



**Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia**

**Mestrado Integrado em Medicina Veterinária**

Dissertação

**Estudo comparativo dos protocolos de sincronização  
Double-Ovsynch e Presynch- Ovsynch ao primeiro serviço  
pós-parto em bovinos de leite na região de Estarreja**

**Fábio Caetano da Silva**

Orientador(es) | Rita Payan-Carreira

Nuno Luís Abreu de Pinho Tavares

Évora 2024

---

---

---

---



**Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia**

**Mestrado Integrado em Medicina Veterinária**

Dissertação

**Estudo comparativo dos protocolos de sincronização  
Double-Ovsynch e Presynch- Ovsynch ao primeiro serviço  
pós-parto em bovinos de leite na região de Estarreja**

**Fábio Caetano da Silva**

Orientador(es) | Rita Payan-Carreira  
Nuno Luís Abreu de Pinho Tavares

Évora 2024

---

---

---

---



A dissertação foi objeto de apreciação e discussão pública pelo seguinte júri nomeado pelo Diretor da Escola de Ciências e Tecnologia:

Presidente | Ricardo Jorge Romão (Universidade de Évora)

Vogais | Rita Payan-Carreira (Universidade de Évora) (Orientador)  
Rosa Maria Lino Neto Pereira (Instituto Nacional de Investigação Agrária)  
(Arguente)

## Resumo

Neste estudo propomo-nos comparar a taxa de concepção ao primeiro serviço pós-parto (TCF) em vacas leiteiras, obtida com dois protocolos de pré-sincronização diferentes com inseminação artificial a tempo fixo: *Double-Ovsynch* (DO) e *Presynch-Ovsynch* (PO).

Para este estudo procedeu-se à análise e tratamento de dados registados na plataforma *Bovinet – Ugenes Consulting*, relativos aos tratamentos de sincronização de cios entre 1 de junho de 2021 e 1 de junho de 2023, em duas explorações de produção de leite na região de Estarreja. Os dados da exploração 1 (*Double-Ovsynch*,) respeitam 156 inseminações, e os da exploração 2 (*Presynch-Ovsynch*) respeitam 361 inseminações.

A taxa de concepção ao primeiro serviço pós-parto da exploração 1 foi de 42,8% e da exploração 2 foi 36,3%. O tratamento não afetou a incidência de perda embrionária após o primeiro serviço (15,4% vs. 15,5%, DO vs. PO), nem pelo tipo de sémen usado (sémen sexado vs sémen convencional): taxa de concepção foi 45,3% e 33,8%, para a exploração 1 e 2, respetivamente, quando usado o do sémen sexado, e de 37,5% em ambas as explorações quando usado o sémen convencional. Este estudo mostrou ainda que o protocolo utilizado influenciou o sucesso do tratamento ( $p=0,020$ ).

**Palavras-chave:** Reprodução; Double-ovsynch; Presynch-ovsynch; fertilidade; bovinos

# Comparative study of the Double-Ovsynch and Presynch-Ovsynch synchronization protocols at the first postpartum service in dairy cattle in the Estarreja region

## Abstract

This study aims to compare the conception rate at the first postpartum service in dairy cows obtained with two different pre-synchronization protocols with fixed-time artificial insemination: Double-Ovsynch (DO) and Presynch-Ovsynch (PO).

In this study, we analyzed and processed data recorded on the Bovinet - Ugenes Consulting platform, concerning the outcomes of the estrus synchronization treatments between June 1, 2021 and June 1, 2023, implemented on two dairy farms in Estarreja region. The data for farm 1 (Double-Ovsynch) includes 156 inseminations, and 361 inseminations in farm 2 (Presynch-Ovsynch).

The conception rate at the first postpartum service on farm 1 was 42.8% and on farm 2 it was 36.3%. The treatment did not affect the incidence of embryonic loss after the first service (15.4% vs. 15.5%, OD vs. PO), nor did the type of semen used (sexed semen vs. conventional semen): conception rate of 45.3% vs. 33.8% for farms 1 and 2, respectively, when sexed semen was used, and 37.5% for both farms when conventional semen was used. This study also showed that the protocol affected treatment success ( $p=0,020$ ).

**Key-words:** Reproduction; Double-ovsynch; Presynch-ovsynch; fertility; cattle

# Índice

Resumo	I
Abstract	II
Índice de tabelas	VI
Índice de figuras	VII
Lista de abreviaturas	IX
I. Revisão Bibliográfica	- 1 -
1. Maneio reprodutivo	- 1 -
1.1. Intervalo entre partos	- 1 -
1.2. Período voluntário de espera	- 1 -
1.3. Intervalo parto – concepção	- 2 -
1.3.1. Intervalo parto – primeira inseminação artificial	- 2 -
1.3.2. Intervalo primeira inseminação artificial – inseminação artificial fecundante	- 3 -
1.4. Taxa de gestação	- 3 -
1.5. Taxa de concepção	- 3 -
2. O Comportamento da vaca em cio	- 4 -
2.1 Sinais de cio	- 4 -
2.2. Alterações nos órgãos reprodutivos durante o cio	- 6 -
2.2.1. Alterações da vagina durante o cio	- 6 -
2.2.2. Alterações do útero durante o cio	- 7 -
2.2.3. Alterações nos ovários durante o cio	- 7 -
2.2.3.1. Ondas de crescimento folicular	- 7 -
2.2.3.2. Tamanho dos ovários durante o ciclo éstrico	- 9 -
2.2.3.3. O corpo lúteo	- 10 -
2.3. Eficiência na detecção de cio	- 10 -
2.3.1. Fatores que afetam a detecção de cio	- 12 -
2.3.2. Concentração sérica de estradiol	- 12 -
2.3.3. Produção de leite	- 12 -
2.3.4. Tempo e hora de observação	- 12 -
2.3.5. Stress térmico	- 12 -
2.3.6. Número de lactações	- 13 -
2.3.7. Instalações	- 13 -
2.3.8. Densidade populacional	- 13 -
2.3.9. Problemas no sistema locomotor	- 13 -

2.4. Métodos auxiliares na deteção de cio	- 14 -
2.4.1. Podómetros	- 14 -
2.4.2. Marcadores de alerta de monta	- 15 -
2.4.3. Detetor de monta eletrónico ( <i>HeatWatch</i> )	- 15 -
2.4.4. Controlo de temperatura	- 16 -
2.4.5. Sistemas automatizados de monitorização de atividade	- 17 -
3. Anestro pós-parto e recuperação da ciclicidade	- 18 -
3.1. Controlo neuroendócrino do anestro	- 18 -
3.2. Principais fatores que afetam o retorno à ciclicidade	- 18 -
3.3. Infecções pós-parto	- 19 -
3.4. Monitorização do pós-parto imediato	- 20 -
4. Protocolos de controlo do ciclo éstrico	- 21 -
4.1. Hormonas utilizadas em protocolos de manipulação de ciclos de bovinos de leite	- 21 -
4.1.1. Agentes luteolíticos: prostaglandina F <sub>2α</sub> e análogos	- 21 -
4.1.2. Hormona libertadora de gonadotrofinas (GnRH)	- 23 -
4.1.3. Progestagénios	- 24 -
4.2. Protocolos para controlo farmacológico do cio e da ovulação	- 26 -
4.2.1. Protocolos para sincronização do cio com PGF <sub>2α</sub>	- 27 -
4.2.2. Protocolos associando PGF <sub>2α</sub> e análogos da GnRH: O protocolo Ovsynch	- 29 -
4.2.2.1. Protocolos que visam manipular os padrões de desenvolvimento folicular no início do protocolo	- 32 -
4.2.3. Protocolos à base de progestagénios	- 36 -
4.2.4. Ressincronização das vacas que não ficaram gestantes após tratamento de sincronização	- 37 -
5. Aplicação da ultrassonografia na reprodução bovina	- 39 -
5.1. Avaliação do útero	- 39 -
5.2. Avaliação dos ovários	- 40 -
5.3. Diagnostico de gestação	- 41 -
II. Objetivos	- 44 -
III. Estudo comparativo dos protocolos de sincronização Double-Ovsynch e Presynch-Ovsynch ao primeiro serviço pós-parto em bovinos de leite na região de Estarreja	- 45 -
1. Material e métodos	- 45 -
1.1. Caracterização das explorações	- 45 -
1.2. Implementação dos protocolos	- 49 -
1.3. Análise estatística	- 52 -

2. Resultados	- 53 -
3. Discussão e conclusão	- 59 -
3.1. Discussão dos resultados	- 59 -
3.2. Conclusão	- 61 -
IV. Bibliografia	- 62 -

## Índice de tabelas

Tabela 1: Parâmetros reprodutivos das explorações 1 e 2.....	- 48 -
Tabela 2: Análise estatística da idade dos animais da exploração 1 e 2.....	- 53 -
Tabela 3: Análise estatística do número de lactações da exploração 1 e 2 .....	- 53 -
Tabela 4: Taxas de concepção ao primeiro serviço obtido na exploração 1 (Double-Ovsynch) e na exploração 2 (Presynch-Ovsynch).. .....	- 54 -
Tabela 5: Análise pormenorizada das taxas de concepção das explorações.....	- 54 -
Tabela 6: Análise estatística dos dias pós-parto até à 1ª serviço da exploração 1 e 2 .....	- 55 -
Tabela 7: Dispersão do intervalo parto-concepção nos animais submetidos a protocolo Double-Ovsynch (exploração 1) ou protocolo Presynch-Ovsynch (exploração 2). .....	- 56 -
Tabela 8: Tipo de sémen usado neste estudo, de acordo com a exploração em análise. ....	- 56 -

# Índice de figuras

Figura 1: As vacas em cio formam grupos sexualmente ativos, separados do resto das vacas, que facilitam a observação do cio. ....	- 5 -
Figura 2: A aceitação da monta por uma vaca indica que está em cio. ....	- 5 -
Figura 3: Comportamento positivo de cio é a aceitação da monta por outra vaca. ....	- 5 -
Figura 4: Um dos principais sinais secundários de cio é o corrimento de muco elástico e transparente. ....	- 5 -
Figura 5: Corrimento de metaestro- corrimento vaginal sanguinolento 2-3 dias após o cio ....	- 6 -
Figura 6: Imagem de ovários de vaca com 3 folículos dominantes ....	- 9 -
Figura 7: Imagem de ovários de vaca com corpos lúteos. ....	- 10 -
Figura 8: Podómetro colocado no membro anterior de uma vaca. ....	- 15 -
Figura 9: O podómetro regista o número de passos que a vaca dá por hora. Esta figura mostra que a atividade de locomoção aumentou em dias em que a vaca se apresenta em cio. ....	- 15 -
Figura 10: Marcador de monta colocado na garupa de uma vaca, mostrando que a vaca não recebeu montas. ....	- 15 -
Figura 11: Marcador de alerta de monta. O marcador em posição central reflete que a vaca sofreu monta e o marcador apresenta-se arranhado. ....	- 15 -
Figura 12: Vaca com detetor de monta eletrónico (heat watch) colocado na garupa. ....	- 16 -
Figura 13: Visão aproximada do detetor de monta eletrónico (heat watch) colocado na garupa. ....	- 16 -
-	
Figura 14: Colar de sistemas de monitorização de atividade. ....	- 17 -
Figura 15: Retenção de membranas fetais. ....	- 20 -
Figura 16: a) Dinâmica folicular em vacas tratadas com a) Em vacas tratadas entre o sexto e oitavo dia do ciclo éstrico, o tempo de apresentação de cio é de 48 a 72 horas, pois nesta fase do diestro as vacas possuem um folículo dominante, que demorará menos para completar o seu desenvolvimento. b) Em vacas tratadas entre os dias 10 e 12 do ciclo éstrico, o tempo de apresentação de cio é superior a 96 horas, visto que nesta parte do lado direito uma alta percentagem de vacas possui folículos pequenos. ....	- 22 -
Figura 17: Dispositivo intravaginal libertador de progesterona (PRID Delta) ....	- 25 -
Figura 18: Aplicador de PRID. ....	- 25 -
Figura 19: Protocolo de injeção única de PGF2 $\alpha$ . ....	- 28 -
Figura 20: a) Protocolos com dupla injeção de PGF2 $\alpha$ a) Com inseminação á deteção de cio b) Com IATF após segunda PGF2 $\alpha$ ....	- 29 -
Figura 21: a) Protocolo Ovsynch a) Com uma injeção de PGF2 $\alpha$ b) Com duas injeções de PGF2 $\alpha$ ....	- 31 -
Figura 22: Protocolo Co-Synch ....	- 32 -
Figura 23: Protocolo G-6-G ....	- 33 -

Figura 24: Protocolo Presynch-Ovsynch com 11 dias entre a PGF2 $\alpha$ e a GnRH-1 do Ovsynch-	34
-	
Figura 25: Protocolo Double-Ovsynch .....	34 -
Figura 26: Protocolo Ovsynch com suplementação de P4 .....	36 -
Figura 27: Protocolo utilizado na prevenção da morte embrionária precoce por disfuncionalidade do CL .....	37 -
Figura 28: a) Protocolo Resynch b) Protocolo Short Synch c) Protocolo Resynch +P4 .....	38 -
Figura 29: Imagem ecográfica de um útero em estro .....	40 -
Figura 30: Imagens ecográficas do ovário de vaca evidenciando: a) CL compacto b) CL cavitário c) CL com cicatriz .....	41 -
Figura 31: Imagens ecográficas do ovário de vaca evidenciando: a) Folículo dominante de 1,06 cm b) Múltiplos folículos císticos .....	41 -
Figura 32: Imagens ecográficas de vaca gestante a) Útero com líquido aos 24 dias de gestação b) Gestações entre 30 e 34 dias c) Visualização de costelas d) Turbidez dos líquidos amniótico e alantoide sugerindo morte embrionária e) Edema do endométrio indicando morte embrionária. . -	43 -
Figura 33: Dados gerais da exploração 1 .....	46 -
Figura 34: Dados gerais da exploração 2 .....	47 -
Figura 35: Ecógrafo Easi-Scan Go .....	50 -
Figura 36: Taxa de morte embrionária da exploração 1 .....	55 -
Figura 37: Taxa de morte embrionária da exploração 2 .....	55 -
Figura 38: Taxa de cada tipo de sêmen usado nas inseminações que indicam sucesso do protocolo da exploração 1 .....	57 -
Figura 39: Taxa de cada tipo de sêmen usado nas inseminações que indicam sucesso do protocolo da exploração 2 .....	57 -
Figura 40: Taxa de concepção do sêmen sexado ao primeiro serviço da exploração 1 .....	57 -
Figura 41: Taxa de concepção do sêmen sexado ao primeiro serviço da exploração 2 .....	57 -
Figura 42: Taxa de concepção do sêmen convencional ao primeiro serviço da exploração 1 ..	58 -
Figura 43: Taxa de concepção do sêmen convencional ao primeiro serviço da exploração 2 ..	58 -

# Lista de abreviaturas

**BEN-** Balanço energético negativo

**CC-** Condição Corporal

**CIDR-** *Controlled Internal Drug Releaser* / Dispositivo interno de libertação controlada de progesterona

**CL-** Corpo lúteo

**CRMP-** Programa de reprodução convencional

**DA-** Dias em aberto

**DO-** *Double-Ovsynch*

**E2-** Estradiol

**FD-** Folículo dominante

**FSH-** Hormona folículo estimulante

**GnRH-** Hormona libertadora de gonadotrofinas

**IA-** Inseminação artificial

**IAF-** Inseminação artificial fecundante

**IATF-** Inseminação artificial a tempo fixo

**IA1 – IAF-** intervalo entre a primeira inseminação artificial e a inseminação artificial fecundante

**IEP-** Intervalo entre partos

**IMS-** Ingestão de matéria seca

**IPC-** Intervalo parto – concepção

**IP – IA1-** Intervalo entre o parto e a primeira inseminação artificial

**IP – IAF-** Intervalo parto – inseminação artificial fecundante

**LH-** Hormona luteinizante

**DNG-** Diagnóstico de não gestação

**P4-** Progesterona

**PGF2 $\alpha$ -** Prostaglandina F2 $\alpha$

**PO-** *Presynch-Ovsynch*

**PRID-** *Progesterone Releasing Intravaginal Device* / Dispositivo intravaginal libertador de progesterona

**PVE-** Período voluntário de espera

**TCF-** Taxa de concepção ao primeiro serviço pós-parto

**TG-** Taxa de gestação

# I. Revisão Bibliográfica

## 1. Maneio reprodutivo

Atualmente, os produtores e os responsáveis das explorações, socorrem-se de vários indicadores reprodutivos que os apoiam na gestão do efetivo. Os valores para os diferentes parâmetros reprodutivos devem ser estabelecidos de acordo com o tipo de maneio e nível de produção de cada exploração. No entanto, existem valores de referência que devem ser considerados e que serão abordados neste capítulo.

### 1.1. Intervalo entre partos

Por intervalo entre partos (IEP) entende-se o intervalo entre dois partos consecutivos. Para um efetivo livre de doenças e possíveis causas de aborto, o IEP ótimo deve estar entre 12 e 13 meses, para conseguirmos maximizar o ganho (Ball & Peters, 2004; Pegoraro et al., 2009). Quando o IEP é superior ao ótimo, comprometem-se os resultados económicos da exploração, o que está associado sobretudo a 4 razões interligadas: maior proporção de tempo não produtivo das vacas, menor produção de leite por vaca e por ano, menor produção de vitelos por ano (Ball & Peters, 2004) e maior taxa de refugo (Pegoraro et al., 2009). Ainda assim, para vacas com produções de leite muito elevadas, pode compensar economicamente, a longo prazo, instituir IEP maiores, pois estes animais tendem a apresentar lactações mais persistentes, podendo mesmo apresentar produções de 40 kg/dia aos 305 dias de lactação, havendo assim benefício em prolongar o período de lactação (Ball & Peters, 2004). Nestas condições, pode ser aceitável e rentável um IEP de 13,5 meses (Cordeiro Da Silva, 2021)

### 1.2. Período voluntário de espera

Por período voluntário de espera (PVE) entende-se o tempo que o produtor e o veterinário da exploração aguardam após o parto da vaca até voltar a inseminá-la, mesmo que apresente ciclos éstricos nesse período. É essencialmente uma decisão de maneio, e dependente dos objetivos traçados para a exploração (Risco, 2011; Da Silva, 2022). De uma forma geral, o PVE praticado nas explorações de bovinos leiteiros tem uma duração de 40 a 70 dias (Ball & Peters, 2004) para garantir a produção regular de vitelos com intervalos de um ano. Atualmente, entende-se ser preferível realizar a primeira inseminação entre os 50 a 60 dias, uma vez que inseminar vacas antes do 50º dia pós-parto resulta em baixas taxas de conceção, devido a um ambiente uterino inadequado, anomalias do oócito e alta incidência de morte embrionária (Da Silva, 2022). O PVE será expectavelmente menor em explorações cujas vacas apresentam menor produção leiteira e maior em explorações com vacas mais produtivas (Ball & Peters, 2004). Isto verifica-se porque, devido à maior ingestão de matéria seca (IMS), o metabolismo do animal é mais rápido, assim como o fluxo sanguíneo que passa pelo fígado, havendo por isso uma maior metabolização das

hormonas esteroides, nomeadamente o estradiol (E2) e progesterona (P4). Devido à menor concentração circulante de E2, o pico pré-ovulatório da hormona luteinizante (LH) e a exibição de comportamento de cio ficam comprometidos, o que irá comprometer a fertilidade dos animais. Por outro lado, num meio de baixa concentração de P4, o feedback negativo sobre o hipotálamo não é eficaz, havendo assim secreção da hormona libertadora de gonadotrofinas (GnRH) e, conseqüentemente da hormona folículo estimulante (FSH) e LH, o que faz com que os folículos ovários se desenvolvam com uma elevada frequência de secreção pulsátil de LH originando folículos de menor qualidade podendo afetar a fertilidade da vaca (Pursley & Martins, 2012). Assim, a fertilidade das vacas leiteiras de elevada produção encontra-se comprometida nos primeiros meses de lactação, devendo esperar-se mais tempo para as reintroduzir em reprodução (Pursley & Martins, 2012). Por outro lado, após o parto, os animais podem apresentar infeções uterinas, que agravam os desequilíbrios metabólicos e comprometem a integridade funcional do útero (Risco, 2011). Por conseguinte, o intuito do PVE passa também por permitir a recuperação do trato reprodutivo da vaca de forma a esta ser capaz de assegurar uma nova gestação (Marques Júnior et al., 2011).

### **1.3. Intervalo parto – concepção**

O intervalo parto – concepção (IPC) corresponde ao número de dias entre um parto e a concepção seguinte, este parâmetro é um bom indicador da fertilidade de bovinos leiteiro (Ball & Peters, 2004). Este intervalo de tempo pode também ser referido como número de dias em aberto (DA) (Cordeiro Da Silva, 2021b).

O IPC é o parâmetro que tem maior influência no IEP (Ball & Peters, 2004). Assim, quando se pretende atingir o IEP ótimo, o IPC não deverá ultrapassar os 80 a 90 dias (Ball & Peters, 2004). No entanto, este valor é meramente teórico, verificando-se na prática IPC de 100 dias para a maioria das vacas de aptidão leiteira. De acordo com (Ball & Peters, 2004), o IPC pode ser decomposto em dois intervalos: o intervalo entre o parto e a primeira inseminação artificial (IP – IA1) e o intervalo entre a primeira inseminação artificial e a inseminação artificial fecundante (IA1 – IAF).

#### **1.3.1. Intervalo parto – primeira inseminação artificial**

O IP – IA1 é determinado pelo PVE, pelo reinício da atividade ovárica após o parto e pela ocorrência e correta deteção do comportamento de cio (Ball & Peters, 2004). Segundo (Ball & Peters 2004), o IP – IA1 pode aumentar devido a dois eventos - falha na exibição de comportamento de cio, por ausência de atividade ovárica ou ovulações silenciosas ou; por falha na deteção do comportamento de estro.

### **1.3.2. Intervalo primeira inseminação artificial – inseminação artificial fecundante**

O IA1 – IAF encontra-se essencialmente dependente de fatores inerentes à vaca, como sejam a sua capacidade de concepção e manutenção da gestação, no caso de ficar gestante na 1ª inseminação artificial (IA), ou a sua capacidade de manter a ciclicidade após uma 1ª IA falhada (Ball & Peters, 2004). No entanto, fatores como a boa fertilidade do sémen escolhido e um processo de IA adequado também contribuem para o encurtamento deste intervalo (Ball & Peters, 2004). A duração deste intervalo, é ainda influenciada por uma correta deteção de cio.

### **1.4. Taxa de gestação**

A taxa de gestação (TG) é estimada pela divisão entre o número de animais gestantes e o número de animais elegíveis para serem inseminados num determinado período (Bergamaschi et al., 2010; Neto et al., 2019). Uma taxa de gestação aceitável é de 20% (Da Silva, 2022).

$$TG = \frac{\text{Número de vacas gestantes}}{\text{Total de animais colocados em reprodução}}$$

Outra forma de estimar este parâmetro pode também ser estimada da seguinte forma (Cordeiro Da Silva, 2021b):

$$TG = \frac{\%deteção\ de\ cio \times \%concepção}{100}$$

A taxa de gestação permite identificar problemas relacionados com a falha da concepção e problemas associados à eficiência na deteção de cio (Da Silva, 2022). É através da análise deste parâmetro que é possível identificar problemas de manejo, que devem ser corrigidos para que se encontre a taxa de gestação igual à taxa de concepção, que indicaria que todas as vacas colocadas à reprodução apresentaram estro e foram inseminadas (Da Silva, 2022).

No entanto, a eficiência na deteção dos cios ainda é um problema nas vacarias de leite (Neto et al., 2019). A alternativa mais eficaz para o aumento da taxa de gestação, são os protocolos de inseminação em tempo fixo (IATF), que sincronizam os cios, ultrapassando os problemas de deteção do cio. Por conseguinte, aumentam a taxa de animais elegíveis para reprodução. A manipulação hormonal viabiliza a utilização da inseminação artificial, contribuindo para reduzir o intervalo entre partos (Neto et al., 2019).

### **1.5. Taxa de concepção**

A taxa de concepção é estimada pela divisão do número de vacas que conceberam, pelo número total de inseminações realizadas, em determinado período (Bergamaschi et al., 2010).

$$\text{Taxa de concepção} = \frac{\text{Número de vacas gestantes}}{\text{Total de inseminações realizadas}}$$

Não devem ser consideradas para o cálculo apenas as inseminações de vacas que conceberam, pois a interpretação deste parâmetro fica comprometida, pois vacas que retornam ao cio afetam negativamente esta taxa (Bergamaschi et al., 2010). É difícil estipular uma meta para este parâmetro, uma vez que depende de vários fatores que podem variar dentro da exploração e até mesmo pela estação do ano, no entanto, uma boa meta para a taxa de concepção deve estar entre 35 e 40% (Cordeiro Da Silva, 2021b).

## **2. O Comportamento da vaca em cio**

### **2.1 Sinais de cio**

Em explorações intensivas, onde a IA é a principal técnica de reprodução, a detenção dos cios pelo criador é uma das mais importantes funções para obter uma fertilidade desejável (Ribeiro, 2015; Noakes et al., 2019). A correta identificação do momento do estro é essencial para conseguir um menor intervalo entre partos (Vasconcelos et al., 2015). Uma detecção de cios ineficiente é quase sempre a principal razão para o atraso da fecundação das vacas (Carvalho et al., 2015; Ribeiro, 2015), causando elevados prejuízos económicos (Da Silva, 2022). Existe uma grande variação individual na intensidade da manifestação de cio, que é afetada por fatores ambientais e intrínsecos da vaca (Ribeiro, 2015; Da Silva, 2022).

Os sinais visuais de cio caracterizam-se por inquietação, aumento da atividade da vaca, que tem tendência a agrupar-se (Figura 1), havendo uma redução do tempo despendido a comer, a ruminar e a descansar. É ainda possível registar-se uma quebra na produção de leite (Noakes et al., 2019; Hopper, 2021). Outros sinais de cio incluem o aumento da vocalização, tentativas de montar outras vacas e aceita a monta do touro ou de outras vaca, sendo este último sinal de aceitar ou deixar-se montar pelas outras o sintoma mais evidente de cio (Carvalho et al., 2015; Ribeiro, 2015), bem como micção mais frequente (Da Silva, 2022).

Com a aproximação do cio, as vacas procuram outras vacas igualmente em cio, tendem a agrupar-se, cheiram e lambem a região perineal de outras vacas (Ribeiro, 2015; Noakes et al., 2019). O ato de monta inicia-se quando as vacas começam a apoiar o queixo na garupa ou na região lombar da vaca que vai ser montada, para tentar testar a sua receptividade (Ribeiro, 2015). Quando monta, se a vaca montada não se encontra em cio, afasta-se e pode até tentar marrar (Noakes et al., 2019). Uma monta com resposta positiva da vaca montada dura cerca de 5 segundos, mas se ambas as vacas estiverem em cio pode durar até cerca de 7-8 segundos (Figura 2 e 3) (Da Silva, 2022). Em vacas leiteiras, o número de episódios de monta em pé durante o cio é bastante variável, com uma média de 35 montas (Hopper, 2021).



Figura 1: As vacas em cio formam grupos sexualmente ativos, separados do resto das vacas, que facilitam a observação do cio (Da Silva, 2022).



Figura 2: A aceitação da monta por uma vaca indica que está em cio (Educapoint, 2020).

Outros sinais clínicos de cio incluem a presença de um fio de muco pendurado na vulva que é transparente e elástico podendo mesmo chegar ao chão (Figura 4), ou então ficar aderido à cauda da vaca ou ao flanco (Ribeiro, 2015; Hopper, 2021). A vulva apresenta-se levemente edemaciada, túrgida e congestionada, observando-se um ligeiro aumento da temperatura corporal (Ribeiro, 2015; Noakes et al., 2019). A base da cauda pode estar erguida e os pêlos dessa zona podem estar remexidos ou mesmo conspurcados devido à monta de outras vacas (Noakes et al., 2019). Algumas vacas vocalizam ativamente enquanto vagueiam pela exploração (Ribeiro, 2015). Se a secreção mucoide for turva, branca ou purulenta, o animal pode apresentar infecção vaginal, cervical ou uterina, e deve ser avaliada clinicamente, pois esta condição pode reduzir as hipóteses de concepção (Hopper, 2021).



Figura 3: Comportamento positivo de cio é a aceitação da monta por outra vaca. (Da Silva, 2022)



Figura 4: Um dos principais sinais secundários de cio é o corrimento de muco elástico e transparente (Foto de autor)

Dois ou três dias depois da cobertura ou da IA, em alguns animais pode-se visualizar um corrimento vaginal sanguinolento (Figura 5), por vezes designado de corrimento de metaestro, ou mesmo vestígios deste corrimento colados na cauda, sugestivos da existência de cio nos dias anteriores (Ribeiro, 2015; Hopper, 2021), este corrimento está erradamente associado por muitos produtores que a vaca não ficou gestante (Ribeiro, 2015).



*Figura 5: Corrimento de metaestro - corrimento vaginal sanguinolento 2-3 dias após o cio (Da Silva, 2022)*

O cio pode ser dividido em três fases, a fase inicial, a fase de cio verdadeiro e a fase final. O cio verdadeiro, quando é detetado, é caracterizado pelo momento em que a vaca aceita efetivamente a monta de outra vaca (Da Silva, 2022). Os sinais de início e final de cio podem ser confundidos pois são os mesmos, caracterizando-se pelo nervosismo e inquietação, o facto de cheirarem e lambem a vagina e a urina de outras vacas e apoiarem a cabeça na garupa e na região lombar de outras vacas (Hopper, 2021; Da Silva, 2022).

## **2.2. Alterações nos órgãos reprodutivos durante o cio**

### **2.2.1. Alterações da vagina durante o cio**

As principais modificações observadas na vagina representam alterações nas células epiteliais da vagina do segmento anterior e na função secretora das glândulas do cérvix (Ribeiro, 2015; Noakes et al., 2019). Durante o cio, o epitélio vaginal do segmento anterior torna-se bastante espesso como resultado da divisão celular e do crescimento de células superficiais altas, colunares e secretoras de muco (Noakes et al., 2019). Há uma infiltração leucocitária acrescida da mucosa vaginal que atinge o seu máximo 2 a 5 dias após o estro (Ribeiro, 2015; Noakes et al., 2019). A secreção de muco inicia-se no dia anterior ao cio, aumentando durante o dia de cio para depois desaparecer 2 dias depois (Ribeiro, 2015; Noakes et al., 2019). Durante o cio, o muco apresentado é transparente e fluido, dependendo em quantidade da concentração sanguínea de estrogénios (Ribeiro, 2015). O muco vaginal após o cio apresenta-se mais opaco, e pode conter algum sangue (Noakes et al., 2019).

A hiperemia da mucosa vaginal e cervical é progressiva durante o proestro até ao estro, há uma rápida redução da vascularização, no metaestro, e, em 3 a 5 dias, a mucosa fica pálida (Ribeiro, 2015; Noakes et al., 2019). Ao mesmo tempo o corrimento mucoso torna-se escasso, pegajoso e de cor amarelada ou acastanhada e o canal cervical fechar-se (Ribeiro, 2015).

### **2.2.2. Alterações do útero durante o cio**

Durante o cio, o útero fica congestionado e o endométrio edematoso, fazendo com que sua superfície pareça brilhante (Ribeiro, 2015; Noakes et al., 2019). Quando massajado por via retal, o miométrio contrai-se, tornando-se firme e tónico (Ribeiro, 2015). Os cornos uterinos cujas paredes estão mais densas permanecem eretos e desenrolados; esta tonicidade está presente desde o dia anterior até ao dia seguinte ao estro, mas é máxima durante o estro (Noakes et al., 2019). Os médicos veterinários experientes são capazes de detetar o cio por palpação retal, pela diferença na tonicidade do útero (Ribeiro, 2015).

A congestão do endométrio dá lugar a uma hemorragia que se manifesta por um corrimento vaginal mais ou menos sanguinolento (Figura 5), 24 a 48 horas depois de terminado o cio (Ribeiro, 2015). Este corrimento não se verifica em todas as vacas, sendo mais frequente em novilhas (Ribeiro, 2015).

### **2.2.3. Alterações nos ovários durante o cio**

A dimensão e " que se desenvolvem e projetam à sua superfície. As estruturas mais significativas em ecografia transretal são os folículos antrais e os copos lúteos (Noakes et al., 2019). Normalmente, em cada cio da vaca, apenas um folículo ovula (Ribeiro, 2015). Está descrito que 60% das ovulações ocorrem, para vacas leiteiras, no ovário direito (Ribeiro, 2015). Em vacas de alta produção de leite, temos uma percentagem de ovulação dupla superior quando comparadas com as restantes vacas, estando referido percentagens entre os 13% a 20% em contraste com o 4%-5% referidos para a generalidade das vacas (Noakes et al., 2019).

#### **2.2.3.1. Ondas de crescimento folicular**

A maturação folicular caracteriza-se por uma sucessão de duas ou três ondas foliculares em diestro antes do novo cio (Ribeiro, 2015). De um modo geral, está descrito que cerca de 70% das vacas leiteiras têm ciclos de duas ondas foliculares (Ribeiro, 2015), os outros 30% apresentam ciclos de três ondas foliculares (Da Silva, 2022). As vacas com três ondas foliculares têm uma fase lútea mais longa, sendo o ciclo éstrico de 22 a 23 dias; comparativamente, as vacas com duas ondas foliculares apresentam ciclos éstricos mais curtos entre 18 a 21 dias (Da Silva, 2022). Nas vacas com duas ondas foliculares, o período de dominância folicular é maior do que nas que apresentam três ondas (Da Silva, 2022). O tempo de dominância folicular influencia a capacidade do oócito desenvolver um embrião, estando referido que tempos de

dominância folicular maiores apresentam taxas de concepção menores quando comparados com folículos com menores tempos de dominância (Da Silva, 2022).

A primeira onda de crescimento folicular inicia-se após o pico pré-ovulatório de LH, verificando-se que, devido à diminuição da concentração de E2 e inibina, ocorre um pico de FSH, que irá desencadear o aparecimento da primeira onda folicular, durante o metaestro (Senger, 2012). Nesta primeira onda, o folículo dominante sofre atresia porque os níveis de P4 são crescentes, não permitindo o seu completo desenvolvimento (Senger, 2012).

Num ciclo de três ondas foliculares, a segunda onda de crescimento folicular emerge durante o diestro (Senger, 2012). Nesta fase do ciclo, a concentração de P4 é muito elevada devido à presença do CL funcional. Assim, de forma semelhante ao que acontece na primeira onda, o folículo dominante sofre atresia, por falta de condições endócrinas para que ocorra a ovulação (Senger, 2012).

Por sua vez, a terceira onda (ou segunda, em ciclos com apenas duas ondas foliculares) coincide com a fase de estro (Senger, 2012). Nesta altura já ocorreu a luteólise, pelo que os níveis de P4 são baixos, deixando de exercer o feedback negativo sobre o hipotálamo, e por conseguinte existem as condições ideais ao completo desenvolvimento mais rápido do folículo que permitem a ovulação (Senger, 2012).

Nos ovários, após a ovulação, observa-se o arranque do desenvolvimento de uma primeira onda ao 3º ou 4º dia, a que se segue o desenvolvimento de uma segunda onda ao 11º dia (Ribeiro, 2015). Desta forma pode ser encontrado no ovário um folículo normal, com 9-13 mm de diâmetro, entre o dia 5 e o dia 11, que irá sofrer atresia. Uma terceira onda de crescimento folicular vai emergir entre o 15º e 20º dia, desenvolvendo um folículo maior com cerca de 10-15 mm (Ribeiro, 2015).

Na vaca, durante a maior parte do diestro existem vários folículos cujas dimensões variam entre 7 a 15 mm (Noakes et al., 2019), e que não alteram nem o contorno nem o tamanho dos ovários (Ribeiro, 2015). No proestro e o estro, o folículo dominante destinado a ovular aumenta de tamanho e a ovulação ocorre quando atinge um tamanho de 20 a 25 mm (Noakes et al., 2019). Na palpação transretal é possível a deteção de um ou mais folículos à superfície do ovário (Figura 6) (Ribeiro, 2015). O formato do ovário vai ser influenciado pelo local de ovulação e pelo corpo lúteo (CL) subsequente (Ribeiro, 2015).



*Figura 6: Imagem de ovários de vaca com 3 foliculos dominantes (Da Silva,2022)*

### **2.2.3.2. Tamanho dos ovários durante o ciclo éstrico**

O tamanho de um ovário depende da fase do ciclo éstrico e se contém ou não foliculos de dimensões grandes ou um corpo lúteo ( CL) funcional (Ribeiro, 2015; Noakes et al., 2019). A presença de foliculos não altera o tamanho de um ovário na mesma proporção que o CL (Noakes et al., 2019). Na maioria das vacas jovens examinadas em qualquer momento, do diestro, entre o 6º e o dia 18º dia, um dos ovários será claramente maior que o outro, sendo detetável um CL (Ribeiro, 2015; Noakes et al., 2019). Deve notar-se uma grande diferença de tamanho entre os ovários, visto que o CL, em crescimento vai apresentar-se como uma coroa na superfície do ovário alternado a superfície do ovário (Figura 7) (Ribeiro, 2015).

Durante o cio, haverá pouca diferença de tamanho entre ambos os ovários (Ribeiro, 2015; Noakes et al., 2019). O ovário que contém o foliculo pré-ovulatório em desenvolvimento também contem, frequentemente, o CL em regressão mas ainda assim, o ovário que apresenta as duas estruturas será pouco maior que o ipsilateral (Ribeiro, 2015; Noakes et al., 2019).

Os ovários de uma vaca múltipara tendem a ser maiores que o de vacas jovens. Esse aumento de tamanho é devido à deposição progressiva de tecido cicatricial resultante da atividade funcional prolongada e, em alguns casos, também à presença de grande número de foliculos pequenos (Ribeiro, 2015; Noakes et al., 2019). No entanto, é possível no meio do ciclo detetar o CL, que mesmo sem uma prostrusão distinta dá ao ovário uma forma de ameixa, enquanto o outro é nitidamente mais achatado (Noakes et al., 2019).



*Figura 7: Imagem de ovários de vaca com corpos lúteos (Da Silva, 2022)*

### **2.2.3.3. O corpo lúteo**

Quando ocorre a ovulação, o folículo ovulatório vai libertar o óvulo e o líquido nele contido (Ribeiro, 2015; Noakes et al., 2019). À palpação tem-se a percepção de um ovário achatado e macio, local onde vai nascer o CL, através da luteinização das células da granulosa (Ribeiro, 2015). O corpo lúteo cresce rapidamente e em 48h vai atingir um tamanho de cerca 10 a 15 mm, correspondendo ao corpo hemorrágico (Ribeiro, 2015; Noakes et al., 2019). A luteinização atinge o seu máximo desenvolvimento ao 7º e o 8º dias do diestro, tornado homogêneo, vascularizado e de cor amarela ou alaranjada (Ribeiro, 2015). A sua forma varia, a maioria é oval, mas alguns são irregularmente angulares, variando entre 20 a 25 mm de dimensão (Ribeiro, 2015; Noakes et al., 2019).

O corpo lúteo pode apresentar uma cavidade (CL cavitário) com líquido amarelo no interior que pode ter uma dimensão entre 4 a 10 mm (Ribeiro, 2015; Noakes et al., 2019). Os CL cavitários eram descritos como estruturas patológicas, mas hoje em dia a presença de uma cavidade num corpo lúteo é considerada normal (Ribeiro, 2015; Noakes et al., 2019).

O grau e o tipo de projeção do CL têm variações diferentes. Nas situações mais frequentes, deteta-se uma protuberância de 5-10 mm no local onde ocorreu a ovulação, sendo essa protuberância difusa e responsável por ocupar uma grande parte do ovário, ou noutros casos, uma projeção tipo “mamilo” (Ribeiro, 2015; Noakes et al., 2019). No entanto, é uma estrutura difícil de identificar à palpação. Qualquer que seja o grau de projeção, a consistência do CL do ciclo é característica, podendo aumentar no final do diestro, quando o CL começa o processo de regressão (Noakes et al., 2019).

## **2.3. Eficiência na deteção de cio**

A deteção de cio é considerada o maior problema relacionado com o sucesso reprodutivo em animais de produção leiteira (Scariot et al., 2020). O número de vacas inseminadas depende da

capacidade para detectar o estro. O registo da observação do cio não é suficiente em muitas explorações, pelo que a monitorização do cio, pode ser complementada por vários meios auxiliares de deteção de cio (Hopper, 2021). Um requisito essencial para avaliar a eficiência na deteção de cio é ter registos confiáveis das vacas identificadas em cio e inseminadas (incluindo datas e horários), mas também de diagnóstico de gestação e datas de parto (Da Silva, 2022).

Explorações com fraca deteção de cio têm menor probabilidade de conceção e altas percentagens de vacas repetidoras, o que vai prolongar o intervalo entre parto-conceção (Hopper, 2021). Estas explorações podem ter um grande número de vacas inseminadas quando não estão em cio (inexatidão na deteção do cio), ou vacas em cio que não são inseminadas (ineficiência na deteção do cio) ou vacas inseminadas muito cedo ou muito tarde em relação ao estro e ovulação (Hopper, 2021).

As explorações com uma deteção de cio adequada têm geralmente intervalos entre o parto e primeira IA de 71 a 76 dias. A maioria das vacas cíclicas (>70%) têm um intervalo entre cios de 18 a 24 dias, onde o pessoal responsável deteta mais de 70% das vacas no cio (Hopper, 2021). Em explorações com fraca deteção de cio, regista-se uma alta percentagem (>15%) de vacas com intervalos entre cios muito curtos ou muito longos (Hopper, 2021). A má deteção do cio pode ser confirmada pela determinação das concentrações de progesterona no leite. Altas concentrações de progesterona (>1 ng/mL) no dia da IA, indicam que os animais não estavam em cio quando foram inseminados (Hopper, 2021).

A eficiência de deteção do cio é definida como a proporção de vacas observadas em cio em relação ao total elegível (esperado), para apresentar cio num período equivalente à duração de um ciclo éstrico (Da Silva, 2022). Esses dados são calculados a partir das vacas que atendem às seguintes características: vacas não inseminadas, sem doenças reprodutivas, com mais de 60 dias pós-parto e não gestantes (Da Silva, 2022).

É comum que metade das vacas elegíveis apresentem cio visível. Uma meta alcançável com observação contínua é de 80% ou até mesmo 85-90% de deteção de cios, indicando um bom maneio, apresentando menores gastos para a exploração (Da Silva, 2022; Hopper, 2021). Estes fatores são importantes para perceber se temos problemas reprodutivos relacionados com fatores como por exemplo falhas nutricionais na ração ou até mesmo perceber se há animais que não mostrem cio (Da Silva, 2022).

O intervalo entre cios é outra forma de estimar a eficiência da deteção de cios. É expectável que todas as vacas não gestantes retornem ao cio com um intervalo de 21 a 24 dias (Hopper, 2021; Da Silva, 2022). Aceita-se que 65-70% das vacas apresentem cios com intervalo normal, <10% dos animais fazem-no com um intervalo curto (<17 dias), <10% com intervalo longo (25 a 35 dias), <20% com intervalo duplo (36 a 48 dias) e 0% com intervalo de mais de 48 dias (Hopper, 2021; Da Silva, 2022).

### **2.3.1. Fatores que afetam a detecção de cio**

A intensidade da expressão do cio e a capacidade para o detetar podem ser afetadas por vários fatores, período pós-parto, paridade, produção de leite, estado de saúde, nutrição, condições climáticas, instalações, densidade populacional (Hopper, 2021), entre outros que serão referenciados a seguir.

### **2.3.2. Concentração sérica de estradiol**

O uso deste método tem diminuído nos últimos anos devido à redução da intensidade do cio, pois nas vacas de alta produção está associada uma elevada taxa de metabolização hepática de estrogénios. Em vacas em lactação, o fluxo hepático é maior devido à alta ingestão de matéria seca, o que aumenta a taxa de catabolismo hormonal (Da Silva, 2022).

### **2.3.3. Produção de leite**

Há uma associação negativa entre a produção de leite e a eficiência na detecção de cios (Da Silva, 2022). Assim, quanto maior a produção de leite, menos vacas são detetadas em cio (Da Silva, 2022). A baixa eficiência na detecção de cios em vacas de alta produção deve-se ao facto de apresentarem cios menos intensos e de menor duração do que vacas com menor produção de leite (Hopper, 2021; Da Silva, 2022).

### **2.3.4. Tempo e hora de observação**

Embora a eficiência na detecção do cio seja dos problemas reprodutivos mais importantes, o tempo dedicado a esta atividade é, em alguns casos insuficiente (Carvalho et al., 2015; Da Silva, 2022).

A atividade demonstrada pela vaca em cio é mais intensa durante os períodos referentes ao nascer e o pôr do sol e quando as vacas se movem em grupos para as áreas de ordenha ou descanso (Da Silva, 2022). A recomendação para observação e detecção visual de cio é de pelo menos 30 minutos, duas vezes por dia, uma no início da manhã e outra ao final da tarde (Caetano & Caetano Júnior, 2015; Carvalho et al., 2015), com possibilidade de alcançar uma eficiência na detecção do cio em até 80% (Da Silva, 2022). Outra hipótese, é observação de pelo menos 3 a 4 vezes ao dia, como a maioria das vacas apresenta maior índice de atividade sexual entre as 18 horas de um dia até às 6 horas do dia seguinte, ou seja, durante a noite é recomendado um período de observação noturna (Pegoraro et al., 2009)

### **2.3.5. Stress térmico**

A intensidade do cio diminui quando as vacas estão sob o efeito de stress térmico (Hopper, 2021; Da Silva, 2022). Foram registados menos montas, com intervalos maiores entre montas durante a estação quente, em comparação com a estação fria, dados recolhidos no Brasil (Hopper, 2021;

Da Silva, 2022). Condições ambientais extremas, como chuva forte ou alta umidade, podem também diminuir ou inibir o comportamento do estro (Vasconcelos et al., 2015; Hopper, 2021).

A redução do comportamento de cio deve-se à diminuição da atividade física causada pela alta temperatura e possivelmente à diminuição das concentrações séricas de estradiol observadas em vacas sob stress calórico (Caetano & Caetano Júnior, 2015; Da Silva, 2022).

### **2.3.6. Número de lactações**

A duração e a intensidade dos sinais de cio primário, montar e aceitar a monta, aumentam com o número de lactações (Hopper, 2021). Uma vaca multípara expressa melhor os sinais de monta e, durante mais tempo, do que vacas primíparas (Hopper, 2021). Em contrapartida, vacas primíparas mostram maior atividade de locomoção e mais montas durante o cio, a atividade física vai reduzindo com o avançar do número de lactações (Hopper, 2021).

### **2.3.7. Instalações**

As instalações são cruciais na expressão do estro. Em explorações cujas instalações apresentam pisos escorregadios, a expressão do cio é menor (Caetano & Caetano Júnior, 2015) quando comparado com animais mantidos na terra ou estabulação livre, onde apresentam cios mais intensos (Hopper, 2021; Da Silva, 2022). A utilização de tapetes ou outras formas para evitar pisos escorregadios contribuem para aumentara expressão de cio (Hopper, 2021).

### **2.3.8. Densidade populacional**

Quanto maior o número de animais, maior será o número de interações sexuais entre eles (Caetano & Caetano Júnior, 2015; Hopper, 2021). Quando o tamanho do efetivo é maior, maior é a probabilidade de termos mais animais em cio ao mesmo tempo e a formação de grupos sexualmente ativos, aumentando a expressão de cio e a eficiência da detecção de cios (Caetano & Caetano Júnior, 2015; Hopper, 2021).

No entanto, um número excessivo de animais para o espaço disponível (sobrelotação), pode fazer com que as vacas que não estão em cio fiquem paradas quando forem montadas por outras vacas, havendo possibilidade de uma detecção errônea de cios (Hopper, 2021).

### **2.3.9. Problemas no sistema locomotor**

Uma elevada percentagem de animais estabulados, apresenta, no geral, problemas musculoesqueléticos (laminite e pododermatite) (Da Silva, 2022). Estas afeções fazem com que as vacas se deitem por mais tempo, reduzindo o consumo de matéria seca e agravando o balanço energético negativo (BEN), o que se reflete negativamente em diversos processos reprodutivos (Da Silva, 2022). Os problemas podais reduzem ainda demonstração dos comportamentos representativos de cio (Hopper, 2021). Essa redução na intensidade do cio

pode ser devida à redução da atividade física e do comportamento de monta, pois uma vaca manca tem episódios mais curtos de atividade em pé, menos montas e andam menos durante o cio (Da Silva, 2022).

Conforme referido anteriormente, também é possível que uma vaca manca fique parada quando está a ser montada quando não está em cio, havendo de novo possibilidade de uma inadequada detecção de cio (Hopper, 2021).

## **2.4. Métodos auxiliares na detecção de cio**

A eficiência da detecção de cio, depende muitas vezes da experiência dos observadores, da frequência e da duração da observação na observação visual (Hopper, 2021). No entanto, existem vários fatores relacionados com as instalações que podem também afetar a acuidade da detecção de cio (Da Silva, 2022).

Atualmente, a conjugação da observação visual com outros métodos auxiliares na detecção de cio (especialmente tecnologia eletrónica), pode melhorar a eficiência da sua detecção nas diversas explorações (Hopper, 2021).

A seleção dos métodos de auxílio à detecção de cio a empregar dependem do manejo reprodutivo, custos e mão-de-obra pois detetar as vacas em cio e inseminá-las no momento apropriado em relação ao momento do comportamento de cio e da ovulação é vital (Vasconcelos et al., 2015; Hopper, 2021).

### **2.4.1. Podómetros**

Os podómetros são instrumentos que permitem medir o nível de atividade do animal em que os sensores são colocados. Estes dispositivos são colocados nos membros do animal (Figura 8), que registam a sua atividade locomotora diária (Vasconcelos et al., 2015; Hopper, 2021; Da Silva, 2022). Uma vaca em cio é cerca de quatro vezes mais ativa que uma vaca em diestro (Figura 9) (Caetano & Caetano Júnior, 2015; Hopper, 2021).

A atividade física resultante de uma vaca é comparada com o seu padrão individual de movimentação (Caetano & Caetano Júnior, 2015; Hopper, 2021); Quando está em cio observa-se um aumento da atividade física, e o sistema envia um sinal ao recetor, registando o acontecimento (Hopper, 2021). Este método demonstra a sua aplicabilidade na detecção do cio no horário noturno, como referido por (Scariot et al., 2020), que indica que 43,47% dos animais apresentaram cio no período entre as 24h e as 6h.

Este método não prescinde da verificação de sinais secundários para confirmar o comportamento típico de cio (Caetano & Caetano Júnior, 2015; Da Silva, 2022), não sendo, por si só, o método mais eficiente, pelo que existem alguns aspetos a ter em consideração em relação ao seu custo-benefício (Caetano & Caetano Júnior, 2015; Hopper, 2021). A eficácia dos podómetros é variável

(49-90%), pois depende das condições de alojamento, sendo mais eficazes em animais que tenham espaço para se movimentarem livremente (Hopper, 2021).



Figura 8: Podômetro colocado no membro anterior de uma vaca (Sliper & Cerri, 2016)

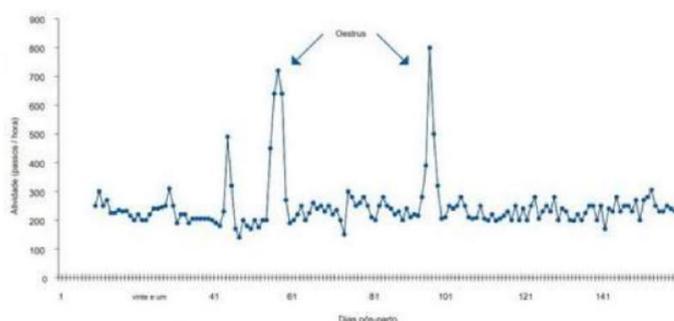


Figura 9: O podômetro registra o número de passos que a vaca dá por hora. Esta figura mostra que a atividade de locomoção aumentou em dias em que a vaca se apresenta em cio (Da Silva, 2022)

#### 2.4.2. Marcadores de alerta de monta

Existem vários tipos de marcadores de monta, que geralmente são colocados na garupa da fêmea. Alguns marcadores têm uma área adesiva de cor branca suportando uma cápsula de tinta (Figura 10), geralmente de cor vermelha, que se rompe quando uma vaca recebe uma monta, devido à pressão exercida (Hopper, 2021; Da Silva, 2022). Quando uma vaca é montada, a tinta é libertada, ficando visível, sendo a vaca entendida como positiva para o cio. Nas vacas não montadas (não recetivas) o marcador não liberta a tinta e a área adesiva permanece branca (Hopper, 2021; Da Silva, 2022). Outros detetores de monta, também adesivos, são constituídos por uma película colorida, recoberta na sua superfície com uma cor geralmente prateada, que é raspada quando uma vaca é montada; as vacas positivas exibem uma cor fluorescente (Figura 11) (Hopper, 2021; Da Silva, 2022).



Figura 10: Marcador de monta colocado na garupa de uma vaca, mostrando que a vaca não recebeu montas (Da Silva, 2022).



Figura 11: Marcador de alerta de monta. O marcador em posição central reflete que a vaca sofreu monta e o marcador apresenta-se arranhado (Hopper, 2021).

### 2.4.3. Detetor de monta eletrónico (*HeatWatch*)

Estes dispositivos são colocados na garupa dos animais (Figura 12 e 13) (Da Silva, 2022). São dispositivos radiotelemétricos (Hopper, 2021), sensíveis à pressão da monta sofrida por uma vaca, que emitem um sinal para um recetor, um computador, que regista o dia, hora e duração da monta, dados que são analisados posteriormente (Caetano & Caetano Júnior, 2015; Carvalho et al., 2015; Hopper, 2021). Este método tem como vantagem permitir a monitorização dos animais durante 24 horas em contínuo, sendo bastante importante no período noturno (Caetano & Caetano Júnior, 2015; Vasconcelos et al., 2015). No entanto, apresenta como principal desvantagem o facto de ter baixo alcance (cerca de 400m), limitando o seu uso em animais a pasto e apresentar elevados custos associados à sua aquisição (Caetano & Caetano Júnior, 2015; Vasconcelos et al., 2015; Hopper, 2021).

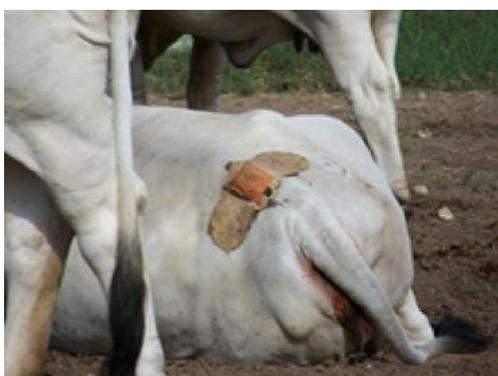


Figura 12: Vaca com detetor de monta eletrónico (*heat watch*) colocado na garupa (Hopper, 2021)



Figura 13: Visão aproximada do detetor de monta eletrónico (*heat watch*) colocado na garupa (Hopper, 2021)

### 2.4.4. Controlo de temperatura

Durante o estro, há um aumento perceptível na temperatura retal e também corporal (Hopper, 2021). Essa variação pode estar associada à maior atividade física durante o cio, mas o mecanismo fisiológico subjacente à mudança de temperatura durante o ciclo éstrico da vaca está ainda pouco estudado (Hopper, 2021). Alguns ensaios revelaram que o aumento médio da temperatura vaginal de uma vaca em cio foi de 0,48 °C (Vasconcelos et al., 2015), enquanto que outros encontram diferenças de temperatura de 0,2 °C em varias regiões como focinho, olho, pescoço, etc. Está também referido que a temperatura do leite pode aumentar entre 0,3-0,4 °C no dia do estro (Hopper, 2021). Estes métodos não são atualmente considerados precisos e confiáveis para deteção de cio, pois existem algumas variações individuais (Hopper, 2021).

#### 2.4.5. Sistemas automatizados de monitorização de atividade

Em bovinos, o aumento da atividade física é considerado um sinal secundário de cio, estando relatado aumentos de até 400% no inverno e 175% durante o verão (Hopper, 2021). Os sistemas automatizados de monitorização de atividade registam continuamente a atividade física dos animais verificando todas as flutuações em relação ao seu padrão normal (Hopper, 2021). Este sistema recorre a acelerómetros utilizados como sensores em colares no pescoço (Figura 14) ou uma marca auricular (Carvalho et al., 2015; Hopper, 2021), alcançando eficiências de deteção de cio superiores a 80% (Michaelis et al., 2014; LeRoy et al., 2018).

Este sistema pode monitorizar vários parâmetros para além do nível e intensidade da atividade individual de cada vaca, como temperatura, ruminação, alimentação, e movimentação dos animais, registando a informação processada através de um algoritmo complexo (Michaelis et al., 2014). Os dados são registados em períodos predeterminados do dia, transmitidos para o sistema onde serão analisados pelos produtores, por exemplo, quando os animais passam na sala de ordenha (Michaelis et al., 2014; Hopper, 2021). A atividade individual da vaca é representada graficamente, indicando a variação da atividade média num período definido, por exemplo, sete dias (Hopper, 2021).

Estes dispositivos para auxílio na deteção de cio foram capazes de detetar cio pelo menos tão eficientemente quanto a observação visual (Carvalho et al., 2015; Hopper, 2021). Estudos usando este sistema revelam que os padrões de atividade aumentam no dia de cio, o que se acompanha de diminuição do tempo de ruminação e de alimentação, passando os animais mais tempo em pé, e períodos de repouso maiores no dia seguinte ao mesmo (Hopper, 2021). Estudos em que se recorreu a este sistema referem que o intervalo médio da IA à ovulação, com base no aumento da atividade física foi de cerca de 8 horas (Hopper, 2021). Em explorações onde os animais são excessivamente movimentados, estes sistemas podem fornecer resultados menos confiáveis (Hopper, 2021).

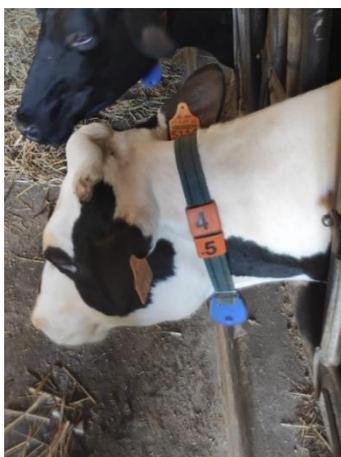


Figura 14: Colar de sistemas de monitorização de atividade (Foto de autor)

### **3. Anestro pós-parto e recuperação da ciclicidade**

O anestro pós-parto é o período após o parto no qual as vacas não apresentam atividade cíclica; tem uma duração variável, sendo sobretudo afetada pelo estado nutricional, o nível de produção de leite, alteração da condição corporal antes e depois do parto, e por afeições clínicas comoquistos ováricos, piômetras. Além destes fatores, tanto as condições ambientais como as instalações podem causar stress, e prolongar o período de anestro pós-parto. (Amorim & Costa, 2019; Cordeiro Da Silva, 2021). O período de involução uterina caracteriza-se pela ocorrência de alterações fisiológicas no útero para prepará-lo para o recebimento de uma nova gestação; tem uma duração média de 50 dias (Moraes et al., 2014; Amorim & Costa, 2019). Cerca de 75% das doenças em vacas leiteiras ocorrem nos primeiros 30 pós-parto (G. M. Gnemmi & Maraboli, 2020).

A maior parte dos casos de anestro são caracterizados por folículos que iniciam seu crescimento e chegam até à dimensão máxima de 4 mm de diâmetro à emergência. Não ocorrendo divergência ou o estabelecimento de um folículo dominante, as ondas de desenvolvimento folicular originam folículos de pequenas dimensões, e os ovários descritos como inativos (Ferreira et al., 2019).

#### **3.1. Controlo neuroendócrino do anestro**

Entre os 12 e 15 dias pós-parto, as células gonadotróficas da adeno-hipófise começam a produzir e libertar FSH, que estimula a ocorrência da primeira onda folicular. No entanto, nenhum folículo dominante chega a completar o seu desenvolvimento devido à falta de estímulo de LH. A síntese e secreção de LH é a principal limitante fisiológica à ovulação no pós-parto. Nos primeiros 15 dias pós-parto as concentrações circulantes de LH são baixas (Moraes et al., 2014; Cordeiro Da Silva, 2021). Apenas depois do dia 20 após o parto, a hipófise aumenta a sua capacidade para responder à GnRH e criam-se condições para o estabelecimento do padrão de secreção do LH adequado para estimular a maturação e a ovulação do folículo dominante das primeiras ondas foliculares (Cordeiro Da Silva, 2021). Com frequência, a primeira ovulação é silenciosa, sem sinais de cio (Moraes et al., 2014).

#### **3.2. Principais fatores que afetam o retorno à ciclicidade**

A duração do anestro pode ser influenciada por diversos fatores, nomeadamente o estímulo da amamentação (inexistente em vacas de leite), o estado nutricional, a condição corporal, a raça e idade, a presença do touro e a estação do ano (Moraes et al., 2014; Amorim & Costa, 2019).

É de extrema importância o correto manejo alimentar no pré-parto para manutenção de boa condição corporal (CC) ao parto, a CC ideal deve estar entre 2,75 e 3 ao parto (numa escala de

1 a 5), com perda de menos de 0,5 unidades no pós-parto. Desta forma, iremos prevenir um BEN prolongado e a ocorrência de doenças metabólicas (Moraes et al., 2014).

Em animais de produção de leite, as necessidades nutricionais aumentam rapidamente após o parto pela necessidade de produção de leite; em simultâneo a ingestão de alimento pela vaca é inferior ao desejável, pelo que se estabelece uma situação de BEN (Moraes et al., 2014). O BEN consiste na diferença entre a energia consumida e a gasta para produção e manutenção. As vacas passam por este período durante as últimas semanas da gestação e o início da lactação (Amorim & Costa, 2019). Para cobrir a perda de nutrientes para a produção de leite e manutenção, o consumo de matéria seca após o parto deveria ser cerca de quatro vezes superior em relação ao normal. No entanto, as vacas são incapazes de colmatar esta exigência de matéria seca, recorrendo por isso às suas reservas corporais, o que determina BEN. As vacas que consomem menos matéria seca, produzem menos leite, têm um BEN mais profundo, e por conseguinte o período do parto à primeira ovulação é maior (Cordeiro Da Silva, 2021). O nadir, o ponto mais baixo, da curva do BEN tem lugar entre os 10 e 20 dias pós-parto, mas as vacas podem manter-se em BEN até aos 70 a 80 dias pós-parto e, em alguns casos, até aos 100 dias pós-parto. As vacas que alcançam um nível baixo de BEN rapidamente e saem do nadir de forma rápida, iniciam sua atividade ovárica mais rapidamente também (20 a 30 dias pós-parto) do que aquelas que têm um BEN mais profundo e duradouro. Essas muitas vezes mantem o anestro até aos 70 dias pós-parto (Cordeiro Da Silva, 2021).

### **3.3. Infecções pós-parto**

Durante o parto ocorre contaminação uterina. Caso o organismo não consiga manter esta contaminação controlada, a situação pode caminhar para o desenvolvimento de infeções uterinas no pós-parto. A diminuição na ingestão alimentar no período pré-parto e o aumento do gasto de energia para a produção de leite alteram o estado nutricional e imunológico do animal, favorecendo a oportunidade para infeções uterinas (Moraes et al., 2014).

As enfermidades uterinas pós-parto podem ser classificadas segundo a fase em que ocorrem e os sinais clínicos evidenciados. A metrite puerperal é diagnosticada nos primeiros 21 dias após o parto, e caracteriza-se pela existência de corrimento fétido, vermelho acastanhado, associado a aumento uterino, sinais sistémicos e febre. A metrite clínica apresenta sintomatologia semelhante à metrite puerperal, mas no geral evolui sem sinais sistémicos. A endometrite pode evoluir na forma clínica, em que normalmente a cérvix se encontra aberta permitindo drenagem do conteúdo uterino purulento ou mucopurulento, ou na forma subclínica, na ausência de sinais clínicos. No caso da piómetra, há presença de um corpo lúteo persistente, e a cérvix encontra-se fechada, originando a acumulação de material purulento no interior do útero (Moraes et al., 2014).

### 3.4. Monitorização do pós-parto imediato

Para garantir uma excelente eficiência reprodutiva, a incidência de vacas doentes durante a transição deve ser drasticamente reduzida. A retenção de membranas fetais (Figura 15), deslocamento de abomaso, patologias reprodutivas, mamites clínicas são doenças que aparecem, com alguma incidência, no pós-parto imediato, nos primeiros 30 dias em leite (G. M. Gnemmi & Maraboli, 2020).

Uma vaca saudável é uma vaca que come e produz leite. Nos primeiros dias pós-parto, a produção de leite aumenta progressivamente e, em alguns casos, até de forma significativa, pelo que todos os animais que não aumentam a produção de leite devem ser observados (G. M. Gnemmi & Maraboli, 2020).



*Figura 15: Retenção de membranas fetais (G. M. Gnemmi & Maraboli, 2020)*

## **4. Protocolos de controlo do ciclo éstrico**

Em vacas com atividade ovárica o ciclo éstrico pode ser manipulado principalmente de três formas: 1) pela utilização de PGF2 $\alpha$  para induzir a luteólise do CL; 2) pela utilização sequencial de prostaglandinas e análogos das GnRH para termos desenvolvimento folicular sincronizado após luteólise induzida; e 3) pela utilização de progestágenos que mimetizam um CL (Ribeiro, 2015; Aral et al., 2020).

Nas explorações leiteiras a distribuição dos partos deve estar distribuída de forma equilibrada ao longo do ano, sendo por isso necessário o acompanhamento individual das vacas para tentarmos atingir o objetivo de conseguir um vitelo por vaca/ano (Ribeiro, 2015). Para garantir este objetivo, o intervalo parto-conceção está limitado a cerca de 85-90 dias pós-parto, pelo que será necessário efetuar um controlo apertado sobre a função reprodutiva das fêmeas após o parto, o que por vezes torna necessário implementar um controlo farmacológico da atividade ovárica das vacas, de forma a conseguir induzir um cio com ovulação durante o anestro pós-parto. Desta forma, a sincronização por grupos, facilita a deteção de cio ou ultrapassa os problemas da mesma recorrendo a IATF, conseguindo uma redução dos custos de mão de obra e, em protocolos de transferência de embriões, obter a sincronização de vacas dadoras e recetoras (Ribeiro, 2015).

### **4.1. Hormonas utilizadas em protocolos de manipulação de ciclos de bovinos de leite**

#### **4.1.1. Agentes luteolíticos: prostaglandina F2 $\alpha$ e análogos**

Num ciclo espontâneo, a luteólise é desencadeada pelos níveis elevados de estradiol do folículo pré-ovulatório em desenvolvimento, promovendo a libertação de oxitocina, produzida no corpo lúteo (decorrente dos níveis prolongados de P4 que se registam no diestro), e que, ao ligar-se aos seus próprios recetores uterinos, aumentados por efeito dos estrogénios, estimula a libertação de uma pequena quantidade de PGF2 $\alpha$  uterina; esta PGF2 $\alpha$  então inicia um ciclo de feedback positivo, em ansa curta, envolvendo a libertação de oxitocina pelo corpo lúteo e de PGF2 $\alpha$  de origem lútea e uterina (Hopper, 2021). A PGF2 $\alpha$  reduz o fluxo sanguíneo ao corpo lúteo, promove outras alterações morfológicas, que reduzem tanto o número das células lúteas pequenas, como o tamanho das células lúteas grandes, estimulando também a produção de PGF2 $\alpha$  pelo CL, resultando assim na regressão do corpo lúteo (Hopper, 2021).

A luteólise produzida pela PGF2 $\alpha$  exógena não se distingue da induzida pelo processo natural, sendo a fertilidade em tudo semelhante ao processo natural (Ribeiro, 2015). A injeção de PGF2 $\alpha$

causa a regressão do CL a partir do dia 5 do ciclo éstrico, já que antes o corpo lúteo não é responsivo a esta hormona (Noakes et al., 2019; Aral et al., 2020; Hopper, 2021).

As concentrações de progesterona descem rapidamente para níveis basais num período de 24 horas e a frequência do pulso de LH aumenta, induzindo um aumento significativo de estradiol pelo folículo dominante, e subsequente indução de estro e ovulação (Noakes et al., 2019).

Apesar da rápida luteólise, o intervalo entre o tratamento e o início do estro é variável e dependente do estadio da onda folicular no momento do tratamento e da variabilidade da população folicular entre vacas (Hopper, 2021; Noakes et al., 2019; Da Silva, 2022). Poderá ainda variar com o stress da lactação ou outros fatores (Ribeiro, 2015). Se no momento da administração a vaca tiver um folículo de cerca de 10 mm de diâmetro (folículo dominante), o tempo até ao início do estro é mais curto, entre 48 a 72 horas, (Figura 16a) ; mas se a vaca apresentar folículos de menor dimensão, por exemplo cerca de 5 mm (folículo em fase de dominância), intervalo até ao cio será superior a 96 horas (Figura 16b) (Da Silva, 2022). Assim, após o tratamento com PGF2 $\alpha$ , o estro observa-se em 2 a 7 dias (Ribeiro, 2015; Da Silva, 2022), com 75% dos animais em estro a concentrar-se nas primeiras 96 horas. Aquelas vacas que não respondem ou não são detetadas em estro, podem ter nova administração 11 a 14 dias depois, ou seja quando as vacas restantes, se estiverem cíclicas, apresentam um CL responsivo (Noakes et al., 2019).

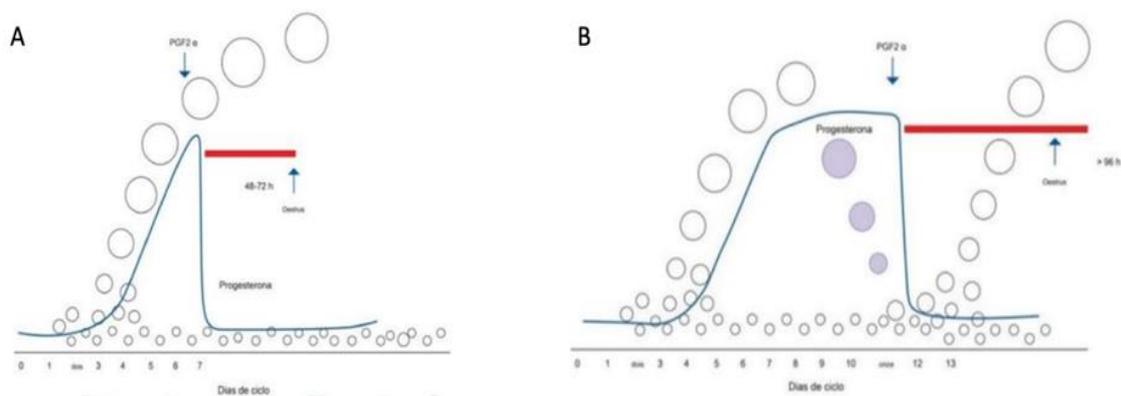


Figura 16: Dinâmica folicular em vacas tratadas com a) Em vacas tratadas entre o sexto e oitavo dia do ciclo éstrico, o tempo de apresentação de cio é de 48 a 72 horas, pois nesta fase do diestro as vacas possuem um folículo dominante, que demorará menos para completar o seu desenvolvimento. b) Em vacas tratadas entre os dias 10 e 12 do ciclo éstrico, o tempo de apresentação de cio é superior a 96 horas, visto que nesta parte do lado direito uma alta percentagem de vacas possui folículos pequenos (Da Silva, 2022).

O Dinoprost é um derivado genérico da PGF2 $\alpha$  natural, comercializado na forma de sal de trometamina; a sua dose luteolítica é de 25 mg por via intramuscular (IM) em vacas leiteiras (Ribeiro, 2015). Esta molécula tem um tempo de semivida muito curto, cerca de 8 minutos, pelo que geralmente é administrada em doses mais elevadas que no caso dos análogos sintéticos,

cuja molécula foi alterada para resistir à metabolização nos pulmões (Martins et al., 2011). Por isso esta apresentação não é muito utilizada na prática clínica em vacas.

O Cloprostenol é um análogo sintético da PGF2 $\alpha$  aprovado para sincronizar cios, induzir aborto em vacas, assim como, tratamentos de piómetras, endometrites, mumificações fetais, cios silenciosos e quistos luteínicos; apresentando uma semivida mais longa, cerca de 3 horas, representa uma prostaglandina com mais força de ação, sendo recomendada a sua administração na dose de 500  $\mu$ g (Ribeiro, 2015).

Comparando o tratamento luteolítico à base de cloprostenol e de dinoprost, verificou-se que as concentrações circulantes de estradiol foram maiores 48 horas após o tratamento com PGF2a sintética em vacas com folículos pré-ovulatórios que se encontravam a 7 dias de uma nova onda folicular induzida por GnRH o que foi atribuído a uma diminuição ligeiramente mais rápida da progesterona nas primeiras 12 horas pós tratamento com cloprostenol em comparação com o dinoprost (Martins et al., 2011). A diminuição mais rápida da progesterona permite obter uma maior pulsatilidade de LH e maiores concentrações de estradiol. O cloprostenol aumentou ainda as taxas de deteção de estro e de concepção em vacas no primeiro parto, o que foi explicado pelo mesmo fenómeno (Martins et al., 2011).

Desde a descoberta da PGF2 $\alpha$  como agente causador da luteólise em bovinos, tem sido o tratamento mais comumente usado para indução eletiva de regressão lútea e/ou sincronização do estro (Noakes et al., 2019; Hopper, 2021). Este efeito indireto sobre o crescimento folicular é provavelmente uma das principais razões pelas quais a sincronização é melhorada em programas de combinação do uso de prostaglandina com outras hormonas que permitem programas de IATF (Aral et al., 2020; Da Silva, 2022).

#### **4.1.2. Hormona libertadora de gonadotrofinas (GnRH)**

A GnRH e os seus análogos podem ser usados com sucesso para induzir o estro (Aral et al., 2020). A GnRH, um decapeptido hipotalâmico, é a hormona que controla a libertação das gonadotropinas adenohipofisárias, promovendo a libertação modulada e pulsátil de FSH e LH segundo um padrão específico para o sexo e a espécie (Ribeiro, 2015; Noakes et al., 2019).

A administração de GnRH induz um pico imediato de LH e FSH, cuja magnitude é independente da concentração de progesterona ou do estadio da onda folicular (Hopper, 2021). No entanto, o efeito do GnRH na onda folicular existente está dependente da presença de um folículo dominante (Aral et al., 2020; Hopper, 2021). Quando a GnRH é administrada após a seleção do folículo dominante ocorre ovulação, com surgimento de uma nova onda de desenvolvimento folicular 1,5 a 2 dias depois; no entanto, a administração de GnRH antes da seleção folicular,

não obtém este efeito sobre progressão da onda folicular existente, possivelmente devido à falta de recetores de LH nas células da granulosa do folículo (Hopper, 2021).

Os agonistas da GnRH usados com maior frequência na prática clínica de bovinos são a buserelina e a gonadorelina (Ribeiro, 2015; Noakes et al., 2019). A molécula de buserelina é cerca de 20 a 400 vezes mais potente que a de gonadorelina (Ribeiro, 2015).

Em bovinos, a GnRH, e seus análogos, têm sido usados para tratar quistos foliculares (recomendada duplicação da dose), retardar a luteólise e estimular a ovulação. No entanto, atualmente, a sua principal utilidade é como parte integrante de programas de sincronização projetados para controlar o momento da ovulação (Noakes et al., 2019; Aral et al., 2020).

### **4.1.3. Progestagénios**

A progesterona é secretada pelo corpo lúteo de um ciclo éstrico normal. O princípio do uso dos progestágenos exógenos é induzir uma fase lútea artificial (Ribeiro, 2015; Aral et al., 2020). Os progestágenos exercem um feedback negativo na adenohipófise, que suprime a atividade cíclica inibindo a libertação de LH; quando o fornecimento de progestágenos exógenos cessa, a inibição desaparece e a atividade cíclica recomeça (Noakes et al., 2019; Aral et al., 2020). Em geral, nos tratamentos de sincronização baseados em progesterona, uma proporção elevada de vacas apresenta cio 36 a 72 horas após a remoção do implante de progesterona (Hopper, 2021).

O método mais comum de suplementação de progesterona tem sido o uso de dispositivos de libertação de progesterona intravaginal (Hopper, 2021). Estes dispositivos são o CIDR (1,38g ou 1,9g de progesterona) e o PRID (1,55g de progesterona) (Figura 17); o recurso a implantes auriculares de progestagénios é possível (Aral et al., 2020), embora esteja proibido em Portugal.

Os dispositivos a partir dos quais a progesterona é libertada e absorvida pela corrente sanguínea, são inseridos na vagina por meio de um aplicador (Figura 18). As concentrações plasmáticas de progesterona aumentam no sangue periférico para 4 ng/mL no espaço de poucas horas (Noakes et al., 2019), estabilizando em valores entre 1 e 2 ng/mL a partir de dia 6 após a colocação do implante (Uehlinger et al., 1995).

As concentrações de progesterona circulante dependem da concentração desta hormona no produto (Noakes et al., 2019), mas não se distinguem entre o CIDR e o PRID (Uehlinger et al., 1995), e dependem também da duração do tratamento, porque um tempo mais longo resulta em concentrações plasmáticas mais baixas de progesterona (Noakes et al., 2019). A principal desvantagem deste método é a necessidade de uma segunda manipulação dos animais para remover os implantes (Noakes et al., 2019).



Figura 17: Dispositivo intravaginal libertador de progesterona (PRID Delta) (Foto de autor)



Figura 18: Aplicador de PRID (Foto de autor)

Os sistemas de sincronização de estro que incluem progesterona no protocolo têm três vantagens principais (Hopper, 2021).

Primeiro, manter a concentração de progesterona acima do nível limiar ( $>1$  ng/mL), suprimindo o pico pré-ovulatório de LH e o comportamento do estro (Hopper, 2021). O tratamento com progesterona por 14 ou 21 dias, resultou numa alta resposta de cio no espaço de três dias após a remoção da progesterona. No entanto, as taxas de concepção após o tratamento prolongado com progesterona são 10-15% inferiores às das vacas tratadas com progesterona por períodos mais curtos (Noakes et al., 2019; Hopper, 2021). A razão para a baixa concepção é que com estes dispositivos de P4, com uso prolongado, vamos ter concentrações de progesterona inferiores às da fase lútea, a frequência do pulso de LH e as concentrações periféricas de estradiol são elevadas (Noakes et al., 2019; Hopper, 2021). Consequentemente, o folículo dominante continua a receber suporte de gonadotrofinas além do momento em que teria ocorrido a ovulação ou a atresia (Hopper, 2021). Preocupações com a fertilidade de vacas tratadas com progesterona levaram ao desenvolvimento de protocolos de curto prazo (sete a nove dias) para o uso de progesterona (Aral et al., 2020; Noakes et al., 2019).

A segunda vantagem do uso de progesterona em protocolos de sincronização de cio é que vacas em anestro são responsivas quando a progesterona é usada, pois inicialmente diminui o LH, de seguida aumenta os pulsos de LH; este aumento dos pulsos de LH promove o desenvolvimento

do folículo dominante (Hopper, 2021). A remoção da progesterona é seguida de cio, ovulação e uma fase lútea de duração normal numa grande parte dos animais tratados (Hopper, 2021).

O tratamento de quistos ováricos é a terceira vantagem da suplementação de progesterona (Hopper, 2021). A suplementação de progesterona diminui a pulsatilidade de LH, o que é seguido pela atresia do folículo quístico (dominante), quebrando assim o ciclo de formação de quistos e promovendo o desenvolvimento de um novo folículo normal; a ovulação ocorre após a retirada da progesterona (Hopper, 2021).

O uso destes dispositivos de suplementação com progesterona podem também ser usados em casos de suspeita de morte embrionárias por insuficiência do CL (Ribeiro, 2015), ou em protocolos designados de ressincronização. Estes dispositivos são também usados em combinação com outras hormonas para uso de protocolos de IATF (Aral et al., 2020).

## **4.2. Protocolos para controlo farmacológico do cio e da ovulação**

A eficiência reprodutiva continua a ser um dos mais importantes fatores a influenciar a rentabilidade das explorações de bovinos leiteiros (Azevedo et al., 2014).

Existem benefícios substanciais associados ao uso de protocolos que sincronizam a ovulação e permitem protocolos de IATF sem deteção de estro, procurando o aumento das taxas de conceção (Herlihy et al., 2012; Cockcroft, 2015). Os protocolos farmacológicos para o controlo do ciclo éstrico têm assumido um papel muito importante em explorações leiteiras de alta produção, mas não são substitutos de um manejo adequado na exploração (Ribeiro, 2015); sobretudo, não se devem substituir a um correto manejo nutricional. A condição corporal tem um efeito substancial na taxa de conceção. Está descrita a existência de uma taxa de conceção de 23% em vacas com CC  $\leq 2,75$  (escala de 1 a 5), comparativamente a 53% em vacas com CC  $> 2,75$  (Cockcroft, 2015). Se o manejo da exploração não for adequado, o risco dos programas fracassarem é maior, convertendo-os em gastos dispendiosos devido, não só ao aumento de despesas em fármacos, mas também pela mão de obra adicional e dispêndio em sémen de touros (Noakes et al., 2019). A seleção de um programa mais adequado para cada exploração depende de uma variedade de fatores, incluindo a eficiência da deteção de cio, a experiência de palpação do veterinário assistente, custos do tratamento, disponibilidade de mão de obra e os objetivos do programa (Hopper, 2021).

Segundo Consentini et al. (2021), são cinco os fatores fisiológicos principais que influenciam a fertilidade em protocolos de IATF: primeiro, o protocolo procura sincronizar o início de uma nova onda folicular e a ovulação de um folículo dominante após o tratamento com GnRH; segundo, as concentrações circulantes de progesterona durante o desenvolvimento folicular pré-ovulatório

têm efeitos dramáticos na fertilidade subsequente de vacas leiteiras em lactação de alta produção, em que uma menor circulação de P4 durante o crescimento folicular, seja devido a uma condição anovulatória ou ao maior catabolismo hepático desta hormona, podem levar à diminuição da qualidade do óócito e, conseqüentemente, da fertilidade (Azevedo et al., 2014; Consentini et al., 2021); Por outro lado, a alta produção e manejo intensivo agravam a associação negativa entre a alta produção de leite e a expressão comportamental do estro (Da Silva, 2022); o terceiro ponto-chave fisiológico, que se procura atingir durante os programas de IATF, é a regressão eficiente do CL, com P4 circulante mínima próximo ao momento de inseminação artificial (Consentini et al., 2021); O quarto ponto está relacionado com o tamanho ideal e a ovulação sincronizada do folículo em relação ao momento de inseminação, pois um folículo do tamanho adequado resultará em maiores concentrações de E2 antes da IATF, refletindo-se numa maior expressão de estro e, no geral, vacas que expressam estro antes da IATF atingem maior taxa de gestação por IA; por fim, a necessidade de progesterona na manutenção da gestação é referido como o quinto ponto com influência na fertilidade dos programas de IATF (Consentini et al., 2021).

É expectável que ao aumentar a complexidade de um programa de sincronização para IATF, aumente também o risco de incumprimento da totalidade do programa, sendo este um dos principais fatores que afetam o sucesso de um programa, desta forma temos de escolher o protocolo adequado tomando em conta todo o contexto da exploração (Azevedo et al., 2014; Hopper, 2021).

#### **4.2.1. Protocolos para sincronização do cio com PGF2 $\alpha$**

O mecanismo de ação da prostaglandina é a luteólise e, portanto, a aplicação de um programa baseado na administração de prostaglandina é restrito apenas a vacas cíclicas com um CL funcional, o que ocorre entre os dias 8-17 do ciclo éstrico (Aral et al., 2020; Hopper, 2021), o corpo lúteo é considerado funcional a partir do quinto dia após a sua formação (Da Silva, 2022).

Uma injeção única de PGF2 $\alpha$  (Figura 19) pode ser uma estratégia usada para reduzir os custos do tratamento, mas só resultará em fêmeas cíclicas, e para isto, é importante que o veterinário assistente seja capaz de determinar a existência de um CL funcional num dos ovários (Ribeiro, 2015), ou os registos permitam a correta identificação de um animal na segunda e terceira semanas depois do cio. Após o tratamento com PGF2 $\alpha$  as vacas com CL responsivo entrarão em cio 2 a 7 dias depois (a maioria em 3 a 5 dias) e poderão ser inseminadas (Noakes et al., 2019). Este método exige uma boa deteção de cios (Ribeiro, 2015).

### Injeção única de PGF2 $\alpha$



Figura 19: Protocolo de injeção única de PGF2 $\alpha$  (Ribeiro, 2015).

Para obviar esta necessidade de identificar o momento do ciclo em que a vaca se encontra, foram propostos protocolos de injeções duplas de PGF2 $\alpha$  (Figura 20a), que são mais eficazes para sincronizar cio em grupos de vacas (Ribeiro, 2015; Hopper, 2021). Após a primeira injeção de PGF2 $\alpha$  e deteção de cios, uma segunda injeção administrada 11–14 dias depois deve resultar em estro sincronizado do rebanho porque as vacas que responderam à primeira injeção estarão entre o dia 6 a 15 do diestro, com a maioria nos dias 7 a 9 (Cockcroft, 2015; Hopper, 2021). Uma resposta de 100% não é realista, mesmo que todas as vacas do grupo tenham um CL maduro no momento da segunda injeção porque nem todos os CL vão sofrer luteólise, não respondendo ao tratamento (Hopper, 2021).

Os protocolos baseados em PGF2 $\alpha$  têm a limitação de que o intervalo de tempo entre a administração da PGF2 $\alpha$  e o estro/ovulação é bastante variável, uma vez que estas estratégias não controlam o desenvolvimento da onda folicular, pois estas administrações apenas provocam a luteólise (Cockcroft, 2015; Hopper, 2021). Se a deteção do cio não for possível, então uma IA dupla em tempo fixo às 72 e 96 horas após a segunda injeção resultará em taxas de concepção semelhantes àquelas após inseminação em estro espontâneo (Ribeiro, 2015; Noakes et al., 2019). Uma única inseminação em tempo fixo, às 84 horas, pode ser usada, mas resultará em taxas de concepção mais baixas (Noakes et al., 2019). Também pode ser usado um programa misto, usando deteção de estro após a primeira injeção e IATF após a segunda injeção (Figura 20b) (Noakes et al., 2019).

a) Injeção dupla de PGF2 $\alpha$



b) Injeção dupla de PGF2 $\alpha$  com IATF após segunda PGF2 $\alpha$

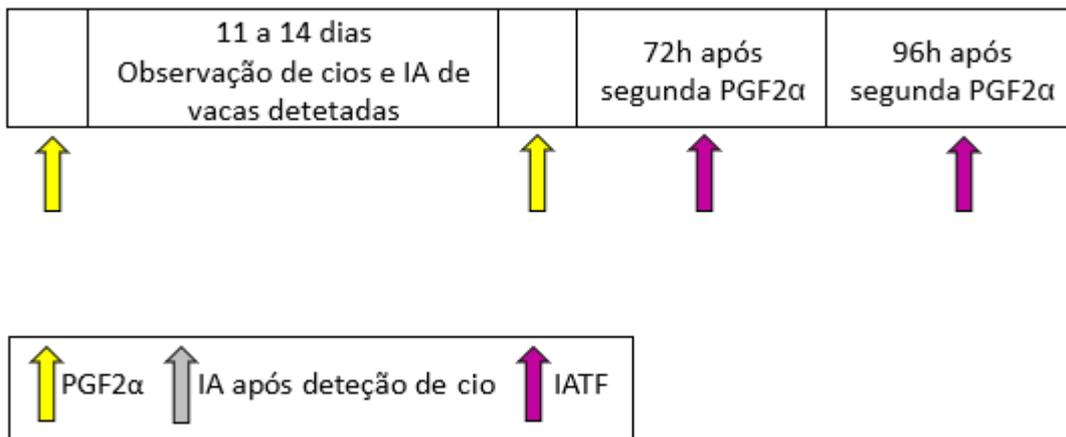


Figura 20: Protocolos com dupla injeção de PGF2 $\alpha$  a) Com inseminação à deteção de cio b) Com IATF após segunda PGF2 $\alpha$  (Ribeiro, 2015)

#### 4.2.2 Protocolos associando PGF2 $\alpha$ e análogos da GnRH: O protocolo Ovsynch

As duas principais razões para a falha dos protocolos baseados na utilização apenas de PGF2 $\alpha$  incluem a variabilidade da resposta do CL em período refratário pós-ovulação a agentes luteolíticos como PGF2 $\alpha$ , e a complexidade e variabilidade dos padrões de ondas foliculares dos bovinos (Noakes et al., 2019). Se, por exemplo, a PGF2 $\alpha$  for administrada a uma vaca com um folículo dominante recém-emergido, a ovulação ocorrerá mais tarde do que se for administrado a uma vaca com um folículo dominante há mais tempo (Noakes et al., 2019). O controle da onda folicular parece ser crítico para o sucesso dos programas de sincronização e indução do estro, sobretudo para garantir que o tempo de ovulação seja regulado com precisão suficiente para fornecer taxas de concepção aceitáveis após a beneficiação por uma única IATF (Cockcroft, 2015; Noakes et al., 2019).

Têm sido propostos novos protocolos para eliminar a deteção de cio e aumentar a eficiência reprodutiva das explorações, focados no controle do corpo lúteo e na dinâmica folicular em

animais cíclicos, resultando em protocolos económicos e práticos para sincronizar a ovulação (Azevedo et al., 2014).

Uma das estratégias mais comuns é o protocolo *Ovsynch*, no qual se combinam GnRH e PGF2 $\alpha$  para sincronizar o momento da ovulação. Este protocolo envolve duas administrações de um análogo de GnRH, intercaladas por uma injeção de PGF2 $\alpha$  (Ribeiro, 2015; Hopper, 2021). Neste protocolo, a GnRH é administrado no dia inicial (dia 0), seguido de PGF2 $\alpha$  no dia 7, com uma segunda injeção de GnRH 56 a 60 horas depois (dia 9) e IATF 16 horas após a segunda injeção de GnRH (Figura 21a) (Hopper, 2021). Em vacas de aptidão leiteira este protocolo sincroniza o desenvolvimento folicular, a regressão do CL e o momento da ovulação, permitindo a IATF sem ser necessária a deteção do cio (Hopper, 2021).

A primeira injeção de GnRH, GnRH<sup>1</sup>, causa a ovulação ou a luteinização de todos os folículos grandes em desenvolvimento ou dos folículos dominantes (geralmente diâmetro  $\geq 8$  mm), e a imergência de uma nova onda folicular cerca de um a dois dias depois (Azevedo et al., 2014; Noakes et al., 2019; Hopper, 2021). Assim, todas as fêmeas do grupo têm folículos em crescimento com aproximadamente o mesmo estágio de desenvolvimento (Noakes et al., 2019). A administração de PGF2 $\alpha$  provoca a regressão do CL acessório ou do folículo luteinizado pela GnRH<sup>1</sup>, ou qualquer CL presente resultante de uma ovulação espontânea anterior (Ribeiro, 2015; Hopper, 2021). A injeção final de GnRH, GnRH<sup>2</sup>, estimula a libertação de um pico de LH resultando na ovulação do folículo dominante (pré-ovulatório) cerca de 28 horas após a última administração. Deve-se realizar a IATF 16 a 20 depois da última injeção de GnRH para conseguir obter sincronia na ovulação das vacas do grupo (Azevedo et al., 2014; Hopper, 2021). O programa é bem-sucedido em vacas em lactação, mas ineficaz nas vacas em anestro e novilhas, que precisam de recorrer programas de sincronização diferentes (Noakes et al., 2019).

No entanto, mesmo em vacas em lactação, existe alguma ineficiência do programa: cerca de 40% das vacas não respondem ao tratamento, o que parece estar associado a uma sincronização insuficiente das ondas foliculares e possíveis falhas na luteólise (Noakes et al., 2019). Quando o protocolo *Ovsynch* é iniciado nos dias 1 a 4 do ciclo éstrico, apresenta taxas de ovulação baixas (cerca de 23%) devido à menor capacidade ovulatória dos folículos no início do ciclo éstrico. Por outro lado, quando o protocolo *Ovsynch* é iniciado entre os dias 5 a 9 do ciclo éstrico as respostas ovulatórias induzidas pela GnRH aumentaram em muito a taxa de ovulação (Noakes et al., 2019), que chega aos 85 a 96%. As respostas ovulatórias à GnRH<sup>1</sup> no programa *Ovsynch* demonstraram afetar positivamente a sincronização e a conceção por IA em vacas leiteiras em lactação devido ao facto de com esta injeção procurarmos uma nova onda folicular com um CL maduro na primeira PGF2 $\alpha$  (Herlihy et al., 2012). Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas na taxa de conceção entre as vacas tratadas com o protocolo *Ovsynch* e vacas inseminadas após deteção do cio natural (38,9% vs. 37,8%, respetivamente) (Pursley et al 1997., Azevedo et al., 2014).

A luteólise completa é essencial para maximizar a fertilidade durante os protocolos de IATF, sendo usado hoje um segundo tratamento com PGF2 $\alpha$ , 24h após o primeiro com objetivo de termos uma luteólise completa do CL (Figura 21b) (Santos et al., 2017; Consentini et al., 2021).

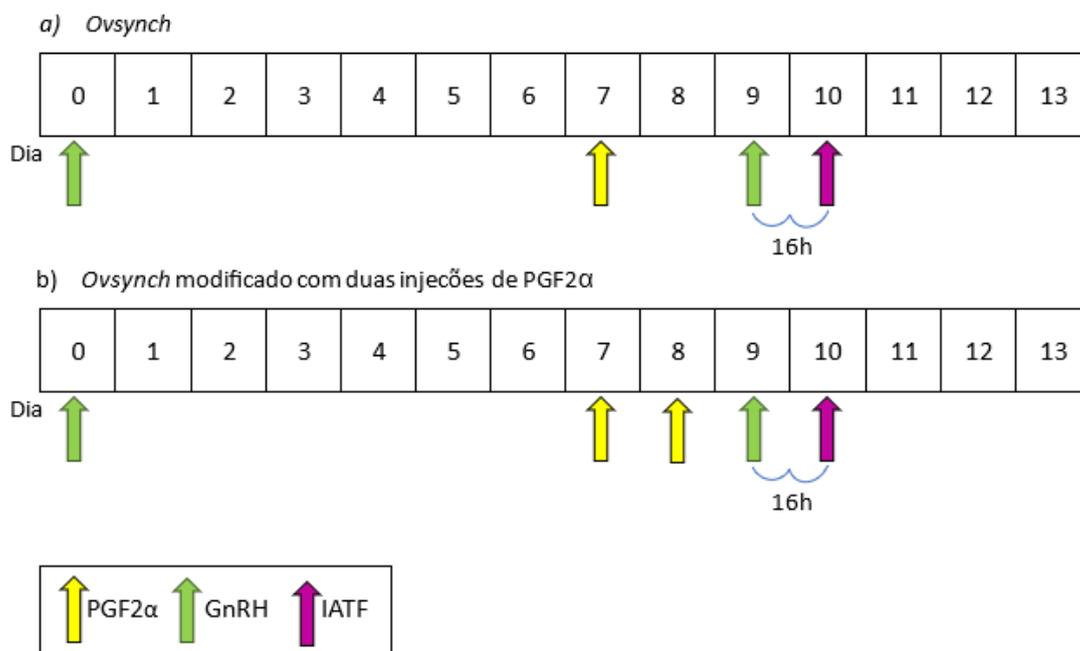


Figura 21: Protocolo Ovsynch a) Com uma injeção de PGF2 $\alpha$  b) Com duas injeções de PGF2 $\alpha$  (Cockcroft, 2015)

Vários estudos avaliaram o impacto da administração da GnRH-2 em simultâneo com a IATF em vacas em lactação com o objetivo de rentabilizar o tempo e mão-de-obra (Azevedo et al., 2014; Ribeiro, 2015).

Haveria a possibilidade de taxas de concepção inferiores quando a GnRH<sup>2</sup> e a IATF eram realizadas 60-64h após a PGF2 $\alpha$ , outros estudos indicaram que atrasar a GnRH<sup>2</sup>, fazendo-a coincidir com a IATF poderia otimizar a maturidade do folículo dominante pré-ovulatório resultando numa melhor taxa de concepção, a este protocolo foi atribuída a designação de *Co-Synch* (Figura 22), recebendo uma designação numérica diferente consoante o número de horas de intervalo entre a administração da primeira PGF2 $\alpha$  e a IATF, por exemplo *Co-Synch-48* e *Co-Synch-72* (Azevedo et al., 2014),

A única diferença em relação ao protocolo Ovsynch está na administração da GnRH<sup>2</sup> em simultâneo com a IA (Hopper, 2021). Estudos não encontraram diferenças na taxa de concepção significativas entre os *protocolos Co-Synch* e *Ovsynch* clássico (Azevedo et al., 2014; Ribeiro, 2015).

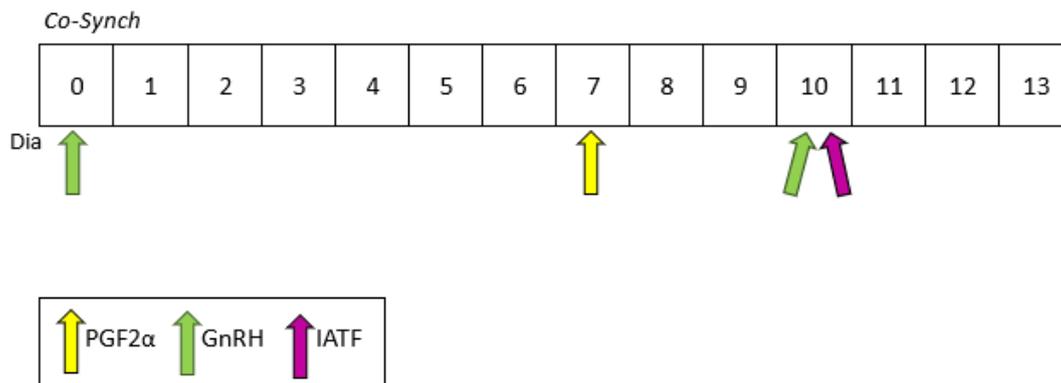


Figura 22: Protocolo Co-Synch (Cockcroft, 2015)

#### 4.2.2.1. Protocolos que visam manipular os padrões de desenvolvimento folicular no início do protocolo

Têm sido estudados vários protocolos objetivando uma pré-sincronização das vacas nos dias 5 a 9 do ciclo éstrico antes de iniciarem o *Ovsynch* (Hopper, 2021). Um aspecto importante desses protocolos é o uso de uma estratégia de pré-sincronização para garantir que a maioria das vacas inicia a porção *Ovsynch* destes protocolos de pré-sincronização num estadio ideal do ciclo éstrico, procurando que as vacas tenham um CL de aproximadamente 7 dias e um folículo dominante da primeira onda folicular que responderá à primeira GnRH do *Ovsynch* (Azevedo et al., 2014; Consentini et al., 2021). Provocar uma nova ovulação na presença de um CL de sete dias leva ao desenvolvimento de dois CL ao longo do protocolo, originando o aumento da P4 circulante durante o desenvolvimento do folículo pré-ovulatório (Consentini et al., 2021). Uma vez que estes protocolos são mais longos, eles são utilizados exclusivamente para a primeira IA após o parto, sobretudo porque a fase de pré-sincronização pode ser iniciada ainda antes de terminar o PVE, não atrasando a primeira IA pós parto (Consentini et al., 2021).

Procurando aumentar a percentagem de animais com resposta ovulatória máxima à GnRH<sup>1</sup> do protocolo *Ovsynch*, foi desenvolvido um protocolo, designado por G-6-G (Figura 23) – em que as vacas recebem uma injeção de PGF2α, no dia de início desse mesmo protocolo, 2 dias depois recebem uma administração de GnRH, 6 dias antes de iniciarem o protocolo *Ovsynch* (Consentini et al., 2021; Hopper, 2021). Desta forma, o programa G-6-G permite aumentar a percentagem de vacas no momento ideal do ciclo éstrico no início do protocolo *Ovsynch*. A administração das duas hormonas antes do início do *Ovsynch* procura desencadear um novo ciclo éstrico, pelo que quando a vaca inicia o *Ovsynch* está no 6º dia do novo ciclo e muito provavelmente terá um folículo dominante capaz de ovular em resposta à GnRH<sup>1</sup> do programa *Ovsynch*; para além disso, a inclusão de PGF2α durante na fase de pré-sincronização poderá beneficiar vacas anovulatórias (Consentini et al., 2021; Hopper, 2021).

Alguns estudos reportam a existência de uma maior taxa de ovulação ao GnRH-1 (85 vs. 54%), maior resposta ao PGF2 $\alpha$  (96 vs. 69%), melhor taxa de sincronização (92 vs. 69%) e maior taxa de concepção (50 vs. 27%) em vacas submetidas ao G-6-G comparativamente ao protocolo *Ovsynch* iniciado em dias aleatórios do ciclo éstrico (Bello et al., 2006).

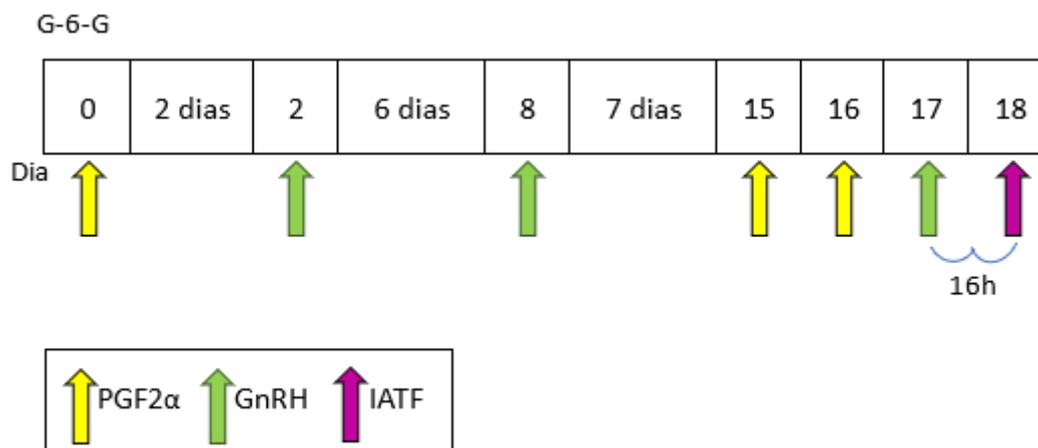


Figura 23: Protocolo G-6-G (Consentini et al., 2021)

Outros protocolos existem que recorrem a uma fase de pré-sincronização. Um dos protocolos desenvolvidos é baseado em duas administrações prévias de PGF $\alpha$ , sendo conhecido como protocolo *Presynch-Ovsynch* (PO) (Herlihy et al., 2012; Consentini et al., 2021). O PO baseia-se na administração de duas doses PGF2 $\alpha$  com 14 dias de intervalo, ao que se segue um protocolo do tipo *Ovsynch* 11/12 dias após a segunda PGF2 $\alpha$  (Figura 24) (Azevedo et al., 2014; Noakes et al., 2019; Consentini et al., 2021).

O protocolo PO permite aumentar a fertilidade em comparação com o protocolo *Ovsynch*, Consentini et al. (2021) reporta taxas de concepção de 42,8% vs. 29,4% para o programa PO e o programa *Ovsynch* respetivamente, no que é concordante com Azevedo et al. (2014) que menciona taxas de concepção de 46,8% vs. 37,5% para as dos protocolos PO e *Ovsynch* respetivamente.

Devemos realçar que PO apenas aumentou a fertilidade em vacas cíclicas, pelo que se entende como uma limitação o programa não ser eficaz em vacas anovulatórias (Herlihy et al., 2012; Consentini et al., 2021). Assim, se a percentagem de vacas anovulatórias em início da lactação for alta na exploração, será mais indicado recorrer a estratégias que induzam a ovulação durante a pré-sincronização (Consentini et al., 2021). Por outro lado, o protocolo PO não sincroniza de forma precisa as vacas para estarem no dia mais adequado quando iniciam o *Ovsynch*, pois a indução do cio ocorre num tempo variável após tratamentos com PGF2 $\alpha$  (Consentini et al., 2021). Um último aspeto a ser considerado é se se deve inseminar vacas observadas em cio durante o protocolo *Presynch-Ovsynch*. A percentagem de vacas detetadas em cio após a segunda PGF2 $\alpha$  pode ser superior a 50%, mas as vacas inseminadas mais cedo no período pós-parto tendem a

ter fertilidade menor em comparação com vacas que não são inseminadas apenas na IATF no final do programa (Borchardt et al., 2016).

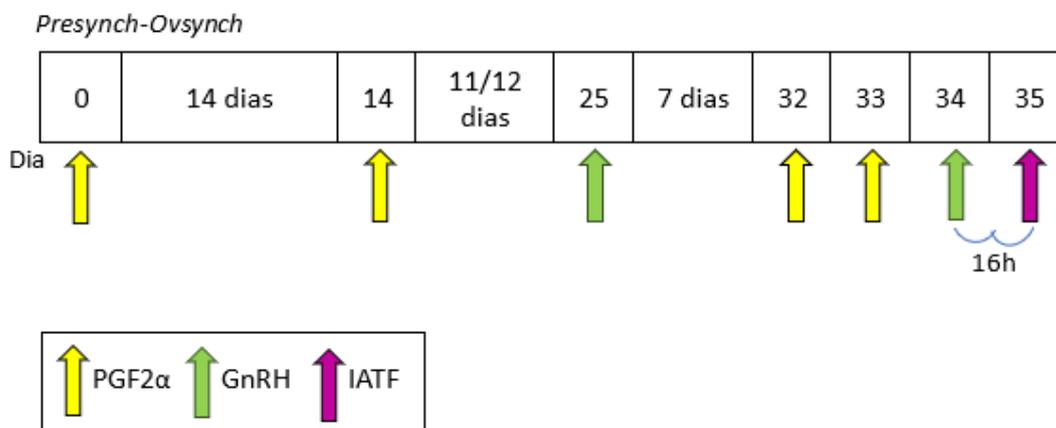


Figura 24: Protocolo Presynch-Ovsynch com 11 dias entre a PGF2α e a GnRH-1 do Ovsynch (Adaptado de Cockcroft, 2015)

Uma estratégia que tem sido relatada para induzir ciclicidade em vacas leiteiras anovulatórias é o uso de dois protocolos *Ovsynch* consecutivos, um para sincronizar a onda folicular, e o outro para sincronizar a ovulação. A este protocolo chama-se *Double-Ovsynch* (Herlihy et al., 2012; Noakes et al., 2019). Resumidamente (Figura 25), no dia 0 as vacas receberam o primeiro tratamento com GnRH seguido pelo tratamento com PGF2α 7 dias depois e GnRH novamente 72h após PGF2α. Passados 7 dias, as vacas receberam um novo tratamento com GnRH seguido de 2 tratamentos com PGF2α 7 e 8 dias depois desde o último tratamento com GnRH, e por fim uma administração mais de GnRH administrada 56 horas após a primeira PGF2α com IATF 16 a 20h depois (Santos et al., 2017).



Figura 25: Protocolo Double-Ovsynch (Adaptado de Santos et al., 2017)

Estudos referidos por Azevedo et al. (2014) evidenciam taxas de concepção de 49,7% vs. 41,7% para os programas *Double-Ovsynch* e *Presynch-Ovsynch* respectivamente: uma maior taxa de sincronização da ovulação no DO poderá estar associada à disponibilidade de um folículo dominante que ovulará após a terceira administração de GnRH e ao aumento dos níveis de progesterona anterior à administração de PGF2 $\alpha$ .

Quando comparados os dois protocolos constatou-se que o programa DO diminuiu a percentagem vacas com P4 < 1,0 ng/mL no momento da primeira administração de GnRH do protocolo *Ovsynch* (9,4 vs. 33,3%, respectivamente), e aumentou a progesterona circulante após PGF2 $\alpha$  (4,2 vs. 3,2 ng /mL, respectivamente) (Souza et al., 2008).

Foi ainda mencionado que 94% das vacas no DO tinham um CL no momento da primeira GnRH em comparação com 68% das vacas no PO, e ainda que a existência de a ovulação na primeira GnRH foi maior no DO (80%, vs. 69,9% no PO), e a percentagem de vacas com CL (P4 $\geq$ 1,0 ng/mL) no momento da PGF2 $\alpha$  foi maior no DO que no PO (88 vs. 76% respectivamente) (Ayres et al., 2013).

O programa *Double-Ovsynch* oferece benefícios para vacas sem ciclos e uma maior taxa de ovulação em resposta aos tratamentos de pré-sincronização (Herlihy et al., 2012; Consentini et al., 2021). Com este programa é possível que o aumento das concentrações de progesterona durante o crescimento do folículo dominante, juntamente com a ovulação de folículos dominantes menores se as vacas são submetidas a IATF após um protocolo de *Double-Ovsynch*, contribua para uma melhor qualidade do embrião, resultando em taxas de concepção mais elevadas do que quando as vacas são inseminadas após um cio detetado (Santos et al., 2017).

Uma variante do protocolo *Presynch-Ovsynch*, designada por *Presynch-G-Ovsynch*, consiste na inclusão de uma injeção adicional de GnRH 7 dias antes do *Ovsynch*.

Quando se comparou o desempenho reprodutivo de bovinos submetidos a um *Presynch-G-Ovsynch* com o *Double-Ovsynch* e com um programa de reprodução convencional (CRMP), que consiste em IA seguida da detecção de cio, ou num *Ovsynch* sem pré-sincronização às vacas com mais de 70 dias em leite. Regista-se um encurtamento do intervalo entre o parto concepção, que é de 28 dias nas vacas submetidas a *Presynch-G-Ovsynch*, e de 22 dias para vacas subtidas ao *Double-Ovsynch* quando comparadas com vacas do grupo CRMP (Kim et al., 2020), Foi ainda estimado que a probabilidade de gestação aos 32 e 60 dias após concepção é maior nos grupos sujeitos aos programas de pré-sincronização do que no grupo CRMP. Não há diferenças entre o *Presynch-G-Ovsynch* e *Double-Ovsynch* no que respeita à prevalência de endometrite pós-parto aos dias 30 e 52.

### 4.2.3. Protocolos à base de progestagénios

Para maximizar a fertilidade das vacas é conveniente assegurar níveis circulantes elevados de progesterona, durante o diestro, depois irá favorecer a eficiência da IA subsequente, pois as vacas de alta produção leiteira tendem a apresentar baixas concentrações circulantes de P4. A utilização de dispositivos intravaginais apresentam-se como uma forma prática de suplementação desta hormona (Azevedo et al., 2014). Embora os implantes intravaginais de P4 possam ser usados para melhorar a fertilidade durante os protocolos de IATF, deve notar-se que é sempre preferível um bom CL ativo pois consegue melhores concentrações de P4 circulantes (Consentini et al., 2021).

A suplementação de P4 durante um protocolo *Ovsynch* (*Ovsynch* + CIDR/PRID, Figura 26) é a combinação de uso frequente. A inserção do CIDR/PRID ocorre no dia 0, sendo o dispositivo retirado no dia 7; aquando da inserção do CIDR/PRID é administrada uma injeção de GnRH, e faz-se uma administração de PGF2 $\alpha$  no dia da remoção do CIDR/PRID e no dia subsequente, administra-se uma segunda injeção de GnRH 2 dias após a de PGF2 $\alpha$  (Aral et al., 2020).

O uso destes protocolos traduz-se numa melhoria da taxa de conceção comparativamente ao *Ovsynch* clássico, sempre que exista um número elevado de vacas não cíclicas ou em vacas com níveis baixos de P4 circulante antes da administração de PGF2 $\alpha$ . De facto, ao aumentar os níveis de P4 em vacas com baixos níveis desta hormona antes da administração de PGF2 $\alpha$ , regista-se uma melhoria da fertilidade na inseminação subsequente (Azevedo et al., 2014; Aral et al., 2020; Consentini et al., 2021). Esses protocolos são particularmente vantajosos em vacas em anestro e em vacas com ovários quísticos (Ribeiro, 2015; Hopper, 2021). A aplicação destes dispositivos, também é usada em casos de ameaça de morte embrionária, (Figura 27), aplicado quando há um primeiro diagnóstico de gestação com um CL suspeito de não sustentar a gestação e retirada após nova confirmação da gestação pelo médico veterinário assistente (Ribeiro, 2015).

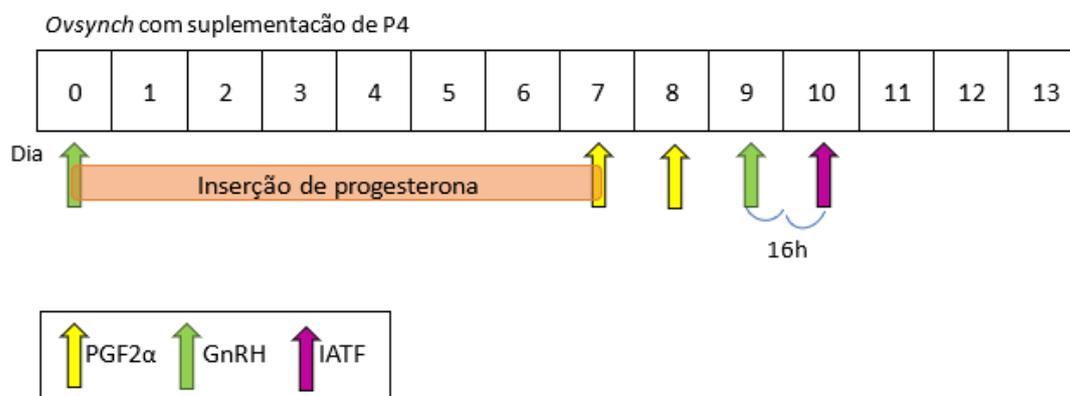


Figura 26: Protocolo *Ovsynch* com suplementação de P4 (Adaptado de Cockcroft, 2015)

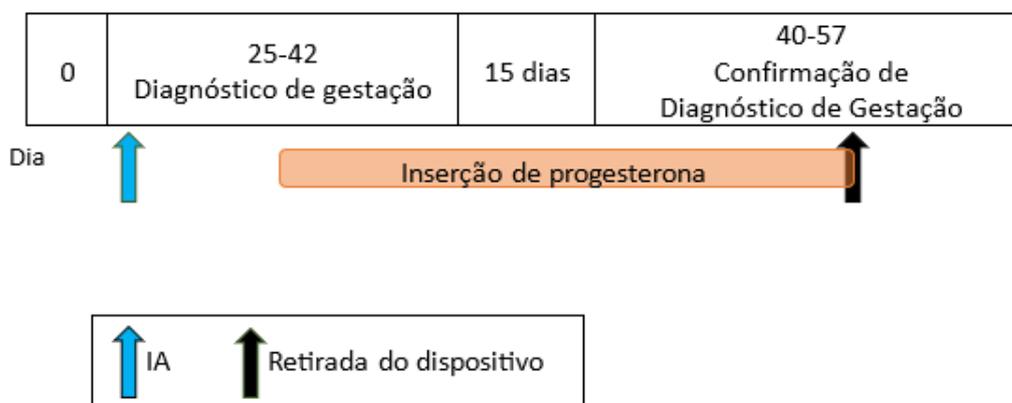


Figura 27: Protocolo utilizado na prevenção da morte embrionária precoce por disfuncionalidade do CL (Adaptado de Ribeiro, 2015)

#### 4.2.4. Ressincronização das vacas que não ficaram gestantes após tratamento de sincronização

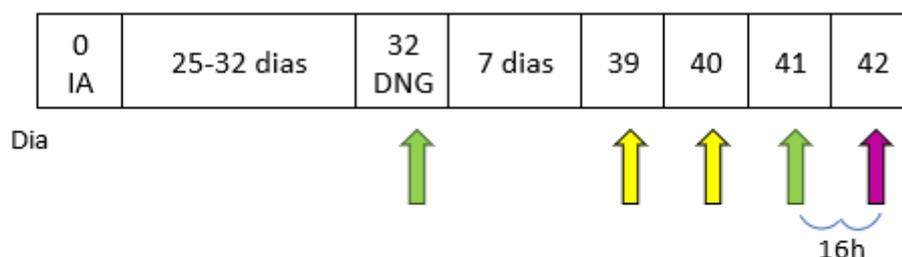
Para manter uma eficiência reprodutiva adequada, é essencial que as vacas não gestantes à primeira inseminação voltem a ser inseminadas o mais rapidamente possível, para que não se prolongue o intervalo entre partos (Azevedo et al., 2014; Consentini et al., 2021). Um programa de manejo reprodutivo que aplique diferentes métodos de ressincronização com base nas estruturas ováricas detetadas aquando de um diagnóstico negativo de gestação, através de ecografia ou palpação transretal, é uma alternativa viável para reduzir o intervalo entre inseminações (Sauls-Hiesterman et al., 2020). A ressincronização da ovulação em vacas diagnosticadas como não gestantes após a IATF recebe o nome de *Resynch* (Azevedo et al., 2014). As estratégias mais comuns para reinseminar vacas vazias são a deteção de estro ou a inseminação usando programas de IATF após o diagnóstico de não gestação (DNG) (Consentini et al., 2021). Iniciar o protocolo de ressincronização no dia do DNG, ao dia 32 ou no dia 39 após uma IA anterior não diferiu em termos de taxa de concepção (Consentini et al., 2021).

Vários estudos foram realizados para melhorar a eficiência dos programas de *Resynch*. Vários estudos comparam 3 protocolos para a ressincronização (Figura 28). O *Short Synch*, que consiste num *Ovsynch* abreviado em que no momento do DNG em vacas com CL é administrado PGF2 $\alpha$ , 24h depois uma nova injeção de PGF2 $\alpha$  e 32h depois do DNG é administrado GnRH com IATF 16h depois (Sauls-Hiesterman et al., 2020).

Um segundo protocolo é um *Ovsynch* modificado com duas PGF2 $\alpha$ , iniciado no momento do DNG, o *Resynch*, que recebe a sua designação em função do dia em que é feito o DNG, se for feito o DNG no dia 32 após IA recebe o nome de *Resynch-32* (Sauls-Hiesterman et al., 2020).

Uma terceira estratégia em vacas sem CL no momento do NPG é a utilização de um protocolo *Ovsynch* com suplementação de progesterona, *Resynch + P4*, também iniciado no momento do DNG (Sauls-Hiesterman et al., 2020).

a) *Resynch-32*



b) *Short Synch*



c) *Resynch 32+P4*



Figura 28: a) Protocolo *Resynch* b) Protocolo *Short Synch* c) Protocolo *Resynch +P4* (Adaptado de Sauls-Hiesterman et al., 2020)

A remoção do primeiro tratamento com GnRH, em comparação com o *Ovsynch* normal, em vacas do programa *Short Synch* com um CL funcional no DNG produziu uma taxa de concepção comparável ao programa *Resynch-32*. A suplementação com P4 de vacas sem CL funcional com progesterona no momento do primeiro GnRH alcançou taxas de concepção idênticas em comparação com vacas que tinham CL funcional (Sauls-Hiesterman et al., 2020; Consentini et al., 2021).

A precisão da detecção de um CL funcional é fundamental para maximizar a taxa de concepção no tratamento *Short Synch*, sendo um bom programa de ressincronização pois reduz o intervalo médio entre o DNG e nova IA em 7 dias, pois a taxa de concepção não difere da obtida por programas de *Resynch* (Sauls-Hiesterman et al., 2020).

## **5. Aplicação da ultrassonografia na reprodução bovina**

Em bovinos, a avaliação das estruturas reprodutivas por ecografia é feita de maneira similar à da palpação transretal. O transdutor avança cranialmente ao longo do púbis, no chão retal, para avaliar estruturas como o útero, cornos uterinos, ovários entre outras (Dixit et al., 2022). A avaliação reprodutiva com recurso à ecografia, por permitir uma melhor acuidade no exame das estruturas, evidencia eficiência de diagnóstico muito superiores quando comparadas com a avaliação manual, o que permite evitar perdas económicas relacionadas com custos terapêuticos, mão-de-obra e principalmente em termos de dias abertos dos animais se houver erros com a avaliação manual em comparação com avaliação por ecografia (Gardón & Satué, 2021).

### **5.1. Avaliação do útero**

O útero e os cornos uterinos são as primeiras estruturas a serem avaliadas durante a ecografia transretal (Mali et al., 2022). Como o útero é composto por tecido mole, absorve uma parte das ondas de ultrassom e reflete uma outra parte, desta forma, podemos identificar o útero como uma estrutura de ecogenicidade moderada a baixa, tanto no corte transversal quanto no corte sagital, sendo que a ecogenicidade depende do tónus uterino e do conteúdo luminal, resultante dos diferentes estágios lúteo e folicular do ciclo éstrico (Mali et al., 2022; Kumaresan & Srivastava, 2022).

Não é possível estabelecer o momento do ciclo com base na ecografia, pelas características ecográficas do útero; essa avaliação deve ser feita tendo em conta o mapa folicular de ambos os ovários (Gardón & Satué, 2021). Durante o estro, o endométrio aparece espessado (edema) com baixa ecogenicidade e com manchas anecóicas (vasos sanguíneos, edema) (Figura 29), o lúmen uterino encontra-se dilatado e anecóico na ausência de endometrite (Gardón & Satué, 2021).

A espessura da parede do endométrio em bovinos pode ser medida para confirmação de animais com endometrite subclínica. Geralmente, a parede do endométrio tem uma espessura até 8 mm em animais cíclicos; acima desta espessura, e se a textura do endométrio estiver hiperecogénica, pode ser facilmente diagnosticada como endometrite subclínica (Mali et al., 2022).

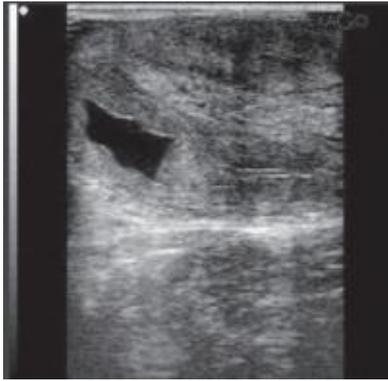


Figura 29: Imagem ecográfica de um útero em estro

## 5.2. Avaliação dos ovários

Os ovários têm formato elíptico, redondo ou de amêndoa com contorno hiperecótico, nos bovinos apresentam um diâmetro de aproximadamente de 15 × 35 mm (Mali et al., 2022). As estruturas mais importantes presentes no ovário são o corpo lúteo e os folículos (Gardón & Satué, 2021). O CL tem contornos bem definidos e uma aparência ecogénica menos ecogénica do que o estroma ovariano, apresentando cor cinza e formato oval separado das outras estruturas do ovário (Dixit et al., 2022; Kumaresan & Srivastava, 2022). Embora o CL apareça geralmente como uma estrutura sólida (Figura 30a), em algumas situações podem observar-se corpos lúteos cavitários, ou seja apresentando cavidades anecogénicas devido à presença de líquido, (Figura 30b) (Kumaresan & Srivastava, 2022). Atualmente crê-se que a presença de cavidade não afete a sua funcionalidade, que em todos os aspetos é um CL normal, que produz progesterona normalmente, e não estão correlacionadas com menores taxas de concepção, ou maiores taxas de morte embrionária e/ou fetal, nem influencia em nada a duração do ciclo éstrico (Gardón & Satué, 2021) como se pensava anteriormente. Até ao dia 10 pós-oculação, 35-70% de todos os CL em ciclos normais contêm uma cavidade visível à ecografia (Dixit et al., 2022). Entre o 10º e o 15º dia do ciclo, 70% dos CL cavitários perdem a cavidade, que vai sendo invadida por novo tecido luteínico (que parece mais ecogénico do que o tecido luteínico que constituía a parede da cavidade do CL) (Figura 30c) (Gardón & Satué, 2021). Um CL cavitário também pode ser um corpo lúteo gravídico; cerca de 10% dos CL entre 28 e 35 dias de gestação são cavitários (Gardón & Satué, 2021).

Os folículos antrais são facilmente detetados na ecografia. São estruturas anecogénicas delimitadas por tecido ovário de ecogenicidade superior (Figura 31a) (Kumaresan & Srivastava, 2022). Os vasos sanguíneos do ovário podem por vezes ser confundidos com folículos; na sua maior parte localizam-se no limite do ovário, no hilo e em torno do corpo lúteo (Dixit et al., 2022). A ecografia é também útil no diagnóstico de condições patológicas nos ovários, como folículos

quísticos, e em particular permitem determinar a existência de luteinização da parede e assim distinguir entre quistos foliculares e luteínicos (Figura 31b) (Mali et al., 2022).

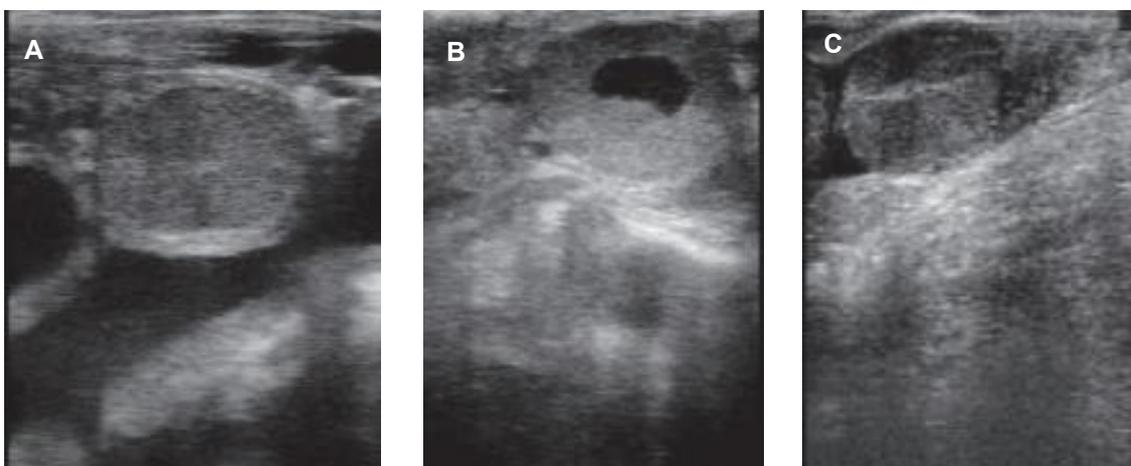


Figura 30: Imagens ecográficas do ovário de vaca evidenciando: a) CL compacto b) CL cavitário c) CL com cicatriz (Gardón & Satué, 2021)

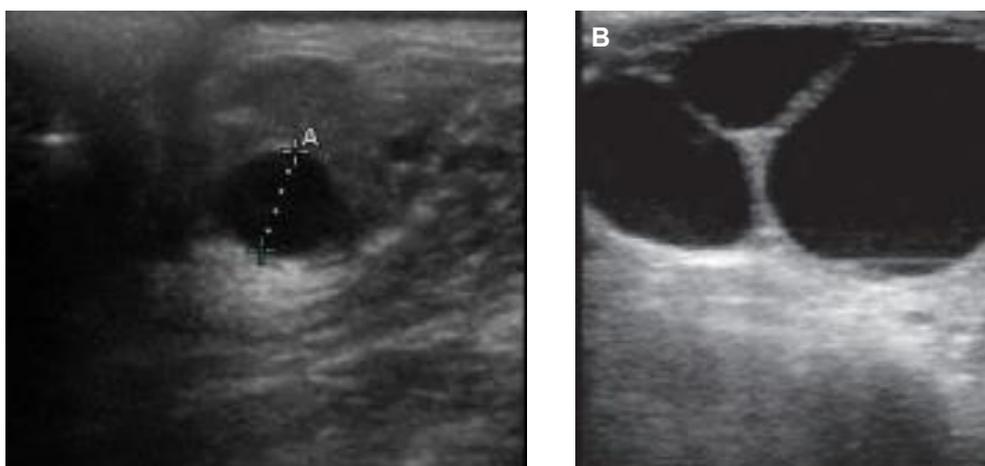


Figura 31: Imagens ecográficas do ovário de vaca evidenciando: a) Folículo dominante de 1,06 cm (Gardón & Satué, 2021) b) Múltiplos folículos quísticos (Dixit et al., 2022).

### 5.3. Diagnóstico de gestação

O diagnóstico precoce da gestação é um fator chave no manejo reprodutivo dos efetivos leiteiros. É particularmente importante o diagnóstico de não gestação para manter um intervalo de partos dentro do esperado (Kumaresan & Srivastava, 2022). A detecção precoce de vacas vazias permite a sua reintrodução em reprodução, evitando-se estender os dias abertos, pois são essas vacas que têm maior impacto nas perdas económicas (Gardón & Satué, 2021).

A ecografia é o método mais eficiente para uma detecção precoce da gestação (Mali et al., 2022), mas, numa fase precoce da gestação, a mera presença de um corpo lúteo (ou mais do que um) e líquido no útero, permite apenas fazer um diagnóstico de suspeita de gravidez (Gardón &

Satué, 2021). A observação do embrião é teoricamente possível muito cedo, a partir do 19º dia, mas a sua detecção é mais fácil a partir do 25º dia de gestação. Em menos de 50% dos casos, o embrião pode ser detetado com recurso a ecografia entre os 24 a 25 dias sem que haja necessidade de manipular o útero. A precisão do diagnóstico aumenta entre os 26º e o 33º dias, reduzindo a frequência de falsos positivos (Nogueira et al., 2021). Uma manipulação mais intensa do útero pode originar a libertação de PGF2 $\alpha$ , o que pode estar na origem de mortalidade embrionária tardia (Gardón & Satué, 2021; Kumaresan & Srivastava, 2022). Ainda assim, Bond et al. (2019) revelaram que a palpação do trato reprodutivo para diagnóstico de gestação por estudantes inexperientes não aumentou o risco de aborto comparada com o diagnóstico de gestação por um clínico experiente com recurso a ecografia transretal.

Em condições ótimas, o batimento cardíaco pode ser visualizado entre o 24º e 30º dia de gestação (Kumaresan & Srivastava, 2022). Entre o 20º e o 22º dia, o embrião está apostado ao endométrio e envolto por uma pequena área circular de fluido, entre 3 a 5 mm (Nogueira et al., 2021), mas ainda não existe formação de carúnculas ou cotilédones. Ao 25º dia, aproximadamente, a detecção do fluido corioalantóide e a visualização da vesícula embrionária (Figura 32a) são fortemente sugestivas de gestação, sendo referenciado como o tempo mínimo para alcançar eficiência no diagnóstico (Nogueira et al., 2021). Acima do 30º dia de gestação (Figura 32b), é possível visualizar claramente o embrião, que, nessa fase, se encontra mais solto do endométrio; com aparelhos de boa resolução, torna-se fácil a perceção dos batimentos cardíacos e, com isso, a identificação da viabilidade fetal (Gardón & Satué, 2021; Nogueira et al., 2021).

Os membros anteriores podem ser observados aos 29 dias, e os posteriores aos 31 dias. O saco alantoide torna-se proeminente entre o 22º e o 23º dia, preenchendo o corno ipsilateral entre os dias 32 e 33, e o contralateral entre os dias 35 e 37. No intervalo de tempo entre os dias 22 e 30 de gestação, o embrião apresenta a forma de C e, entre os dias 29 a 39, apresenta a forma de L (Nogueira et al., 2021). A fenda nos cascos torna-se visível entre o 42º e o 49º dia, sendo que do 42º ao 50º dia, iniciam-se os movimentos dos membros e da cabeça e do 51º ao 55º dia, aparecem as costelas (Figura 32c) (Nogueira et al., 2021).

A morte embrionária é um problema importante no maneio ginecológico da pecuária bovina (Gardón & Satué, 2021). O diagnóstico de morte embrionária com auxílio de ecografia assenta em sete critérios: a frequência cardíaca, que entre os 27º e 28º dia que deve ter um valor de 120 a 130 bpm; a turvação dos líquidos amniótico e alantoide, que devem ser completamente anecoicos, já em situação de morte embrionária pode-se observar um aumento da celularidade dos fluídos embrionários [fenómeno por vezes descrito como “tempestade de neve” (Figura 32d); a separação da membrana corioalantóide, que aparece ecograficamente como uma linha fina flutuando no interior do bordo endometrial. Associado à morte embrionária é frequente observar-se algum edema do endométrio, difuso ou localizado. (Figura 32e), além da ausência de embrião.

Por último, deve confirmar-se as dimensões esperadas do embrião na altura do exame (Gnemmi et al., 2017). As perdas que ocorrem durante os primeiros 45 dias de gestação são chamadas de morte embrionária, momento em que o embrião já está implantado no útero, as perdas que ocorrem após esse período são chamadas de aborto pois já se denomina de feto (Ferrucho-Ostos & Vázquez, 2021). A morte embrionária pode ocorrer em três períodos: mortalidade embrionária muito precoce, quando ocorre desde da IA até o 7º dia de gestação, mortalidade embrionária precoce, ocorre do 8º ao 24º dia de gestação, e mortalidade embrionária tardia ocorre do 25º dia até ao 45º dia de gestação (Rizzoni, 2012; Ferrucho-Ostos & Vázquez, 2021).

Um estudo, refere taxas de fertilização de 90%, indicando que no dia 8 pós IA a sobrevivência embrionária era de 93%, mas no dia 12 esta sobrevivência caiu para 56%, sugerindo que há efetivamente uma grande percentagem de mortes embrionárias numa fase muito precoce da gestação (Ferrucho-Ostos & Vázquez, 2021).

As perdas nos primeiros 14 a 19 dias de gestação chegam a 30-40% e na maioria das vezes não são detetadas, com o avançar da gestação, dos dias 18 a 28 e 30 a 45, período em que se inicia a formação da placenta, as perdas rondam os 5 a 10% respetivamente (Rizzoni, 2012; Ferrucho-Ostos & Vázquez).

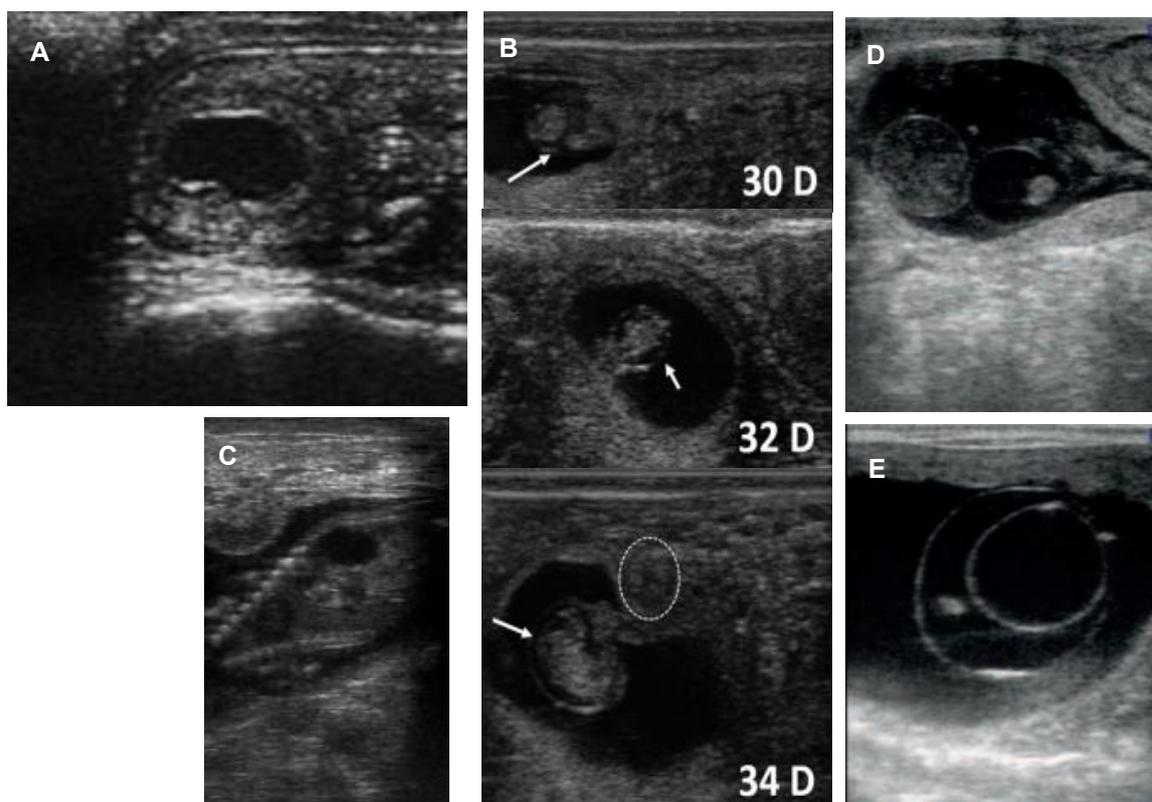


Figura 32: Imagens ecográficas de vaca gestante a) Útero com líquido aos 24 dias de gestação (Gasperin et al., 2017) b) Gestações entre 30 e 34 dias (Gasperin et al., 2017) c) Visualização de costelas (Nogueira et al., 2021) d) Turbidez dos líquidos amniótico e alantoide sugerindo morte embrionária (Gnemmi et al., 2017) e) Edema do endométrio indicando morte embrionária. Setas brancas indicam a vesícula amniótica contendo o embrião no interior. O círculo pontilhado indica um ápice de corno uterino sem líquido, comumente observado em gestação ao redor de 30 dias (Gnemmi et al., 2017).

## II. Objetivos

Com a realização deste trabalho estabeleceram-se os seguintes objetivos:

- Conseguir transpor os conhecimentos adquiridos durante o tempo de aprendizagem académica para a prática clínica de espécies pecuárias, mais em particular, bovinos,
- Pretendemos adquirir e desenvolver competências e técnicas profissionais que nos capacitem da melhor forma para exercer a profissão,
- Conseguir a integração numa equipa em contexto profissional.

Os objetivos específicos colocados na realização deste trabalho de dissertação prendem-se principalmente com a avaliação da taxa de conceção ao primeiro serviço pós-parto de dois protocolos de pré-sincronização diferentes, o *Double-Ovsynch* e o *Presynch-Ovsynch*. Como objetivos secundários avaliamos a taxa de mortes embrionárias em cada um dos protocolos e ainda a taxa de conceção do sémen convencional e sexado usados nas inseminações do período avaliado.

Este trabalho tem como objetivo ajudar o sector da reprodução bovina, tentando confirmar as principais hipóteses referenciadas pela bibliografia existente e tirar as devidas conclusões associadas.

### **III. Estudo comparativo dos protocolos de sincronização Double-Ovsynch e Presynch-Ovsynch ao primeiro serviço pós-parto em bovinos de leite na região de Estarreja**

Nos tempos atuais existe a necessidade de recorrer a estratégias eficazes para submeter as vacas ao primeiro serviço, representando uma componente crítica no sucesso dos programas de manejo reprodutivo para vacas em lactação. Através deles procura-se submeter todas as vacas a IATF após sincronização da ovulação ou inseminar à deteção de estro. Todos os programas de IATF podem ser benéficos pois reduzem a variabilidade e o número de dias ao primeiro serviço, independentemente da capacidade das vacas exibirem cio ou da eficiência de deteção de cios nas explorações.

Com o presente estudo, vamos comparar a taxa de concepção para vacas leiteiras submetidas ao primeiro serviço usando IATF, em vacas sincronizadas com o protocolo *Presynch-Ovsynch*, versus após sincronização da ovulação com o protocolo *Double-Ovsynch*. Como objetivos secundários, vamos comparar a concepção com o uso de sémen sexado versus sémen convencional e analisar a taxa de mortalidade embrionária registada para cada um dos protocolos.

## **1. Material e métodos**

### **1.1. Caracterização das explorações**

Em ambas as explorações, as vacas são ordenhadas duas vezes ao dia a intervalos de cerca de 12 horas. As vacas são alimentadas duas vezes ao dia com recurso a unifeed, sendo que a exploração 1 utiliza ração total misturada e a exploração 2 trabalha com matérias-primas. As vacas estão alojadas em estábulos com camas de serrim e na exploração 1 há um parque livre, sendo as camas de palha. Os animais têm acesso *ad libitum* a ração e água nas duas explorações. Ambas as explorações têm um parque de vacas recém-paridas para melhor acompanhamento da sua condição, assim como um parque de pré-parto e outro para vacas secas.

Numa perspetiva geral atual, na exploração 1 (Figura 33), existe um total de 189 animais, dos quais 103 (57%) são vacas e 78 (43%) um grupo de vitelas e novilhas. Dentro destas últimas, 37 (20%) são vitelas e 41 (22%) são novilhas adultas. No grupo de animais adultos, 103 (54%) são vacas de aptidão leiteira, 2 (1%) são fêmeas de carne e 6 (3%) machos. O grupo das 103 vacas é constituído por 85 (83%) vacas em ordenha e 18 (17%) vacas secas. A distribuição de lactações no efetivo é a seguinte: 33 (32%) das vacas em 1ª lactação, 22 (21%) em 2ª lactação e 30 (29%) das vacas com 3 ou mais lactações. Nesta exploração temos, ao dia de hoje, a idade média das

vitelas de 8 meses e 19,8 meses para as novilhas; existe uma proporção de 90% de vitelas em relação às novilhas, e de 75% de fêmeas não adultas em relação às vacas. A idade média ao 1º serviço é de 14,3 meses, sendo que 76% das vitelas tornaram-se adultas nos últimos 12 meses

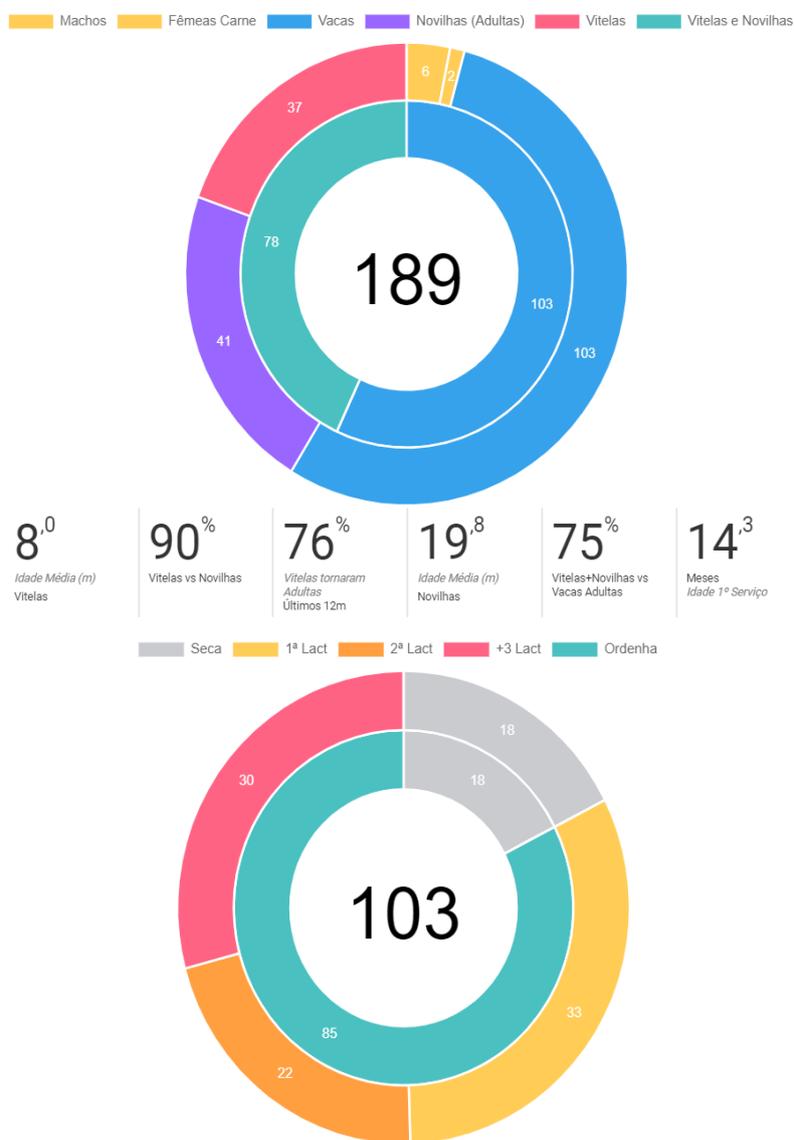


Figura 33: Dados gerais da exploração 1

Na exploração 2 (Figura 34), existe um total de 446 animais, dos quais 230 (52%) são vacas e 215 (48%) um grupo de vitelas mais novilhas. Dentro destas últimas, 119 (27%) são vitelas e 96 (22%) são novilhas adultas. No grupo de animais adultos, temos 213 (93%) em ordenha e 17 (7%) são vacas secas, tendo ainda 88 (38%) em 1ª lactação, 66 (29%) em 2ª lactação e 59 (26%) das com mais de 3 lactações.

Nesta exploração temos, ao dia de hoje, as vitelas com idade média de 5,1 meses e 16,3 meses para as novilhas, existe uma proporção de 123% de vitelas em relação às novilhas, e de 93% de

fêmeas não adultas em relação às vacas. A idade média ao 1º serviço é de 12,3 meses, 73% das vitelas tornaram-se adultas nos últimos 12 meses.

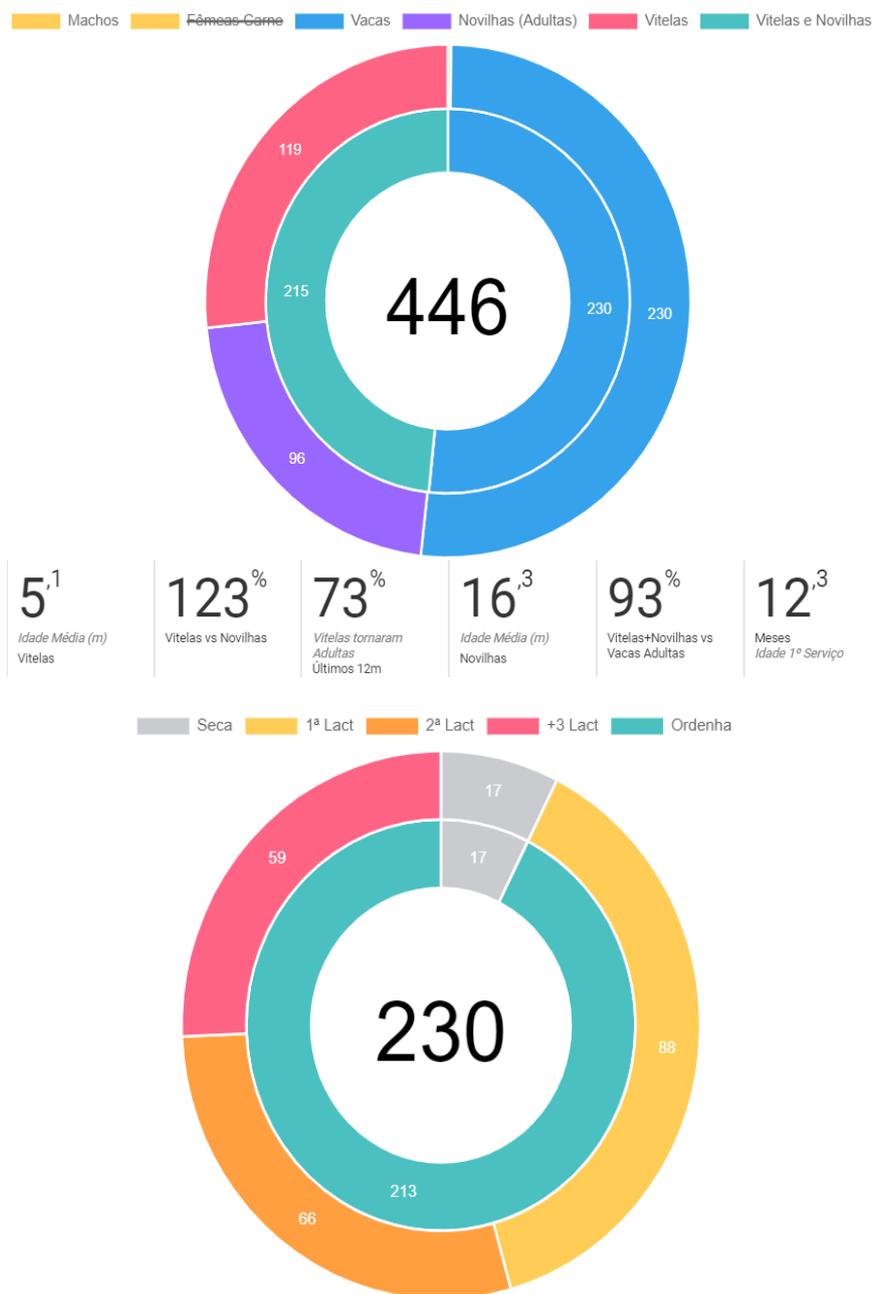


Figura 34: Dados gerais da exploração 2

A tabela 1 sumaria os dados relativos aos indicadores reprodutivos nas duas explorações em estudo. Analisando alguns parâmetros reprodutivos, na exploração 1 existe uma média de 120,4 dias em aberto, 80,2 dias ao 1º serviço, com 2,2 serviços por concepção e uma média de 415,4 dias para o intervalo entre partos enquanto na exploração 2 existe uma média de 107,1 dias em

aberto, 68,1 dias ao 1º serviço, 2,1 serviços por concepção e 376,7 dias para o intervalo entre partos.

No que diz respeito a algumas taxas reprodutivas das explorações deste estudo, a exploração 1 apresenta uma deteção de cio de 85% enquanto a exploração 2 tem uma taxa de deteção de cio de 78%, uma taxa de concepção de 42% e 44% para as explorações 1 e 2 respetivamente, uma taxa de gestação de 36% para a exploração 1 e 34% para a exploração 2.

Tabela 1: Parâmetros reprodutivos das explorações 1 e 2

<i>Parâmetro reprodutivo</i>	<i>Exploração 1</i> (%)	<i>Exploração 2</i> (%)
<i>Deteção de cio</i>	85	78
<i>Concepção</i>	42	44
<i>Gestações</i>	36	34
<i>Saída por refugio</i>	15	17
<i>Outras saídas</i>	0	0
<i>Mortalidade</i>	2	1
<i>Mortalidade embrionária</i>	10	9
<i>Aborto</i>	4,3	0,9
<i>Nados mortos</i>	3	0

Estas explorações nos últimos 12 meses apresentam algumas taxas no que diz respeito à saída de animais. A exploração 1 apresenta uma taxa de refugio similar à da exploração 2 (15% vs. 17%, respetivamente). A taxa de mortalidade registada é de 2% e 1%, respetivamente para as explorações 1 e 2. A taxa de mortalidade embrionária é similar entre as duas explorações (10% na exploração 1, e 9% exploração 2), mas a taxa de aborto é um pouco superior (4,3%) na exploração 1 em comparação com a exploração 2 (0.9%). A exploração 1 apresentou, no período em causa, uma taxa de 3% de nados mortos, enquanto a exploração 2 não registou qualquer perda deste tipo.

As explorações apresentam um plano vacinal similar. Ambas as explorações fazem a vacina HIPRABOVIS® BALANCE, vacina combinada contra os vírus PI3, BVD e BRS, em suspensão injetável e a HIPRABOVIS® IBR MARKER LIVE, vacina viva (duplo gene eliminado gE-/tk-) contra o vírus IBR, em comprimido liofilizado injetável de 6 em 6 meses. Incluído no plano vacinal das explorações está também a vacina inativada polivalente contra a mastite bovina, em emulsão injetável, a STARTVAC® - TOPVAC®, administrada trimestralmente. Ambas as explorações fazem também, embora com intervalos de vacinação diferentes, a HIPRABOVIS® SOMNI/Lkt, vacina inativada contra a pneumonia causada por *Histophilus somni* e *Mannheimia haemolytica*, leucotoxóide, em emulsão injetável, e a COVEXIN 10, vacina multivalente que protege contra 10 clostrídios, *C. haemolyticum*, *C. sordellii*, *C. tetani*, *C. septicum*, *C. novyi*, *C. chauvoei*, *C.*

*perfringens* tipo A, *C. perfringens* tipo B, *C. perfringens* tipo C, *C. perfringens* tipo D. A exploração 1 faz estas duas últimas vacinas a intervalos anuais enquanto a exploração 2 administra ambas vacinas com reforço semestral.

Este estudo foi realizado com recurso à análise e tratamento de dados de registo individual da vaca na exploração de origem, através da plataforma *Bovinet – Ugenes Consulting*, referentes aos tratamentos de sincronização deaios para o 1º serviço realizados entre 1 de junho de junho de 2021 a 1 de junho de 2023 em 2 explorações de produção de leite em Portugal na região de Estarreja.

Foram usados dados de duas explorações da zona de Estarreja que usam esta abordagem por rotina, como forma de minimizar os dias em aberto nos seus animais. A exploração 1, com um total de 156 registos (n=156), utiliza o protocolo de pré sincronização *Double-Ovsynch* enquanto a exploração 2, que conta com 361 registos (n=361), utiliza o protocolo de pré sincronização *Presynch-Ovsynch*.

Como critério de exclusão do estudo, foram eliminados os registos de vacas que na coluna reservada ao diagnóstico têm a designação de “aberto” visto não haver indícios que sustentem o sucesso ou insucesso do protocolo. A exploração 1 tem 4 registos nessa condição passando a ter um n=152, por sua vez, a exploração 2 apresenta 6 registos nessa condição passando a contar com um total de 355 registos analisados.

Na exploração 1 temos 43 (28,3%) animais que entram duas vezes nos dados analisados referentes aos dois anos de estudo e na exploração 2 temos 101 (28,5%), havendo uma vaca com três registos no período em estudo.

## **1.2. Implementação dos protocolos**

A visita de reprodução a cada uma das explorações é feita em intervalos quinzenais.

Em cada visita, na exploração 1, todas as vacas com mais de 50 dias em leite iniciam o protocolo *Double-Ovsynch* para pré sincronização e IATF. Resumidamente, no dia 0 as vacas recebem o primeiro tratamento com GnRH, seguido pelo tratamento com PGF2 $\alpha$  7 dias depois e GnRH 72 horas após a PGF2 $\alpha$ . Sete dias depois, as vacas recebem tratamento com GnRH seguido de duas administrações de PGF2 $\alpha$ , 7 e 8 dias depois deste último tratamento com GnRH, com nova administração de GnRH administrada 56 horas após o primeiro PGF2 $\alpha$ , seguido de IATF 16 horas depois.

Na exploração 2, a cada visita, todas as vacas com mais de 45 dias em leite iniciam o protocolo *Presynch-Ovsynch* para pré sincronização e IATF. Resumidamente, no dia 0 as vacas são tratadas com PGF2 $\alpha$  (PG1) e após 14 dias recebem um segundo tratamento com PGF2 $\alpha$  (PG2), após 11/12 dias recebem uma administração de GnRH, e ao 7º e 8º dias depois são tratadas com PGF2 $\alpha$ , com nova administração de GnRH administrada 56 horas após o primeiro PGF2 $\alpha$ ,

seguido de IATF 16 horas depois. Após a PG1 e a PG2 as vacas com estro detetado podem ser inseminadas.

Os fármacos utilizados para os tratamentos foram o GnRH (buserelina 0.004 mg/ml, Veterelin) e o PGF2 $\alpha$  (cloprostenol 250  $\mu$ g/ml, Bioestrovet), sendo usados 2 ml de cada um dos fármacos em cada dose administrada via intramuscular.

Após IATF as vacas são examinadas por quatro vezes através de ecografia transretal. O primeiro diagnóstico de gestação nas explorações é realizado por volta dos 25 dias após a IA, usando um scanner portátil, Easi-Scan Go, equipado com um transdutor linear de 7,5 MHz (Figura 35). Um diagnóstico de gestação positivo baseia-se na visualização de um CL no ovário ipsilateral ao corno uterino contendo um embrião com batimento cardíaco. As vacas com diagnóstico de gestação positivo, são submetidas a reconfirmação por volta dos 39 dias, novamente com cerca de 67 dias após a IA e uma última vez antes da secagem. Sempre que no momento de reconfirmação de gestação uma vaca dada como gestante é diagnosticada como não gestante é emitido um diagnóstico de mortalidade embrionária, independentemente de serem detetados indícios de morte embrionária no exame transretal.

As vacas diagnosticadas como gestantes e subseqüentemente diagnosticadas como não gestantes em alguma das reconfirmações da gestação, para efeitos de estudo, foram classificadas como mortes embrionárias, com ou sem sinais visíveis de morte embrionária no momento do exame transretal.



Figura 35: Ecógrafo Easi-Scan Go (Foto de autor)

Vacas com diagnóstico negativo, no momento do DNG são inseridas num protocolo para nova inseminação o mais rápido possível mediante as estruturas ováricas que apresentam no momento do DNG. Na exploração 1, as vacas não gestantes são inseridas num programa de *Short synch* se apresentarem um bom CL; se apresentarem ovários com fraca atividade folicular, sem nenhum CL, é utilizado um protocolo com suplementação de progesterona.

No programa *Short synch* as vacas são submetidas a duas administrações de PGF2 $\alpha$ , uma no dia do NPD e outra no dia seguinte, e no dia subseqüente à última PGF2 $\alpha$  é administrada GnRH,

com IATF 16 horas após desta última administração. Vacas que evidenciem atividade ovárica limitada e sem CL são inseridas num programa com suplementação de progesterona, sendo colocado um PRID no momento do NPD com administração de GnRH em simultâneo com a colocação do implante de progesterona; o PRID é retido ao final de 7 dias sendo administrado PGF2 $\alpha$ , e passadas 24 horas é administrada uma nova injeção de PGF2 $\alpha$ , seguida de uma última administração de GnRH no dia subsequente à de PGF2 $\alpha$  e IATF 16 horas depois da última administração de GnRH.

Na exploração 2 as vacas com diagnóstico negativo de gestação são também inseridas em dois programas diferentes, mediante as estruturas ováricas que apresentem no momento do NPD. Se apresentarem um bom CL é feito um programa com uma porção do protocolo *Presynch-Ovsynch*, entrando as vacas para a fase da PG2 $\alpha$  com intervalo de 11/12 dias antes da fase de *Ovsynch*, no intervalo de tempo entre a PG2 $\alpha$  e a fase de *Ovsynch* as vacas que manifestarem sinais de cio são inseminadas. As vacas que no momento do NPD se apresentarem com ovários fracos, sem CL, são inseridas num programa com suplementação de progesterona idêntico ao descrito para a exploração 1. Estes animais inseridos em protocolos de ressincronização não são considerados neste estudo, pois já não corresponde à primeira IA pós-parto.

A escolha do sémen a usar é, em ambas as explorações, determinada pelo animal a inseminar, usa-se sémen sexado na primeira IA em vacas de melhor produção e melhor genética; no caso de não ficarem gestantes são posteriormente inseminadas com sémen convencional ou de carne.

Para estimar o sucesso dos protocolos, usaram-se os indicadores seguintes:

- Taxa de concepção pela aplicação da fórmula:

$$\text{Taxa de concepção} = \frac{\text{Número de vacas gestantes}}{\text{Total de inseminações realizadas}}$$

- Taxa de gestações concebidas com sémen sexado (Taxa sémen sexado) e sémen convencional (Taxa sémen convencional) através das expressões apresentadas.

$$\text{Taxa sémen sexado} = \frac{\text{Número de gestações confirmadas com sémen sexado}}{\text{Total de inseminações realizadas com sémen sexado}}$$

$$\text{Taxa sémen convencional} = \frac{\text{Número de gestações confirmadas com sémen convencional}}{\text{Total de inseminações realizadas com sémen convencional}}$$

- Taxa de mortalidade embrionária para cada um dos protocolos em análise através da seguinte expressão.

$$\text{Taxa mortalidade embrionária} = \frac{\text{Número de mortes embrionárias}}{\text{Total de gestações confirmadas}}$$

- Taxa de aborto para cada um dos protocolos é calcula pela seguinte expressão:

$$\text{Taxa de abortos} = \frac{\text{Número de abortos}}{\text{Total de gestações confirmadas}}$$

As vacas com diagnóstico de mortalidade embrionária ou aborto, apesar de não terem chegado com a gestação ao fim, validam o sucesso do protocolo, sendo consideradas com resultado igual a uma vaca que tenha terminado a sua gestação para efeitos de contagem neste estudo, pois é considerado que ficaram gestantes com a aplicação do protocolo.

### **1.3. Análise estatística**

Todos os dados relativos ao estudo foram introduzidos em ficheiro Excel contruindo a base de dados necessária à realização de análises estatísticas através do software *SPSS statistics* versão 24. A base de dados foi usada para computar a estatística descritiva e a inferencial. Os resultados da estatística descritiva (caracterização das variáveis relativas aos grupos) serão apresentados na forma de média±DP variância e mín e máx. Para a estatística inferencial recorreu-se ao teste Qui-quadrado, pelas variáveis dicotómicas, usadas para estimar a eficiência/sucesso do protocolo (diagnóstico de gestação sim/não; mortalidade embrionária sim/não).

Para avaliar as associações entre o tipo de tratamento e o intervalo à primeira IA pós-parto, o tipo de sémen e as taxas relacionadas com a perda de gestação foi utilizado o teste não paramétrico de Qui-quadrado, através do software SPSS.

Um valor de p inferior a 0,05 foi considerado estatisticamente significativo.

## 2. Resultados

As tabelas 2 e 3 mostram os resultados da estatística descritiva das variáveis referentes à idade e ao número de lactações dos animais. Na exploração 1 temos uma média de  $51,75 \pm 16,774$  meses, o que corresponde a uma idade média de 4 anos e 3,75 meses com uma média de  $2,17 \pm 1,167$  lactações. Na exploração 2 temos uma média de  $46,71 \pm 15,438$  meses, o que corresponde a uma idade média de 3 anos e 10,71 meses com uma média de  $2,06 \pm 1,171$  lactações.

Tabela 2: Análise estatística da idade dos animais da exploração 1 e 2

Análise estatística	Exploração 1	Exploração 2	p
N	152	355	
Média	51,75	46,71	
Amplitude	84	75	
Desvio Padrão	16,774	15,438	0.011
Variância	281,354	238,324	
Mínimo	27	25	
Máximo	111	100	

Tabela 3: Análise estatística do número de lactações da exploração 1 e 2

Análise estatística	Exploração 1	Exploração 2	p
N	152	355	
Média	2,17	2,06	
Amplitude	5	5	
Desvio Padrão	1,167	1,171	0.3325
Variância	1,361	1,371	
Mínimo	1	1	
Máximo	6	6	

Neste estudo, tínhamos como principal objetivo comparar a taxa de concepção ao primeiro serviço entre os dois protocolos, *Double-Ovsynch* e *Presynch-Ovsynch*. Os resultados encontrados estão sumariados na tabela 4. Na exploração 1, de um total de 152 tratamentos *Double-Ovsynch* realizados, 65 resultaram em gestação, representando uma taxa de sucesso (estimada através da taxa de concepção ao primeiro serviço) de 42,8%. Na exploração 2, de um total de 355

tratamentos *Presynch-Ovsynch* realizados, 129 resultaram em gestação, representando uma taxa de sucesso (estimada através da taxa de concepção ao primeiro serviço) de 36,3%. A taxa de gestação obtida foi diferente entre os dois protocolos ( $p=0,020$ ) (Tabela 4).

Tabela 4: Taxas de concepção ao primeiro serviço obtido na exploração 1 (*Double-Ovsynch*) e na exploração 2 (*Presynch-Ovsynch*). A cor verde temos assinalada a taxa de concepção á 1ª IA pós-parto de cada exploração.

	Total de tratamentos	Exploração 1 n (%)	Exploração 2 n (%)
Fêmeas gestantes	194	65 (42,8%)	129 (36,3%)
Fêmeas não gestantes	313	87 (57,2%)	223 (63,7%)
Total de animais tratados	507	152 (100%)	355 (100%)

Na tabela 5, são apresentadas, as taxas de concepção e de perdas de gestação encontradas para as duas explorações. Na exploração 1 obtiveram-se 55 (36,2%) gestação confirmadas ao primeiro serviço, 10 (6,6%) registos de mortes embrionárias que validam o sucesso do protocolo e 87 registos classificados (57,2%) como inseminação falhada. Na exploração 2, temos 108 (30,4%) gestações confirmadas, 20 registos (5,6%) de morte embrionária, 1 registo (0,3%) de aborto que indicam o sucesso do protocolo, e temos 226 registos (63,7%) de inseminação falhada.

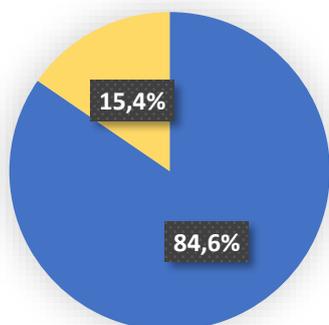
Tabela 5: Análise pormenorizada das taxas de concepção das explorações

	Exploração 1 n (%)	Exploração 2 n (%)
Fêmeas confirmadas (gestações confirmadas)	55 (36,2%)	108 (30,4%)
Fêmeas confirmadas (perdas embrionárias)	10(6,6%)	21 (5,9%)
Fêmeas não gestantes	87 (57,2%)	223 (63,7%)
Total de animais tratados	152 (100%)	355 (100%)

Para melhor compreensão das mortes embrionárias de cada exploração foram elaborados dois gráficos (Figura 36 e 37), um para cada uma das explorações, com a percentagem de mortes embrionárias apenas referentes ao número de casos que sustentam o sucesso do protocolo, obtendo uma percentagem de 15,4%(10 registos) para a exploração 1 num total de 65 registos

e 15,5% (20 registos) para a exploração 2, com 0,8% (1 registo) de abortos apenas para a exploração 2, num total de 129 registos.

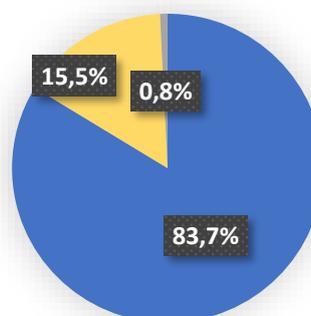
**Exploração 1- Taxa de morte embrionária**



■ Confirmada ■ Morte embrionária

Figura 36: Taxa de morte embrionária da exploração 1

**Exploração 2- Taxa de morte embrionária**



■ Confirmada ■ Morte embrionária ■ Aborto

Figura 37: Taxa de morte embrionária da exploração 2

O Intervalo médio entre o parto e o primeiro serviço foi um pouco mais curto na exploração 2 (65,9 ± 13 dias) que na exploração 1 (75,9 ± 11 dias) como apresentado na tabela 6.

Tabela 6: Análise estatística dos dias pós-parto até à 1ª serviço da exploração 1 e 2

Análise estatística	Exploração 1	Exploração 2
<i>N</i>	152	355
<i>Média</i>	75,90	65,93
<i>Mediana</i>	77,00	63,00
<i>Desvio Padrão</i>	11,423	13,302
<i>Variância</i>	130,474	176,955
<i>Mínimo</i>	35	32
<i>Máximo</i>	100	100
<i>Percentis</i> 25	71,00	56,00
50	77,00	63,00
75	83,00	76,00

A tabela 7, apresenta a dispersão dos intervalos parto – 1º serviço nas duas explorações. Na exploração 1, 75,6% das inseminações ocorreram entre os 65 e os 86 dias pós-parto, com um maior número de inseminações (45,4%) a decorrerem entre os 76 e os 86 dias. Na exploração 2 38,0% das inseminações ocorreram entre os dias 54 e 64 pós-parto, tendo 58,0% das inseminações ocorrido entre os dias 54 e 75 pós-parto.

Tabela 7: Dispersão do intervalo parto-1º serviço nos animais submetidos a protocolo Double-Ovsynch (exploração 1) ou Presynch-Ovsynch (exploração 2).

Intervalo parto-1º serviço	Exploração 1	Exploração 2	Total
32-42 dias	3 (2,0%)	4 (1,1%)	7 (1,4%)
43-53 dias	4 (2,6%)	56 (15,8%)	60 (11,8%)
54-64 dias	13 (8,6%)	135 (38,0%)	148 (29,3%)
65-75 dias	46 (30,2%)	71 (20,0%)	117 (23,1%)
76-86 dias	69 (45,4%)	61 (17,2%)	130 (25,6%)
87-100 dias	17 (11,2%)	28 (7,9%)	45 (8,9%)
Total	152 (100%)	355 (100%)	507 (100%)

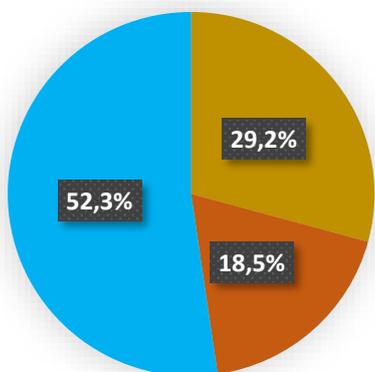
A tabela 8 mostra sumaria os dados relativos à utilização dos diferentes tipos de sémen utilizado em cada exploração. Na exploração 1 das 152 inseminações efetuadas, foi usado sémen de raças de carne em 45 (29,6%) animais, 32 (21,1%) com sémen convencional e 75 (49,3%) com sémen sexado. Na exploração 2 das 355 inseminações efetuadas no período em estudo, 7 (2,0%) foram feitas com sémen de touros de raças de carne, 200 (56,3%) com sémen convencional e 148 (41,7%) com sémen sexado.

Tabela 8: Tipo de sémen usado neste estudo, de acordo com a exploração em análise.

Tipo de sémen	Exploração 1 n (%)	Exploração 2 n (%)	Total
Sémen (convencional) de carne	45 (29,6%)	7 (2,0%)	52 (10,3%)
Sémen (convencional) de leite	32 (21,1%)	200 (56,3%)	232 (45,8%)
Sémen sexado	75 (49,3)	148 (41,7%)	223 (43,9%)
Total de inseminações	152 (100%)	355 (100%)	507 (100%)

Os gráficos (Figuras 38 e 39) mostram a taxa de gestação obtida por cada tipo de sémen aplicado em cada uma das explorações. Na exploração 1 das 65 inseminações que originaram gestação, em 29,2% dos casos (n=19) o sémen usado foi de raças de carne, em 18,5% dos casos (n=12) recorreu-se a sémen convencional de raças de leite, e em 52,3% das situações (n=34) os animais foram inseminados com sémen sexado. Em contraste, na exploração 2, das 129 inseminações que originaram gestação, apenas em 3,1% dos casos (n=4) as vacas foram inseminadas com sémen de raças de aptidão de carne, em 58,1% dos animais (n=75) foi usado com sémen convencional de raças de leite e em 38,8% das situações (n=50) foi usado sémen sexado. A taxa de gestação obtida foi diferente consoante o tipo de sémen utilizado  $p=0,032$  para sémen sexado e  $p=0,023$  para sémen convencional, evidenciado relevância estatística.

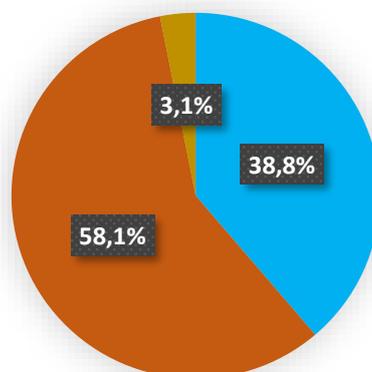
**Exploração 1- Taxa do tipo de sêmen nas IA's de sucesso**



■ Carne ■ Convencional ■ Sexado

Figura 38: Taxa de cada tipo de sêmen usado nas inseminações que indicam sucesso do protocolo da exploração 1

**Exploração 2- Taxa do tipo de sêmen nas IA's de sucesso**

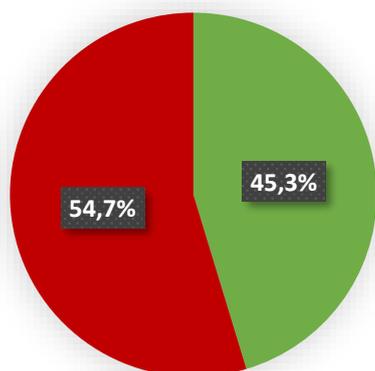


■ Sexado ■ Convencional ■ Carne

Figura 39: Taxa de cada tipo de sêmen usado nas inseminações que indicam sucesso do protocolo da exploração 2

Os gráficos (Figuras 40 e 41) mostram a taxa de gestação obtida com utilização do sêmen sexado em cada uma das explorações. Na exploração 1, do total de inseminações com sêmen sexado (n= 75), 54,7% das inseminações (n=41) foram falhadas e 45,3% das inseminações (n=34) indicam sucesso do protocolo. No caso da exploração 2, do total das inseminações (n=148), obtivemos 66,2% das inseminações (n=98) foram falhadas e 33,8% das inseminações (n=50) indicam o sucesso do protocolo.

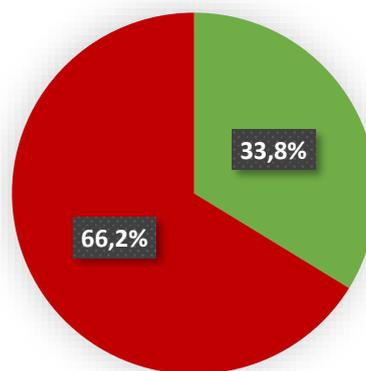
**Exploração 1- Taxa de concepção do sêmen sexado**



■ Sucesso do protocolo ■ Insucesso do protocolo

Figura 40: Taxa de concepção do sêmen sexado ao primeiro serviço da exploração 1

**Exploração 2- Taxa de concepção do sêmen sexado**



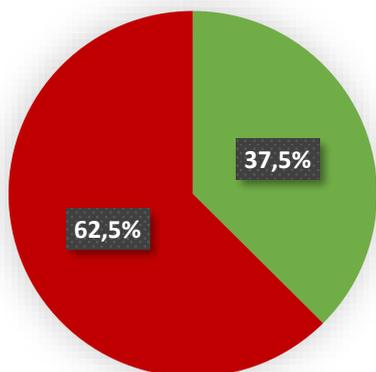
■ Sucesso do protocolo ■ Insucesso do protocolo

Figura 41: Taxa de concepção do sêmen sexado ao primeiro serviço da exploração 2

Os gráficos (Figuras 42 e 43) mostram a taxa de gestação obtida com utilização do sêmen convencional em cada uma das explorações. Na exploração 1, do total de inseminações com

sémen convencional (n= 32), 62,5% das inseminações (n=20) foram falhadas e 37,5% das inseminações n=12) indicam sucesso do protocolo. No caso da exploração 2, do total das inseminações (n= 200), obtivemos 62,5% das inseminações (n=125) foram falhadas e 37,5% das inseminações (n=75) indicam o sucesso do protocolo.

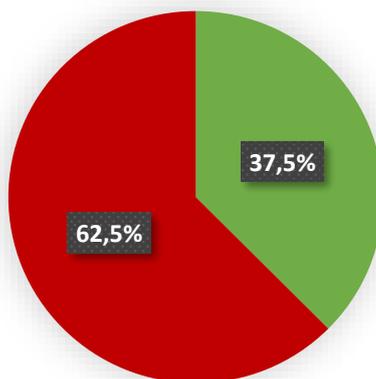
**Exploração 1- Taxa de  
concepção do sémen  
convencional**



■ Sucesso do protocolo ■ Insucesso do protocolo

*Figura 42: Taxa de concepção do sémen convencional ao primeiro serviço da exploração 1*

**Exploração 2- Taxa de  
concepção do sémen  
convencional**



■ Sucesso do protocolo ■ Insucesso do protocolo

*Figura 43: Taxa de concepção do sémen convencional ao primeiro serviço da exploração 2*

### 3. Discussão e conclusão

#### 3.1. Discussão dos resultados

Como mencionado, o nosso principal objetivo com o presente estudo foi avaliar a taxa de concepção ao primeiro serviço pós-parto de duas explorações que usam protocolos de pré-sincronização diferentes, o protocolo *Double-Ovsynch* e o protocolo *Presynch-Ovsynch*. Analisamos também a taxa de mortes embrionárias das explorações e tentamos perceber se é uma boa prática a utilização de sêmen sexado.

Obtivemos uma TCF pós-parto de 42,8% para o programa *Double-Ovsynch* e uma taxa de concepção de 36,3% para o programa de pré-sincronização *Presynch-Ovsynch*, para melhor interpretação destes dados, foi também analisado o intervalo entre o parto e a 1ª IA, com uma média de 75,9 dias para a exploração 1 que usa o DO, e 65,9 dias para o IEP 1ª IA da exploração 2 que utilizada o protocolo PO. Estes valores para a taxa de concepção estão de acordo com a bibliografia que refere que seria expectável ter uma maior taxa de concepção à 1ª IA pós-parto superior para o protocolo DO quando comparado com o protocolo PO.

O protocolo DO é um protocolo de pré-sincronização que consegue uma melhor sincronização das vacas quando chegam à primeira GnRH da porção *Ovsynch* do protocolo, com grande parte das vacas, cerca de 90% com CL, e uma taxa de ovulação de cerca de 80% após a primeira GnRH da porção *Ovsynch*, o que faz com que neste protocolo tenhamos maiores níveis de P4 antes da PGF2 $\alpha$ , havendo maior número de vacas com P4 > 1mg/ml do que no protocolo PO nesta fase.

Em contrapartida, o protocolo de pré-sincronização PO, tem a desvantagem de não haver a sincronização ideal para iniciar a porção *Ovsynch* do protocolo, geralmente com uma menor percentagem de vacas com CL ao iniciar o *Ovsynch*, cerca de 68% dos animais, e com menos 10% de animais que ovulam após a 1ª GnRH do *Ovsynch*, com apenas 70% dos animais. As vacas neste protocolo várias vezes são inseminadas após as administrações de PGF2 $\alpha$ , e estas vacas tendem a ter menor fertilidade quando comparado com animais que chegam ao final do protocolo, pois são inseminadas muitas vezes muito cedo.

As vacas do protocolo DO receberam a 1ª IA pós-parto, em média, 10 dias mais tarde do que as vacas do protocolo PO, que pode apresentar a desvantagem de termos uma taxa de refugo mais alta, devido ao facto de termos os animais com mais dias em aberto e em última instância menos oportunidades para conceberem uma gestação, mas neste caso a diferença de 10 dias pode não ser considerada uma desvantagem pois ganha com o aumento da taxa de concepção. Pela análise dos dados verificamos em comparação, a exploração 1 tem 75,6% das inseminações realizadas entre os 65 e os 86 dias pós-parto, enquanto a exploração, a exploração 2 antes dos 64 dias já

fez 53,8% das 1ª IA pós-parto, havendo uma clara demonstração que a exploração 2 insemina bastante mais cedo que a exploração 1.

A redução do intervalo IEP-1ª IA pode trazer alguns fatores que expliquem a redução da taxa de concepção, visto que, a sua redução está associada a um ambiente uterino inadequado, pois podemos ter a sua integridade funcional incompleta, infecções ou desequilíbrios metabólicos associados, para evitar estas enfermidades deve ser respeitado um bom período de involução uterina de cerca de 40 a 50 dias, uma IA cedo de mais, pode traduzir-se em menor qualidade dos oócitos, com menor fertilidade associada e maior possibilidade da vaca não ter o ambiente uterino adequado para suportar a gestação e por consequência uma menor taxa de concepção como se verifica para a exploração 2.

A nutrição deve também desempenhar um papel vital no condicionamento do útero para a implantação do embrião. A alimentação pós-parto deve ser o mais equilibrada possível para conseguirmos uma CC de 2,75/3, numa escala de 0 a 5, com perda de menos de 0,5 unidades no período pós-parto. As vacas não conseguem suprimir todas as suas necessidades exigidas neste período pela ingestão de matéria seca, entrando em balanço energético negativo, período no qual as vacas têm menor atividade ovárica, sendo mais difícil uma vaca com balanço energético negativo acentuado responder bem a um tratamento de fertilidade. O balanço energético negativo pode prolongar-se até aos 70-80 dias pós-parto, logo este dado deve ser tomado em conta para não comprometer os índices reprodutivos da exploração, ao aumentar o IEP 1ªIA conseguimos compensar melhor o balanço energético dos animais e por consequência ter uma melhor taxa de concepção como se verifica para a exploração 1.

Como objetivo secundário com a análise dos dados das explorações analisamos a taxa de mortes embrionárias associada a cada uma das explorações logo a cada um dos protocolos e obtivemos uma taxa de mortes embrionárias de 15,4% para a exploração 1 e uma taxa de 15,5% para a exploração 2. Estes valores são referentes às mortes embrionárias que podem ser detetadas que rondam os 10-15%, o que sugere que, o valor pode ser bastante próximo do limite superior sugerindo que é um valor elevado para este parâmetro, mas como temos uma forte presença nas explorações e efetuamos os diagnósticos de gestação bastante cedo, a partir dos 25 dias, é normal haver um aumento deste valor, visto que há uma pequena aproximação ao valor total de mortes embrionárias, visto que a maior percentagem de mortes embrionárias ocorre numa fase precoce da gestação e são consideradas não detetáveis. Se o diagnóstico fosse efetuado mais tarde, provavelmente, o que iria acontecer, seria que iríamos ter um valor para estas taxas mais baixo, visto que haveria vacas que iriam ser diagnosticadas como não gestantes e não como morte embrionária.

Analisamos também, com os dados obtidos, o tipo de sêmen que foi utilizado nas inseminações das explorações, verificando que a exploração 1 tem uma taxa de concepção das inseminações efetuadas com sêmen sexado de 45,3% e uma taxa de concepção de sêmen convencional de

37,5%, já a exploração 2, apresenta uma taxa de 33,8% para a concepção do sémen sexado e 37,5% para a taxa de concepção do sémen convencional. Estes valores são positivos e animadores visto que está descrito que a utilização de sémen sexado pode traduzir-se até menos 15% de fertilidade quando comparado com o sémen convencional e isto não se verifica nos valores obtidos. A utilização de sémen sexado pode trazer várias vantagens para as explorações produtoras de leite, pois conseguimos mais indivíduos do sexo pretendido, neste caso, fêmeas, temos a possibilidade de exercer uma maior intensidade de seleção, acelerando o melhoramento genético e temos também a vantagem de reduzir a possibilidade de partos distócicos, pois as fêmeas, são geralmente, mais leves e com menor tamanho reduzindo a possibilidade de haver problemas no momento do parto. Neste caso em concreto, a utilização de sémen sexado parece ser uma boa escolha, uma vez que, a exploração 1 conseguiu uma taxa de concepção do sémen sexado superior à taxa do sémen convencional, e a exploração 2 obteve valores próximos para as respetivas taxas.

### **3.2. Conclusão**

O presente estudo demonstrou que o protocolo *Double-Ovsynch* aumentou a fertilidade em vacas leiteiras em lactação em comparação com o protocolo *Presynch-Ovsynch* ao primeiro serviço pós-parto. A utilização de sémen sexado não revelou baixar a fertilidade dos protocolos, não havendo diferenças significativas na diferença da taxa de concepção de cada um dos tipos de sémen, sexado e convencional, este estudo conclui que tem sido vantajoso e uma boa prática a escolha e utilização de sémen sexado. Além disso, o tratamento de pré-sincronização não teve efeito sobre a incidência de perda embrionária após o primeiro serviço, a taxa de mortes embrionárias foi praticamente idêntica nas duas explorações.

## IV. Bibliografia

- Amorim, G. V. B., & Costa, C. P. (2019). Revista JRG de Estudos Acadêmicos. *Revista JRG de Estudos Acadêmicos-Ano II, II(5)*, 29–55. <https://doi.org/10.5281/zenodo.8050708>
- Aral, F., Carreira, R. P., & Quaresma, M. (2020). Animal Reproduction in Veterinary Medicine. In *Animal Reproduction in Veterinary Medicine*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.78921>
- Ayres, H., Ferreira, R. M., Cunha, A. P., Araújo, R. R., & Wiltbank, M. C. (2013). Double-Ovsynch in high-producing dairy cows: Effects on progesterone concentrations and ovulation to GnRH treatments. *Theriogenology*, *79(1)*, 159–164. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.10.001>
- Azevedo, C. M. L., Simões, J., & Canada, N. (2014). O protocolo hormonal ovsynch e as suas modificações em vacas leiteiras de alta produção: uma revisão. *December*, 173–187.
- Ball, P. J. H., & Peters, A. R. (2004). Reproduction in Cattle. In *Animal Reproduction Science* (3rd ed., Vol. 16, Issue 2). Blackwell Publishing. [https://doi.org/10.1016/0378-4320\(88\)90037-1](https://doi.org/10.1016/0378-4320(88)90037-1)
- Bello, N. M., Steibel, J. P., & Pursley, J. R. (2006). Optimizing ovulation to first GnRH improved outcomes to each hormonal injection of ovsynch in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *89(9)*, 3413–3424. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72378-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72378-5)
- Bergamaschi, M., Machado, R., & Barbosa, R. (2010). Eficiência reprodutiva das vacas leiteiras. *Circular Técnica*, *64*, 12.
- Borchardt, S., Haimerl, P., & Heuwieser, W. (2016). Effect of insemination after estrous detection on pregnancy per artificial insemination and pregnancy loss in a Presynch-Ovsynch protocol: A meta-analysis. *Journal of Dairy Science*, *99(3)*, 2248–2256. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10358>
- Bruna F. Silper e Ronaldo L. A. Cerri (2016) Monitores de atividade como ferramenta para detecção de cio. Consultado em 10 de fevereiro de 2024, de ISSUU: <https://www.revistaleiteintegral.com.br/noticia/monitores-de-atividade-como-ferramenta-para-deteccao-de-cio>
- Caetano, G., & Caetano Júnior, M. (2015). Métodos de detecção de estro e falhas relacionadas. *PubVet*, *9(8)*, 381–393. <https://doi.org/10.22256/pubvet.v9n8.381-393>
- Carvalho, B. C. U. de tecnologias de precisão na reprodução de bovinos leiteirosDe, Pires, M. D. F. Á., Arbex, W., & Santos, G. B. Dos. (2015). Uso de tecnologias de precisão na reprodução de bovinos leiteiros. *Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia*, *79*, 29–

40.

- Cockcroft, P. (2015). *Bovine Medicine* (3rd ed.). Wiley Blackwell.
- Consentini, C. E. C., Wiltbank, M. C., & Sartori, R. (2021). Factors That Optimize Reproductive Efficiency in Dairy Herds With an Emphasis on Timed Artificial Insemination Programs. *Animals*, 11(2), 1–30. <https://doi.org/10.3390/ani11020301>
- Cordeiro Da Silva, E. I. (2021a). Fertilidade Em Vacas Leiteiras: Fisiologia E Manejo. *Departamento de Reproduccion Animal*, 82, 1–18. <https://philarchive.org/archive/DASAEV-2v1>
- Da Silva, E. I. C. (2022). *Fisiologia da Reprodução de Bovinos Leiteiros: Aspetos Básicos e Clínico* (1st ed.). Belo Jardim.
- Dixit, C. P., Haloi, S., & Author, C. (2022). Clinical application of ultrasound in bovine reproduction: A review. ~ 1311 ~ *The Pharma Innovation Journal*, 11(8), 1311–1314. <https://www.thepharmajournal.com/archives/2022/vol11issue8S/PartQ/S-11-8-171-672.pdf>
- Educapoint (2020) Como fazer a detecção de cio em vacas para inseminação?. Consultado a 13 de fevereiro de 2024, de ISSUU: <https://www.milkpoint.com.br/colunas/educapoint/como-fazer-a-deteccao-de-cio-em-vacas-para-inseminacao-218733/>
- Ferreira, A. D. M., Rogério, J., & Almeida, M. De. (2019). Tempo para recuperação da atividade ovariana luteal cíclica em vacas mestiças leiteiras magras com anestro. *PubVet*.
- Ferrucho-Ostos, Y. P., & Vázquez, R. L. (2021). Muerte embrinaria en bonivos. Embryonic death in cattle. *Klinicheskaja Laboratornaia Diagnostika*, 66(8), 465–471. <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2021-66-8-465-471>
- Gardón, J. C., & Satué, K. (2021). Biotechnologies Applied to Animal Reproduction. In *Biotechnologies Applied to Animal Reproduction*. <https://doi.org/10.1201/9780367817527>
- Gasperin, B. G., Vieira, A. D., Pegoraro, L. M. C., Oliveira, F. C., Ferreira, C. E. R., Pradieé, J., Rovani, M. T., Haas, C. H. S., Miranda, V., Vogg, A. P. D., & Campos, F. T. (2017). Ultrassonografia Reprodutiva em Fêmeas Bovinas e Ovinas. *Embrapa Clima Temperado*, 35. [www.embrapa.br/clima-temperado](http://www.embrapa.br/clima-temperado)
- Gnemmi, G., Calvo, A., Morini, G., & Maraboli, C. (2017). Un enfoque para el diagnóstico ecográfico de la muerte embrionaria tardía en bovinos. *Taurus*, 19(73), 25–31.
- Gnemmi, G. M., & Maraboli, C. V. A. (2020). Manejo reproductivo. El monitoreo del posparto inmediato. *Taurus*, 22(86), 30–38.
- Herlihy, M. M., Giordano, J. O., Souza, A. H., Ayres, H., Ferreira, R. M., Keskin, A., Nascimento,

- A. B., Guenther, J. N., Gaska, J. M., Kacuba, S. J., Crowe, M. A., Butler, S. T., & Wiltbank, M. C. (2012). Presynchronization with Double-Ovsynch improves fertility at first postpartum artificial insemination in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *95*(12), 7003–7014. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-5260>
- Hopper, R. M. (2021). *Bovine Reproduction* (2nd ed.). Wiley Blackwell.
- Kim, I. H., Jeong, J. K., & Kang, H. G. (2020). Reproductive performance following a modified Presynch-Ovsynch, Double-Ovsynch, or conventional reproductive management program in Korean dairy herds. *Theriogenology*, *156*, 27–35. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.06.019>
- Kumaresan, A., & Srivastava, A. K. (2022). Frontier Technologies in Bovine Reproduction. In *Frontier Technologies in Bovine Reproduction*. <https://doi.org/10.1007/978-981-19-3072-0>
- LeRoy, C. N. S., Walton, J. S., & LeBlanc, S. J. (2018). Estrous detection intensity and accuracy and optimal timing of insemination with automated activity monitors for dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *101*(2), 1638–1647. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13505>
- Mali, A. B., Mehar, R. M., Kapane, S. H., & Hadimani, M. R. (2022). Scanning the Future: Veterinary Reproductive Ultrasonography. *Animal Reproduction Update*, *2*(1), 82–89. <https://doi.org/10.48165/aru.2022.2105>
- Marques Júnior, A. P., Martins, T. M., & Borges, Á. M. (2011). *Abordagem diagnóstica e de tratamento da infecção uterina em vacas*. 293–298.
- Martins, J. P. N., Policelli, R. K., Neuder, L. M., Raphael, W., & Pursley, J. R. (2011). Effects of cloprostenol sodium at final prostaglandin F<sub>2α</sub> of Ovsynch on complete luteolysis and pregnancy per artificial insemination in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *94*(6), 2815–2824. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3652>
- Michaelis, I., Burfeind, O., & Heuwieser, W. (2014). Evaluation of Oestrous Detection in Dairy Cattle Comparing an Automated Activity Monitoring System to Visual Observation. *Reproduction in Domestic Animals*, *49*(4), 621–628. <https://doi.org/10.1111/rda.12337>
- Moraes, C. N., Maia, L., Landim-Alvarenga, F. da C., & Oba, E. (2014). Considerações a respeito do pós-parto em bovinos. *Veterinária e Zootecnia*, *21*(1), 53–63.
- Neto, A. C., Almeida, L. C., Briske, R., Haddade, I. R., & Júnior, L. M. (2019). Avaliação da taxa de prenhez de vacas de leite com a utilização de protocolos com e sem a presença de folículos estimulantes. *Revista Ifesciência*, *5*, 219–225.
- Noakes, D. E., Parkinson, T. J., & England, G. C. W. (2019). *Veterinary Reproduction and Obstetrics* (10th ed.). ELSEVIER.

- Nogueira, É., Mingoti, G. Z., Nicacio, A., Silva, J. C. B., Fernandes, C. A. C., Rodrigues, W. B., & Júnior, H. R. M. (2021). *Ultrassonografia na reprodução e avaliação de carcaças em bovinos: Vol. cap 2*. Embrapa Pantanal.
- Pegoraro, L. M. C., Saalfeld, M. H., Weissheimer, C. F., & Vieira, A. D. (2009). Manejo Reprodutivo em Bovinos de Leite. *Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária*, 39. <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/746967/1/documento286.pdf>
- J.R. Pursley; M.O. Mee; M.C. Wiltbank (1995). *Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2 $\alpha$  and GnRH. , Theriogenology*, 44(7), 915–923. doi:10.1016/0093-691x(95)00279-h
- Pursley, J. R., & Martins, J. P. N. (2012). Impact of circulating concentrations of progesterone and antral age of the ovulatory follicle on fertility of high-producing lactating dairy cows. *Reproduction, Fertility and Development*, 24(1), 267–271. <https://doi.org/10.1071/RD11917>
- Ribeiro, A. C. (2015). *Controlo Reprodutivo Em Bovinos* (1st ed.). Ciência e Vida, Lda.
- Risco, C. A. (2011). Management Considerations from Parturition to the End of the Voluntary Waiting Period to Optimize Health and Reproductive Performance. *Dairy Production Medicine*, 1–6. <https://doi.org/10.1002/9780470960554.ch1>
- Rizzoni, L. B. (2012). Perda Embrionária Precoce Em Bovinos. *Revista Científica Eletrônica De Medicina Veterinária*, 10(19). [http://faef.revista.inf.br/imagens\\_arquivos/arquivos\\_destaque/5GpH6xdNU3wxWvd\\_2013-6-24-15-10-49.pdf](http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/5GpH6xdNU3wxWvd_2013-6-24-15-10-49.pdf)
- Rocha, A., Rocha, S., & Carvalheira, J. (2001). Reproductive Parameters and Efficiency of Inseminators in Dairy Farms in Portugal. *Reproduction in Domestic Animals*, 36(6), 319–324. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0531.2001.00309.x>
- Santos, V. G., Carvalho, P. D., Maia, C., Carneiro, B., Valenza, A., & Fricke, P. M. (2017). Fertility of lactating Holstein cows submitted to a Double-Ovsynch protocol and timed artificial insemination versus artificial insemination after synchronization of estrus at a similar day in milk range. *Journal of Dairy Science*, 100(10), 8507–8517. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13210>
- Sauls-Hiesterman, J. A., Voelz, B. E., & Stevenson, J. S. (2020). A shortened resynchronization treatment for dairy cows after a nonpregnancy diagnosis. *Theriogenology*, 141, 105–112. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.09.013>
- Scariot, J., Favretto de Souza, B., Lourenso Zanella, E., & Zanella, R. (2020). Efficiency test of a newly developed heat detection device for dairy cows kept in a compost barn system.

*Rev. Bras. Reprod. Anim*, 44(2), 64–70.

Senger, P. L. (2012). *Pathways to pregnancy & parturition* (3rd ed.). Current Conceptions, Inc.

Souza, A. H., Ayres, H., Ferreira, R. M., & Wiltbank, M. C. (2008). A new presynchronization system (Double-Ovsynch) increases fertility at first postpartum timed AI in lactating dairy cows. *Theriogenology*, 70(2), 208–215.

<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.03.014>

Uehlinger, H., Binder, H., Hauser, B., Rüschi, P., & Zerobin, K. (1995). Hormonanalytischer Vergleich der Vaginaleinlagen CIDR und PRID bei ovariectomierten Kühen [Comparison of vaginal devices CIDR and PRID in ovariectomized cows using hormone analysis].

*Schweiz Arch Tierheilkd*, 137, 81–86.

Vasconcelos, G. L. de, Lopes, M. A., & Reis, E. M. B. (2015). *Detecção eletrônica do estro em vacas leiteiras: uma revisão*. 25(2), 48–59.