES QUE AFETAM AS TAXAS DE
CONCEPÇÃO E DETECÇÃO DO ESTRO DE
RETORNO APÓS A IATF EM VACAS
HOLANDESAS**

Carla Cristian Campos
Médica Veterinária

UBERLÂNDIA - MINAS GERAIS - BRASIL

2013

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
VETERINÁRIAS**

**FATORES QUE AFETAM AS TAXAS DE
CONCEPÇÃO E DETECÇÃO DO ESTRO DE
RETORNO APÓS A IATF EM VACAS
HOLANDESAS**

Carla Cristian Campos

Orientadora: Profa. Dra. Ricarda Maria dos Santos

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias (Produção Animal).

Linha de pesquisa: Biotécnicas e eficiência reprodutiva

Uberlândia - MG
Fevereiro de 2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

C198f Campos, Carla Cristian, 1987-
2013 Fatores que afetam as taxas de concepção e detecção do estro de
retorno após a IATF em vacas holandesas / Carla Cristian Campos. -- 2013.
55 p. : il.

Orientadora: Ricarda Maria dos Santos.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Pro-
grama de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.
Inclui bibliografia.

1. Veterinária - Teses. 2. Bovino de leite -- Reprodução -- Teses. 3.
Bovino de leite -- Inseminação artificial -- Teses. I. Santos, Ricarda Maria
dos. II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação
em Ciências Veterinárias. III. Título.

CDU: 619

*“Não é o que você faz, mas quanto amor você
dedica no que faz que realmente importa.”*

Madre Tereza de Calcutá

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Carlos e Vonila,
pelos exemplos de vida,
pelo amor incondicional,
pelo apoio e pela paciência.

Com muito carinho, dedico.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus pelo dom da vida, pela sabedoria e pela fé na busca incansável pelos meus objetivos.

A minha professora orientadora, Ricarda Maria dos Santos, por compartilhar comigo mais uma conquista tão importante na minha vida profissional, pelos ensinamentos, pela paciência, pela amizade e pelo seu exemplo de força e determinação.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo incentivo e financiamento deste trabalho.

A Fazenda Canadá, do grupo Algar Agro, por ceder os animais e as instalações necessárias para que fosse possível a execução deste estudo.

A todos os meus familiares e amigos, em especial ao meu namorado Mateus, pela confiança, pelo otimismo e pelo apoio na concretização de mais um sonho.

Aos meus colegas de mestrado, Estevão, Mariana, Sílvia, em especial à minha amiga Fernanda, que sempre estiveram presentes me proporcionando momentos de alegria durante esses dois anos de curso.

E a todos aqueles, que direta e indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, deixo aqui o meu muito obrigado!

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO.....	13
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	15
2.1 Eficiência reprodutiva.....	15
2.2 Fatores que afetam a eficiência reprodutiva.....	16
2.2.1 Anestro pós-parto.....	16
2.2.2 Balanço energético negativo.....	18
2.2.3 Infecções uterinas.....	21
2.2.4 Estresse térmico.....	22
2.2.5 Detecção de estro.....	26
2.3 Resposta ao protocolo de IATF.....	29
3. OBJETIVO.....	30
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	31
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	34
5.1 Taxa de concepção.....	34
5.2 Taxa de detecção do estro de retorno.....	40
6. CONCLUSÃO.....	43
REFERÊNCIAS.....	44

LISTA DE ABREVIATURAS

AGNE	Ácidos graxos não esterificados
BEN	Balanço energético negativo
bST	Somatotropina bovina
°C	Graus Celsius
CIDR	Dispositivo intravaginal de liberação lenta de progesterona
CL	Corpo lúteo
DPP	Dias pós-parto
ECC	Escore de condição corporal
E ₂	Estradiol
FSH	Hormônio folículo estimulante
GH	Hormônio do crescimento
GnRH	Hormônio liberador de gonadotrofinas
IA	Inseminação artificial
IATF	Inseminação artificial em tempo fixo
IGF's	Fatores de crescimento semelhante à insulina
IGF-1	Fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1
Kg	Quilogramas
LH	Hormônio luteinizante
mg	Miligramas
MHz	Mega-hertz
mL	Mililitros
mm	Milímetros
PGF _{2α}	Prostaglandina F _{2α}
P/IA	Prenhez por inseminação artificial
PVE	Período voluntário de espera
P ₄	Progesterona

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1 Efeito da estação do parto sobre a taxa de concepção de vacas Holandesas submetidas à IATF, Uberlândia-MG, 2011.....	34
Tabela 2 Efeito de dias pós-parto no início do protocolo de IATF sobre a taxa de concepção de vacas Holandesas, Uberlândia-MG, 2011.....	35
Tabela 3 Efeito da presença de corpo lúteo no início do protocolo de IATF sobre a taxa de concepção de vacas Holandesas, Uberlândia-MG, 2011.....	36
Tabela 4 Efeito da estação do ano no momento da IATF sobre a taxa de concepção de vacas Holandesas, Uberlândia-MG, 2011.....	37
Tabela 5 Efeito da estação do parto sobre a taxa de detecção do estro de retorno após a IATF de vacas Holandesas, Uberlândia-MG, 2011.....	41
Tabela 6 Efeito de dias pós-parto sobre a taxa de detecção do estro de retorno após a IATF de vacas Holandesas, Uberlândia-MG, 2011.....	41
Tabela 7 Efeito da presença de corpo lúteo sobre a taxa de detecção do estro de retorno após a IATF de vacas Holandesas, Uberlândia-MG, 2011.....	42

	Página
Tabela 8 Efeito da estação do ano no momento da IATF sobre a taxa de detecção do estro de retorno de vacas Holandesas, Uberlândia-MG, 2011.....	42

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 Representação esquemática do protocolo utilizado (dispositivo intravaginal contendo 1,9g de progesterona, CIDR®, Pfizer; Gonadorelina, Fertagyl®, MSD; Dinoprost-Trometamina, Lutalyse®, Pfizer; Cipionato de Estradiol, ECP®, Pfizer; Inseminação artificial em tempo fixo - IATF).....	32

FATORES QUE AFETAM AS TAXAS DE CONCEPÇÃO E DETECÇÃO DO ESTRO DE RETORNO APÓS A IATF EM VACAS HOLANDESAS

RESUMO – Objetivou-se avaliar a influência da estação do parto, dias pós-parto (DPP), presença de corpo lúteo (CL) e estação do ano no momento da inseminação sobre as taxas de concepção e de detecção do estro de retorno em vacas leiteiras Holandesas submetidas à inseminação artificial em tempo fixo (IATF). O protocolo consistiu em: Dia 0 - inserção do dispositivo intravaginal de progesterona (CIDR®, Pfizer) e aplicação via intramuscular de 1,0mL de Gonadorelina (Fertagyl®, MSD); Dia 7 - 2,5mL de Dinoprost Trometamina (Lutalyse®, Pfizer) e retirada do dispositivo; Dia 8 - 0,5mL de Cipionato de Estradiol (E.C.P.®, Pfizer); Dia 10 - IATF. O diagnóstico de gestação foi realizado 32 dias após a IA, por ultrassonografia. As vacas que retornaram ao estro antes do diagnóstico foram reinseminadas 12 horas após a detecção do estro. A observação era realizada por funcionários treinados, duas vezes ao dia, manhã e tarde, por 30 minutos. As vacas vazias foram ressincronizadas com o mesmo tratamento. Os dados foram analisados por Regressão Logística no programa MINITAB ($P < 0,05$). Foram realizadas 406 inseminações que resultaram em 101 gestações, totalizando 24,87% de taxa de concepção e 43,27% de taxa de detecção. A estação do parto, os DPP e a presença de CL não afetaram as taxas de concepção e detecção. Já a estação do ano não influenciou a taxa de concepção, porém houve efeito desta variável sobre a taxa de detecção, já que os valores encontrados na Primavera-verão foram inferiores aos do Outono-inverno (38,24% vs. 53,47%), o que enfatiza o efeito prejudicial do estresse térmico sobre a expressão e a detecção do estro em vacas Holandesas.

Palavras-chave: eficiência reprodutiva, retorno ao estro, sincronização

FACTORS AFFECTING CONCEPTION AND ESTROUS RETURN DETECTION RATES AFTER TAI IN HOLSTEIN COWS

ABSTRACT – The aim of this study was to evaluate the influence of season of calving, days in milk (DIM), presence of corpus luteum (CL) and season of the year at the moment of insemination on conception and estrous return detection rates of Holstein dairy cows submitted to a timed artificial insemination protocol (TAI). The protocol was: Day 0 - insert of progesterone (P4) releasing intravaginal device (CIDR®, Pfizer) and intramuscular injection of 1,0 mL of Gonadorelina (Fertagyl®, MSD); Day 7 - 2,5 mL of Dinoprost Trometamina (Lutalyse®, Pfizer) and CIDR® removal; Day 8 - 0,5 mL of Estradiol cypionate (E.C.P.®, Pfizer); Day 10 - TAI. The pregnancy diagnosis was performed 32 days after AI by ultrasound. The cows that returned of estrous before pregnancy diagnosis were reinseminated 12 hours after estrous detection. The observation was made by trained employees twice daily, in the morning and afternoon, during 30 minutes. The cows that did not become pregnant were resynchronized using the same treatment. Data was analyzed by Logistic Regression in MINITAB program ($P < 0,05$). At about 406 inseminations were performed. As a result, 101 pregnancies were confirmed and 24,87% of conception and 43,27% of estrous return detection rates were found. The season of calving, the DIM and the presence of CL did not affect conception and detection rates. Season of the year did not influence conception rate, but there was an effect of this variable on detection rate, the rate found in Spring-Summer were lower than in Autumn-Winter (38,24% vs. 53,47%), which emphasizes the detrimental effect of heat stress on expression and detection of estrous in Holstein cows.

Key words: reproductive efficiency, estrous return, synchronization

1. INTRODUÇÃO

A produção de leite e a reprodução são os principais fatores determinantes da lucratividade na pecuária leiteira. Assim, os produtores de leite devem sempre buscar a eficiência para ter rentabilidade, o que significa que um bom desempenho tanto produtivo quanto reprodutivo do rebanho é indispensável para que seja possível alcançar a produtividade desejada e um retorno econômico satisfatório.

A seleção genética para alta produção de leite, a complexidade do manejo intensivo do rebanho, principalmente no aspecto nutricional, aliadas às mudanças fisiológicas e hormonais que ocorrem durante o período de transição, que consiste na fase final da gestação e no início da lactação, exercem forte influência sobre a futura competência reprodutiva das fêmeas. Os controles endócrino e metabólico para a produção de leite encontram-se intimamente relacionados aos processos reprodutivos, que acabam comprometendo a atividade ovariana no início da lactação (BUTLER, 2003).

O manejo reprodutivo e nutricional, a saúde e os fatores ambientais estão diretamente relacionados às variações na fertilidade resultantes da inseminação artificial (IA). Dentre os desafios associados à reprodução de vacas leiteiras, a eficiência na detecção do estro é um fator preponderante para a obtenção de resultados reprodutivos adequados. O controle farmacológico do ciclo estral das fêmeas, conhecido comumente pelo termo inseminação artificial em tempo fixo (IATF), tem sido amplamente difundido nos últimos anos, com o objetivo principal de eliminar a necessidade de observação de estro e assim incrementar o número de animais submetidos à inseminação.

Os programas hormonais são ferramentas que possibilitam a utilização da IA com a finalidade de concentrar os trabalhos da mão de obra e a ocorrência dos partos, sincronizar e induzir a ciclicidade dos animais, diminuir os efeitos ambientais e, consequentemente melhorar as taxas de concepção do rebanho (NEVES et al. 2010).

A competitividade da cadeia produtiva do leite estimula a busca constante e crescente por animais com alto potencial produtivo, levando os produtores a optarem

por inserir nos rebanhos animais especializados, geralmente originários das regiões de clima temperado, que são pouco tolerantes ao clima tropical, onde os fatores ambientais não se assemelham às condições ideais de conforto térmico capazes de proporcionar um bom desempenho desses animais (ROCHA et al., 2012).

O estresse térmico impacta negativamente uma variedade de parâmetros da atividade leiteira, incluindo produção, qualidade e composição do leite, crescimento e reprodução dos animais, resultando assim em perdas econômicas significativas. A implementação de estratégias que possam reduzir os efeitos do estresse pelo calor se faz importante para minimizar os prejuízos, uma vez que os fatores estressantes estão diretamente relacionados com a fertilidade dos animais.

Assim, a ocorrência de doenças que acometem as vacas no período do periparto juntamente com o desconforto provocado pelo excesso de calor são responsáveis por afetar negativamente a eficiência reprodutiva de vacas leiteiras.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Eficiência reprodutiva

A produção de leite por vaca tem aumentado devido à combinação de melhorias de manejo, nutrição e intensa seleção genética (LUCY, 2001). Porém, um impacto negativo deste progresso é a redução da fertilidade e o aumento da incidência de problemas reprodutivos (GRÖHN e RAJALA-SCHULTZ, 2000).

Um estudo realizado por Washburn et al. (2002) constatou que a taxa de concepção média para animais da raça Holandesa caiu de 53% no final da década de 70 para 35% no final da década de 90. De Vries e Risco (2005) também reportaram uma queda significativa nas taxas de prenhez de 21,6% em 1979 para 12% em 2002, em um extenso trabalho realizado nos Estados Unidos. Este declínio aparente na fertilidade está associado tanto ao melhoramento genético para a produção leiteira quanto às modernas práticas de manejo que levam a um rápido aumento na produção de leite por animal.

De acordo com Wiltbank et al. (2006) é consistente a evidência de que a alta produção de leite pode causar, ou pelo menos estar associada, às mudanças na fisiologia que provocam o declínio da eficiência reprodutiva.

Para que a vaca fique gestante após o parto, é preciso atingir uma série de objetivos reprodutivos, tais como retomar a ciclicidade logo após a involução uterina, manter os ciclos estrais regulares, manifestar estro, ovular um ovócito viável e em seguida manter um ambiente que dê suporte ao desenvolvimento do embrião em formação (MANN, 2011). Qualquer distúrbio desses eventos resulta em falha reprodutiva (LEROY et al., 2009).

A subfertilidade em gado leiteiro é um problema multifatorial que pode estar vinculada a falhas no desenvolvimento do folículo ovariano associada à redução da exibição de estro e, consequentemente, baixa detecção, má qualidade do ovócito, transporte espermático alterado, problemas na fertilização, alterações no ambiente do trato reprodutivo que prejudicam o desenvolvimento embrionário, ou a combinação desses fatores (RIZOS et al., 2010).

Embora os benefícios de melhorar a reprodução sejam evidentes, causas específicas do baixo desempenho reprodutivo são difíceis de serem identificadas e não se resolvem facilmente. Para aumentar a eficiência reprodutiva, os fatores limitantes devem ser conhecidos (BARR, 1975).

Wiltbank et al. (2006) revisou várias possíveis causas para o declínio na eficiência reprodutiva dos rebanhos leiteiros, tais como a diminuição da duração do estro, das taxas de concepção e da concentração sanguínea de hormônios esteróides; o aumento de partos gemelares devido à dupla ovulação, das perdas gestacionais e do intervalo parto-primeira ovulação; a ocorrência de luteólise prematura e ciclos estrais curtos ou de atrasos na luteólise com persistência de CL, o desenvolvimento de cistos foliculares e a anovulação.

Para serem bem sucedidos e se manterem competitivos, os produtores de leite devem minimizar as perdas resultantes da subfertilidade. Na prática, isto se traduz em programas reprodutivos e de saúde bem estabelecidos, capazes de manter no rebanho as vacas mais saudáveis e rentáveis (STEVENSON e CALL, 1988), já que a eficiência reprodutiva possui um expressivo impacto sobre a lucratividade dos rebanhos comerciais leiteiros (WILTBANK et al., 2006).

2.2 Fatores que afetam a eficiência reprodutiva

2.2.1 Anestro pós-parto

O anestro pós-parto é um período de transição durante o qual a funcionalidade do eixo hipotálamo-hipófise-ovário-útero se recupera da gestação anterior. As primeiras duas a três semanas são necessárias para que a involução uterina ocorra, os estoques do hormônio luteinizante (LH) na adeno-hipófise sejam repostos e as ondas de crescimento folicular sejam retomadas nos ovários. Assim, dentro de três semanas pós-parto, a vaca fica pronta para retomar a ciclicidade (YAVAS e WALTON, 2000).

O anestro puerperal é considerado um estado de completa inatividade sexual sem manifestações de estro. Não se trata de uma patologia, mas sim de um sintoma de redução temporária ou permanente da atividade ovariana, provocada por

mudanças estacionais no ambiente físico, deficiências nutricionais, estresse da lactação e envelhecimento. Determinadas condições patológicas dos ovários e do útero também podem suprimir o estro (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

A lenta recuperação da atividade ovariana durante o período pós-parto é um grande impedimento para a inseminação das vacas imediatamente após o final do período voluntário de espera (PVE), sendo assim uma limitação para o sucesso de programas de manejo reprodutivo (RHODES et al., 2003; THATCHER et al., 2006). As vacas anovulares representam uma proporção significativa de vacas que, ao final do PVE, possuem baixo desempenho reprodutivo após a sincronização da ovulação seguida pela IATF (SILVA et al., 2007).

O intervalo médio até o retorno da ciclicidade em vacas leiteiras dura em torno de 24 dias após o parto (ROYAL et al., 2000), embora seja bastante comum identificar vacas que ainda não retomaram a ciclicidade aos 100 DPP (MANN, 2011).

Segundo Yavas e Walton (2000), em vacas leiteiras, folículos entre cinco e 10 mm de diâmetro, considerados médios, podem ser encontrados entre cinco e 15 DPP. O primeiro folículo dominante que se desenvolve após o parto ovula entre 15 e 27 DPP em algumas vacas.

A ovulação e o estro pós-parto são atrasados pela redução do efeito de retroalimentação positiva do estradiol (E_2) sobre a liberação do LH pela hipófise e da concentração sanguínea de metabólicos tais como a insulina e o fator de crescimento semelhante à insulina tipo I (IGF-1), causadas por uma variedade de fatores ambientais (RHODES et al., 2003). Ainda segundo estes autores, a ingestão limitada de energia, as baixas reservas corporais, o aumento no direcionamento de energia para a produção de leite, a amamentação e as doenças do periparto podem ser citados como os principais fatores relacionados ao atraso no retorno à ciclicidade ovariana.

Em uma extensa revisão sobre o anestro em bovinos, Wiltbank et al. (2002) discutiram sobre quatro possíveis condições anovulatórias classificadas de acordo com as etapas de crescimento dos folículos ovarianos. A causa provável da ocorrência de anovulação com crescimento folicular somente até a fase de emergência (folículos com ± 4 mm) seria devido a uma possível deficiência do hormônio folículo estimulante (FSH). A condição anovulatória até a fase de

divergência (folículos com ± 9 mm), é comum em vacas leiteiras no pós-parto devido ao balanço energético negativo (BEN), que desencadeia a atividade inibitória do E₂ sobre a secreção do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), e consequentemente afeta a pulsatilidade do LH.

A anovulação de folículos que atingem o tamanho da ovulação ou superiores (folículos de 10 a 20 mm, ou maiores) caracteriza a ocorrência de cistos foliculares, pois os altos níveis sanguíneos de E₂ não são suficientes para provocar o pico de LH responsável pela ovulação. E por fim, a condição anovulatória com presença de tecido luteal indica que qualquer anormalidade uterina, como uma infecção ou falhas na involução, pode reduzir a secreção de prostaglandina (PGF_{2α}) ou o transporte desta substância até o ovário, impedindo a luteólise e prolongando o tempo de vida do CL (WILTBANK et al., 2002).

2.2.2 Balanço energético negativo (BEN)

O aumento dos requerimentos nutricionais associado à supressão do apetite no final da gestação geralmente conduzem as vacas a um estado de BEN, que é frequentemente observado durante a última semana de gestação e os dois primeiros meses pós-parto. A severidade e a duração do BEN podem ser estimadas pelas alterações no escore de condição corporal (ECC) (BISINOTTO et al., 2012).

As necessidades de nutrientes do útero gravídico em fase final de gestação fazem com que a vaca leiteira entre em estado catabólico. Imediatamente após o parto, ocorre uma demanda adicional por glicose, gordura e proteína para que se inicie a produção de leite. Durante o período de transição, as vacas são incapazes de compensar este aumento da demanda por energia através do aumento do consumo de matéria seca, desencadeando um quadro de BEN (LEROY et al., 2009).

O BEN geralmente se inicia alguns dias antes da parição, à medida que a ingestão de matéria seca diminui, e torna-se visível e aparente durante o início da lactação, devido à perda de ECC (BUTLER, 2008).

Segundo Le Blanc (2012), praticamente todas as vacas sofrem algum grau de BEN no início da lactação. As vacas de maior produção não são necessariamente as que apresentam BEN mais grave ou prolongado (LUCY, 2001). Ao contrário, o mais

provável é que as vacas de maior produção sejam aquelas com maior consumo alimentar no pós-parto, e assim não as que apresentam o maior déficit energético.

Dobson et al. (2007) afirmaram que doenças como mastite, hipocalcemia, cetose, laminites, subnutrição e, em rebanhos com baixo ECC ou com altas perdas de condição corporal, além de provocarem quedas na produção de leite, também levam a redução do desempenho reprodutivo em comparação a rebanhos não afetados, pelo fato de prejudicarem a expressão de estro e de atrasarem a retomada da atividade ovariana e a concepção.

Devido aos efeitos na supressão imunológica, o BEN pode retardar dramaticamente o processo de involução uterina, comprometendo a fertilidade futura (WATHES et al., 2007).

Segundo Lucy (2003) a anovulação causada pelo BEN proporciona um meio hormonal inadequado ao desenvolvimento pré-ovulatório do folículo, pico de LH e ovulação. Este autor também afirma que a perda de condição corporal e o BEN são os principais fatores relacionados à subfertilidade em vacas leiteiras.

De acordo com Bisinotto et al. (2012), a condição energética de uma vaca é capaz de modular a secreção de hormônios que desempenham papéis fundamentais no crescimento de folículos ovarianos, na ovulação, na formação do CL e na competência do ovócito. Por exemplo, o LH segundo KADOKAWA et al. (2006), tem sua frequência de pulsos correlacionada positivamente com o balanço de energia.

Após o parto, uma onda de crescimento folicular se inicia em resposta à elevada concentração plasmática de FSH, levando a formação de um folículo dominante, fato que não parece ser limitado pela ocorrência do BEN. Porém, este folículo pode ovular, ou pode não ovular e surgir uma nova onda folicular, ou ainda pode falhar em ovular e se tornar um cisto (BEAM e BUTLER, 1997). O desenvolvimento de um folículo dominante não ovulatório ou de um cisto prolonga o intervalo parto-primeira ovulação de 40 a 50 dias (BUTLER, 2003).

Ainda segundo Butler (2003), a duração do intervalo parto-primeira ovulação fornece um parâmetro importante para avaliar os efeitos do BEN no desempenho reprodutivo, pois o prolongamento deste intervalo indica o quanto intenso e prejudicial foram os efeitos do desequilíbrio de energia.

O BEN altera o curso da atividade ovariana no pós-parto e influencia a retomada dos ciclos ovulatórios, uma vez que as baixas concentrações glicêmicas e insulínicas das vacas após o parto juntamente com o aumento nos níveis sanguíneos de ácidos graxos não esterificados (AGNE) são capazes de atrasar o aumento dos pulsos das gonadotrofinas (FSH e LH), necessários à estimulação dos folículos ovarianos (BUTLER, 2008). A baixa concentração de insulina pós-parto e a glicemia reduzida, devido a reserva de glicose para a síntese de lactose que o organismo naturalmente faz, suprimem a secreção hipotalâmica de GnRH e posterior liberação de LH pela hipófise (DISKIN et al., 2003; OHKURA et al., 2004; LEROY et al., 2009).

Segundo Garnsworthy et al. (2008) o alto mérito genético para produção de leite, o BEN, a mobilização de gordura corporal e a baixa concentração de insulina plasmática estão todos associados ao atraso da primeira ovulação pós-parto e das taxas de prenhez mais baixas. Ainda de acordo com estes autores, a insulina age como um sinalizador metabólico para o sistema reprodutivo, indicando que a condição nutricional é adequada e a concepção pode prosseguir, mecanismo que envolve interações entre a insulina, as IGF's e as gonadotrofinas.

O aumento do consumo de matéria seca faz com que as vacas revertam o quadro do balanço energético de negativo para positivo em até cerca de oito semanas, variando de quatro a 14 semanas (WILTBANK et al., 2002). Manter a ingestão de alimentos durante o período de transição pode ser uma alternativa para contornar os efeitos do BEN e assim evitar os problemas metabólicos, que são deletérios ao desempenho reprodutivo de vacas leiteiras (BUTLER, 2003).

Segundo Alnimer et al. (2002) durante o estresse térmico, há uma diminuição da ingestão de alimentos que também leva à perda de ECC, e assim ao agravamento do BEN. De Rensis e Scaramuzzi (2003) também reportaram que qualquer agravamento no balanço de energia durante o verão seria capaz de diminuir ainda mais a fertilidade das vacas neste período, sendo os efeitos do BEN potencializados pelo estresse térmico.

2.2.3 Infecções uterinas

Antes do parto, o lúmen uterino é considerado estéril, porém durante e após o parto, a perda das barreiras físicas de proteção compostas pela cérvix, vagina e vulva, favorece a entrada ascendente das bactérias provenientes do ambiente, da pele do animal ou das fezes pelo trato genital feminino (SHELDON e DOBSON, 2004).

O mecanismo da involução uterina após o parto envolve o encolhimento físico, necrose, descamação da carúncula e regeneração do endométrio (SHELDON et al., 2008). A involução uterina é considerada completa quando o útero retorna a sua posição não-gravídica normal e quando os dois cornos uterinos são semelhantes em diâmetro, consistência e tônus (LEWIS et al., 1984).

Existem vários fatores de risco para as infecções uterinas, dentre eles os partos gemelares e de bezerros natimortos, distocias, retenção de placenta, atraso no processo de involução uterina, intervenção cirúrgica, hipocalcemia, cetose, deslocamento de abomaso e o nível de higiene do local destinado ao parto (SHELDON e DOBSON, 2004). Há também outros fatores relacionados ao manejo da propriedade e inclusive fatores individuais do animal, que também podem estar associados ao surgimento das infecções uterinas (LEWIS, 1997).

As infecções uterinas provocadas por bactérias interrompem não só a função do útero como também dos ovários e do centro de controle hormonal do hipotálamo e da hipófise, provocando um atraso na ovulação pós-parto (OPSMER et al., 2000). As respostas inflamatória e imune causadas pela infecção uterina comprometem o bem-estar animal, causando infertilidade enquanto a infecção estiver presente e possivelmente uma subfertilidade mesmo após a resolução bem sucedida do quadro (SHELDON e DOBSON, 2004).

Doenças que afetam a saúde geral e principalmente a uterina no início do pós-parto terão grande impacto na fertilidade do animal, fato observado pela redução da taxa de prenhez por inseminações subsequentes (CERRI, 2011).

A endometrite clínica é uma inflamação superficial que se estabelece apenas no endométrio (BONDURANT, 1999). A doença é definida pela presença de secreção vaginal purulenta sem alterar os sinais sistêmicos do animal, e está

frequentemente associada ao atraso na involução uterina e à nova concepção (SHELDON e NOAKES, 1998). Já a endometrite subclínica se caracteriza pela ausência de material purulento na vagina, diagnosticada por meio de citologia endometrial (SHELDON et al., 2006).

A metrite pode ser definida como uma reação inflamatória severa que atinge todas as camadas do útero, geralmente associada a uma complicações no momento do parto, a um traumatismo ou a uma contaminação bacteriana grave, além de acometer vacas com estado geral de saúde comprometido (BONDURANT, 1999; JUBB e KENNEDY, 1970). Já a metrite puerperal aguda acomete as vacas durante os 10 primeiros DPP e se define por febre acima de 39,5°C, descarga vaginal fétida e sanguinolenta (SHELDON et al., 2006), podendo levar à morte dos animais por complicações como perfuração uterina, peritonite e septicemia (SANTOS, 2010).

A piometra é definida por uma inflamação do endométrio com acúmulo significante de muco purulento no lúmen uterino com a cérvix fechada, associado à persistência de corpo lúteo e suspensão da ciclicidade (SHELDON et al., 2006; SANTOS, 2010). Esta condição patológica é comum em vacas que ovularam pelo menos uma vez após o parto, devido ao efeito supressor da P₄ sobre a imunidade uterina (BONDURANT, 1999).

O prejuízo econômico causado pelas doenças uterinas é derivado da subfertilidade, do aumento da taxa de descarte devido às falhas na concepção, da redução da produção de leite e do aumento dos custos com medicamentos utilizados no tratamento das infecções (SHELDON et al., 2009).

O desafio frente às doenças uterinas é estabelecer programas eficientes de prevenção, diagnóstico e tratamento dessas enfermidades para que tanto a incidência e prevalência sejam reduzidas, mas também para que o impacto sobre o desempenho reprodutivo e produtivo do rebanho seja mínimo (SANTOS, 2010).

2.2.4 Estresse térmico

O estresse térmico é definido como qualquer combinação de condições ambientais que tornem a temperatura efetiva do ambiente mais elevada que a faixa de temperatura da zona de conforto térmico do animal (THATCHER, 2010).

Vacas leiteiras sofrem estresse térmico quando a produção de calor metabólico somada à temperatura, umidade e radiação solar do ambiente excede a capacidade do animal de dissipar o calor (HOLLOWAY, 2011).

Quedas no desempenho animal provocadas por questões sazonais, como o estresse pelo calor que geralmente ocorre no verão, estão associadas à menor competência termorregulatória das vacas em lactação, em parte devido à intensa seleção genética para alta produção de leite, sendo as condições ambientais estressantes ainda mais prejudiciais para as vacas de alta produção (AL-KATANANI et al., 1999; THATCHER et al., 2006).

A tolerância das vacas leiteiras às altas temperaturas é diminuída durante a lactação devido ao aumento da produção de calor interno pelo metabolismo associado à alta ingestão de alimentos e síntese de leite. O desempenho reprodutivo das vacas em lactação sob altas temperaturas fica comprometido por causa do efeito deletério do estresse térmico na fertilização e sobrevivência embrionária (HANSEN e ARECHIGA, 1999; WOLFENSON et al., 2000).

A mortalidade embrionária aumenta depois da exposição da mãe a temperaturas elevadas, especialmente nas áreas tropicais. A fertilidade reduzida de vacas leiteiras estressadas pelo calor pode contribuir para a redução estacional na eficiência da IA durante o verão (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

Segundo Al-Katanani et al. (1999) o estresse térmico atua prejudicialmente em vários períodos fisiológicos até o estabelecimento da prenhez, como no desenvolvimento folicular antes da ovulação, no dia da IA e no desenvolvimento inicial do embrião.

As altas temperaturas no verão, acima da zona termoneutra dos bovinos, reduz drasticamente a taxa de concepção e presumivelmente aumenta as perdas embrionárias (CAVESTANY, et al., 1985).

O mecanismo pelo qual o estresse térmico provoca diminuição da fertilidade provavelmente é multifatorial e pode variar dependendo da intensidade do estresse (HANSEN e ARECHIGA, 1999).

O estresse térmico é capaz de aumentar a duração dos intervalos parto-primeiro serviço e parto-concepção e, consequentemente diminui as taxas de concepção. Além disso, o desempenho reprodutivo é menor para as vacas cujas

lactações se iniciaram durante os meses mais quentes do ano (BAGNATO e OLTENACU, 1994).

Hansen (1997) relatou que a baixa fertilidade, geralmente associada aos meses mais quentes do ano, permanece no outono mesmo que as vacas não estejam mais expostas ao estresse térmico. Segundo Ahmadi e Ghaisari (2007), os efeitos remanescentes do estresse pelo calor sobre a fertilidade de vacas leiteiras são expressos no outono mesmo com a queda da temperatura ambiente e a não exposição das vacas ao calor intenso, mas tendem a desaparecer no inverno.

As alterações induzidas pelo estresse térmico sobre o pool de folículos antrais e seus ovócitos foram consideradas como importante causa para a reduzida fertilidade da vaca de leite durante o verão e o outono subsequente, embora ainda não se saiba em qual estágio do desenvolvimento eles são suscetíveis ao estresse térmico (ROTH, 2008).

Um estudo realizado por Roth et al. (2001) desde o final do verão até o início do inverno, indicou que é necessário um período de dois ou três ciclos estrais para que haja a recuperação do dano provocado pelo calor e o aparecimento de novos ovócitos competentes.

O estresse térmico reduz a duração e a intensidade do comportamento de estro (ABILAY et al., 1975). Nebel et al. (1997) concluíram que o número médio de montas realizadas por vacas leiteiras Holandesas em estro, nos meses de inverno, caiu de 8,6 para 4,5 montas nos meses de verão.

Segundo De Rensis e Scaramuzzi (2003) no verão o folículo dominante se desenvolve em um ambiente com baixa concentração de LH e isso resulta em uma secreção de E₂ reduzida pelo folículo, levando a uma pobre expressão de estro e, portanto, a uma baixa fertilidade. Já a concentração de FSH é aumentada pelo estresse térmico e isso pode ser devido à diminuição da produção de inibina pelos folículos subordinados. Além disso, o estresse térmico pode afetar a secreção endometrial de PGF_{2α} (PUTNEY et al., 1989), levando à luteólise e à perda embrionária.

O estresse térmico desencadeia alterações nas concentrações plasmáticas de hormônios e metabólitos, como é o caso da elevação na produção e secreção dos glicocorticóides, em especial o cortisol. Níveis elevados de cortisol, em

decorrência do estresse, são capazes de inibir a secreção de GnRH pelo hipotálamo e de LH pela hipófise, hormônios essenciais na fase folicular e pré-ovulatória (MACFARLANE et al., 2000; BRENN et al., 2005).

Para contornar os efeitos do estresse térmico sobre a expressão e a detecção do comportamento de estro, principalmente nos períodos críticos de calor, a implantação de programas de IATF surge como uma alternativa viável, já que esta ferramenta apresenta como sua principal vantagem a eliminação da necessidade de observação de estro das fêmeas (THATCHER, 2010).

O uso de protocolos de IATF elimina os problemas de detecção do estro causados pelo estresse térmico, mas não é suficiente para restabelecer as taxas de prenhez a um nível semelhante às encontradas durante as baixas temperaturas, devido às severas consequências do estresse pelo calor sobre o desenvolvimento embrionário (HANSEN e ARECHIGA, 1999).

A temperatura ambiente no dia seguinte à inseminação pode estar relacionada com a fertilidade (THATCHER, 1974). Ulberg e Burfening (1967) reportaram que a taxa de prenhez diminuiu de 61 para 45%, quando a temperatura retal, nas 12 horas após a inseminação, aumentou 1°C. De acordo com estudos realizados por Thatcher (2010), quando a temperatura do útero no dia seguinte à inseminação encontra-se 0,5°C acima de 38,3°C, a taxa de concepção cai cerca de 6,9%.

Chebel et al. (2004) concluíram que vacas expostas ao estresse térmico, sendo este caracterizado por pelo menos um dia de temperatura máxima acima dos 29°C antes da IA, tiveram taxa de concepção inferior à de vacas que não sofreram estresse. Os impactos do estresse térmico sobre a taxa de concepção podem estar associados aos efeitos negativos das altas temperaturas ambiente e corporal sobre o folículo e a competência do ovócito, e subsequente fertilização e desenvolvimento do embrião.

O resfriamento intensivo do ambiente para eliminar os efeitos do estresse térmico praticamente normaliza a fertilidade, embora não seja suficiente para retorná-la aos níveis encontrados durante o inverno (THATCHER, 2010).

Para aumentar a produção de vacas leiteiras em regiões de climas quentes, como alternativas é possível utilizar rebanhos geneticamente adaptados às

condições ambientais locais ou ainda alterar o ambiente de criação dos animais, reduzindo a magnitude dos efeitos do estresse térmico e permitindo que as vacas produzam de acordo com seu potencial genético. Outra opção seria evitar as coberturas durante os períodos mais quentes do ano. Esquemas estacionais de reprodução são práticas usuais em algumas regiões do mundo, apesar de acarretar em perdas econômicas devido à escassez de leite em alguns períodos do ano (HANSEN e ARECHIGA, 1999).

2.2.5 Detecção de estro

O estro se define por um período de receptividade sexual. A maioria das vacas tem um padrão de comportamento que se modifica gradualmente desde o início até o final do estro. O melhor indicativo de que a fêmea está no estro é a aceitação de monta por outras companheiras do rebanho ou pelo próprio touro (CAMARGO, 2006; GUARÍN MONTOYA, 2007).

Segundo Stevenson (2008), mais de 90% das vacas que manifestam a postura de imobilidade estão verdadeiramente em estro. Além disso, há uma grande variação no número de eventos de imobilidade por vaca (de um até 179 por estro).

Os sinais secundários que auxiliam na identificação de uma fêmea em estro, podem ser percebidos pelas mudanças de comportamento dos animais, que ficam mais agitados, mugindo, lambendo e cheirando outros animais do rebanho, realizando tentativas de montas em animais que podem ou não estar em estro, bem como pela presença de muco vaginal cristalino ou este já seco aderido à cauda e ao períneo, vulva edemaciada e avermelhada, e ainda, mesmo que imperceptível, pela diminuição na produção de leite e no apetite (CAMARGO, 2006).

A detecção de estro e o momento apropriado para a inseminação continuam sendo os principais problemas que limitam a eficiência reprodutiva em rebanhos leiteiros (LARSON e BALL, 1992). A falha em detectar uma vaca em estro pode refletir as falhas na ciclicidade ovariana, na manifestação ou na detecção efetiva do estro (MANN, 2011).

A detecção do estro em vacas em lactação confinadas é prejudicada pela limitação de espaço para a interação entre os animais e pela dificuldade na

movimentação causada pelo piso de concreto (STEVENSON, 2008). Além disso, a rotina de duas a três ordenhas diárias somada ao tempo despendido para alimentação dos animais, também contribuem para dificultar tanto a expressão de comportamento de estro pelos animais quanto à detecção visual do estro pelos funcionários encarregados, o que consequentemente prejudicam o desempenho reprodutivo do rebanho.

A baixa eficiência da técnica da IA relatada na literatura ocorre principalmente por fatores humanos, onde a detecção incorreta do estro se destaca entre eles, seguida pela manipulação incorreta do sêmen, falhas de manejo e deficiências nutricionais dos animais inseminados (GUARÍN MONTOYA, 2007). Este autor também afirma que a observação de estro é um trabalho difícil que requer experiência e conhecimento específico.

Lopez et al. (2004) relataram que vacas Holandesas com produção de leite acima da média do rebanho estudado, em torno de 40 Kg de leite, apresentaram estro com menor duração quando comparadas com as vacas de menor produção de leite (6,2 vs. 10,9 horas), fato ocorrido devido a menor concentração de E₂ circulante, decorrente do aumento do fluxo sanguíneo para o fígado que acelera a metabolização hepática desse hormônio nas vacas de alta produção leiteira.

A baixa concentração sanguínea de E₂ nas vacas de alta produção de leite, além de diminuir a duração do estro, causa um aumento do tamanho folicular devido aos atrasos tanto na indução do estro pelo E₂ quanto na ovulação pelo pico de GnRH e LH (WILTBANK et al., 2006).

De acordo com Camargo (2006), quando a eficiência na identificação do estro é baixa o rebanho tem poucos animais gestantes, pois muitos deles não são inseminados. Ocorre também a inseminação de animais que não estão em estro, por falta de conhecimento ou observação incorreta. A falha na identificação de animais em estro aumenta o intervalo de partos médio do rebanho, diminui o número de vacas em lactação e gestantes, além de prejudicar a reposição de novilhas no rebanho.

Senger (1994) descreveu que um sistema ideal de detecção de estro deve ter as seguintes características: vigilância contínua da vaca, identificação automática da

vaca em estro e alta precisão para identificar os eventos fisiológicos e comportamentais apropriados que se correlacionam altamente com a ovulação.

As alternativas capazes de melhorar a taxa de detecção de estro incluem o uso de dispositivos de detecção de estro ou a utilização de tratamentos hormonais que promovem a sincronização do estro e da ovulação (YAMADA, 2005).

Existem vários métodos disponíveis no mercado que facilitam a detecção de estro, dentre eles os dispositivos eletrônicos, detectores de manta sensíveis à pressão acoplados a garupa do animal, os buçais marcadores, registros de vídeos e o uso de animais, como as fêmeas androgenizadas e os rufões (GUARÍN MONTOYA, 2007). Todos os dispositivos de detecção de estro devem ser usados cuidadosamente e interpretados por pessoas capacitadas, pois o sucesso dos programas de detecção depende da habilidade e dedicação das pessoas envolvidas (STEVENSON, 2008).

A sincronização do estro e da ovulação em um grupo de fêmeas permite que se estime o momento do início do estro com razoável precisão, o que possibilita a IATF sem a necessidade de observação de estro. A sincronização do ciclo estral depende da inibição da secreção de LH, ou do encurtamento do tempo de vida do CL e do subsequente início do estro e ovulação (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

O uso da IATF possui a distinta vantagem de não requerer a detecção de estro e vários métodos efetivos de sincronização por meio da utilização de protocolos de IATF foram desenvolvidos. O principal benefício destes tratamentos é o de induzir ciclicidade, e assim permitir o aumento do número de vacas gestantes simplesmente pelo aumento do número de vacas inseminadas (DE RENZIS e SCARAMUZZI, 2003).

Além disso, tratamentos hormonais que induzem efetivamente o estro e a ovulação em vacas leiteiras podem ter um efeito benéfico no desempenho reprodutivo do rebanho (ALNIMER et al. 2002).

2.3 Resposta ao protocolo de IATF

O conhecimento mais preciso da dinâmica folicular associado à endocrinologia da reprodução permite o uso de biotécnicas, como a IATF, com bons resultados que possibilitam sua aplicação em larga escala (NEVES et al., 2010).

As taxas de sucesso com a IATF, em termos de concepção, encontram-se abaixo do ponto ótimo teórico para bovinos de leite. Contudo, as taxas têm melhorado à medida que os protocolos se tornam mais sofisticados e a conformidade aumenta (LUCY, 2011).

Apesar da satisfatória manipulação folicular e da sincronização precisa do momento da ovulação, existem vários fatores que podem afetar a eficiência dos programas de IATF. O conhecimento dos efeitos destes fatores sobre os programas comerciais de IATF no Brasil tem fundamental importância para aumentar a eficiência produtiva e reprodutiva do rebanho nacional (NASSER et al., 2011).

Ainda segundo Nasser et al. (2011), ao analisar dados de mais de 32 mil inseminações em tempo fixo realizadas em vacas de corte, verificaram que a taxa de prenhez pode ser influenciada pela fazenda, pelo ECC que as vacas apresentavam no início do protocolo de sincronização, pelo touro utilizado e pelo desempenho pessoal durante os procedimentos de inseminação.

Cutaia e Bó (2004), ao avaliarem os fatores que afetam a porcentagem de prenhez em vacas de corte submetidas à IATF, concluíram que a condição corporal das fêmeas, a categoria animal (vacas paridas, solteiras e novilhas), a ciclicidade ovariana e o grupo genético do rebanho (*Bos indicus* vs. *Bos taurus*) são fatores que estão correlacionados com o sucesso da IATF e que estes devem ser criteriosamente avaliados antes da implantação desta ferramenta dentro de um programa reprodutivo.

Sá Filho et al. (2009), utilizando também bovinos de corte, relataram que a taxa de prenhez pode ser influenciada por diversas variáveis, tais como a raça (*Bos indicus*, *Bos taurus* e animais mestiços), a categoria animal, o ECC mensurado no dia da inseminação, o sêmen e o inseminador.

3. OBJETIVO

Objetivou-se com o presente estudo avaliar a influência das variáveis estação do ano na qual ocorreu o último parto (Primavera-verão vs. Outono-inverno), número de dias pós-parto (DPP), presença de corpo lúteo (CL) no início do protocolo e estação do ano no momento da inseminação (Primavera-verão vs. Outono-inverno) sobre as taxas de concepção e detecção do estro de retorno em vacas Holandesas submetidas à IATF.

4. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em uma fazenda comercial de exploração leiteira localizada no município de Uberlândia, Minas Gerais, no período de maio de 2010 a maio de 2011.

O rebanho da propriedade era constituído, em média, por 500 vacas em lactação, ordenhadas mecanicamente três vezes ao dia, com produção média diária de 20,5 litros de leite por vaca. Os animais eram mantidos em confinamento durante todo o ano, com dieta total balanceada de acordo com a produção de leite, composta por silagem de milho, concentrado, núcleo mineral e água *ad libitum*.

As vacas eram suplementadas com somatotropina bovina (bST - Lactotropin®, Elanco) a partir dos 60 dias pós-parto durante toda a lactação, até 30 dias da data prevista para secagem, com intervalo de 14 dias entre as aplicações.

O manejo reprodutivo da fazenda era realizado a cada 21 dias, no qual eram avaliadas a involução uterina e as estruturas presentes nos ovários, por meio de ultrassonografia com transdutor linear de 7,5 mega-hertz (MHz) (DP3300®, Mindray). No presente trabalho, foram avaliadas vacas multíparas da raça Holandesa acima dos 45 DPP, totalizando 406 inseminações em tempo fixo.

O ECC, classificado dentro de uma escala que varia de 1 - muito magra a 5 - obesa proposta por Ferguson et al. (1994), foi analisado como um pré-requisito para a seleção dos animais que seriam submetidos ao tratamento, estando aptas à inseminação as vacas cujo ECC fosse igual ou superior a 2,5.

As vacas foram submetidas ao seguinte protocolo de IATF: Dia 0 (D0) - inserção do dispositivo intravaginal de liberação lenta de progesterona contendo 1,9 gramas deste hormônio (CIDR®, Pfizer) e aplicação via intramuscular de 0,02 mg (1,0 mL) de Gonadorelina (GnRH, Fertagyl®, MSD); Dia 7 (D7) - aplicação via intramuscular de 12,5 mg (2,5 mL) de Dinoprost Trometamina (PGF2α, Lutalyse®, Pfizer) e retirada do dispositivo intravaginal; Dia 8 (D8) - aplicação via intramuscular de 1,0 mg (0,5 mL) de Cipionato de Estradiol (ECP.®, Pfizer); Dia 10 (D10) - IATF (Figura 1). Todas as aplicações, bem como a inseminação, foram realizadas no período da manhã.

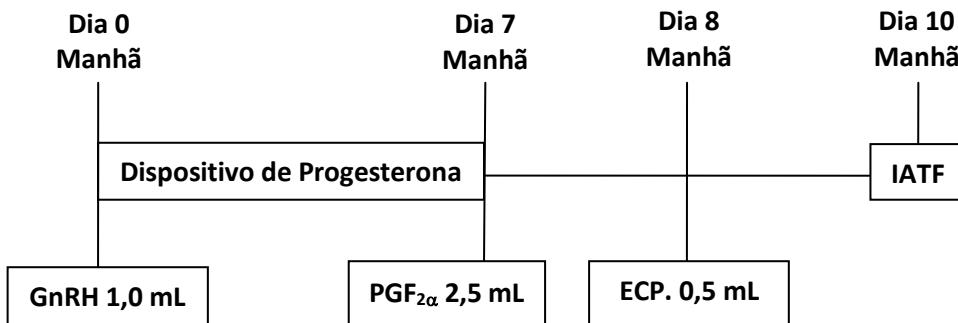


Figura 1: Representação esquemática do protocolo utilizado (dispositivo intravaginal contendo 1,9g de progesterona, CIDR®, Pfizer; Gonadorelina, Fertagyl®, MSD; Dinoprost-Trometamina, Lutalyse®, Pfizer; Cipionato de Estradiol, ECP.®, Pfizer; Inseminação artificial em tempo fixo - IATF).

Os dispositivos intravaginais de progesterona foram utilizados por três vezes. Após cada remoção, os implantes eram higienizados em água corrente, secos à sombra e armazenados em embalagens plásticas protegidos da luz até a próxima utilização. Para a inseminação, foram utilizadas doses de sêmen de touros provados da raça Holandesa, adquiridos em centrais de inseminações idôneas, conforme o acasalamento pré-estabelecido para cada vaca.

O diagnóstico de gestação foi realizado, em média, 32 dias após a data da IA por meio de ultrassonografia. As vacas que retornaram ao estro naturalmente, isto é, que apresentaram sinais de estro no intervalo entre a inseminação e o diagnóstico de gestação, foram reinseminadas convencionalmente, 12 horas após a detecção do estro. As vacas que foram diagnosticadas como vazias e que não retornaram ao estro naturalmente foram ressincronizadas, ou seja, submetidas novamente ao mesmo tratamento hormonal.

A observação do comportamento de estro era realizada por funcionários treinados, duas vezes ao dia, de manhã e à tarde, durante cerca de 30 minutos. Já os procedimentos de inseminação, tanto em tempo fixo quanto convencional, bem como a aplicação dos hormônios durante o tratamento eram feitos por dois técnicos treinados e experientes.

Não foi estabelecido um limite no número de ressincronizações e inseminações que cada vaca poderia ser submetida. Assim, as vacas vazias eram

tratadas com o mesmo protocolo até se tornarem gestantes ou até completarem 300 dias em lactação.

As taxas de concepção e de detecção do estro de retorno foram avaliadas por meio de regressão logística, sendo incluídos no modelo os efeitos de estação do parto (Primavera-verão vs. Outono-inverno), dias pós-parto (DPP), presença de corpo lúteo (CL) no início do protocolo e estação do ano no momento da IATF (Primavera-verão vs. Outono-inverno), utilizando-se o programa MINITAB (Minitab versão 15.1, Minitab Inc., Pensilvânia, EUA). Foi utilizada uma significância de 95% ($P < 0,05$) para considerar a ocorrência de diferença estatística.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Taxa de concepção

Das 406 inseminações em tempo fixo realizadas, 101 delas resultaram em prenhez, resultando em uma taxa de concepção de 24,87% (101/406). Menarin et al. (2005) realizaram um experimento no estado do Paraná, no qual submeteram vacas Holandesas de alta produção ao mesmo protocolo de IATF do presente estudo, e encontraram 44% de taxa de concepção, valor superior ao resultante deste trabalho.

A estação do ano (Primavera-verão vs. Outono-inverno) na qual ocorreu o último parto não influenciou a taxa de concepção de vacas Holandesas (Tabela 1).

Tabela 1. Efeito da estação do parto sobre a taxa de concepção de vacas Holandesas submetidas à IATF, Uberlândia-MG, 2011.

Estação do parto	N	Taxa de concepção (%)
Primavera-verão	142	24,65
Outono-inverno	264	25,00
P valor		0,930

Os resultados encontrados no presente estudo diferiram dos valores de Santos et al. (2009), em um experimento realizado na Califórnia, que reportaram que a estação do parto influenciou o risco de prenhez, já que as vacas que pariram durante os meses de verão e outono (34,7% e 35,2%) tiveram menores chances de se tornarem gestantes do que vacas que pariram durante o inverno e a primavera (38,7% e 40,9%).

A ausência de efeito da estação do ano na qual ocorreu o último parto sobre a taxa de concepção sugere que as vacas do rebanho estudado não apresentam um período de melhor recuperação do trato reprodutivo no pós-parto, o que se reflete na baixa taxa de concepção constante ao longo do ano.

Não foi detectado efeito da variável dias pós-parto, referente ao momento do início do protocolo de IATF, sobre a taxa de concepção de vacas Holandesas (Tabela 2).

Tabela 2. Efeito de dias pós-parto no início do protocolo de IATF sobre a taxa de concepção de vacas Holandesas, Uberlândia-MG, 2011.

Dias pós-parto	N	Taxa de concepção (%)
45 - 100 dias	89	25,84
101 - 200 dias	187	26,20
> 201 dias	130	22,31
P valor		0,508

O esperado seria que as vacas entre 101 e 200 DPP tivessem a maior taxa de concepção em relação às outras duas categorias nas quais a variável DPP foi subdividida, pois nesta fase estes animais já se recuperaram do BEN, já passaram pelo pico de produção de leite e, a partir deste ponto, há uma tendência de queda na produção.

A concepção ao longo de período analisado esteve abaixo do esperado independente do número de DPP. Provavelmente as vacas deste rebanho apresentavam algum problema de saúde geral ou específico da reprodução que não foram detectados no experimento, mas que contribuíram para a baixa concepção encontrada em todas as categorias de DPP.

Em um experimento realizado no Japão com 1457 vacas submetidas à IATF, Yamada (2005) avaliou a taxa de concepção de acordo com os DPP, entre 40 e 221 dias ou mais, e também não encontrou efeito de DPP sobre a taxa de concepção. O menor valor encontrado para a taxa de concepção foi de 47,8% (76/159) para as vacas entre 40-60 DPP, e o maior valor foi de 54,7% (123/225) para as vacas entre 91-120 DPP. O autor presumiu que um número substancial de vacas no período inicial da lactação não havia recuperado a ciclicidade ovariana.

Sá Filho et al. (2009) trabalhando com vacas de corte submetidas à IATF de acordo com os DPP (30 a 60; 61 a 90; 91 a 150) não detectaram efeito do número de DPP sobre a taxa de prenhez. Estes autores concluíram que esta não é a

variável mais indicada para predizer a fertilidade referente ao protocolo de IATF utilizado no experimento em questão.

Os resultados encontrados no presente estudo diferiram de Barbosa et al. (2011), em um experimento também realizado no município de Uberlândia utilizando fêmeas mestiças *Bos taurus x Bos indicus*, que encontraram efeito de DPP sobre a concepção, já que as vacas entre 34 e 90 DPP apresentaram 43,90% e as vacas acima dos 90 dias obtiveram 23,94% de taxa de concepção. Da mesma forma, Tenhagen et al. (2003) concluíram que o estágio da lactação influencia a taxa de concepção ao primeiro serviço, já que esta taxa foi menor para as vacas sincronizadas aos 56 DPP quando comparadas com vacas aos 98 DPP.

Não houve efeito da presença de CL no início da IATF sobre a taxa de concepção de vacas Holandesas (Tabela 3). Mesmo sem detectar a presença de CL em um dos ovários no dia da avaliação ginecológica, possivelmente algumas vacas já tivessem retomado a ciclicidade ovariana no pós-parto, mas para que isto se confirmasse seria necessário fazer mais uma avaliação no intervalo de 10 dias.

Tabela 3. Efeito da presença de corpo lúteo no início do protocolo de IATF sobre a taxa de concepção de vacas Holandesas, Uberlândia-MG, 2011.

Presença de corpo lúteo	N*	Taxa de concepção (%)
Sim	293	26,28
Não	100	21,00
P valor		0,293

*N = 393, pois 13 vacas não tiveram esta característica avaliada.

Barbosa et al. (2011) avaliaram a interferência da presença do CL sobre a taxa de concepção e também verificaram que a presença ou a ausência do CL, detectado no início do protocolo, não afetou os resultados de taxa de concepção das vacas (32,58% vs. 39,39%). Yamada (2005), ao testar a influência da condição ovariana no início do protocolo Ovsynch sobre a taxa de concepção, obteve como resultados 53,8% (285/530) para as vacas com presença de CL e 52,6% (420/798) para as vacas com ausência de CL, concluindo assim que não houve efeito desta variável sobre as taxas de concepção. Assim, os resultados encontrados nesse trabalho estão de acordo com os reportados por estes autores.

A presença ou ausência de CL no momento do início do protocolo de IATF não resultou em diferença na taxa de concepção. Confirmando os resultados obtidos por Martel (2008) e Souza et al. (2009), que não encontraram diferença na taxa de prenhez por inseminação (P/IA) das vacas com presença ou ausência de CL, no momento da inserção do dispositivo de P₄ durante o protocolo de IATF.

Stevenson e Tiffany (2004) submeteram 414 vacas leiteiras aos protocolos Heatsynch e Ovsynch, e também correlacionaram a condição ovariana, avaliada por ultrassonografia e dosagens sanguíneas de P₄, com a taxa de concepção. As vacas em anestro apresentaram 15,6% e 16,2% de taxa de concepção, enquanto que as vacas cíclicas obtiveram 34,8% e 33,8% para os protocolos Heatsynch e Ovsynch, respectivamente. Devido ao número limitado de observações, 20 vacas em anestro vs. 344 cíclicas, eventuais diferenças nas taxas de concepção não foram detectadas estatisticamente.

Por outro lado, Santos et al. (2009) encontraram efeito da ciclicidade ovariana aos 65 dias pós-parto sobre a taxa de concepção de vacas Holandesas. De acordo com os resultados destes autores, as vacas em anestro apresentaram 29,0% (419/1445) enquanto que as vacas cíclicas tiveram 41,1% de taxa de concepção (1925/4679).

Já Galvão et al. (2004), ao comparar o mesmo protocolo de IATF deste experimento, encontraram uma tendência das vacas cíclicas apresentarem uma melhor taxa de prenhez aos 27 dias pós-IA do que as vacas em anestro (40,3 vs. 29,2%). As vacas anovulatórias também apresentaram maiores taxas de perda embrionária tardia do que as vacas cíclicas.

Não foi encontrado efeito da estação do ano (Primavera-verão vs. Outono-inverno) no momento da IATF sobre a taxa de concepção de vacas Holandesas (Tabela 4).

Tabela 4. Efeito da estação do ano no momento da IATF sobre a taxa de concepção de vacas Holandesas, Uberlândia-MG, 2011.

Estação do ano	N	Taxa de concepção (%)
Primavera-verão	265	23,02
Outono-inverno	141	28,37
P valor		0,236

Os valores obtidos nesse trabalho contrariam os de Alnimer et al. (2009) que, em um experimento realizado na Jordânia, submeteram 785 vacas holandesas primíparas e multíparas ao protocolo Ovsynch e algumas variações deste e, independentemente do tratamento, concluíram que houve efeito da estação do ano sobre a taxa de prenhez, já que a taxa obtida durante o inverno foi superior à do verão (43% vs. 31,5%).

Segundo Cavestany et al. (1985), em um trabalho conduzido com vacas Holandesas na Flórida, existem diferenças nas taxas de concepção ao primeiro serviço para a IA convencional entre as estações do ano. Os valores encontrados na Primavera-verão variaram entre 7% e 13%, sendo que estes diferiram dos valores referentes ao Outono-inverno, período no qual a taxa de concepção variou de 17% a 33%. Estes autores afirmaram que, à medida que a temperatura ambiente aumenta, as vacas ficam expostas ao sol quente por longos períodos e demonstram sinais de estresse pelo calor, além de perderem condição corporal e ficarem visivelmente mais magras durante o verão.

Ainda de acordo com Cavestany et al. (1985), foi constatado que quando a máxima temperatura ambiente aumentou de 29,7°C para 33,9°C, a taxa de concepção caiu de 25 para 7%.

Ahmadi e Ghaisari (2007), em um experimento realizado no Irã com 318 vacas leiteiras diagnosticadas com presença de CL e acima dos 70 DPP, utilizaram três diferentes protocolos de IATF para medir a taxa de concepção de acordo com as estações do ano. O presente estudo discorda destes autores, já que eles constataram uma diferença significativa entre taxa de concepção de 27,71% no verão e os valores encontrados no outono, inverno e primavera, 60,61%, 68,5% e 50,79%, respectivamente.

Em um estudo realizado por Thatcher (1974) na Flórida, o autor constatou que quando a temperatura ambiente aumentou de 21 para 35°C, a taxa de concepção caiu de 40 para 31%. A média das máximas temperaturas registradas de maio a setembro atingiu valores entre 30,7°C e 32,7°C. Estas máximas temperaturas mensais exerceriam um estresse térmico associado à redução da fertilidade.

Um experimento desenvolvido na Itália mediu os efeitos da estação do ano sobre a taxa de prenhez de vacas Holandesas, submetidas a três diferentes técnicas

de sincronização do estro, considerando até três inseminações por vaca, e resultou em 81% (34/42) de taxa de prenhez durante o inverno contra 56,3% (27/48) no verão, que expressa uma diferença significativa (Alnimer et al., 2002). Estes autores concluíram que a queda na fertilidade durante o verão ocorre devido aos efeitos indiretos, como o aumento do BEN, e aos diretos, como as alterações hormonais e embrionárias, proporcionados pelo estresse térmico.

O fato de não ter sido encontrado neste estudo um efeito significativo da estação do ano sobre a taxa de concepção pode ser explicado pelas características do ambiente onde o experimento foi realizado. A região do Triângulo Mineiro, onde está localizado o município de Uberlândia, é definida como uma região de clima tropical, com predominância de temperaturas elevadas, em decorrência da intensa radiação solar (AZEVEDO et al., 2005). Esta possui primaveras e verões quentes e úmidos, por ser o período de maior concentração das chuvas, enquanto que no outono e no inverno as altas temperaturas permanecem, com queda acentuada na umidade relativa do ar devido à escassez de chuvas.

Um experimento realizado em Uberlândia, Minas Gerais, avaliou as temperaturas de 2007 a 2010, mensuradas na Estação Meteorológica do Instituto de Geografia da Universidade Federal de Uberlândia, e confirmou a semelhança de entre as temperaturas encontradas durante o verão e o inverno nesta região. No inverno, a temperatura média constatada foi de 23,55°C, enquanto que no verão a temperatura média foi de 25,00°C (AYRES, 2012).

A fazenda onde o experimento foi realizado não dispunha de estratégias de manejo eficientes para propiciar um conforto térmico adequado aos animais, uma vez que não havia um sistema de ventilação dentro da sala de ordenha, não possuía sombrites e havia poucas árvores nas áreas dos piquetes, o que proporcionava um espaço sombreado insuficiente para a quantidade de animais existentes na propriedade.

Devido à semelhança na temperatura dos meses de Primavera-verão e Outono-inverno, associada à falta de estrutura da fazenda para amenizar os efeitos do estresse térmico, não foi possível verificar no presente estudo um aumento na taxa de concepção nos meses de Outono-inverno, como na maioria dos trabalhos revisados.

Os estudos discutidos acima que, da mesma forma, avaliaram os efeitos do ambiente sobre a taxa de concepção de vacas leiteiras, em sua maioria foram realizados em regiões de clima subtropical, lugares onde as quatro estações do ano são bem definidas e que apresentam verões quentes e invernos com temperaturas amenas, situação esta não encontrada em grande parte do território brasileiro, especialmente na região do Triângulo Mineiro.

Entretanto, alguns experimentos realizados no Brasil também detectaram a influência das estações do ano sobre a taxa de concepção de vacas leiteiras. Barbosa et al. (2011) encontraram efeito da estação do ano sobre a concepção, com 42,55% de taxa de concepção durante o Outono-inverno e 25,00% na Primavera-verão. Pires et al. (2002) avaliaram a taxa de gestação de vacas Holandesas confinadas em “free stall” após a IA convencional e reportaram uma diferença significativa nos valores encontrados no verão e no inverno (45,7% vs. 71,2%, respectivamente).

Sendo assim, a semelhança das temperaturas mensuradas no verão e no inverno na região do Triângulo Mineiro, associada à ineficiência do manejo da fazenda em reduzir ou até mesmo evitar as condições ambientais que promovem o estresse térmico dos animais, provavelmente explicam os valores encontrados no presente estudo, que contrariam os dados da literatura, que mostram que as maiores taxas de concepção ocorrem durante os meses de Outono-inverno.

5.2 Taxa de detecção do estro de retorno

A taxa de detecção do estro de retorno obtida neste experimento foi de 43,27% (132/305). Vasconcelos e Garcia (2006) encontraram, dentro dos 28 dias após a inseminação, tanto convencional quanto em tempo fixo, 49,9% (1148/2302) de taxa de detecção de estro, um valor semelhante ao encontrado no presente estudo.

Não foi detectado efeito da estação do ano (Primavera-verão vs. Outono-inverno) na qual ocorreu o último parto sobre a taxa de detecção do estro de retorno após a IATF (Tabela 5), provavelmente pelo fato de que a estação do parto não foi capaz de promover um efeito prejudicial cumulativo sobre o retorno à ciclicidade das

vacas após o tratamento hormonal, mostrando também a eficácia da IATF na indução e manutenção da atividade reprodutiva no pós-parto.

Tabela 5. Efeito da estação do parto sobre a taxa de detecção do estro de retorno após a IATF de vacas Holandesas, Uberlândia-MG, 2011.

Estação do parto	N	Taxa de detecção do estro de retorno (%)
Primavera-verão	107	47,66
Outono-inverno	198	40,91
P valor		0,256

As variáveis dias pós-parto e presença de corpo lúteo também não influenciaram a taxa de detecção do estro de retorno após a IATF em vacas Holandesas (Tabelas 6 e 7). Não foram encontrados na literatura estudos que correlacionaram estas mesmas variáveis com a taxa de detecção do estro de retorno.

A provável explicação para a ausência de efeito das variáveis citadas acima sobre a taxa de detecção do estro de retorno seria de que a IATF foi eficiente em induzir ciclicidade nos animais em anestro e, nas vacas que já haviam retomado a atividade reprodutiva pós-parto, sendo estas diagnosticadas com presença de CL no início do protocolo, em manter a regularidade dos ciclos estrais. Porém a taxa de detecção foi razoável, o que pode estar associado às falhas durante a observação de estro realizada pelos funcionários da fazenda.

Tabela 6. Efeito de dias pós-parto sobre a taxa de detecção do estro de retorno após a IATF de vacas Holandesas, Uberlândia-MG, 2011.

Dias pós-parto	N	Taxa de detecção do estro de retorno (%)
45 - 100 dias	66	39,39
101 - 200 dias	138	41,30
> 201 dias	101	48,51
P valor		0,215

Tabela 7. Efeito da presença de corpo lúteo sobre a taxa de detecção do estro de retorno após a IATF de vacas Holandesas, Uberlândia-MG, 2011.

Presença de corpo lúteo	N	Taxa de detecção do estro de retorno (%)
Presente	216	40,28
Ausente	79	51,90
P valor		0,076

A estação do ano (Primavera-verão vs. Outono-inverno) no momento da IATF influenciou a taxa de detecção do estro de retorno após a inseminação (Tabela 8). Durante as estações de Outono-inverno, a taxa de detecção foi de 53,47%, enquanto que durante na Primavera-verão esta taxa foi de 38,24%, mostrando o efeito prejudicial do estresse térmico sobre a expressão e a detecção de estro.

Tabela 8. Efeito da estação do ano no momento da IATF sobre a taxa de detecção do estro de retorno de vacas Holandesas, Uberlândia-MG, 2011.

Estação do ano	N	Taxa de detecção do estro de retorno (%)
Primavera-verão	204	38,24
Outono-inverno	101	53,47
P valor		0,012

Mudanças no comportamento da fêmea em estro causadas pelo estresse térmico reduzem a probabilidade do estro ser detectado pelo pessoal encarregado do serviço na fazenda. É possível que a razão principal pela qual o estresse térmico reduza a expressão de estro, seja devido à letargia física que este provoca nos animais (HANSEN e ARECHIGA, 1999).

O estresse térmico também é capaz de reduzir a concentração plasmática de E_2 durante a fase do pró-estro, e assim dificulta tanto a expressão quanto a detecção do comportamento estral das fêmeas (GWAZDAUSKAS et al., 1981).

Portanto, a implantação de programas de IATF nos períodos críticos de estresse térmico funciona como uma estratégia de manejo para compensar tanto a baixa expressão quanto a redução nas taxas de detecção de estro vistas nos rebanhos leiteiros (THATCHER, 2010).

6. CONCLUSÃO

Vacas leiteiras Holandesas apresentam maior taxa de detecção do estro de retorno após a IATF na estação do Outono-inverno, porém a estação do parto, os dias pós-parto e a presença de corpo lúteo no início do protocolo não afetam a concepção de vacas Holandesas mantidas na região do Triângulo Mineiro, em fazenda onde estratégias para minimizar o estresse térmico não são empregadas.

REFERÊNCIAS

- ABILAY, T.A.; JOHNSON, H.D.; MADAN, M. Influence of environmental heat on peripheral plasma progesterone and cortisol during the bovine estrous cycle. **Journal of Dairy Science** v. 58, p. 1836–1840, 1975.
- AHMADI, M.R.; GH AISARI, H.R. Heat stress and different timed-AI methods influence on pregnancy rates in dairy cows. **Veterinarski Arhiv**, v.77, p. 327-335, 2007.
- AL-KATANANI, Y.M.; WEBB, D.W.; HANSEN, P.J. Factors affecting seasonal variation in 90-day nonreturn rate to first service in lactating Holstein cows in a hot climate. **Journal of Dairy Science**, v.82, p.2611-2616, 1999.
- ALNIMER, M.; DE ROSA, G.; GRASSO, F.; NAPOLITANO, F.; BORDI, A. Effect of climate on the response to three oestrous synchronisation techniques in lactating dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v. 71, p. 157-168, 2002.
- ALNIMER, M.A.; TABBA, M.J.; ABABNEH, M.M.; LUBBADEH, W.F. Applying variations of the Ovsynch protocol at the middle of the estrus cycle on reproductive performance of lactating dairy cows during summer and winter. **Theriogenology**, v. 72, p. 731-740, 2009.
- AYRES, G.F. **Efeito da estação do ano sobre a taxa de concepção e perda gestacional em vacas leiteiras mestiças.** Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) UFU, Uberlândia, 2012.
- AZEVEDO, M.; PIRES, M.F.A.; SATURNINO, H.M.; LANA, A.M.Q.; SAMPAIO, I.B.M.; MONTEIRO, J.B.N.; MORATO, L.E. Estimativa de níveis críticos superiores do índice de temperatura e umidade para vacas leiteiras ½, ¾ e 7/8 Holandês-Zebu em lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, p.2000-2008, 2005.

BAGNATO, A.; OLTENACU, P.A. Phenotypic evaluation of fertility traits and their association with milk production of italian Friesian cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 77, p. 874-882, 1994.

BARBOSA, C.F.; JACOMINI, J.O.; DINIZ, E.G.; SANTOS, R.M.; TAVARES, M. Inseminação artificial em tempo fixo e diagnóstico precoce de gestação em vacas leiteiras mestiças. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.79-84, 2011.

BARR, H.L. Influence of estrus detection on days open in dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v.58, p.246-247, 1975.

BEAM, S.W.; BUTLER, W.R. Energy balance and ovarian follicle development prior to the first ovulation postpartum in dairy cows receiving three levels of dietary fat. **Biology of Reproduction**, v.56, p.133-142, 1997.

BISINOTTO, R.S.; GRECO, L.F.; RIBEIRO, E.S.; MARTINEZ, N.; LIMA, F.S.; STAPLES, C.R.; THATCHER, W.W.; SANTOS, J.E.P. Influence of nutrition and metabolism on fertility of dairy cows. **Animal Reproduction**, v.9, p.260-272, 2012.

BONDURANT, R.H. Inflammation in the bovine female reproductive tract. **Journal of Animal Science**, v.77, p.101-110, 1999.

BREEN, K. M.; BILLINGS, H. J.; WAGENMAKER, E. R.; WESSINGER, E. W.; KARSCH, F. J. Endocrine basis for disruptive effect of cortisol on preovulatory events. **Endocrinology**, v.146, p.2107-2115, 2005.

BUTLER, W.R. Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows. **Livestock Production Science**, v.83, p.211-218, 2003.

BUTLER, W.R. Produção de leite, balanço energético negativo e fertilidade em vacas leiteiras. In: XII CURSO NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS, **Anais...**Uberlândia, 2008. p. 27-36.

CAMARGO, L.S.A. Identificação de cio em bovinos. **Instrução técnica para o produtor de leite.** Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2. Ed., 2006, 1p.

CAVESTANY, D.; EL-WISHY, A.B.; FOOTE, R.H. Effect of season and high environmental temperature on fertility of Holstein cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 68, p. 1471-1478, 1985.

CERRI, R.L.A. Opções e fatores que interferem no sucesso da pré-sincronização e resincronização. In: XV CURSO NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS, **Anais...**Uberlândia, 2011. p. 188-199.

CHEBEL, R.C.; SANTOS, J.E.P.; REYNOLDS, J.P.; CERRI, R.L.A.; JUCHEM, S.O.; OVERTON, M. Factors affecting conception rate after artificial insemination and pregnancy loss in lactating dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v. 84, p. 239-255, 2004.

CUTAIA, L.; BÓ, G.A. Avaliação de diferentes fatores que afetam a porcentagem de prenhez em vacas inseminadas em tempo fixo. In: 1º. SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCIÓN BOVINA, **Anais...**Barquisimeto, 2004.

DE RENSIS, F.; SCARAMUZZI, R.J. Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow - a review. **Theriogenology**, v. 60, p. 1139-1151, 2003.

DE VRIES, A.; RISCO, C.A. Trends and seasonality of reproduction performance in Florida and Georgia dairy herds from 1976 to 2002. **Journal of Animal Science**, v.88, p.3155-3165, 2005.

DISKIN, M.G.; MACKEY, D.R.; ROCHE, J.F.; SREENAN, J.M. Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 78, p. 345-370, 2003.

DOBSON, H.; SMITH, R.F.; ROYAL, M.D.; KNIGHT, C.H.; SHELDON, I.M. The high-producing dairy cow and its reproductive performance. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 42, p. 17-23, 2007.

FERGUSON, J.D.; GALLIGAN, D.T.; THOMSEN, N. Principal descriptors of body condition score in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v.77, p.2695-2703, 1994.

GALVÃO, K.N.; SANTOS, J.E.P.; JUCHEM, S.O.; CERRI, R.L.A.; COSCIONI, A.C.; VILLASEÑOR, M. Effect of addition of a progesterone intravaginal insert to a timed insemination protocol using estradiol cypionate on ovulation rate, pregnancy rate, and late embryonic loss in lactating dairy cows. **Journal of Animal Science**, v.82, p.3508-3517, 2004.

GARNSWORTHY, P.C.; SINCLAIR, K.D.; WEBB, R. Estratégias nutricionais visando aumentar a fertilidade de vacas leiteiras. In: XII CURSO NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS, **Anais...**Uberlândia, 2008. p. 88-102.

GRÖHN, Y.T.; RAJALA-SCHULTZ, P.J. Epidemiology of reproductive performance in dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v.60-61, p.605-614, 2000.

GUARÍN MONTOYA, J.F. **Eficiência do uso de medidor de atividade eletrônico na detecção de cio de vacas leiteiras de alta produção.** Dissertação (Mestrado em Agronomia) ESALQ, Piracicaba, 2007.

GWAZDAUSKAS, F.C.; THATCHER, W.W.; KIDDY, C.A.; PAAPE, M.J.; WILCOX, C.J. Hormonal patterns during heat stress following PGF_{2α}-Tham salt induced luteal regression in heifers. **Theriogenology**, v.16, p.271-285, 1981.

HAFEZ, B.; HAFEZ, E.S.E. **Reprodução animal**. 7. Ed. São Paulo: SP, Editora Manole, 2004. 261-278 p.

HANSEN, P.J.; ARECHIGA, C.F. Strategies for managing reproduction in the heat-stressed dairy cow. **Journal of Animal Science**, v.77, p.36-50, 1999.

HANSEN, P.J. Strategies for enhancing reproduction of lactating dairy cows exposed to heat stress. In: PROCEEDINGS OF THE 16TH ANNUAL CONVENTION AMERICAN EMBRYO TRANSFER ASSOCIATION, **Anais...**Madison, 1997. p.62–72.

HOLLOWAY, A.W. Estratégias de manejo para minimizar os efeitos negativos do estresse calórico na produção e reprodução em vacas leiteiras. In: XV CURSO NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS, **Anais...**Uberlândia, 2011. p. 82-89.

JUBB, K.V.F.; KENNEDY, P.C. **Pathology of Domestic Animals**. 2. Ed. Academic Press, San Diego, CA, 1970. 487-573p.

KADOKAWA, H.; BLACHE, D.; MARTIN, G.B. Plasma leptin concentrations correlate with luteinizing hormone secretion in early postpartum Holstein cows. **Journal of Animal Science**, v.89, p.3020-3027, 2006.

LARSON, L.L.; BALL, P.J.H. Regulation of estrous cycles in dairy cattle: a review. **Theriogenology**, v.38, p.255-267, 1992.

LEBLANC, S. Alta produção de leite é compatível com boa reprodução? In: XVI CURSO NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS, **Anais...**Uberlândia, 2012. p. 01-14.

LEROY, J.L.M.R.; VANHOLDER, T.; VAN KNEGSEL, A.T.M.; GARCIA-ISPIERTO, I.; BOLS. P.E.J. Priorização de nutrientes em vacas leiteiras no pós-parto imediato: discrepância entre metabolismo e fertilidade? IN: XIII CURSO NOVOS ENFOQUES

NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS, **Anais...**Uberlândia, 2009. p. 03-16.

LEWIS, G.S.; THATCHER, W.W.; BLISS, E.L.; DROST, M.; COLLIER, R.J. Effects of heat stress during pregnancy on postpartum reproductive changes in Holstein cows. **Journal of Animal Science**, v.58, p.174-186, 1984.

LEWIS, G.S. Uterine health and disorders. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.984-994, 1997.

LOPEZ, H.; SATTER, L.D.; WILTBANK, M.C. Relationship between level of milk production and estrous behavior of lactating dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v.81, p.209-223, 2004.

LUCY, M.C. Desafios na reprodução de vacas leiteiras de alta produção. In: XV CURSO NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS, **Anais...**Uberlândia, 2011. p. 91-102.

LUCY, M.C. Mechanisms linking nutrition and reproduction in postpartum cows. **Reproduction Supplement**, v.61, p.415-427, 2003.

LUCY, M.C. Reproductive loss in high producing dairy cattle: where will it end? **Journal of Dairy Science**, v.84, p.1277-1293, 2001.

MACFARLANE, M. S.; BREEN, K. M.; SAKURAI, H.; ADAMS, B. M.; ADAMS, T. E. Effect of duration of infusion of stress-like concentrations of cortisol on follicular development and the preovulatory surge of LH in sheep. **Animal Reproduction Science**, v.63, p.167-175, 2000.

MANN, G.E. Problemas reprodutivos em vacas leiteiras - ciclicidade e estro. In: XV CURSO NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS, **Anais...**Uberlândia, 2011. p.103-111.

MARTEL, C.A. **Fertility after timed AI insemination in response to a controlled internal drug release (CIDR) insert in lactating dairy cows.** Dissertação de mestrado, Kansas State University, Manhattan, 2008.

MENARIN, D.; LIMA, F.A.; LOBO, L.S.; VIECHNIESKI, S.L.; VASCONCELOS, J.L.M. Efeitos da utilização de protocolo de sincronização da ovulação em parâmetros reprodutivos de vacas leiteiras de alta produção. In: XVI CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, **Anais...** Goiânia, 2005.

NASSER, L.F.; PENTEADO, L.; REZENDE, C.R.; SÁ FILHO, M.F.; BARUSELLI, P.S. Fixed time artificial insemination and embryo transfer programs in Brazil. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.39 (Suppl 1), p.s15-s22, 2011.

NEBEL, R.L.; JOBST, S.M.; DRANSFIELD, M.B.G.; PANDOLFI, S.M., BAILEY, T.L. Use of a radio frequency data communication system, HeatWatch®, to describe behavioral estrus in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.80 (Supply 1), p.179 (Abstr.), 1997.

NEVES, J.P.; MIRANDA, K.L.; TORTORELLA, R.D. Progresso científico em reprodução na primeira década do século XXI. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 414-421, 2010.

OHKURA, S.; ICHIMARU, T.; ITOH, F.; MATSUYAMA, S.; OKAMURA, H. Further evidence for the role of glucose as a metabolic regulator of hypothalamic gonadotropin-releasing hormone pulse generator activity in goats. **Endocrinology**, v. 145, p.3239-3246, 2004.

OPSMER, G.; GROHN, Y.T.; HERTL, J.; CORYN, M.; DELUYKER, H.; DE KRUIF, A. Risk factors for postpartum ovarian dysfunction in high producing dairy cows in Belgium: a field study. **Theriogenology**, v. 53, p. 841-857, 2000.

PIRES, M.F.A.; FERREIRA, A.M.; SATURNINO, H.M.; TEODORO, R.L. Taxa de gestação em fêmeas da raça Holandesa confinadas em free stall, no verão e no inverno. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.54, p.57-63, 2002.

PUTNEY, D.J.; MULLINS, S.; THATCHER, W.W.; DROST, M.; GROSS, T.S. Embryonic development in superovulated dairy cattle exposed to elevated ambient temperature between the onset of estrus and insemination. **Animal Reproduction Science**, v.19, p.37-51, 1989.

RHODES, F.M.; McDougall, S.; BURKE, C.R.; VERKERK, G.A.; MACMILLAN, K.L. Treatment of cows with extended postpartum anestrous interval. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.1876-1894, 2003.

RIZOS, D.; CARTER, F.; BESENFELDER, U.; HAVLICEK, V.; LONERGAN, P. Contribution of the female reproductive tract to low fertility in postpartum lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p.1022-1029, 2010.

ROCHA, D.R.; SALLES, M.G.F.; MOURA, A.A.A.N.; ARAÚJO, A.A. Impacto do estresse térmico na reprodução da fêmea bovina. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.36, p.18-24, 2012.

ROTH, Z.; ARAV, A.; BOR, A.; ZERON, Y.; BRAW-TAL, R.; WOLFENSON, D. Improvement of quality of oocytes collected in the autumn by enhanced removal of impaired follicles from previously heat-stressed cows. **Reproduction**, v.122, p.737-744, 2001.

ROTH, Z. Heat stress, the follicle and its enclosed oocyte: mechanism and potential strategies to improve fertility in heat-stressed cows. **Reproduction in Domestic Animals**, v.43, p.238-244, 2008.

ROYAL, M.D.; MANN, G.E.; FLINT, A.P.F. Strategies of reversing the trend towards subfertility in dairy cattle. **The Veterinary Journal**, v. 160, p.53-60, 2000.

SÁ FILHO, O.G.; MENEGHETTI, M.; PERES, R.F.G.; LAMB, C.G.; VASCONCELOS, J.L.M. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows II: Strategies and factors affecting fertility. **Theriogenology**, v.72, p.210-218, 2009.

SANTOS, J.E.P. Doenças uterinas em vacas de leite: prevalência, fatores de risco e tratamento. In: XIV CURSO NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS, **Anais...**Uberlândia, 2010. p.393-410.

SANTOS, J.E.P.; RUTIGLIANO, H.M.; SÁ FILHO, M.F. Risk factors for resumption of postpartum estrous cycles and embryonic survival in lactating dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v.110, p.207-221, 2009.

SENGER, P.L. The estrus detection problem: new concepts, technologies, and possibilities. **Journal of Dairy Science**, v.77, p.2745-2753, 1994.

SHELDON, I.M.; CRONIN, J.; GOETZE, L.; DONOFRIO, G.; SCHUBERTH, H.J. Defining postpartum uterine disease and the mechanisms of infection and immunity in the female reproductive tract in cattle. **Biology of Reproduction**, v.81, p.1025-1032, 2009.

SHELDON, I.M.; DOBSON, H. Postpartum uterine health in cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 82-83, p.295-306, 2004.

SHELDON, I.M.; LEWIS, G.S.; LEBLANC, S.; GILBERT, R.O. Defining postpartum uterine disease in cattle. **Theriogenology**, v.65, p.1516-1530, 2006.

SHELDON, I.M.; NOAKES, D.E. Comparison of three treatments for bovine endometritis. **Veterinary Records**, v.142, p.575-579, 1998.

SHELDON, I.M.; WILLIAMS, E.J.; MILLER, A.N.A.; NASH, D.M.; HERATH, S. Uterine diseases in cattle after parturition. **The Veterinary Journal**, v.176, p.115-121, 2008.

SILVA, E.; STERRY, R.A.; FRICKE, P.M. Assessment of a practical method for identifying anovular dairy cows synchronized for first postpartum timed artificial insemination. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.3255-3262, 2007.

SOUZA, A.H.; VIECHNIESKI, S.; LIMA, F.A.; SILVA, F.F.; ARAÚJO, R.; BÓ, G.A.; WILTBANK, M.C.; BARUSELLI, P.S. Effects of equine chorionic gonadotropin and type of ovulatory stimulus in a timed-AI protocol on reproductive responses in dairy cows. **Theriogenology**, v.72, p.10-21, 2009.

STEVENSON, J.S.; CALL, E.P. Reproductive disorders in periparturient dairy cow. **Journal of Dairy Science**, v.71, p.2572-2583, 1988.

STEVENSON, J.S. Fatores a serem considerados visando elevar as taxas de concepção em vacas de leite. In: XII CURSO NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS, **Anais...**Uberlândia, 2008. p. 37-48.

STEVENSON, J.S.; TIFFANY, S.M. Resynchronizing estrus and ovulation after non-pregnant diagnosis and various ovarian states including cysts. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 3658-3664, 2004.

TENHAGEN, B. A.; VOGEL C.; DRILLICH M.; THIELE G.; HEUWIESER, W. Influence of stage of lactation and milk production on conception rates after timed artificial insemination following Ovsynch. **Theriogenology**, v. 60, p.1527-1537, 2003.

THATCHER, W.W.; BILBY, T.R.; BARTOLOME, J.A.; SILVESTRE, F.; STAPLES, C.R.; SANTOS J.E.P. Strategies for improving fertility in the modern dairy cow. **Theriogenology**, v. 65, p. 30-44, 2006.

THATCHER, W.W. Effects of season, climate, and temperature on reproduction and lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 57, p. 360-368, 1974.

THATCHER, W.W.; FLAMENBAUM, I.; BLOCK, J.; BILBY, T.R. Manejo de estresse calórico e estratégias para melhorar o desempenho lactacional e reprodutivo em vacas de leite. In: XIV CURSO NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS, **Anais...** Uberlândia, 2010. p. 2-25.

ULBERG, L. C.; BURFENING, P. J. Embryo death resulting from adverse environment on spermatozoa or ova. **Journal of Animal Science**, v.26, p. 571-577, 1967.

VASCONCELOS, J.L.M.; GARCIA, P.H.M. Detecção de falha de ovulação permite ressincronização rápida e aumento de vacas gestantes em 28 dias. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.34 (Supply 1), p.292 (Abstr.), 2006.

WASHBURN, S.P.; SILVIA, W.J.; BROWN, C.H.; MCDANIEL, D.T.; McALLISTER, A.J. Trends in reproductive performance in southeastern Holstein and Jersey DHI herds. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.244-251, 2002.

WATHES, D.C.; FENWICK, M.; CHENG, Z.; BOURNE, N.; LLEWELLYN, S.; MORRIS, D.G.; KENNY, D.; MURPHY, J.; FITZPATRICK, R. Influence of negative energy balance on cyclicity and fertility in the high producing dairy cow. **Theriogenology**, v.68, p.S232-S241, 2007.

WILTBANK, M.C.; GÜMEN, A.; SARTORI, R. Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. **Theriogenology**, v. 57, p. 21-52, 2002.

WILTBANK, M.; LOPEZ, H.; SARTORI, R.; SANGSRITAVONG, S.; GÜMEN, A. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. **Theriogenology**, v. 65, p. 17-29, 2006.

WOLFENSON, D.; ROTH, Z.; MEIDAN, R. Impaired reproduction in heat-stressed cattle: basic and applied aspects. **Animal Reproduction Science**, v.60, p.535-547, 2000.

YAMADA, K. Development of ovulation synchronization and fixed time artificial insemination in dairy cows. **Journal of Reproduction and Development**, v. 51, p. 177-186, 2005.

YAVAS, Y.; WALTON, J.S. Postpartum acyclicity in suckled beef cows: a review. **Theriogenology**, v. 54, p. 25-55, 2000.