

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**EFEITO DO MELOXICAM SOBRE AS TAXAS DE
CONCEPÇÃO DE VACAS DA RAÇA HOLANDESA, DE
ALTA PRODUÇÃO, SUBMETIDAS À TRANSFERÊNCIA DE
EMBRIÃO, INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL E INSEMINAÇÃO
ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO.**

Andressa Lavezzo Ranieri

Médica Veterinária

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

Julho de 2012

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**EFEITO DO MELOXICAM SOBRE AS TAXAS DE
CONCEPÇÃO DE VACAS DA RAÇA HOLANDESA, DE
ALTA PRODUÇÃO, SUBMETIDAS À TRANSFERÊNCIA DE
EMBRIÃO, INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL E INSEMINAÇÃO
ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO.**

Andressa Lavezzo Ranieri

Orientador: Prof. Dr. Paulo Henrique Franceschini

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária (Reprodução Animal).

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

Julho de 2012

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

ANDRESSA LAVEZZO RANIERI – nascida em São Carlos, São Paulo, no dia 19 de Dezembro de 1985. Em março de 2004 ingressou no curso de Medicina Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Campus de Jaboticabal – UNESP. Realizou estágio de graduação na Clínica Veterinária SAMVET juntamente com a Fazenda Santa Rita, Agrindus/SA – Reprodução Animal sob a orientação do Prof. Paulo Henrique Franceschini. Em 2010 ingressou no mestrado pelo programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária, área de concentração: Reprodução Animal, na mesma instituição de ensino, sob orientação do Prof. Dr. Paulo Henrique Franceschini. Durante o período do mestrado realizou projetos de pesquisa junto ao laboratório do Ph.D. José Eduardo Portela Santos, Department of Animal Sciences na Universidade da Flórida – Gainesville, EUA – onde permaneceu por 5 meses.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter colocado em meu caminho pessoas tão especiais durante o meu mestrado.

A minha família pelo apoio. Minha querida mãe, Ivana por ter acordado comigo tantas madrugadas e por ter orado tantas noites durante minhas idas e vindas. E aos meus amados avós Irene e Geraldo pelo apoio e por sempre fazerem de meus sonhos os sonhos deles.

Ao querido orientador Cocão (Prof. Paulo Henrique Franceschini) pelos ensinamentos, mas sobretudo pela grande amizade, conselhos, lições de vida e pelas tantas conversas e palavras de incentivo ao longo desses anos.

Ao Médico veterinário e amigo Carlos Alberto Rodrigues (Carlão), exemplo profissional para mim e para tantas outras pessoas que tem a oportunidade de conviver com ele. Obrigada pela confiança, pelas oportunidades, pelos ensinamentos e pela dedicação.

A Fazenda Santa Rita (Agrindus S/A), especialmente ao Roberto Hugo Jank por permitir e disponibilizar as instalações e os animais para a realização do presente trabalho; aos funcionários da fazenda Beco, Thiago, Tulina, Laercio e Mickey por terem me ajudado tanto na realização deste estudo.

Aos amigos e companheiros de fazenda: Pericles (Naim), Alessandra (Davida) e Lais (Kokota). Agradeço muito a vocês pela contribuição para a realização deste trabalho. Mas agradeço ainda mais a amizade e o companheirismo.

A Ourofino Saude Animal, em especial ao José Ricardo Garla de Maio pela confiança e pelo patrocínio.

A Erika S.C. Morani e a Juliana C. B. Silva pelas correções e conselhos de muita valia para a confecção desta dissertação.

Ao Haroldo Neves e José Nelio S. Sales que muito gentilmente realizaram (várias vezes) a análise estatística do presente trabalho.

À Prof. Eunice Oba (UNESP – Botucatu) por realizar as dosagens hormonais.

Aos meus amigos de departamento Maite, Roberta, Guilherme e Rafael pela convivência nesta etapa final do mestrado.

Às minhas amigas da República Choppiana Andréia (Vagaba), Maria Eugênia (Kartuxera) e Laura (Pitrika), que moram no meu coração. Agradeço, em especial, a minha amiga Guampa pelo companheirismo, pela infinita amizade e por ter me acolhido em sua casa ou em seu quarto tão gentilmente durante o meu mestrado. E também às moradoras, e amigas, com quem convivi por menos tempo: Chikinha, Purga e Tina.

Às minhas amigas Francine (Fran) e Elisângela (Lili). Agradeço a vocês pela fidelidade, conversas e companhia, seja nas festas ou apenas assistindo a novela. Vocês tornaram minha estadia em Jaboticabal muito mais feliz.

Ao meu namorado Otávio, que foi tão compreensivo durante o período experimental deste trabalho. Agradeço a paciência, dedicação, amor e carinho.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE ABREVIATURAS.....	iv
LISTA DE TABELAS.....	vii
LISTA DE FIGURAS	ix
RESUMO	x
ABSTRACT	xi
1. INTRODUÇÃO	1
Hipóteses	4
2. REVISÃO DE LITERATURA	5
2.1 Desempenho Reprodutivo dos Bovinos	5
2.2 Reconhecimento Materno da Gestação	7
2.3 Luteólise	8
2.4 Síntese de Prostaglandinas	10
2.5 Estratégias antiluteolíticas	11
3. MATERIAL E MÉTODOS	14
3.1 Propriedade onde o trabalho foi realizado e animais utilizados	14
3.2 Transferência de embriões	14
3.2.1 Doadoras de embriões	14
3.2.1.1 Protocolo de Superovulação de Nulíparas doadoras de embriões	15
3.2.1.2 Protocolo de Superovulação de vacas não lactantes doadoras de embriões	17
3.2.1.3 Protocolo de Superovulação de vacas lactantes doadoras de embriões	19
3.2.2 Colheita dos embriões de Doadoras Superovuladas	21
3.2.3 Receptoras de embrião	22
3.2.4 Transferência dos embriões	22
3.2.5 Tratamento e colheitas de sangue	23
3.2.6 Colheita dos dados	24

3.3 Inseminação Artificial	25
3.3.1 Animais destinados à Inseminação artificial com observação de estro	25
3.3.2 Tratamento e colheitas de sangue	25
3.3.3 Colheita dos dados	26
3.4 Inseminação Artificial em Tempo Fixo	27
3.4.1 Tratamento e colheitas de sangue	28
3.4.2 Colheita dos dados	29
3.5 Determinação da concentração sorológica de progesterona	29
3.6 Análise estatística	30
4. RESULTADOS	32
4.1 Transferência de Embrião	32
4.1.1 Taxa de concepção inicial	32
4.1.2 Taxa de concepção final	37
4.1.3 Perda gestacional	40
4.2 Inseminação Artificial	42
4.2.1 Taxa de concepção inicial	42
4.2.2 Taxa de concepção final	43
4.2.3 Perda gestacional	44
4.3 Inseminação Artificial em tempo Fixo	44
4.3.1 Taxa de concepção inicial	44
4.3.2 Taxa de concepção final	45
4.3.3 Perda gestacional	46
4.4 Concentração sérica de progesterona	47
5. DISCUSSÃO	51
5.1 Uso de antiinflamatórios como estratégia antiluteolítica	52
5.2 Transferência de embriões	57
5.3 Inseminação Artificial	61
5.4 Inseminação Artificial em Tempo fixo	64

5.5 Concentração sérica de progesterona.....	66
6. CONCLUSÃO	69
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70
8. ANEXOS	95

LISTA DE ABREVIATURAS

% - por cento

* - interação

< - menor que

= - igual

> - maior que

± - mais ou menos

≤ - menor ou igual

≥ - maior ou igual

AA- Ácido Araquidônico

AINE – antiinflamatório não esteroideal

BE – benzoato de estradiol

CL – corpo lúteo

COX - ciclooxigenase

COX-1- ciclooxigenase 1

COX-2 – ciclooxigenase 2

DMPBS - Dubelcco Modified Phosphate Buffer Saline

D0 – dia zero

D14 – dia quatorze

D21 – dia vinte e um

D7 – dia sete

DEL – Dias em lactação

dL - decilitro

E2 – estradiol

ECC- escore de condição corporal

eCG – gonadotrofina coriônica equina

EP – erro padrão

ESR1- receptor de estradiol 1

et al. – e colaboradores

FA2 – fosfolipase A 2

FM – Flunixin meglumine

FSH – hormônio folículo estimulante

GnRH – hormônio liberador de gonadotrofina

IA – inseminação artificial

IATF – inseminação artificial em tempo fixo

IFN - interferon

INF τ – interferon tau

i.m. – intra muscular

Kg – kilogramas

L – litros

LH – hormônio luteinizante

mg- miligramas

mL – mililitro

ng – nanograma

NL – Número de lactação

NS – número de serviço

OXTR- receptor de ocitocina

P4 – progesterona

PG – prostaglandina

PGE2 – Prostaglandina E2

PGF2 α – prostaglandina F2 α

PGI2 – Prostaglandina I2

PL - produção de leite diária

TC – taxa de concepção

TE – transferência de embrião

UI – unidade internacional

α – alfa

μ g – micrograma

τ – tau

v- versus

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Taxa de concepção, razão de chance e valor de P do tratamento e das variáveis incluídas no modelo final da análise estatística para taxa de concepção inicial.	35
Tabela 2. Taxa de concepção, razão de chance e valor de P do tratamento e das variáveis incluídas no modelo final da análise estatística para taxa de concepção inicial	36
Tabela 3. Taxa de concepção, razão de chance e valor de P das interações entre tratamento e as demais variáveis do modelo final da análise estatística para taxa de concepção inicial	37
Tabela 4. Taxa de concepção, razão de chance e valor de P do tratamento e das variáveis incluídas no modelo final da análise estatística da taxa de concepção final ...	39
Tabela 5. Taxa de concepção, razão de chance e valor de P das interações entre tratamento e as demais variáveis do modelo final da análise estatística da taxa de concepção final.	40
Tabela 6. Perda gestacional, razão de chance e valor de P do tratamento e das variáveis incluídas no modelo final da análise estatística.....	42
Tabela 7. Valores de P, razões de chance e taxa de perda gestacional das interações incluídas no modelo final para perda gestacional.....	43
Tabela 8. Taxa de concepção inicial, razão de chance e valor de P do tratamento e das variáveis incluídas no modelo final da análise estatística da taxa de concepção inicial de vacas submetidas a IA.	44
Tabela 9. Taxa de concepção final, razão de chance e valor de P do tratamento e das variáveis incluídas no modelo final da análise estatística para taxa de concepção final de vacas submetidas a IA.	44
Tabela 10. Perda gestacional (%), razão de chance e valor de P do tratamento e das variáveis incluídas no modelo final da análise estatística para perda gestacional de vacas submetidas a IA.	45
Tabela 11. Taxa de concepção inicial, razão de chance e valor de P do tratamento e das variáveis incluídas no modelo final da análise estatística para taxa de concepção inicial de vacas submetidas a IATF.....	46
Tabela 12. Taxa de concepção final, razão de chance e valor de P do tratamento e das variáveis incluídas no modelo final da análise estatística para taxa de concepção final de vacas submetidas a IATF	47

Tabela 13. Perda gestacional (%), razão de chance e valor de P do tratamento incluídas no modelo final da análise estatística para perda gestacional de vacas submetidas a IA	47
Tabela 14. Concentração sérica de progesterona de vacas Holandesas de alta produção submetidas a IA, IATF e TE, tratadas ou não com meloxicam	48
Tabela 15. Concentração sérica de progesterona de vacas Holandesas de alta produção submetidas a IA, IATF e TE, prenhes ou vazias I.....	49
Tabela 16. Concentração sérica de progesterona de vacas Holandesas de alta produção, de acordo com o período do ano.....	50
Tabela 17. Concentração sérica de progesterona de vacas Holandesas de alta produção, de acordo com a produção de leite	50
Tabela 18. Concentração sérica de progesterona de vacas Holandesas de alta produção, de acordo com a categoria animal.....	51

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Protocolo de Superovulação (SOV) de Nulíparas doadoras de embriões da Raça Holandesa Preta e Branca	16
Figura 2 - Protocolo de Superovulação (SOV) de vacas não lactantes doadoras de embriões da Raça Holandesa Preta e Branca	19
Figura 3 – Protocolo de Superovulação (SOV) de doadoras de embriões em lactação da Raça Holandesa Preta e Branca	21
Figura 4 – Esquema ilustrativo do tratamento com meloxicam, das colheitas de sangue para dosagem de progesterona e do diagnóstico de gestação de receptoras de embrião da Raça Holandesas de alta produção repetidoras de serviço	25
Figura 5 – Esquema ilustrativo do tratamento com meloxicam, das colheitas de sangue para a dosagem de progesterona e do diagnóstico de gestação de Vacas Holandesas de alta produção inseminadas com observação de estro	27
Figura 6 – Esquema ilustrativo do protocolo hormonal utilizado para a sincronização de vacas Holandesas de alta produção recém paridas para a realização de IATF	29
Figura 7 – Esquema ilustrativo do tratamento com meloxicam, das colheitas de sangue para dosagem de progesterona e do diagnóstico de gestação de vacas Holandesas de alta produção sincronizadas com um protocolo hormonal para a inseminação artificial	30

EFEITO DO MELOXICAM SOBRE AS TAXAS DE CONCEPÇÃO DE VACAS DA RAÇA HOLANDESA, DE ALTA PRODUÇÃO, SUBMETIDAS À TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÃO, INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL E INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO

RESUMO - O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do meloxicam sobre a taxa de concepção inicial (TCi), final (TCf) e perda gestacional (PG) de vacas Holandesas de alta produção submetidas à Transferência de Embrião (TE) Inseminação Artificial (IA) e Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF). Na TE foram utilizadas, como receptoras de embrião, 492 vacas em lactação repetidoras de serviço. Na IA (n=312) e IATF (n=336) foram incluídas no estudo somente fêmeas recém paridas (com pelo menos 60 dias em lactação). Todas as fêmeas foram avaliadas e alocadas em um de dois grupos experimentais: Grupo Controle (GC) e Grupo Tratado (GT). O tratamento consistiu na administração i.m. de meloxicam injetável 2% (0,5mg/kg de peso) nos dias 7, 8 e 9 após a inovulação das receptoras de embrião, e nos dias 14, 15 e 16 da possível gestação das fêmeas submetidas a IA e IATF. Amostras de sangue foram colhidas nos D14 e D21 para posterior dosagem de progesterona (P4). O diagnóstico de gestação ocorreu aos 25-38 e 39-52 dias. O tratamento com o antiinflamatório não incrementou as TCi, TCf e tampouco diminuiu a PG em nenhuma das três biotecnologias. Contudo, observou-se que receptoras de embrião inovuladas com embriões congelados/descongelados do GT tiveram TCi e TCf menores que as do GC (GT= 25,8% v. GC=37,8%). Não houve diferença na concentração sérica de progesterona de vacas do GC e do GT no D21. Contudo, houve efeito da estação do ano sobre as concentrações de P4 no D14 e D21 tanto na TE como na IA e IATF. Ainda, vacas gestantes apresentaram maiores concentrações de P4 que vacas não gestantes no D21. Conclui-se que o tratamento com meloxicam não incrementou as TCi, TCf, tampouco reduziu a PG de vacas Holandesas de alta produção.

Palavras-chave: gado de leite, meloxicam, perda gestacional, taxa de concepção

EFFECT OF MELOXICAM ON CONCEPTION RATES OF HIGH-PRODUCING HOLSTEIN COWS SUBMITTED TO EMBRYO TRANSFER, ARTIFICIAL INSEMINATION AND TIMED ARTIFICIAL INSEMINATION

ABSTRACT – The aim of this study was to evaluate the effect of meloxicam on initial conception rate, final conception rate and pregnancy loss of high-producing Holstein cows submitted to embryo transfer (ET), artificial insemination (AI) and timed artificial insemination (TAI). On ET, 492 repeat breeders in milk were used as recipients. On AI (n=312) and TAI (n=336) only freshly calved cows (with at least 60 days in milk) were included in the study. The animals were evaluated and allocated in one of two experimental groups: Control Group (CG) and Treated Group (TG). The treatment consisted on administration of meloxicam 2% i.m. (0.5mg/kg of weight) on days 7, 8 and 9 after inoovulation of embryo recipients, and on days 14, 15 and 16 of the possible pregnancy of females submmited to AI and TAI. Blood samples were collected on D14 and D21 for progesterone assay. The diagnosis of pregnancy was done on days 25-38 and 39-52. The treatment with the antiinflamatory did not increase initial conception rates and final conception rates, nor decreased pregnancy loss of animals in all three biotechnologies. However, recipients of TG inoovulated with frozen/thawed embryos had lesser initial and final conception rates than CG (TG= 25.8% v. CG=37.8%) There was no difference on progesterone serum concentration of cows from TG and CG on D21. However, there was a season effect on P4 concentrations on D14 and 21 for ET, AI and TAI. Pregnant cows had higher P4 concentrations than non-pregnant cows. In conclusion, the treatment with meloxicam did not increase initial and final conception rates, neither decreased pregnancy loss of high producing Holstein cows.

Keywords: conception rate, dairy cattle, meloxicam, pregnancy loss

1. INTRODUÇÃO

A mortalidade embrionária é a principal causa de perdas econômicas em todos os sistemas de produção de ruminantes. No ano de 2000, ROYAL et al. relataram que nos últimos 20 anos, no Reino Unido, a taxa de prenhez ao primeiro serviço caiu de 60% para 40%, ou seja, uma queda de um ponto percentual ao ano. Sabe-se que a taxa de fertilização não tem grande impacto sobre a queda nas taxas de concepção. Vacas leiteiras não superovuladas lactantes e não lactantes têm taxas de fertilização semelhantes, cujas médias correspondem a 76,2% e 78,1%, respectivamente (SANTOS et al., 2004).

Estudos em que vacas leiteiras lactantes foram submetidas à transferência de embriões (TE) e ao diagnóstico precoce da gestação por ultra-sonografia, revelaram que menos de 50% das vacas mantiveram-se gestantes entre 27-30 dias após a ovulação (SARTORI et al., 2003). É importante ressaltar que em 1992, Christianson observou que as causas não-infecciosas respondiam por mais de 70% das perdas embrionárias. Esses estudos sugerem a importância dos distúrbios do reconhecimento materno e da função luteal sobre as taxas de concepção.

As perdas embrionárias podem ocorrer porque o embrião/concepto pode não inibir suficientemente a secreção de prostaglandina F_{2α} (PGF_{2α}; THATCHER et al., 2001a). Em ruminantes, o interferon-tau (INF_τ) inicia o mecanismo luteolítico (BAZER et al., 1997), e embriões menos desenvolvidos produzem pouco ou mesmo quantidades indetectáveis deste INF (MANN e LAMMING, 1999). Para que o corpo luteo (CL) seja mantido, o INF_τ produzido pelas células mononucleares do trofotoderma, silencia a expressão de receptores de Estradiol 1 (ESR1) e também do receptor de ocitocina (OXTR) para prevenir a liberação de pulsos luteolíticos de PGF_{2α} (SPENCER et al., 2007a). A partir deste contexto, diversas estratégias antiluteolíticas foram sugeridas por Binelli et al. (2001) para superar as perdas embrionárias precoces. Uma delas é diminuir a resposta luteolítica materna é através do uso de antiinflamatórios, que pode inibir ou atrasar o processo luteolítico tanto em receptoras de embrião quanto em vacas que são inseminadas e cujos conceptos têm o desenvolvimento ligeiramente atrasados.

Esta estratégia permite que o conceito menos desenvolvido tenha tempo para se desenvolver melhor e produzir quantidades suficientes de IFNT.

O meloxicam está classificado entre os mais novos AINE, é um inibidor altamente seletivo da COX-2 e tem um efeito de ação longo comparado ao flunixin meglumine (FM). Friton et al. (2004) demonstraram, em gado de corte, que uma única dose subcutânea de meloxicam (0,5mg/kg de peso) foi tão efetiva quanto três administrações diárias consecutivas e intravenosas de FM (2,2mg/kg de peso; dose recomendada na bula do medicamento) quando usadas como terapia adjunta para tratamento antibacteriano. Além disso, Königsson et al. (2002) observaram que a meia-vida plasmática do meloxicam em novilhas foi de até 35h. Dessa forma, é de suma importância a realização de um estudo em vacas leiteiras de alta produção, da raça Holandesa, utilizando meloxicam como antiinflamatório de escolha no momento do reconhecimento materno da gestação, tanto em receptoras de embrião, como em vacas submetidas a inseminação artificial (IA) e inseminação artificial em tempo fixo (IATF).

A partir deste contexto elaboram-se os seguintes objetivos para o presente projeto de pesquisa:

- Objetivo geral:

Avaliar a influência do meloxicam sobre as taxas de concepção, no período do reconhecimento materno, em vacas leiteiras.

- Objetivos específicos :

Avaliar as taxas de concepção inicial, final e a perda gestacional após a administração intramuscular de meloxicam durante os dias 7, 8 e 9 após a inovulação de receptoras de embrião da raça Holandesa.

Avaliar as taxas de concepção inicial, final e a perda gestacional após a administração intramuscular de meloxicam durante os dias 14, 15 e 16 após a inseminação artificial de vacas da raça Holandesa, recém paridas, de alta produção.

Avaliar as taxas de concepção inicial, final e a perda gestacional após a administração intramuscular de meloxicam durante os dias 14, 15 e 16 após a IA de

vacas da raça Holandesa, recém paridas, de alta produção submetidas a um protocolo hormonal para IATF.

HIPÓTESES

Transferência de embrião

O uso do meloxicam no momento do reconhecimento materno da gestação promoverá maiores taxas de concepção e menores taxas de perda gestacional em vacas receptoras de embrião, de alta produção, da raça Holandesa.

Inseminação Artificial

O uso do meloxicam no momento do reconhecimento materno da gestação promoverá maiores taxas de concepção e menores taxas de perda gestacional em vacas Holandesas de alta produção, recém paridas, submetidas à IA.

Inseminação Artificial em Tempo Fixo

O uso do meloxicam no momento do reconhecimento materno da gestação promoverá maiores taxas de concepção e menores taxas de perda gestacional em vacas da raça Holandesa de alta produção recém paridas, submetidas à um protocolo hormonal para IATF.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Desempenho reprodutivo dos bovinos

Ao longo das décadas, os animais com aptidão leiteira foram e continuam sendo selecionados para maior produção e, hoje, nota-se o reflexo desta especialização sobre certos parâmetros reprodutivos. Embora os fatores genéticos para produção de leite sejam bastante citados como causa da falha no estabelecimento da gestação, pesquisadores observaram que durante o período de ganho genético para tal especialidade, novilhas nulíparas com genética similar a de vacas em lactação apresentaram elevadas taxas de concepção (PRYCE et al., 2004). Isto sugere que a alta produção leiteira destes animais especializados é responsável por impactar de forma negativa uma série de eventos fisiológicos que interferem no estabelecimento da gestação.

Sabe-se que as taxas de fecundação não representam o maior problema para que uma vaca se torne gestante. Robinson et al. (2008) reportaram que a detecção apropriada do estro e a prática correta da IA com um sêmen de boa qualidade proporcionam uma taxa de fertilização de 90-95%.

Em vacas de alta produção leiteira, o desvio nutricional para a síntese de leite compromete o desempenho reprodutivo (LUCY, 2001), principalmente no período de pico da lactação. Este desvio nutricional leva, muitas vezes, ao balanço energético negativo e a perda de escore de condição corporal (ECC). Vacas que têm um decréscimo de 0,25 unidades no ECC têm duas vezes mais chances de perda embrionária que vacas que têm um acréscimo de 0,25 unidades (SILKE et al., 2002).

Um outro fator importante e responsável por grandes quedas na performance reprodutiva dos rebanhos é o estresse calórico. Estudos mostram que durante o período de crescimento folicular, o estresse calórico compromete o oócito devido ao efeito direto da temperatura ou devido as mudanças na função folicular que comprometeriam a qualidade oocitária (revisado por HANSEN & ARÉCHIGA, 1999). CHEBEL et al. (2004) observaram que vacas expostas ao estresse calórico antes da IA foram 31% a 33% menos aptas a conceber que as não expostas. Em um estudo

realizado por García-Ispuerto et al. (2006), foi observado que as chances de perda da gestação aumentaram 1,05 vezes para cada unidade adicional de índice médio de temperatura e umidade entre os dias 21 e 30 de gestação. O estresse calórico, ou estresse térmico, pode também afetar a secreção de PGs (PUTNEY et al., 1989), provocar a luteólise prematura e a perda embrionária.

O emprego de biotecnologias como a TE e a IATF permitem que os efeitos causados pelas altas temperaturas e umidade sobre a reprodução sejam minimizados. Na TE, os efeitos do estresse calórico sobre o desenvolvimento embrionário podem ser evitados através da produção de embriões no período mais fresco do ano e a transferência destes nos períodos quentes. Estudos mostram que até o terceiro dia de vida, os embriões são muito susceptíveis ao efeito do estresse térmico (EALY et al., 1993), e que muitos param de se desenvolver. Porém, eles se tornam mais resistentes com o passar do tempo e a medida em que se desenvolvem (EALY et al., 1993; HANSEN & ARECHIGA, 1999).

O emprego da IATF nos rebanhos elimina o problema de detecção de estro durante os períodos quentes do ano. Porém, as altas taxas de metabolismo hepático dos esteróides (SANGSRITAVONG et al., 2002) associadas ao problema de ovulação prematura em protocolos de IATF reduzem tanto as concentrações circulantes de estradiol (E_2) próximo do momento da IA (proestro) quanto as de P_4 após a ovulação (diestro). Para Lucy (2001) perda gestacional em vacas lactantes aumentam com o uso destes protocolos. A antecipação da ovulação (COLAZO et al., 2003), provoca a ovulação de um folículo ovulatório menor e o CL a ser formado, é menor quando comparado ao de ovulações oriundas de cio natural.

Com base nos problemas expostos acima, o mecanismo do reconhecimento materno da gestação juntamente com diversas estratégias que favoreçam seu estabelecimento e manutenção, vêm sendo amplamente estudados objetivando diminuir as taxas de perda embrionária e aumentar as taxas de concepção em vacas leiteiras de alta produção, especialmente no período de estresse calórico.

2.2 Reconhecimento materno da Gestação

As perdas embrionárias são consideradas as maiores responsáveis pelo aumento no intervalo entre partos em bovinos e pelas perdas econômicas nos rebanhos. Segundo o Comitê de Nomenclatura Reprodutiva Bovina (1972), a mortalidade embrionária precoce ocorre entre a fertilização e o dia 24 da gestação e a mortalidade embrionária tardia, entre os dias 25 e 45. Elas são resultado de defeitos intrínsecos no embrião, ambiente materno inadequado, assincronia entre o embrião e a mãe, ou falha materna em responder apropriadamente aos sinais embrionários (HANSEN, 2002).

O reconhecimento materno da gestação pode ser definido como um processo fisiológico pelo qual o concepto sinaliza a sua presença ao sistema materno, e prolonga a vida útil do CL (SPENCER et al., 2007b). O reconhecimento materno da gestação através da sinalização do concepto pode ocorrer tanto através de um processo luteotrófico, de maneira que o hormônio aja diretamente no CL para manter a função luteal, como através de um processo antiluteolítico, de modo que ocorra a prevenção da liberação uterina de PGF2 α . O resultado é a manutenção de um CL funcional para a produção de P4, que permite a ação de IFNs, fatores de crescimento, e citocinas responsáveis pela receptividade à implantação na maioria dos mamíferos (FAZLEABAS et al. 2004, SOARES 2004, SPENCER et al. 2007b).

Em ruminantes (ovelha, vaca e cabra) e suínos, o IFN τ e o E2 são os hormônios antiluteolíticos responsáveis pelo reconhecimento da gestação e manutenção do CL, respectivamente. O IFN τ silencia a expressão de ESR1 que impedem que o E2 estimule o OXTR e haja a liberação de pulsos de PGF2 α (BAZER et al. 2008). Dessa forma a luteólise é inibida, a P4 continua sendo produzida e a gestação é mantida.

Devido à invasão mínima do trofoblasto no endométrio materno em ruminantes, a comunicação materno-fetal neste período envolve exclusivamente a produção de IFN τ (ROBERTS et al., 1992; SPENCER et al., 2004). O RNAm do IFN τ e a proteína IFN τ são detectados inicialmente quando o embrião está na forma de trofoblasto no estágio tardio de mórula até a fase inicial de blastocisto (HERNANDEZ-LEDEZMA et al., 1992; KUBISCH et al., 1998). Nos dias 14-15 da gestação os níveis de RNAm de IFN τ

aumentam drasticamente em bovinos (EALY et al., 2001; EALY et al., 1998) e declinam bruscamente após o dia 21 da gestação, coincidindo com a ligação do trofotoderma ao revestimento uterino (BARTOL et al, 1985; HELMER et al., 1987; EALY et al., 2001). Apesar de este ser o único IFN conhecido a agir na sinalização do reconhecimento materno, os IFNs parecem afetar a receptividade uterina, decidualização, crescimento placentário nos primatas, ruminantes, suínos e roedores (BAZER et al., 2009).

Estudos recentes mostram que a suplementação com P4 acelera o alongamento embrionário nos dias 13 e 16 da gestação (LONERGAN et al., 2007; CARTER et al., 2008). No 16 dia, vacas com concentrações elevadas de P4 possuem embriões maiores que aquelas cujas concentrações de P4 são menores (MANN & LAMMING, 2001a). Starbuck et al. (2001) encontraram 50-55% de prenhez em vacas com >3ng/ml de P4 no dia cinco após o acasalamento, contra <10% naquelas com <1ng/ml de P4. Esses estudos mostram que a P4 é importante, não somente para a manutenção da gestação após o reconhecimento materno. Ela é essencial ao desenvolvimento embrionário no início da gestação.

Em conclusão, a P4 é de essencial para a sobrevivência embrionária. A manutenção de um CL funcional pela parte materna é de fundamental importância ao reconhecimento materno da gestação no período inicial da prenhez. Neste contexto, ressalta-se a importância do conhecimento sobre os fatores que regulam o processo de regressão luteal.

2.3 Luteólise

O CL é uma glândula reprodutiva transiente e que produz a P4 necessária ao estabelecimento e manutenção da gestação, como citado anteriormente. Caso a fêmea não esteja gestante, o processo de regressão luteal é importante para que um novo ciclo estral se inicie e assim, haja uma nova oportunidade para que ela se torne gestante. Porém, a luteólise pode ocorrer na presença do embrião no útero materno. Nestes casos, o mecanismo de regressão luteal é desencadeado pois embriões pouco desenvolvidos são incapazes de bloquear o mecanismo.

Por definição, a luteólise é o colapso funcional e estrutural do CL e é caracterizada pela queda na capacidade de síntese e secreção de P4, seguida de perda das células luteínicas (KNICKERBOCKER et al., 1988; MCGUIRE et al., 1994). Este processo ocorre em dois momentos, nos quais o declínio na síntese e secreção de P4 é chamado de luteólise funcional e a involução do CL, luteólise estrutural (MCCRACKEN et al., 1999; NISWENDER et al., 2000; DAVIS et al., 2003; DIAZ et al., 2002). Um pulso inicial de PG, mesmo de baixa magnitude, pode iniciar os mecanismos para que as grandes células luteínicas produzam PGF2 α (TSAI & WILTBANK, 1997), provoquem a luteólise e levem à inibição da síntese de P4 pelo CL (ANDERSON et al., 2001). Este processo é desencadeado pela ocorrência de cinco a oito pulsos de PGF2 α liberados pelo endométrio durante um período de dois a três dias (NANCARROW et al., 1973; THORBURN et al., 1973, PETERSON et al., 1975; KINDAHL et al., 1976; FREDRICKSON et al., 1984). Com relação a PGF2 α , sabe-se que a de origem endometrial inicia a luteólise funcional, e a originada pelo CL contribui com a luteólise estrutural (DIAZ et al., 2002; HAYASHI et al., 2003).

Ginther et al. (2007) relataram que o processo de regressão luteal ocorre aos 15, 16 e 17 dias após a ovulação e, como reportado por Davis et al. (2003), as células endoteliais da microvasculatura são as primeiras a se submeterem ao processo de apoptose no início da regressão do CL. Segundo Niswender et al. (2000), a queda na secreção de P4 ocorre devido a uma diminuição no fluxo sanguíneo do CL, que priva a glândula de nutrientes e substratos para esteroidogênese.

Segundo o modelo em ovelhas descrito por McCracken et al. (1984), o pulso de ocitocina liberado pela hipófise no final da fase luteínica gera um estímulo para a liberação de PGF2 α pelo endométrio. A PGF2 α age no CL liberando ocitocina luteal, que promove maior liberação de PGF2 α endometrial, resultando em um mecanismo de retroalimentação positivo entre a ocitocina e a PGF2 α . Porém, a PGF2 α não é a única substância envolvida neste processo. Além dela estão envolvidos hormônios, peptídeos vasoativos e fatores de crescimento.

Portanto, evitar a síntese de PGF2 α entre os dias 15 e 17 permite que o CL não sofra regressão, que a P4 continue sendo sintetizada, o que pode permitir que embriões

pouco desenvolvidos tenham um tempo extra para se desenvolverem e bloquear a PGF₂.

2.4 Síntese de Prostaglandinas

O ácido araquidônico (A.A.) e seus metabólitos têm um papel regulador da função do CL, exercendo, alguns destes metabólitos, uma ação luteolítica e outros, luteotrófica (MILVAE & ALILA, 1986; ALILA et al., 1988a,b). Eicosanóides (prostaglandinas, leucotrienos e lipoxinas) são mediadores lipídicos não estocados, porém prontamente sintetizados *de novo* após a ativação celular.

A biossíntese das PG começa com a liberação de AA das membranas fosfolipídicas ou dos ácidos graxos da dieta após a ativação da fosfolipase A₂ (FA₂) (SALES & JABBOUR, 2003). Através da ação da enzima lipooxigenase, o AA origina os leucotrienos, e através da ação da enzima ciclooxigenase, origina as prostaglandinas, as prostaciclina e os tromboxanos.

A COX converte o AA em um componente instável através da adição de um grupo 15-hidroperoxi: a PGG₂. O grupo hidroperoxi é então reduzido ao grupo peroxi da PGH₂ (MARNETT, 1992). Esta última PG origina os diferentes prostanóides através da atividade de isomerasas e sintases tecido específicas (FITZGERALD, 2003). A prostaglandina-D-sintase (PGDS) sintetiza a PGD₂, a prostaglandina-E₂-sintase (PGES) sintetiza a PGE₂ e a prostaglandina-F-sintase sintetiza a PGF₂ (PGFS).

A PGF₂ α regula inúmeras funções fisiológicas importantes como a função ovariana, mudanças cíclicas endometriais, função da tuba uterina, manutenção do CL durante a prenhez, o desenvolvimento embrionário, indução do parto e o processo de partição. (BASU, 1985; BASU & KINDAHL, 1987; BASU et al., 1987; MCCRACKEN et al., 1999; POYSER, 1995). São frequentemente comparadas aos hormônios, porém diferem destes por serem formadas em quase todos os tecidos e não em glândulas especializadas e em geral agem localmente em vez de serem transportadas pelo sangue até a célula-alvo (CHAMPE & HARVEY, 1994).

Acredita-se que a COX-1 normalmente sirva como uma enzima constitutiva, enquanto que a COX-2 é altamente induzível por diversos estímulos incluindo citocinas,

fatores de crescimento, mitógenos, além de regular a inflamação, diferenciação, mitogênese e angiogênese (SMITH et al., 2000). A ablação do gene COX-2 em camundongos resulta em múltiplas falhas reprodutivas, incluindo ovulação, fertilização, implantação e decidualização, confirmando que as PG produzidas pela COX-2 têm um papel crucial nestes processos (LIM et al., 1997; LANGENBACH et al., 1999a,b). Além disso, a atividade da COX-2 necessita de níveis menores de AA livre que a COX-1 para ocorrer (UENO et al., 2001).

A ação dos AINE vem sendo amplamente estudadas. Os AINES seletivos para COX-2 tem um efeito mínimo sobre a COX-1 e tem as mesmas atividades anti-inflamatórias, anti-piréticas e analgésicas que os AINES não seletivos, com pouco ou nenhum efeito gastrointestinal (SMITH et al., 2000).

Os novos inibidores de COX-2 apresentam seletividade para COX-2 porque inibem sua isoforma através de maneira tempo-dependente e mecanismo pseudoirreversível. Estes AINE também inibem a COX-1, porém ela ocorre através de mecanismos rápidos, competitivos e reversíveis (MARNETT et al., 1999; DEWITT, 1999).

O meloxicam é um AINE altamente seletivo para COX-2, que possui um efeito longo se comparado a outros antiinflamatórios como, por exemplo, o Flunixin Meglumine (FM). Por isso pode ser um fármaco importante para evitar síntese de PGF2 α e a regressão luteal.

2.5 Estratégias antiluteolíticas

Sabendo-se que o reconhecimento materno da gestação está altamente correlacionado com a função luteínica, liberação de PG e luteólise, é de suma importância a adoção de estratégias anti-luteolíticas que favoreçam o reconhecimento materno da gestação, diminuam as perdas embrionárias precoces e proporcionem um aumento nas taxas de concepção dos rebanhos.

Estas estratégias podem envolver manipulações dos folículos, do útero, do CL, do concepto e também do ambiente. Binelli et al. (2001) sugeriram seis estratégias que objetivam aumentar a capacidade de produção de P4 pelo CL, reduzir a resposta

luteolítica pela unidade materna e/ou reduzir os efeitos do folículo dominante no período crítico do reconhecimento materno da gestação. Durante este período, a vaca deve “ajustar” sua fisiologia de cíclica para prenhe e esta mudança depende muito do bloqueio efetivo da luteólise através do adequado reconhecimento materno da gestação.

Estudos mostram que entre os dias oito e 17 da gestação até 40% dos embriões são perdidos, e as perdas embrionárias que ocorrem neste intervalo aparentemente envolvem a falha na manutenção do CL (THATCHER et al., 2001; MANN et al., 1999). A P4 produzida pelo CL é importante no controle do endométrio uterino para a implantação e desenvolvimento embrionário (LONERGAN et al., 2011). Baixas concentrações de P4 são implicadas como causa das baixas taxas de prenhez observadas em vacas de leite de alta produção (DISKIN & MORRIS, 2008). Herzog et al. (2011) observaram que as concentrações plasmáticas de P4 foram significativamente maiores em vacas prenhes que em vacas não prenhes no dia 13, porém não houve diferença significativa entre as vacas prenhes e as que posteriormente perderam o embrião. Green et al. (2005) mostraram que no 5º dia de gestação, os embriões de vacas com elevada P4 apresentaram um desenvolvimento mais avançado que os provenientes de vacas com concentrações mais baixas deste hormônio.

Mann & Lamming (1995) reportaram que vacas que possuem embriões menos desenvolvidos têm menores concentrações de IFN τ no lavado uterino que aquelas que possuem embriões mais desenvolvidos. Neste caso, o uso de um fármaco capaz de `inibir` a síntese de PGs e evitar a luteólise seria uma importante estratégia para permitir um tempo adicional ao embrião menos desenvolvido para se desenvolver e produzir maiores quantidades de IFN τ .

O uso de AINE momentos antes da inovulação vêm sendo estudado com o objetivo de reduzir a síntese de PG causada pela manipulação do trato reprodutivo. Contudo, os resultados obtidos ainda são bastante controversos (ELLI et al., 2001; MCNAUGHTAN et al., 2002). Nesta mesma linha de raciocínio, muitos estudos são feitos com o uso de AINE no momento do reconhecimento materno, com o objetivo de

evitar a síntese de $\text{PGF2}\alpha$ no momento do reconhecimento materno da gestação e manter os níveis de P4 elevados a manutenção da prenhez.

Guzeloglu et al. (2005) trataram novilhas da raça Holandesa com Flunixin Meglumine (FM) nos dias 15 e 16 pós-IA, com o intuito de evitar a luteólise no momento do reconhecimento materno da gestação, e observaram maiores taxas de concepção nos dias 29 (76,9 v. 50%; $P < 0,04$) e 65 de gestação (69,2% vs. 46,2%; $P < 0,09$) para animais do grupo tratado e controle, respectivamente.

Amiridis et al. (2009) fez um estudo testando em um grupo a administração de 0,5mg/Kg de meloxicam nos dias 16, 17 e 18 da possível gestação em vacas repetidoras de serviço. Em outro grupo de animais foram administrados GnRH (buserelina, 0,012 mg) no dia da IA, juntamente com a administração de cápsulas de P4 a cada 12h nos D4, D5 e D6, e de meloxicam nos D16, D17 e D18. Neste estudo havia também um grupo controle, que não recebia nenhum fármaco. Os resultados mostraram as taxas de concepção do grupo no qual foi administrado somente meloxicam, não diferiu do grupo controle. Porém, as administrações combinadas de GnRH, P4 e meloxicam foram efetivas nas vacas repetidoras de serviço.

Conclui-se que a administração de AINE no momento do reconhecimento materno da gestação pode atrasar o processo luteolítico materno e refletir em aumento nas taxas de concepção. Esta estratégia antiluteolítica pode otimizar biotecnologias reprodutivas como TE, IA e IATF e reduzir as perdas econômicas causadas pela mortalidade embrionária.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Propriedade onde o trabalho foi realizado e animais utilizados

O trabalho foi realizado na Fazenda Santa Rita, Agropecuária Agrindus S/A, localizada na Estrada Velha Descalvado/São Carlos, no município de Descalvado-SP (22° 01' 27" S e 47-53' 19" W) em dois períodos do ano: Fevereiro a Maio de 2010 (Período 1) e Setembro a Dezembro de 2010 (Período 2).

Para a TE foram utilizadas 96 doadoras de embriões da raça Holandesa, submetidas a técnica de múltipla ovulação e IATF. Os embriões produzidos foram transferidos fresco ou congelado/descongelado para 496 receptoras de embrião repetidoras de serviço.

Na IA foram utilizadas 312 fêmeas recém paridas provenientes de estro natural ou induzido por PGF2 α .

Para a IATF foram utilizadas 336 fêmeas recém paridas, com o mínimo de 60 dias em lactação (DEL), sincronizadas com um protocolo hormonal a base de P4 e E2. Todas as receptoras de embrião, fêmeas destinadas a IA e IATF, e vacas superovuladas em lactação foram mantidas em *freestalls* e alimentadas com silagem de milho e concentrado a base de milho, soja, polpa cítrica e caroço de algodão, água e sal mineral a vontade. As novilhas e as vacas não-lactantes doadoras de embriões foram mantidas em piquetes com pastagem, água e sal mineral a vontade.

3.2. Transferência de embriões

3.2.1 Doadoras de embriões

Foram utilizadas 96 fêmeas da raça Holandesa preta e branca geneticamente superiores para a produção de embriões, sendo estas divididas entre nulíparas, vacas lactantes e vacas não lactantes. Os embriões foram produzidos *in vivo* através da técnica de múltipla ovulação e IATF, com posterior colheita de embriões. Vacas em lactação foram mantidas em sistema do tipo *free stall* (bairros de estabulação livre) e nulíparas e vacas não lactantes foram mantidas em piquetes.

3.2.1.1 Protocolo de Superovulação de nulíparas doadoras de embriões

As fêmeas nulíparas receberam, no período da manhã, em dia aleatório do ciclo estral (D0), um implante auricular subcutâneo de P4¹ (liberação de 200 µg de Norgestomet por dia), 2mg de benzoato de estradiol (BE) + 50mg de Progesterona², e 5 ml de Aminopool³. No D4 teve início a aplicação de seis doses decrescentes de FSH⁴ a cada 12 horas, totalizando 250 UI. No D6 foram administrados 15 µg de cloprostenol sódico⁵, i.m., pela manhã e pela tarde. No D7 pela manhã foram aplicados, também por via i.m., 2 ml de Gonadotrofina Coriônica equina⁶ (eCG), com retirada do implante no período da tarde. Na manhã do D8 as novilhas receberam 250 µg de gonadorelina⁷, a tarde foi realizada a primeira IA e no período da manhã do D9 foi realizada a segunda IA. A colheita dos embriões ocorreu no D15 no período da manhã após todas as novilhas serem avaliadas para a confirmação da superovulação e contagem de CL.

¹ Implante auricular subcutâneo de Norgestomet, Crestar®, Intervet®.

² Index, Brasil

³ Complexo vitamínico e aminoácidos, Aminogel®.

⁴ Pluset®, Calier®

⁵ Clorprostenol sódico®, Ciosin, Coopers®.

⁶ Folligon®, Intervet®.

⁷ Gonadorelina, Fertagyl®, Intervet®.

D0	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D15
P4®	4ml	3ml	2ml FSH				
+	FSH	FSH	+2ml	2 ml eCG	2,5 ml	IA	Colheita de embriões
P4 + BE (3ml)			PGF2α		GnRH		
+							
Aminopool®							
(5ml)	4ml	3ml	2ml	Retirada	IA		
	FSH	FSH	FSH+	Do			
			2ml	Implante			
			PGF2α				

*(todos no período da manhã)

FIGURA 1. Protocolo de superovulação (SOV) de nulíparas doadoras de embriões da Raça Holandesa Preta e Branca.

3.2.1.2 Protocolo de superovulação de vacas não-lactantes doadoras de embriões.

O protocolo de superovulação de vacas não-lactantes foi realizado da seguinte forma: em dia aleatório do ciclo estral (D0), as doadoras receberam um implante auricular subcutâneo de P4 (liberação lenta de 200 µg de Norgestomet por dia), 2mg de (BE) + 50mg de P4 i.m., 5ml de Aminopool, e Penicilina G Potássica (PGK), todos pela manhã. No D4, teve início a administração de seis doses decrescentes de FSH, sendo duas por dia (uma pela manhã e uma a tarde), totalizando 400UI. No D6 foram administrados 150 µg de cloprostenol i.m. pela manhã e pela tarde. No D7 pela manhã, 2,0 ml de eCG, e a tarde o implante foi retirado. No D8, houve a aplicação de 2,5 ml de GnRH, i.m., no período da manhã e a tarde foi realizada a primeira IA. A segunda IA ocorreu no D9 de manhã.

A colheita dos embriões foi efetuada no D15 de manhã após a avaliação transretal dos ovários dos animais para a verificação da superovulação e contagem dos CL. (**Figura. 2**)

D0	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D15
P4® ¹ (implante)	4 ml	3 ml	2 ml	2,0 ml eCG	2,5 ml	IA	Colheita de embriões
+	Manhã		FSH +				
P4 +BE (2 ml)	FSH	FSH	2 ml		GnRH		
+			PGF2 α				
Aminopool®							
+	4 ml	3 ml	2 ml	Retirada do	IA		
PGK	Manhã	Tarde	FSH +	Implante			
			2 ml				
			PGF2 α				

*(todos no período da manhã)

Figura 2. Protocolo de superovulação (SOV) de vacas não-lactantes doadoras de embriões da Raça Holandesa Preta e Branca.

3.2.1.3 Protocolo de superovulação de vacas lactantes doadoras de embriões.

Em dia aleatório do ciclo estral, D0, no período da tarde foram colocados dois implantes auriculares subcutâneos de progesterona, com liberação diária de 200 µg de Norgestomet cada. Nesse mesmo dia foram aplicadas uma solução de 2mg de BE + 50mg de P4 i.m., bST (somatotrofina bovina recombinante)¹, Aminopool, e antibiótico de infusão intra-uterina². No D4 à tarde foram iniciadas as seis aplicações decrescentes de FSH (500UI no total), a intervalos de 12 horas. No D6 a tarde e no D7 pela manhã foram aplicados 2ml de cloprostenol (PGF2α). No D8 de manhã os implantes foram retirados e no D9 pela manhã foi administrado 2,5ml de GnRH. No período da tarde foi realizada a primeira IA, juntamente com a aplicação de bST e a segunda IA foi realizada no D10 de manhã. A colheita de embriões ocorreu no D16 no período da manhã, após a verificação da superovulação das doadoras e a contagem de corpos lúteos das mesmas (**Figura 3**).

¹ Somatotropina Bovina, Boostin®, Coopers®.

² Cefapirina, Metricure®, MSD®

D0	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10	D16
2 implantes de P4®								
+								
P4 +BE (3ml)	Manhã	4 ml FSH	3ml FSH	2 mlFSH +	Retirada do	2,5ml GnRH	IA	Colheita de embriões
+								
bST					Implante			
+								
Aminopool®								
+								
Metricure	Tarde	4ml FSH	3ml FSH	2mL FSH +		2,5ml eCG	IA	
				2mL PGF2α				

*(todos no período da tarde)

Figura 3. Protocolo de superovulação (SOV) de doadoras de embriões em lactação da Raça Holandesa Preta e Branca.

3.2.2 Colheita dos embriões de doadoras superovuladas

As colheitas dos embriões foram realizadas sete dias após a primeira IA das doadoras. As doadoras foram primeiramente submetidas à palpação transretal para a verificação da presença de CL e a contagem dos mesmos em cada ovário. Doadoras aptas (que responderam ao tratamento superovulatório e que, portanto, possuíam um ou mais corpos lúteos), foram imobilizadas e submetidas à colheita dos embriões. No espaço intervertebral sacro-coccígeo foram realizadas lavagem, tricotomia e antisepsia com álcool para posterior anestesia epidural com lidocaína a 2%. Posteriormente, a ampola retal foi esvaziada, a região perianal e suas adjacências foram higienizadas e a cauda foi contida. Em seguida, foi introduzido um expansor de cérvix para que o muco presente fosse retirado para facilitar a introdução da sonda longa de silicone número 18 (nulíparas) ou 20 (multíparas). As sondas foram introduzidas com a ajuda de um mandril e posicionadas no terço proximal do corno uterino a ser lavado. Em seguida, o mandril foi retirado, o balão de ar inflado, e a sonda acoplada a uma das extremidades de um tubo de silicone em formato de “Y” para a realização da lavagem do corno uterino com DMPBS. Todo o fluido obtido da lavagem foi constantemente drenado e protegido da luz solar. O mesmo procedimento foi realizado no outro corno uterino quando necessário, e foram utilizados cerca de 500 ml de solução para a lavagem de cada um deles.

O fluido da lavagem foi então levado até o laboratório onde ocorreram as buscas por estruturas, com a utilização do esteromicroscópico de luz indireta. Os embriões foram classificados de acordo com o estágio embrionário em mórula (M), blastocisto inicial (Bi), blastocisto (Bl), e blastocisto expandido (Bx) e também de acordo com a qualidade (graus 1, 2 e 3), de acordo com o manual da IETS (1998). Após a classificação, os embriões passaram por banhos seqüenciais em meio de manutenção e então foram envasados em palhetas de 0,25 ml para a transferência a fresco. Quando o número de embriões colhidos era maior que o número de receptoras, os mesmos eram congelados para utilização posterior.

Com o intuito de diminuir as perdas embrionárias devido os efeitos da congelação, foram escolhidos os embriões de melhor qualidade (graus 1 e 2) para a realização deste processo. Assim, os embriões ficaram durante nove minutos em solução de etilenoglicol a 2% em temperatura ambiente. Em seguida foram envasados em palhetas de 0,25ml com lacre identificando o acasalamento, estágio e qualidade do embrião, raça, data e meio de congelação. Foram colocados no aparelho de congelação (TK 2000) calibrado a -6°C , realizando-se o “*seeding*” antes de iniciar a curva de congelação até alcançar -32°C por cinco minutos. Após a finalização desse processo, os embriões foram armazenados em botijão de nitrogênio líquido a -196°C .

3.2.3 Receptoras de embrião

Para o presente experimento, foram utilizadas 492 receptoras de embrião, cujas médias \pm EP foram de $1,96 \pm 1,08$ número de lactações (NL), $320,73 \pm 6,55$ dias em lactação (DEL), $6,9 \pm 0,15$ número de serviços (NS) e $24,93 \pm 0,30$ kg/dia de produção de leite (PL). Deste total, 304 receberam embriões frescos, sendo que 152 animais foram alocados no grupo controle e 152 no grupo tratado. Os embriões congelados/descongelados totalizaram 188, dentre os quais 95 foram alocados no grupo controle e 93 no grupo tratado. As receptoras eram fêmeas da raça Holandesa, repetidoras de serviço (NS ≥ 3 e/ou DEL ≥ 180). Os animais eram provenientes de observação de estro natural ou de estro induzido por 0,5 mg de PGF 2α . As receptoras foram classificadas de acordo com a sincronia do cio entre a doadora e a receptora. As que apresentaram estro seis dias antes da ovulação foram classificadas em -1, as que manifestaram estro sete dias antes da ovulação foram classificadas como 0 e as que apresentaram estro oito dias antes da ovulação foram classificadas em +1.

3.2.4 Transferência dos embriões

No dia da ovulação as receptoras foram avaliadas com o uso do ultrassom para a detecção e classificação do tamanho CL de 1 a 3, sendo 1 um CL de diâmetro grande, 2 intermediário e 3 um CL pequeno. As receptoras que apresentaram um CL receberam anestesia epidural com 5ml de lidocaína a 2% no espaço sacro-coccígeo

após assepsia. Um auxiliar introduzia a palheta dentro do aplicador e o envolvia com bainha e camisa sanitária. No momento da inovulação foi administrada uma dose de GnRH por via intramuscular.

Embriões congelados/descongelados permaneciam 10 segundos em temperatura ambiente e 10 segundos em água também em temperatura ambiente para a descongelação.

Todas as inovulações foram realizadas pelo mesmo técnico, médico veterinário, que possui vasta experiência técnica de TE em bovinos.

3.2.5 Tratamento e colheitas de sangue

As receptoras de embrião foram alocadas homogeneamente entre grupo controle e grupo tratado de acordo com o NL, DEL, NS, PL e grau do CL. Os embriões foram inovulados de maneira homogênea entre os grupos tratado e controle de acordo com a doadora, estágio de desenvolvimento, grau embrionário e tipo de embrião (fresco ou congelado/descongelado). Todas as fêmeas alocadas no grupo tratado receberam uma dose de meloxicam 2% (0,5 mg/kg de peso) nos dias 7, 8 e 9 após a inovulação.

Os animais foram tratados nas baias com o objetivo de evitar o estresse causado pela passagem no tronco de contenção. Todas as administrações foram realizadas no mesmo horário, respeitando os horários das inovulações.

O diagnóstico de gestação foi realizado com o uso de ultrassom entre os dias 25 e 38 de gestação (1º diagnóstico), e a confirmação entre os dias 39 e 52 (2º diagnóstico).

Foram colhidas amostras de sangue de 187 receptoras de embrião nos dias sete e 14 após a inovulação ($D\pm 14$ e $D\pm 21$ do ciclo estral), para posterior dosagem de progesterona. Destas, 91 pertenciam ao grupo controle e 96 ao grupo tratado. Ressalta-se que a colheita de sangue no dia sete foi realizada imediatamente antes da administração de meloxicam no grupo tratado. A colheita foi realizada com tubos com vácuo e sem anticoagulantes através da venopunção dos vasos coccígeos. Os tubos devidamente identificados foram armazenados em refrigerador até o momento de

serem centrifugados e o soro foi separado através de centrifugação (2000 x g, 15 min) e posteriormente armazenado a -20°C até o momento da dosagem hormonal.

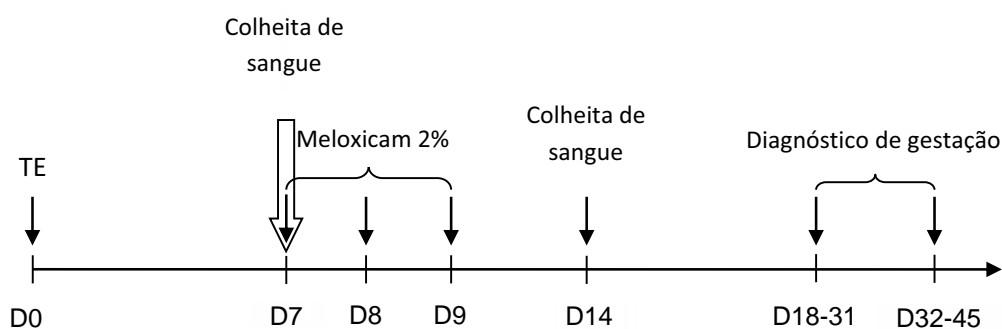


Figura 4. Esquema ilustrativo do tratamento com meloxicam, das colheitas de sangue para dosagem de progesterona e do diagnóstico de gestação de receptoras de embrião, da Raça Holandesa de alta produção, repetidoras de serviço.

3.2.6 Colheita dos dados

Todos os dias, após as inovulações, foram colhidas informações das receptoras quanto ao número de dias em lactação, NL, NS, PL, sincronia doadora-receptora, classificação do CL, qualidade embrionária, grau de desenvolvimento e tipo do embrião inovulado.

3.3. Inseminação Artificial

3.3.1 Animais destinados à IA com observação de estro

Foram utilizadas 312 fêmeas ao longo do ano, com médias \pm EP de 73,98 \pm 1,16 DEL, 33,44 \pm 0,35 litros de leite/dia e 2,03 \pm 0,06 NL. No período 1 foram usadas 100 fêmeas, sendo 52 alocadas no Grupo Controle e 48 no Grupo Tratado. No período 2 foram utilizadas 212 fêmeas, sendo 103 alocadas no Grupo Controle e 109 no Grupo Tratado. Foram incluídas no estudo apenas fêmeas recém paridas com mínimo de 60 DEL, observadas em estro natural ou induzido por PGF2 α . A indução do estro era realizada nos dias do manejo reprodutivo da fazenda. Vacas com cerca de 60 DEL e que apresentaram um CL no momento da avaliação por palpação transretal receberam 2ml de PGF2 α e foram observadas em estro por até sete dias. A IA foi realizada 12h após a observação do estro. Todas as fêmeas receberam uma dose de 1,0ml GnRH no momento da IA. Para a IA foram utilizadas doses de sêmen de cinco touros diferentes.

3.3.2 Tratamento e Colheitas de sangue

Os animais foram alocados homogeneamente entre grupo controle e grupo tratado. Todos os animais do grupo tratado receberam uma dose diária de meloxicam injetável 2% (0,5 mg/Kg de peso) nos dias 14, 15 e 16 após a IA. As administrações do meloxicam foram realizadas todos os dias no mesmo horário, respeitando o horário em que as fêmeas foram inseminadas artificialmente.

Os diagnósticos de gestação foram realizados por profissional qualificado de acordo com o manejo reprodutivo da fazenda. O primeiro diagnóstico ocorreu, com auxílio de ultrassom, entre 25 e 38 dias após a IA. A confirmação da gestação foi realizada entre os dias 39 e 52 de gestação por palpação transretal.

Foram colhidas amostras de sangue de um total de 114 animais nos dias 14 (dia da primeira aplicação do meloxicam) e 21 após a IA, para posterior dosagem de P4. A colheita foi realizada com tubos com vácuo e sem anticoagulantes através da venopunção dos vasos coccígeos. Os tubos devidamente identificados foram armazenados em refrigerador até o momento de serem centrifugados, o soro foi

separado através de centrifugação (2000 x g, 15 min) e posteriormente armazenado a -20°C até o momento da dosagem hormonal.

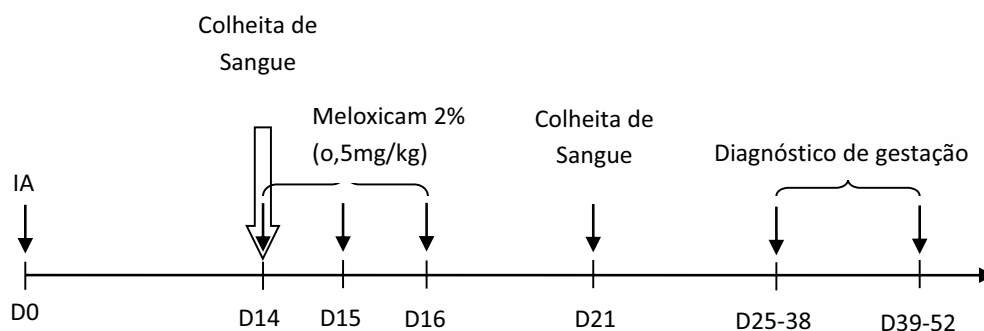


Figura 5. Esquema ilustrativo do tratamento com meloxicam, das colheitas de sangue para a dosagem de progesterona e do diagnóstico de gestação de vacas Holandesas de alta produção inseminadas com observação de estro.

3.3.3 Colheita dos dados

As vacas incluídas neste experimento não possuíam nenhum `evento` (IA ou TE) anterior e estavam com mais de 60 DEL. No dia da IA foram colhidos os dados sobre os DEL, categoria animal, NL, produção de leite (média semanal) e touro utilizado.

3.4 Inseminação Artificial em Tempo Fixo.

Para o presente experimento foram utilizadas 336 fêmeas. No Período 1 foram incluídos 107 animais (Grupo Controle n=54; Grupo Tratado n= 53), e no Período 2, 229 animais (Grupo Controle n=118; Grupo Tratado n=111). As médias \pm EP das variáveis analisadas foram de $67,30 \pm 0,80$ para DEL, $1,91 \pm 0,01$ para NL e $34,12 \pm 0,02$ para PL. Fêmeas bovinas de alta produção da raça Holandesa, recém paridas, foram submetidas a um protocolo hormonal para realização de IA. Contudo, no Período 1 a IA foi realizada em tempo fixo enquanto no Período 2 a IA foi realizada através da observação de estro após o término do protocolo hormonal, devido ao manejo reprodutivo da fazenda. O protocolo hormonal para ambos os períodos foi desenvolvido da seguinte forma: No D0 foi introduzido um dispositivo intravaginal de progesterona (Sincrogest[®], Ouro Fino, Cravinhos, Brasil) e concomitantemente administrados 2mg de Benzoato de estradiol (Sincrodiol[®], Ouro Fino, Cravinhos, Brasil). No D8 o implante foi retirado e foram administrados 400UI de eCG (Folligon[®], Intervet, Boxmeer, Holanda) , 1mg de Cipionato de Estradiol (E.C.P.[®], Pfizer, Paulínia, Brasil) e 500 μ g de cloprostenol (Sincrocio[®], Ouro Fino, Cravinhos, Brasil). No Período 1, 54 a 56h após a retirada do implante as vacas foram inseminadas e uma dose de GnRH foi administrada (**Figura 6**). Para a inseminação foram utilizadas doses de semen de cinco touros diferentes.

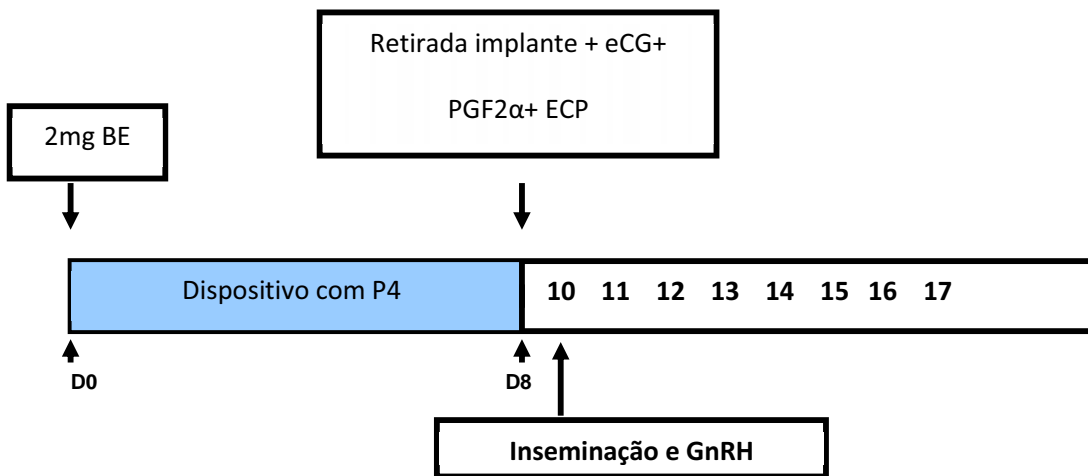


Figura 6. Esquema ilustrativo do protocolo hormonal utilizado para a sincronização do estro de vacas Holandesas de alta produção, recém paridas, para a realização de IATF.

Ressalta-se que o esquema exposto na **Figura 6** é relativo ao período 1 (Fevereiro a Maio de 2010) do experimento. No Período 2 a IA ocorreu 12 horas após a detecção do estro, juntamente com uma dose de 1,0ml de GnRH. Contudo, neste período, os animais que não manifestaram estro até a tarde do D9 foram inseminados em tempo fixo no D10.

3.4.1 Tratamento e colheitas de sangue

Os animais foram alocados homogeneamente entre grupo controle e grupo tratado. Todos os animais do grupo tratado receberam uma dose diária de meloxicam 2% (0,5 mg/Kg de peso), nos dias 14, 15 e 16 após a IA. As administrações do meloxicam foram realizadas todos os dias no mesmo horário, respeitando os horários das IA.

O diagnóstico de gestação foi realizado por ultrassonografia entre 25 e 38 dias após o procedimento da IA. A confirmação da gestação ocorreu entre os dias 39 e 52 de gestação por palpação transretal. (**Figura 7**).

Foram colhidas amostras de sangue de um total de 125 animais nos dias 14 (dia da primeira aplicação do meloxicam) e 21 para posterior dosagem de P4. As colheitas foram realizadas de maneira homogênea entre os grupos tratado e controle. Foram utilizados tubos com vácuo e sem anticoagulantes e o sangue foi colhido através da venopunção dos vasos coccígeos. Os tubos devidamente identificados foram armazenados em refrigerador até o momento de serem centrifugados e o soro foi separado através de centrifugação (2000 x g, 15 min) e posteriormente armazenado a -20°C até o momento da dosagem hormonal.

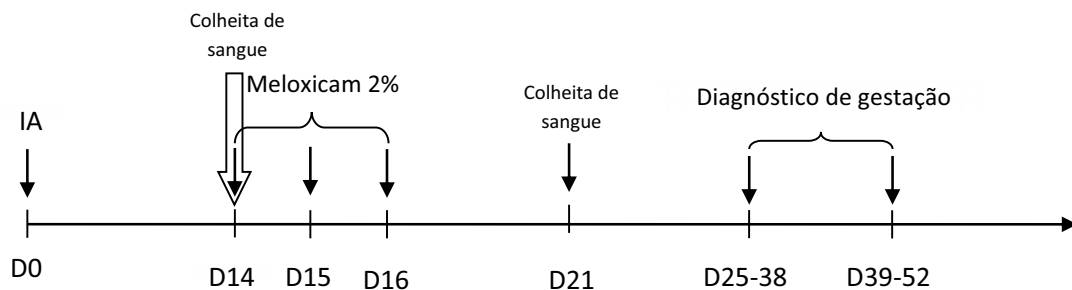


Figura 7. Esquema ilustrativo do tratamento com meloxicam, das colheitas de sangue para dosagem de progesterona e do diagnóstico de gestação de vacas Holandesas de alta produção, sincronizadas com um protocolo hormonal para a inseminação artificial.

3.4.2 Colheita dos dados

As vacas incluídas neste experimento não possuíam nenhum `evento` (IA ou TE) anterior e estavam com mais de 60 DEL. Foram colhidos os dados sobre os DEL, categoria animal, NL, produção de leite (média semanal) e touro no dia da IA.

3.5 Determinação da concentração sorológica de progesterona

Na TE foram dosadas amostras de 190 animais nos D±14 e D±21 do ciclo estral. Destas, 102 amostras foram colhidas no período 1 e 85 foram colhidas no período 2.

Na IA, 114 fêmeas tiveram a progesterona dosada, sendo 39 amostras colhidas no período 1 e 72 amostras no período 2. Na IATF, um total de 122 amostras foram dosadas para progesterona, sendo 43 no período 1 e 79 no período 2.

Ressalta-se que eram homogêneas com relação ao número de amostras do grupo controle e grupo tratado.

A dosagem hormonal foi realizada no Departamento de Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP Botucatu. A progesterona foi dosada pela técnica de radioimunoensaio, seguindo-se as recomendações do fabricante do kit e a leitura foi realizada pelo contador Cobra II GAMA COUNT.

3.6 Análise estatística

A análise estatística foi realizada utilizando o sistema de análises estatísticas para Windows SAS (SAS, 2001 versão 8.0). No modelo estatístico das análises de IA e IATF foram incluídas as variáveis explanatórias dias em lactação, categoria animal (primíparas ou múltiparas), produção de leite, touro e estação do ano, além de efeito de tratamento e interações.

No modelo estatístico das análises de TE foram incluídas as variáveis explanatórias dias em lactação, categoria animal (primíparas ou múltiparas), número de serviços, produção de leite, estação do ano, qualidade do embrião, estágio de desenvolvimento embrionário, sincronia doadora-receptora e tipo de embrião (congelado e fresco), além de efeito de tratamento e interações. As variáveis binomiais foram analisadas por regressão logística com eliminação backward (probabilidade de 0,20) pelo procedimento LOGISTIC do SAS. As variáveis selecionadas pelo backward foram incluídas no GLIMMIX e foram comparadas com modelos reduzidos, de modo que o melhor modelo foi selecionado segundo o critério AIC para a formação do modelo final.

As taxas de concepção inicial, final e a perda gestacional foram analisadas separadamente. O modelo inicial da análise estatística foi comum a todas, porém, foi selecionado o melhor modelo final para cada taxa nas três biotécnicas.

A progesterona foi analisada pelo procedimento stepwise (PROC GLMSELECT) para que o modelo final pudesse ser definido. O modelo final, por sua vez, foi incluído no GLIMMIX, assumindo uma distribuição gama para o erro e função de ligação log tanto para P7 e P14 no caso da TE, quanto para P14 e P21 no caso da IA e IATF.

As variáveis dependentes paramétricas foram expressas em média e erro padrão da média (média \pm EPM) , e as variáveis binomiais em porcentagem (%). Considerou-se diferença significativa entre as variáveis testadas quando o $P < 0,05$. Valores de P entre 0,06 e 0,1 foram discutidos como tendência.

4. RESULTADOS

O presente estudo avaliou as taxas de concepção inicial (vacas prenhes/inovuladas ou inseminadas), final (vacas prenhes/inovuladas ou inseminadas) e a perda gestacional (perda/ vacas prenhes inicial) de vacas Holandesas de alta produção, submetidas a três diferentes biotécnicas reprodutivas: TE, IA e IATF, em dois períodos do ano: Fevereiro a Maio (Período 1) e Setembro a Dezembro de 2010 (Período 2).

No modelo final das análises estatísticas, permaneceram somente as variáveis e as interações estatisticamente importantes para cada taxa analisada. Sendo assim, dados não incluídos no modelo estatístico final, mas biologicamente importantes ou interessantes tanto para TE como para IA e IATF, estão reportados em anexo.

4.1. Transferência de Embrião

4.1.1 Taxa de concepção inicial

As **Tabelas 1 e 2** mostram a taxa de concepção inicial, a razão de chance e o valor de P das variáveis que permaneceram no modelo estatístico final. O tratamento não aumentou as taxas de concepção iniciais das receptoras de embrião ($P=0,25$). Contudo, com base nas razões de chance, receptoras de embrião inovuladas com embrião fresco tenderam a apresentar chances 1,65 vezes maiores de tornarem-se gestantes no primeiro diagnóstico, que receptoras inovuladas com embrião congelado/descongelado (**Tabela 1**). O período do ano também não mostrou afetar a taxa de concepção inicial das receptoras, assim como a sincronia entre doadora e receptora (**Tabela 2**). Todas as outras variáveis incluídas no modelo estatístico final da TC inicial não apresentaram diferença estatística. Também foram observadas interações significativas do tratamento com tipo de embrião, número de serviços e grau embrionário. O resultados destas interações estão representados na **Tabela 3**. Através das razões de chance, observamos que a chance de um embrião congelado não tratado com meloxicam gerar uma gestação é 2,84 vezes maior que a de um embrião congelado tratado com meloxicam. Vacas com $NS \leq 6$ ou que foram inovuladas com

embrião grau 3, também obtiveram maiores taxas de concepção quando não tratadas com o antiinflamatório.

Tabela 1. Taxa de concepção, razão de chance e valor de P do tratamento e das variáveis incluídas no modelo final da análise estatística para taxa de concepção inicial.

Variável	Classe	N	% TC inicial	Razão de chance	95% de Intervalo de confiança	P
Tratamento	Controle	96/247	38,8%	1,34	0,80-2,23	0,25
	Tratado	87/245	35,5%	1		
Tipo de embrião	Fresco	123/204	40,4%	1,65	0,99-2,76	0,0523
	Cong/Descong	60/188	31,9%	1		
Número de serviços	≤6	104/274	37,9%	1		
	≥7	79/217	36,4%	0,72	0,43-1,21	0,22
Grau embrionário	1	36/81	44,4%	1,58	0,68-3,65	0,55
	2	106/299	35,4%	1,14	0,65-1,98	
	3	41/112	36,6%	1		

Tabela 2. Taxa de concepção inicial, razão de chance e valor de P do tratamento e das variáveis incluídas no modelo final da análise estatística

Variável	Classe	N	% TC inicial	Razão de chance	95% de Intervalo de confiança	P
Período	1	102/243	41,9%	1		0,21
	2	81/249	32,5%	1,47	0,79-2,73	
Sincronia doadora-receptora	-1	45/137	32,8%	1		0,27
	0	81/192	42,1%	1,33	0,79-2,23	
	+1	47/131	35,8%	0,86	0,48-1,54	

Tabela 3. Taxa de concepção inicial, razão de chance e valor de P das interações entre tratamento e as demais variáveis do modelo final da análise estatística.

Variável	Classe	Grupo	N	% TC inicial	Razão de chance	P	
Tipo de embrião	Fresco	Controle	60/152	39,5%	0,63	0,15	
		Tratado	63/152	41,4%	1		
	Cong/Descong	Controle	36/95	37,8%	2,84	0,008	
		Tratado	24/93	25,8%	1		
Número de Serviços	≤6	Controle	67/153	43,7%	2,85	0,0019	
		Tratado	37/121	30,5%	1		
		Controle	29/93	31,1%	0,63	0,18	
	≥7	Tratado	50/124	40,3%	1		
		1	Controle	17/42	40,4%	0,52	0,21
			Tratado	19/39	48,7%	1	
Grau embrionário	2	Controle	56/152	36,8%	1,11	0,71	
		Tratado	50/147	34,0%	1		
	3	Controle	23/53	43,3%	4,18	0,006	
		Tratado	18/59	30,5%	1		

4.1.2 Taxa de concepção final

A **Tabela 4** mostra que o tratamento não aumentou as taxas de concepção final das receptoras de embrião. Observa-se também que apenas o grau embrionário mostrou diferença estatística, e que embriões grau 2 e grau 1 tiveram menor e maior chances (nas razões de 0,79 e 1,75 vezes) de estabelecer gestação em receptoras de embrião que o grau 3.

As interações mostram que, como observado na TC inicial, embriões congelados/descongelados do grupo controle tiveram maiores TC final. Com relação ao NS e ao grau embrionário, não houve mudanças na interação, de modo que animais do grupo controle com NS \leq 6 ou inovulados com embriões grau 3 apresentaram maiores taxas de concepção final e maior chance de se tornarem gestantes que fêmeas tratadas com o meloxicam (**Tabela 5**).

Tabela 4. Taxa de concepção final, razão de chance e valor de P do tratamento e das variáveis incluídas no modelo final da análise estatística

Variável	Classe	N	% TC final	Razão de chance	95% de Intervalo de confiança	P
Tratamento	Controle	74/247	29,9%	1,54	0,91-2,60	0,10
	Tratado	63/245	25,7%	1		
Tipo de embrião	Fresco	88/304	28,9%	1,29	0,77-2,14	0,32
	Congelado	49/188	26%	1		
Número de serviços	≤6	74/274	27,0%	0,79	0,48-1,32	0,38
	≥7	63/217	29,0%	1		
Período	1	74/243	30,4%	1,43	0,87-2,33	0,15
	2	63/249	25,3%	1		
Grau embrionário	1	31/81	38,2%	1,75	0,85-3,60	0,03
	2	73/299	24,4%	0,79	0,46-1,35	
	3	33/112	29,4%	1		

Tabela 5. Taxa de concepção final, razão de chance e valor de P das interações entre tratamento e as demais variáveis do modelo final da análise estatística.

Variável	Classe	Grupo	N	% TC final	Razão de chance	P	
Tipo de embrião	Fresco	Controle	44/152	28,9%	0,83	0,56	
		Tratado	44/152	28,9%	1		
	Congelado	Controle	36/95	31,5%	2,85	0,008	
		Tratado	24/93	20,4%	1		
Número de Serviços	≤6	Controle	52/153	33,9%	3,65	0,0003	
		Tratado	22/121	18,1%	1		
		Controle	22/93	23,6%	0,65	0,23	
	≥7	Tratado	41/124	33,0%	1		
		1	Controle	15/42	35,7%	0,75	0,58
			Tratado	16/39	41,0%	1	
Grau embrionário	2	Controle	39/152	25,6%	1,17	0,62	
		Tratado	34/147	23,1%	1		
	3	Controle	20/53	37,7%	4,16	0,005	
		Tratado	13/59	22,0%	1		

4.1.3 Perda gestacional

Nesta análise, observou-se que receptoras inovuladas com embriões congelados/descongelados tiveram taxa de perda gestacional menor que receptoras que receberam embrião fresco. Inesperadamente, observou-se que vacas com $NS \geq 7$ apresentaram menor perda gestacional que vacas com $NS \leq 6$ (**Tabela 6**). Houve ainda interação entre NS e tratamento (**Tabela 7**), e receptoras de embrião com $NS \leq 6$ do grupo controle apresentaram menor taxa de perda gestacional que vacas tratadas. Estas apresentaram 7,64 vezes mais chances de perda gestacional que as vacas não tratadas com o antiinflamatório.

Tabela 6. Perda gestacional, razão de chance e valor de P do tratamento e das variáveis incluídas no modelo final da análise estatística

Variável	Classe	N	% Perda Gestacional	Razão de chance	95% - Intervalo de confiança	P
Tratamento	Controle	22/96	22,9%	1		
	Tratado	24/87	27,5%	2,5	0,95-6,57	0,06
Tipo de embrião	Fresco	35/123	28,4%	1		
	Congelado	11/60	18,3%	0,26	0,08-0,86	0,02
Número de serviços	≤6	30/104	28,8%	1		
	≥7	16/79	20,2%	0,42	0,18-0,97	0,043
Sincronia doadora-receptora	-1	7/45	15,5%	1		0,08
	0	27/81	33,3%	0,34	0,11-1,05	
	+1	10/47	21,2%	0,74	0,20-2,70	

Tabela 7. Valores de P, razões de chance e taxa de perda gestacional das interações incluídas no modelo final para perda gestacional.

Variável	Classe	Grupo	N	% Perda Gestacional	Razão de chance	P
Número de Serviços	≤6	Controle	15/67	22,3%	1	0,001
		Tratado	15/37	40,5%	7,64	
	≥7	Controle	7/29	24,1%	0,82	0,77
		Tratado	9/50	18%		

4.2. Inseminação Artificial

4.2.1 Taxa de concepção inicial

Na **Tabela 8**, observa-se que não houve efeito do tratamento sobre a taxa de concepção inicial das fêmeas. Contudo, como esperado, vacas primíparas apresentam maior TC inicial que as multíparas ($P=0,02$) e apresentaram 1,7 vezes mais chance de tornarem-se gestantes que multíparas. Nesta análise, nenhuma interação foi observada.

Tabela 8. Taxa de concepção inicial, razão de chance e valor de P do tratamento e das variáveis incluídas no modelo final da análise estatística da taxa de concepção inicial de vacas submetidas a IA.

Variável	Classe	N	% TC inicial	Razão de chance	95% - intervalo de confiança	P
Tratamento	Controle	47/155	30,3%	0,78	0,48-1,27	0,33
	Tratado	55/147	35,0%	1		
Categoria	Primíparas	55/141	39,0%	1,70	1,05- 2,76	0,02
	Múltiparas	47/170	27,6%	1		

4.2.2 Taxa de concepção final

Apesar de o tratamento não ter sido benéfico à taxa de concepção final, os dados mostram que primíparas permaneceram com maiores chances (2,06 vezes) de tornarem-se gestantes que múltiparas (**Tabela 9**). Nenhuma interação significativa foi observada.

Tabela 9. Taxa de concepção final, razão de chance e valor de P do tratamento e das variáveis incluídas no modelo final da análise estatística para taxa de concepção final de vacas submetidas a IA.

Variável	Classe	N	% TC final	Razão de chance	95% - Intervalo de confiança	P
Tratamento	Controle	39/155	25,1%	0,84	0,49-1,42	0,51
	Tratado	44/157	28,0%	1		
Categoria	Primíparas	49/141	34,7%	2,06	1,21-3,49	0,007
	Múltiparas	34/170	20,0%	1		

4.2.3 Perda gestacional

O tratamento não reduziu a perda gestacional das vacas submetidas a IA, e primíparas e múltiparas apresentaram taxas de perda gestacional estatisticamente semelhantes ($P=0,06$; **Tabela 10**). Não houve nenhuma interação entre as variáveis para a perda gestacional.

Tabela 10. Perda gestacional (%), razão de chance e valor de P do tratamento e das variáveis incluídas no modelo final da análise estatística para perda gestacional de vacas submetidas a IA.

Variável	Classe	N	% Perda gestacional	Razão de chance	95% - Intervalo de confiança	P
Tratamento	Controle	8/47	17%	0,93	0,29-2,91	0,90
	Tratado	11/55	20%	1		
Categoria	Primíparas	6/55	10,9%	2,92	0,93-9,17	0,06
	Múltiparas	13/47	27,6%	1		

4.3 Inseminação Artificial em Tempo Fixo

4.3.1 Taxa de concepção inicial

Na IATF observamos que, apesar de o tratamento não ter incrementado a TC inicial, o período 1 apresentou menores taxas de concepção inicial, e com base na razão de chance, vacas inseminadas no período 1 tiveram as chances de se tornarem gestantes reduzidas em 0,4 vezes (**Tabela 11**).

Tabela 11. Taxa de concepção inicial, razão de chance e valor de P do tratamento e das variáveis incluídas no modelo final da análise estatística para taxa de concepção inicial de vacas submetidas a IATF.

Variável	Classe	N	% TC inicial	Razão de chance	95% - Intervalo de confiança	P
Tratamento	Controle	60/172	34,8%	1,11	0,58-2,10	0,74
	Tratado	52/164	31,7%	1		
Período	Período 1	21/107	19,6%	0,40	0,21-0,76	0,005
	Período 2	91/229	39,7%	1		

4.3.2 Taxa de concepção final

O tratamento não aumentou as taxas de concepção das fêmeas. O sêmen utilizado na IA influenciou as TC finais das vacas submetidas a IATF. O touro três mostra uma tendência em diminuir (em 0,30) as chances de gerar uma gestação (Tabela 12).

Tabela 12. Taxa de concepção final, razão de chance e valor de P do tratamento e das variáveis incluídas no modelo final da análise estatística para taxa de concepção final de vacas submetidas a IATF.

Variável	Classe	N	% TC final	Razão de chance	95% - Intervalo de confiança	P
Tratamento	Controle	55/172	31,9%	1,44	0,86-2,40	0,16
	Tratado	43/164	26,2%	1		
Touro	5 touros					0,009
	3	10/74	13,5%	0,30	0,09-1,01	0,053
	4	50/150	33,3%	0,99	0,35-2,80	
	6	30/79	37,9%	1,33	0,45-3,92	
	7	2/13	15,3%	0,38	0,06-2,35	
	9	6/20	30%	1		

4.3.3 Perda gestacional

Apenas o tratamento apareceu como um efeito fixo no modelo estatístico final, e este não se mostrou efetivo para diminuir a perda gestacional (**Tabela 13**).

Tabela 13. Perda gestacional (%), razão de chance e valor de P do tratamento incluídas no modelo final da análise estatística para perda gestacional de vacas submetidas a IA.

Variável	Classe	N	% Perda Gestacional	Razão de chance	95% - Intervalo de confiança	P
Tratamento	Controle	5/60	8,3%	1		0,16
	Tratado	9/52	17,3%	2,30	0,71-7,46	

4.4 Concentração sérica de progesterona

Na TE foi observada diferença na concentração de progesterona entre o grupo tratado e controle antes do início do tratamento com o antiinflamatório. Contudo, esta diferença não foi encontrada no D±14, após o término do tratamento. Na IA e IATF, as concentrações de P4 estavam homogêneas antes do início do tratamento, e não foi observado efeito do antiinflamatório no D21. Nenhuma interação foi observada (**Tabela 14**).

Vacas prenhes apresentaram níveis séricos de progesterona semelhantes a vacas vazias no D14. Porém, como esperado, no D21 vacas prenhas tinham níveis séricos de progesterona maiores que vacas vazias (**Tabela 15**). Houve efeito de período do ano tanto no D14 como no D21, na TE e IA, com maiores concentrações de progesterona no período 2 (**Tabela 16**). A produção leiteira e a categoria animal não influenciaram a concentração sérica de progesterona (**Tabelas 17 e 18**).

Tabela 14. Concentração sérica de progesterona de vacas Holandesas de alta produção submetidas a IA, IATF e TE, tratadas ou não com meloxicam

		Concentração sérica de progesterona (ng.dl ⁻¹)		
		Controle	Tratado	P
TE	D±14	8,46±0,33 ^a	7,37±0,32 ^b	0,01
	D±21	6,53±0,57	5,62±0,44	0,71
IA	D14	8,46±0,42	7,45±0,46	0,33
	D21	5,54±0,59	4,94±0,95	0,70
IATF	D14	7,00±0,49	5,84±0,39	0,94
	D21	6,02±0,59	4,88±0,53	0,36

*Letras minúsculas distintas em uma mesma linha diferem significativamente entre si, com P<0,05.

Tabela 15. Concentração sérica de progesterona de vacas Holandesas de alta produção submetidas a IA, IATF e TE, prenhes ou vazias

		Concentração sérica de progesterona (ng.dl ⁻¹)		
		Prenhes	Vazias	P
TE	D±14	7,95±0,40	7,85±0,30	0,11
	D±21	6,19±0,52 ^a	6,00±0,41 ^b	<0,0001
IA	D14	8,20±0,59	8,03±0,36	0,67
	D21	5,46±0,78 ^a	5,28±0,48 ^b	0,04
IATF	D14	6,91±0,57	6,73±0,41	0,27
	D21	6,09±0,69 ^a	5,51±0,51 ^b	0,001

*Letras minúsculas distintas em uma mesma linha diferem significativamente entre si, com P<0,05.

Tabela 16. Concentração sérica de progesterona de vacas Holandesas de alta produção, de acordo com o período do ano

		Concentração sérica de progesterona (ng.dl ⁻¹)		
		Período 1	Período 2	P
TE	D±14	6,79±0,29 ^a	9,14±0,35 ^b	<0,0001
	D±21	4,79±0,36 ^a	7,44±0,53 ^b	0,0007
IA	D14	5,95±0,95 ^a	9,16±0,32 ^b	<0,0001
	D21	3,34±0,53 ^a	6,33±0,52 ^b	0,003
IATF	D14	4,88±0,37 ^a	7,74±0,43 ^b	0,005
	D21	3,34±0,51	6,69±0,53	0,12

*Letras minúsculas distintas em uma mesma linha diferem significativamente entre si, com P<0,05.

Tabela 17. Concentração sérica de progesterona de vacas Holandesas de alta produção, de acordo com a produção de leite

		Concentração sérica de progesterona (ng.dl ⁻¹)		
		≤25L	≥25,1L	P
TE	D±14	7,85±0,34	6,00±0,45	0,62
	D±21	7,86±0,36	6,01±0,48	0,95

Tabela 18. Concentração sérica de progesterona de vacas Holandesas de alta produção, de acordo com a categoria animal

		Concentração sérica de progesterona (ng.dl ⁻¹)		
		Primíparas	Múltiparas	P
TE	D±14	7,85±0,35	7,92±0,34	0,43
	D±21	6,00±0,47	6,06±0,45	0,51

5. DISCUSSÃO

As hipóteses iniciais do presente experimento não foram confirmadas, uma vez que o antiinflamatório (Maxicam®) administrado em receptoras de embrião, e em vacas submetidas a IA e IATF não resultou em aumento das taxas de concepção, tampouco na redução da perda gestacional de vacas de alta produção leiteira.

Dessa forma, a discussão do presente trabalho será dividida em três partes: primeiramente será discutido, com base nos resultados encontrados neste trabalho, o uso de antiinflamatórios como estratégia antiluteolítica. Em seguida, serão discutidos os resultados encontrados na TE, IA e IATF e, por último, a concentração de progesterona.

Com relação ao período do ano, sabe-se que vacas leiteiras são muito sensíveis ao estresse calórico, e que a alta produção de leite as torna ainda mais vulneráveis sob o aspecto reprodutivo (HANSEN & ARECHIG, 1999), uma vez que a alta produção está relacionada ao aumento na ingestão de alimentos e ao aumento metabólico, que levam a problemas de termorregulação. Chebel et al. (2004) avaliaram, em um estudo, os efeitos do estresse calórico sobre as taxas de concepção de vacas leiteiras de alta produção. Os resultados mostram que vacas expostas ao estresse calórico 50 a 20 dias antes da IA tiveram a taxa de concepção reduzida. Porém, fêmeas expostas ao estresse calórico menos de 20 dias antes da IA, ou mesmo até 45 dias após a IA, não tiveram redução nas taxas de concepção, ou aumento nas perdas gestacionais.

Estudos mais antigos mostram que os efeitos do estresse calórico sobre a fertilidade permanecem durante o outono (BADINGA et al., 1985; WOLFENSON et al., 1997), mesmo que a exposição tenha terminado (HANSEN, 1997). Ainda, esse efeito parece se prolongar por mais de 120 dias após o estresse calórico (TORRES-JÚNIOR et al., 2008). Com base nestes trabalhos, o Período 1 do presente experimento pode ser comparado ao período de estresse calórico, e o Período 2, ao período de inverno de outros trabalhos.

5.1 Uso de antiinflamatórios como estratégia antiluteolítica

Sabe-se que o uso de antiinflamatórios pode ser benéfico à manutenção do CL e às taxas de concepção. Alguns estudos realizados em receptoras bovinas de embrião mostram que o uso destes fármacos, no momento da inovulação, ajuda a inibir a síntese de prostaglandinas causada pela manipulação do trato uterino, e conseqüentemente, ajuda a aumentar as taxas de concepção (SCENNA et al., 2005; SCHRICK et al., 2001; PURCELL et al., 2005; MCNAUGHTAN et al., 2002).

Em cabras, estes fármacos são utilizados para prevenir a regressão luteínica precoce de fêmeas superovuladas (TRALDI et al., 1995a; SALLES et al., 1996). De fato, a administração de inibidores da síntese de prostaglandina no dia da ovulação e no dia da recuperação dos embriões permite uma redução considerável na regressão prematura do CL e um aumento no número de embriões transferíveis (BATTYE et al., 1988; TRALDI et al., 1995).

Contudo, estudos sobre a administração de antiinflamatórios no momento do reconhecimento materno da gestação em bovinos têm sido bastante controversos. Enquanto alguns mostram que o uso destes fármacos não traz benefícios às taxas de concepção (ERDEM & GUZELOGLU, 2010; HIRSCH & PHILIPP, 2009), outros mostram que antiinflamatórios podem ser uma alternativa para melhorar o desempenho reprodutivo dos rebanhos (MERRIL et al., 2007; GUZELOGLU 2007).

Analisando os resultados do presente experimento e correlacionando-os a outros, hipotetiza-se que possam ter ocorrido quatro coisas: (i) o uso do meloxicam pode ter evitado a luteólise durante o período da administração, mas seu efeito ter cessado com o término do tratamento, e a luteólise ter ocorrido, (ii) a dose utilizada e os dias administrados podem não terem sido adequados (iii) o antiinflamatório inibiu de forma efetiva não só a $PGF_{2\alpha}$, mas também outras PGs importantes para o estabelecimento da gestação ou (iv) alguns embriões são incapazes de sobreviver mesmo que a vida-útil do CL seja prolongada.

Em 1994, Odensvik & Gustafsson trataram novilhas receptoras de embrião (embriões de doadoras superovuladas) com 2,2mg/Kg de FM duas ou quatro vezes ao dia, com início no D14 (considerando o D0 como o dia do estro) por um período de 10

dias. Estes autores observaram que a síntese de PG foi afetada, mas nunca suprimida. No grupo de animais tratado com FM duas vezes ao dia, a liberação pulsátil de PG foi enfraquecida, porém continuou presente. No grupo tratado com FM quatro vezes ao dia, somente alguns picos esporádicos de PG foram observados durante o tratamento. Contudo, após o término do tratamento, os pulsos de PG voltaram e a luteólise ocorreu. O presente trabalho não avaliou a concentração de PG. Porém, com base no trabalho acima descrito pode-se supor que o meloxicam tenha inibido a síntese de PGF₂α durante os dias da administração, e que com a suspensão do medicamento tal PG voltou a ser produzida e a perda embrionária ocorreu. O estudo supracitado deixa claro que a quantidade de vezes que o fármaco é administrado durante o dia são cruciais para a redução dos pulsos de PGF₂, e que imediatamente após a suspensão, a luteólise e a mortalidade embrionária ocorrem.

Com relação à dose de meloxicam, no presente experimento foram administradas as doses terapêuticas indicadas na bula do medicamento. Uma das hipóteses é de que esta dose não seja a adequada. Ela pode ter sido tanto insuficiente para bloquear de forma efetiva a síntese da PGF₂α, quanto excessiva e assim ter inibido a síntese de todas as prostaglandinas. Como revisado por Kummer & Coelho (2002), o meloxicam mostra inibição ``preferencial`` pela COX-2, sendo a relação COX-2/COX-1 de apenas 0,8. Dessa forma, torna-se difícil atribuir a relação de segurança gastrointestinal, já que as doses terapêuticas desta droga também resultam em redução na atividade da COX-1. Por esses motivos, é de suma importância que se tenha cautela ao se elevar a dose administrada em novos estudos.

Os AINE seletivos para COX-2 tem como objetivo competir pelo sítio de ligação da COX-2 no ácido araquidônico e evitar a produção das prostaglandinas, prostaciclina e tromboxanos. O presente estudo visou impedir a síntese de PGF₂α pelo endométrio através do uso de um AINE preferencial para COX-2. Porém, os AINE inibem todas as prostaglandinas, e nesse contexto, o meloxicam pode ter inibido não só a síntese da PGF₂α, como também a síntese da PGE₂ e da PGI₂, como mencionado na hipótese (iii).

A expressão de PGE2-sintase pelo trofoblasto e endométrio diminui a produção de PGF2 α e favorece a produção de PGE2 para apoiar a manutenção do CL (ZIECIK et al., 2008). Em suínos, os IFN produzidos pelos embriões não tem efeitos antiluteolíticos, mas estimulam a secreção de PGE2 pelo endométrio (BAZER et al., 2008), que além de ser o principal metabólito da PGH2, pode ser um agente luteotrófico ou antiluteolítico (PRATT et al., 1995), além de possuir um efeito de imunomodulação que ajuda a prevenir a rejeição do concepto (LALA, 1990). Estudos mostram que a produção endometrial de PGE2 é maior durante as fases luteais média e tardia do ciclo estral de bovinos (MIYAMOTO et al., 2000), e sabe-se que um dos mecanismos pelo qual a luteólise é prevenida em ruminantes é através da alteração na proporção PGE2/PGF2, em favor da PGE2 (PAYNE & LAMMING, 1994; AROSH et al., 2004). Portanto, para que haja o estabelecimento da gestação, são necessárias proporções adequadas entre essas duas PG, que são essenciais para a receptividade endometrial, quiescência do miométrio e manutenção do CL (BAZER et al., 1998). Para Oliveira et al. (2009), o IFN- τ pode regular diretamente a síntese de PG pelo CL e a proporção intraluteal de PGE2/PGF2.

Em 1980, Holmes & Gordashko mostraram, através do uso de um inibidor não seletivo de ciclooxigenase que, em ratas, a PGE2 e a PGF2 estimulam algumas mudanças nas células do trofoblasto do blastocisto e são capazes de induzir a implantação destes no útero. Huang et al. (2004, 2004a) reportaram que o oviduto de ratas também expressa ambas as COX e que a PGI2 derivada do oviduto pode aumentar o desenvolvimento embrionário de maneira parácrina. Além de promover o desenvolvimento, a PGI2 também promove a eclosão dos embriões (HUANG et al., 2003). Ao utilizar um inibidor seletivo para COX-2 (SC-58125), Huang et al., (2004b) demonstraram que a eclosão embrionária foi suprimida e que ao adicionar um análogo de PGI2 tal supressão foi abolida.

Song et al. (2009) observaram que um análogo de PGI2 afetou positivamente a qualidade, o desenvolvimento pré-implantação e a cinética do desenvolvimento de embriões bovinos cultivados *in vitro*. Sua produção programada após o dia 15, em bovinos, pode estar envolvida na preparação fisiológica para a implantação (HWANG et

al., 1988; MATSUMOTO et al., 2001). Apesar de os efeitos da PGI₂ sobre a manutenção da gestação não serem amplamente estudados em bovinos, estes estudos mostram a importância da COX-2 no estabelecimento da gestação através da formação de prostaglandinas e prostaciclina. Estas substâncias se mostraram importantes tanto para o trato reprodutivo materno quanto para o embrião, que assim como a mãe, também produz PG. Estes trabalhos suportam a hipótese de que o antiinflamatório administrado no presente experimento pode ter inibido não só a síntese da PGF₂ α , mas também da PGE₂ e da PGI₂. Assim, o meloxicam pode ter impedido o desenvolvimento embrionário no período pré-implantação, a implantação e ação luteotrófica das PG quando administrado nos dias 14, 15 e 16 da possível gestação.

Muito se fala sobre o IFN τ como responsável pelo reconhecimento materno da gestação. Nas décadas passadas esta citocina foi amplamente estudada. Acreditava-se que, devido a invasão mínima do trofoblasto no endométrio materno em ruminantes, a comunicação materno-fetal neste período envolvia exclusivamente a produção de IFN τ (ROBERTS et al., 1992; SPENCER et al., 2007a). Roberts et al. (2008) reportaram que no período pré-implantação o IFN τ , produzido pelas células do trofotoderma, mostrou-se indispensável para o reconhecimento materno da gestação devido as suas ações antiluteolíticas. Para alguns pesquisadores, o IFN τ produzido pelo embrião alongado evita a luteólise pois inibe a expressão dos receptores de ocitocina e não a COX, justamente por essa enzima ser importante na geração de PG como a PGE₂ e a PGI₂, que são reguladoras críticas da receptividade uterina e das interações concepto-endométrio no início da gestação (EMOND et al., 2004, CAMMAS et al., 2006, CRITCHLEY et al., 2006). Além de inibir a secreção de PGF₂ α pelo endométrio, estudos recentes mostram que o IFN τ possui ação direta sobre as células circulantes do sangue e sobre o CL (OLIVEIRA et al., 2009; OTT & GIFFORD, 2010), e, ao contrário do que muitas vezes se pensa, regula positivamente a expressão da COX-2 no epitélio endometrial no período pré-implantação (por volta do dia 18; EMOND et al., 2004). Em ratas, Shafiq et al. (2004) observaram aumentos na perda pré e pós-implantação com o uso de AINE seletivos e não seletivos para COX-2 quando administrados nas doses terapêuticas.

Para que haja o estabelecimento da gestação são necessárias não somente produções adequadas de sinais antiluteolíticos para a manutenção de elevadas concentrações de P4, mas também resposta adequada do endométrio a esse sinais. Hoje, sabe-se que o IFN τ não é o único fator que afeta a fisiologia uterina e beneficia o reconhecimento materno da gestação. A receptividade uterina à implantação envolve mudanças na expressão de genes para a ligação do trofotoderma ao epitélio luminal e glandular uterino, modificação no fenótipo das células do estroma, supressão dos genes para o reconhecimento imune do concepto e ativação de genes para transportar nutrientes para o lumen uterino (SPENCER et al., 2007; SPENCER et al., 2008). Dessa forma, é de suma importância notar que a ação do IFN τ por si só não é suficiente para que a gestação seja estabelecida e mantida. O trato reprodutivo materno deve ser capaz de responder ao estímulo desta citocina através da regulação adequada da expressão gênica.

Com base em estudos realizados com PGI $_2$, PGE $_2$, PGF $_{2\alpha}$ e AINE seletivos para COX-2 (HUANG et al., 2004; HUANG et al., 2004b; HUANG et al., 2003; SONG et al., 2009), nota-se que deve haver cautela com o momento da aplicação destes antiinflamatórios objetivando-se aumentar as taxas de concepção, uma vez que o antiinflamatório inibe a PGF $_2$, mas também inibe outras PG importantes para a gestação. Vários são os trabalhos que sugerem que administração do antiinflamatório pode reduzir a mortalidade embrionária e aumentar as taxas de concepção. Porém, o reconhecimento materno da gestação é um processo complexo e que envolve sincronia e coordenação de uma série de eventos. Com base no presente estudo e na literatura, nota-se que a administração do antiinflamatório nos dias 14, 15 e 16 da gestação foi tardia, e que, talvez, para se obter os resultados desejados, a administração deste fármaco deva ter início antes dos dias aqui determinados. Ainda, estudos mais completos, com dosagem de PG, P4, IFN τ e expressão gênica embrionária e endometrial precisam ser realizados para que se possa correlacionar o dia e as concentrações ideais do meloxicam ao desenvolvimento e sobrevivência embrionária de bovinos.

5.2 Transferência de embriões

O tratamento com meloxicam não incrementou as taxas de concepção inicial e final das receptoras de embrião. Apesar de os grupos tratado e controle não terem apresentado diferença estatística, o grupo não tratado com o antiinflamatório mostrou taxas de concepção numericamente maiores que o tratado tanto na TC inicial (38,8% v. 35,5%) como na TC final (29,9% v. 25,7%). Resultados semelhantes foram encontrados por Amiridis et al. (2009). Estes pesquisadores trataram vacas repetidoras de serviço com 0,5mg/kg de meloxicam nos dias 16, 17 e 18 pós estro. Contudo, o grupo tratado com o antiinflamatório apresentou taxas de concepção similares as do grupo controle (TC inicial =29,0% v. 20,5%; TC final = 22,5% v. 17,7%).

Ainda, fêmeas tratadas com o antiinflamatório tenderam a apresentar maior taxa de perda gestacional que as fêmeas do grupo controle, possivelmente devido à inibição das PG responsáveis pela implantação produzidas pelo embrião e pelo útero materno. Em linhas gerais, como esperado e observado por Hasler (2001), houve tendência ($P=0,052$) de maior taxa de concepção inicial em vacas que receberam embriões frescos. Porém, a taxa de concepção final de receptoras que receberam embrião congelado foi semelhante a de receptoras que receberam embrião fresco, devido à maior perda gestacional do primeiro grupo. Um estudo realizado por Burns et al., (2011), ao avaliar a taxa de concepção final de um grupo de animais involado com embriões produzidos *in vivo* e transferidos frescos, obteve maior taxa de concepção final que o grupo que recebeu embriões congelados/descongelados (68,5% v. 54,7%). Esta disparidade entre os resultados encontrados no trabalho supracitado e nesse trabalho ocorreu por que no presente estudo, embriões de melhor qualidade foram congelados e os de pior qualidade foram transferidos a fresco com o intuito de minimizar os efeitos da congelação. Assim, como anteriormente mencionado, a perda gestacional de embriões involados frescos foi maior (28,4%) que de embriões congelados/descongelados (18,3%), pois os embriões frescos eram os de pior qualidade. Os resultados encontrados no presente trabalho não corroboram com os encontrados por Rodrigues et al. (2009). Estes autores avaliaram as taxas de perda gestacional de 2096 receptoras de embrião no período de 2001 a 2007, e observaram

perda gestacional similar entre embriões frescos e congelados/descongelados [19,7% (193/981) v. 22,5% (83/369), respectivamente]. Esta diferença pode ser explicada pela interação observada entre o tipo de embrião e o tratamento, na qual embriões congelados/descongelados tratados com o meloxicam apresentaram menores chances de gerar uma gestação .

Receptoras inovuladas com embriões frescos, tratadas ou não com meloxicam apresentaram taxas de concepção inicial e final semelhantes. Porém, fêmeas inovuladas com embriões congelados/descongelados foram estatisticamente diferentes entre os grupos tratado e controle, e com base nas razões de chance observamos que fêmeas não tratadas tiveram maiores chances em 2,84 vezes de se tornarem gestantes que as tratadas. Isto pode ter ocorrido por que embriões que sofreram os efeitos da congelação foram mais sensíveis aos efeitos negativos do antiinflamatório nos dias sete, oito e nove após a inovulação. Nesse contexto, o antiinflamatório pode ter inibido de forma mais eficiente a produção de PGE2 e de PGI2 pelo embrião congelado/descongelado que pelo embrião fresco.

A qualidade embrionária foi uma característica de bastante importância para a escolha dos embriões que seriam congelados ou transferidos a fresco. Burns et al. (2011) reportaram que a qualidade embrionária afeta as taxas de concepção de embriões transferidos frescos e, principalmente, as taxas de concepção de embriões congelados/descongelados. Assim, para o presente trabalho, embriões grau 1 e 2 eram congelados, e os grau 3 era transferidos frescos. Os resultados mostram que a qualidade embrionária não afetou a taxa de concepção inicial das receptoras de embrião. Contudo, esta variável mostrou ter efeito sobre a taxa de concepção final, sendo clara a superioridade do grau 1 (38,2%) sobre o grau 2 (24,4%) e 3 (29,4%). Chebel et al. (2008) observaram maiores taxas de concepção em embriões com melhor qualidade embrionária (59,4%, 53,8% e 35,2% para grau 1, 2 e 3, respectivamente). Resultados similares foram encontrados por Peixoto et al. (2007). Porém, Demetrio (2007) e Pieroni (2009) observaram taxas de concepção similares entre os diferentes graus embrionários. Os resultados obtidos pelos autores supracitados se contrapõem com os obtidos no presente experimento que mostra que embriões grau 2 tem chances

iguais de tornar uma vaca gestante que os grau 3. Este fato ocorreu possivelmente devido ao número de embriões grau 2 inovulados ser superior ao número de embriões grau 1 e 3. Além disso, a avaliação visual do embrião é bastante subjetiva e não reporta a real qualidade embrionária, mesmo que realizada sempre pelo mesmo profissional.

Ainda sobre a qualidade embrionária, os resultados da interação entre tratamento e grau do embrião mostram que embriões grau 3 do grupo controle tiveram maiores taxas de concepção que os do grupo tratado. Contudo, esta diferença não ocorreu com os embriões grau 1 e 2, cujas taxas de concepção foram estatisticamente iguais entre o grupo controle e tratado. A hipótese é de que quanto melhor a qualidade embrionária, maior é a resistência aos efeitos negativos trazidos pela administração do antiinflamatório nos dias 14, 15 e 16 da gestação. Assim, os embriões grau 3 foram mais sensíveis e não conseguiram sintetizar prostaglandinas suficientes para passar pelo processo de desenvolvimento e implantação tão facilmente quanto os de grau 1.

Analisando os dados gerais, já se esperava um número elevado de serviços uma vez que as receptoras de embrião eram repetidoras de serviço (número de eventos ≥ 3). Sabe-se que o número de serviços afeta a taxa de prenhez, de maneira que as taxas de concepção de vacas inseminadas artificialmente caem bruscamente com o aumento no número de eventos. Chebel et al. (2004) observaram que o NS está correlacionado com a taxa de concepção e que vacas inseminadas mais de nove vezes tiveram chances 77% menores de conceber que fêmeas inseminadas somente uma vez. A baixa fertilidade de vacas repetidoras de serviço pode ser minimizada com o uso da TE, muitas vezes chamada de `embrioterapia` por profissionais e pesquisadores. Diversos estudos comparam as taxas de concepção de vacas submetidas a TE e a IA, e mostram que os índices obtidos na TE são superiores aos obtidos na IA em vacas repetidoras de serviço (PUTNEY et al., 1989; RODRIGUES et al., 2007a; VASCONCELOS et al., 2006).

Um estudo realizado por Dochi et al. (2008) mostrou que o número de inseminações antes da TE não afetou as taxas de prenhez. Os resultados encontrados pelos autores corroboram com os encontrados no presente estudo, no qual não foi observada diferença estatística entre vacas repetidoras de serviço com $NS \leq 6$ e $NS \geq 7$

tanto para TC inicial como para TC final. Porém, inesperadamente, foi observado que vacas com $NS \geq 7$ apresentaram taxa de perda gestacional menor que vacas com $NS \leq 6$. Poucos são os relatos sobre perda gestacional em vacas repetidoras de serviço, uma vez que estes animais representam uma perda econômica muito grande para o rebanho e são rapidamente descartados. A repetição de serviço é de causa multifatorial e pode envolver fatores ambientais, de manejo e individuais. Supõe-se que as fêmeas com $NS \geq 7$ tenham apresentado menores taxas de perda gestacional que as fêmeas com $NS \leq 6$ devido a uma estabilização metabólica, na qual a produção leiteira torna-se mais estável e a metabolização de esteróides é menor que fêmeas com $NS \leq 6$. Ressalta-se que o NS está relacionado ao número de dias em lactação e, neste contexto, o tempo maior de dias em lactação destas fêmeas pode ter permitido que elas se tornassem mais aptas a manter uma gestação quando comparadas a fêmeas com NS menor.

Contudo, outra interação inesperada foi encontrada. Os animais com $NS \leq 6$ tratados também apresentaram menores taxas de concepção inicial (GT= 30,5% v. GC=43,7%) e final (GT=18,1% v. GC=33,9%) que os animais do grupo controle. Baseando-se na hipótese acima descrita, o estado metabólico destas vacas somado aos efeitos negativos do antiinflamatório podem ter levado aos piores resultados observados no grupo tratado.

Observou-se também que repetidoras de serviço com $NS \leq 6$ tratadas com meloxicam tiveram maior perda gestacional que as não tratadas (40,5% v. 22,3%). Neste caso, os resultados encontrados sobre as taxas de perda gestacional são pouco fidedignos, pois o número de observações em cada grupo é pequeno e bastante desigual.

Sobre as doadoras de embriões, estudos que comparam a qualidade embrionária de embriões provenientes de doadoras lactantes e não lactantes mostram que vacas em lactação produzem embriões de qualidade inferior aos de vacas não lactantes (SARTORI et al., 2002; LEROY et al., 2005). Porém, um estudo realizado na propriedade não detectou esta diferença (PIERONI, 2009). O uso de protocolos superovulatórios adequados para cada categoria, o manejo ambiental e o manejo nutricional possivelmente permitem que as vacas lactantes tenham um bom

desempenho reprodutivo. Com base no trabalho e nas informações supracitadas, a categoria das doadoras não foi incluída no presente estudo.

A sincronia entre doadora e receptora foi importante para a constituição do modelo estatístico final da taxa de concepção inicial e perda gestacional. Observou-se que não houve influência desta variável sobre a TC inicial, corroborando com os resultados encontrados por DEMETRIO (2007), mas para a perda gestacional houve tendência em maiores perdas em receptoras com sincronia zero. Este resultado é diferente do encontrado em um outro estudo realizado na mesma fazenda, no qual maiores taxas de perda gestacional foram encontradas em receptoras com sincronia -1, e perdas semelhantes ocorreram entre as receptoras com sincronia zero e -1 (RODRIGUES et al., 2010). Isto pode ser explicado pelo fato de terem sido inovulados mais embriões frescos (n=131) nestas receptoras, que em receptoras com sincronia -1 (n=78) e +1 (n=72). Além da diferença numérica entre os grupos, os embriões frescos representaram maior parte dos embriões transferidos em fêmeas com sincronia zero (68,7%) que em fêmeas com sincronia -1 (59,5%) e +1 (52%). Ressalta-se que embriões frescos apresentaram maiores taxas de perda gestacional que os embriões congelados, o que pode ser atribuído a maior perda gestacional na sincronia zero.

Com relação ao período do ano, este não mostrou ter efeito sobre as TC inicial e final pois a produção de embriões no período mais fresco do ano e a transferência nos períodos mais quentes evita os efeitos do estresse calórico. Sabe-se que embriões são muito susceptíveis aos efeitos negativos do estresse calórico nos três primeiros dias de vida (EALY et al., 1993). A produção no período fresco do ano seguido de congelação para posterior inovulação, permite que o embrião não sofra as consequências do calor e tenha maiores chances de gerar uma gestação.

5.3 Inseminação Artificial

Ao analisarmos os dados gerais deste estudo, as taxas de concepção obtidas na IA estão de acordo com as obtidas em outras pesquisas. Neste trabalho, as vacas foram inseminadas no período voluntário de espera (60 dias pós-parto), com média de 67, 3 dias em lactação. Alguns autores reportaram que o atraso na 1ª IA melhora a

eficiência reprodutiva em vacas de leite de alta produção e que inseminar vacas com menos de 50 DEL pode prejudicar as taxas de concepção (GRIMARD et al., 2006). Diversos estudos relatam taxas de perda gestacional semelhantes a encontrada no presente trabalho (CARTMILL et al., 2001; CHEBEL et al., 2004). Assim, podemos notar que a IA foi realizada em um período adequado e as taxas de concepção obtidas foram satisfatórias.

Observou-se que o tratamento com meloxicam não melhorou as taxas de concepção de primíparas e múltiparas, possivelmente devido aos mesmos efeitos negativos do antiinflamatório mencionados anteriormente.

Na análise geral dos dados, foi observado que primíparas apresentaram maiores taxas de concepção inicial e final que vacas múltiparas e 2,06 vezes mais chances de se tornarem gestantes. Estes resultados corroboram com os obtidos em outros estudos (SANTOS et al., 2009; TENHAGEN et al., 2004). Chebel et al., 2004 observaram que múltiparas têm 13% menos chances de engravidar que primíparas e atribuiu esta diferença à maior produção de leite de vacas múltiparas e a maior incidência de doenças pós-parto desta última categoria. Santos et al. (2009) atribuíram a maior taxa de concepção final das primíparas à menor perda gestacional. Contudo, no presente experimento, o número limitado de observações de perda gestacional pode ter diminuído as chances de detecção desta diferença entre as categorias. Contudo, foram observados 27,6% de perda gestacional em múltiparas e 10,9% em primíparas.

Apesar de não haver diferença estatística entre os grupos tratado e controle tanto para TC inicial como para final, observou-se uma diferença numérica entre os grupos, em favor do tratamento. Ressalta-se que resultados contrários foram encontrados na TE. Uma possível explicação para esta diferença entre os grupos TE e IA está no período pós parto em que as fêmeas se encontram. Sabe-se que vacas de leite tem retomada da ciclicidade ao redor dos 33 ± 2 dias após o parto (WILTBANK et al., 2002). As infecções uterinas clínicas e subclínicas no período pós parto impedem a fertilização e a sobrevivência embrionária. Assim, vacas com involução uterina comprometida, ou com histórico de infecções anteriores tem taxas de prenhez mais baixas e são afetadas negativamente pelas respostas inflamatórias (WILLIAMS et al.,

2007). Neste contexto, o antiinflamatório administrado nas vacas recém paridas pode ter beneficiado o ambiente uterino e permitido maior sobrevivência embrionária nestes animais.

Odensvik et al. (1998) trataram, por via oral, novilhas com FM duas, três ou quatro vezes ao dia com início no dia 15 e término no dia 24 do ciclo estral. Colheitas de sangue foram realizadas duas vezes por dia em um período de dez dias no grupo controle e 15 dias nos grupos tratados. Esses pesquisadores observaram que nos grupos tratados duas e três vezes por dia, os pulsos de PG foram gerados e a luteólise ocorreu ainda durante o tratamento. Nas novilhas que receberam o FM duas vezes por dia, os pulsos de PG foram observados nos dias 16 a 18 do ciclo estral, assim como no grupo controle. Enquanto que o grupo que recebeu FM quatro vezes por dia teve a luteólise aparentemente atrasada, uma vez que os pulsos de PG foram observados somente após o término do tratamento.

Pugliesi et al. (2011) observaram que, em novilhas, uma única dose diária 1,5g/novilha de FM no D16 foi mais efetivo que as doses de 0,5 e 1,0g/novilha na prevenção da luteólise. Estes mesmos autores observaram também que o tratamento das novilhas três vezes ao dia (dose de 2,5mg/kg) no momento da pré luteólise é mais efetivo que no momento da luteólise, Não foi observado queda no número de pulsos de PGFM (13,14-dihydro-15-keto-PGF₂α), mas sim queda na proeminência desses pulsos. Neste mesmo estudo, os pesquisadores observaram que novilhas que tiveram o início do tratamento durante a pré-luteólise tiveram a proeminência dos pulsos de PGFM diminuída quando comparadas ao grupo cujo tratamento com FM começou durante a luteólise.

Os resultados do presente estudo, principalmente a diferença numérica entre o grupo controle e tratado, em favor do tratado, são indicativos de que o tratamento com meloxicam pode favorecer a gestação por um certo período de tempo. Porém, o número amostral de cada grupo é insuficiente para termos qualquer conclusão. Estudos com um número maior de animais deve ser realizado com animais submetidos à IA, com variações na dose e nos dias da administração do fármaco.

5.4 Inseminação Artificial em Tempo fixo

Assim como na TE e na IA, a hipótese inicial do presente experimento foi rejeitada, pois o meloxicam não aumentou as taxas de concepção e também não diminuiu a perda gestacional das fêmeas tratadas submetidas à IATF.

Rabaglino et al. (2010) submetem novilhas a sincronização para IATF e administraram 400mg de FM nos dias 15,5 e 16 após a IATF. Estes autores não observaram efeito do tratamento com FM sobre as taxas de concepção e perdas gestacionais. Apesar de os dias do tratamento não terem sido exatamente os mesmos, os resultados do estudo mostram que o FM não incrementou a taxa de concepção das fêmeas, corroborando com os encontrados no presente trabalho.

O período do ano se mostrou importante para a análise final da taxa de concepção inicial. Fêmeas inseminadas no Período 1 apresentaram taxa de concepção menor que fêmeas inseminadas no período 2. Contudo, a diferença entre os períodos pode ter sido devido ao manejo reprodutivo das vacas. Fêmeas no período 1 foram inseminadas em tempo fixo, e fêmeas no período 2 foram inseminadas com observação de cio. Vale lembrar que o objetivo deste trabalho é comparar o tratamento com meloxicam nas diferentes variáveis. O efeito do protocolo hormonal sobre o CL das vacas no período 1 e 2 foi o mesmo, e o objetivo do uso do meloxicam, que é inibir a regressão luteal, não foi afetado pelo manejo reprodutivo do rebanho. Contudo, apenas para conhecimento, um estudo realizado na propriedade por Teixeira (2010) mostrou não haver efeito de estação do ano sobre a taxa de concepção inicial de vacas submetidas ao mesmo protocolo hormonal utilizado no presente experimento e inseminadas em tempo fixo (inverno= 27,8% e verão=23,2%). Por outro lado, Souza (2008) observou que vacas inseminadas em tempo fixo apresentaram maior taxa de concepção inicial no período do inverno (41,1% v. 19,7%). Devido a divergência entre os resultados, é difícil determinar se o período do ano ou o manejo reprodutivo da fazenda é responsável pelo aumento nas taxas de concepção no período 2.

Ressalta-se que os protocolos hormonais para IATF foram criados com o objetivo de evitar a falha na observação de cio, encurtar o anestro pós parto e permitir a inseminação de um grande número de animais em dia e hora determinados. O uso de

protocolos hormonais para sincronização de onda folicular e IA com observação de cio pode trazer resultados benéficos, se for implantado com eficiência nos rebanhos. DEJARNETT et al. (2001) observaram que o tratamento hormonal seguido de observação de estro resultaram maiores taxas de concepção que o tratamento hormonal seguido de IATF. Contudo, esta prática deve ser cautelosa em rebanhos que utilizam estradiol no momento da retirada do dispositivo de progesterona. A administração deste fármaco pode induzir a manifestação de estro precoce, principalmente logo após a administração, sem que ocorra a ovulação.

Ainda, no presente estudo foi utilizado eCG no protocolo hormonal para IATF devido ao manejo da fazenda. SÁ FILHO et al. (2004) observaram que o uso de eCG no momento da remoção da fonte de progesterona aumenta o tamanho do folículo ovulatório e, conseqüentemente, do CL em bovinos de corte. O tratamento com eCG no momento da retirada do dispositivo intravaginal de progesterona é benéfico pois está relacionado ao aumento da taxa de ovulação de animais em anestro e a maiores concentrações circulantes de progesterona no diestro (BARUSELLI et al., 2004).

Sabe-se que um aumento nas concentrações plasmáticas de P4 pode aumentar a capacidade de secreção do IFNt pelo concepto e, dessa forma, facilitar o reconhecimento materno da gestação (MANN et al., 1999). Dessa forma, os benefícios possivelmente trazidos pelo eCG podem ter mascarado os resultados do tratamento com meloxicam, pois o uso de ambos os fármacos tem como objetivo facilitar o reconhecimento materno da gestação e diminuir as perdas embrionárias.

O touro utilizado mostrou afetar a taxa de concepção final ($P=0,009$). O touro 3 tendeu ($P=0,053$) a apresentar menores taxas de concepção final que os demais touros. Isso mostra que o uso deste touro pode ter afetado as taxas de concepção final do estudo. Contudo ressalta-se que o sêmen utilizado foi distribuído homogêaneamente entre os grupo tratado e controle com o intuito de evitar a interferência desta variável sobre os resultados.

5.5 Concentração sérica de progesterona

Estudos recentes mostram que a suplementação com P4 acelera o alongamento embrionário nos dias 13 e 16 da gestação (LONERGAN et al., 2007; CARTER et al., 2008). No 16º dia de gestação, vacas com concentrações elevadas de P4 possuem embriões maiores que aquelas cujas concentrações são menores (MANN & LAMMING, 2001). Neste sentido, o tratamento com meloxicam poderia evitar a luteólise precoce e favorecer o desenvolvimento dos embriões, para que estes tenham um tempo adicional de exposição a progesterona e para sinalização.

Os resultados obtidos da dosagem hormonal mostram que as fêmeas do grupo tratado e controle da IA e IATF tinham concentrações séricas de progesterona semelhantes imediatamente antes do início do tratamento com meloxicam, no D14. Já as fêmeas do grupo controle da TE tiveram maiores concentrações de progesterona no D±14, o que mostra que os grupos não estavam homogêneos quanto a concentração de P4 no início do tratamento. Contudo, esta diferença não foi encontrada na segunda colheita (D±21), o que pode ser um indicativo de que o grupo tratado com meloxicam teve menores quedas na síntese de progesterona que o grupo controle entre a primeira e a segunda colheita. Na IA e IATF, o tratamento não se mostrou efetivo, e as concentrações séricas de progesterona continuaram semelhantes entre os grupos no D21. Tampouco foram observadas interações entre tratamento e prenhez. Estes dados estão de acordo com os encontrados por Kaveh et al., 2011, que não encontraram diferença na concentração sérica de progesterona após a administração de FM.

Não foi detectada diferença nas concentrações de progesterona na primeira colheita de sangue entre vacas prenhes e vazias. Estes resultados corroboram com os encontrados por outros autores (ROCHE et al., 1985; CARTER et al., 2008; ECHTERNKAMP et al., 2009), que não observaram nenhuma diferença antes do dia 16 da gestação. Por outro lado, Herzog et al., (2011) observaram que as concentrações plasmáticas de P4 foram significativamente maiores em vacas prenhes que em vacas não prenhes no dia 13, e outros estudos reportam que essa diferença pode ser encontrada já nos dias quatro e cinco da gestação (STRONGE et al., 2005; MCNEILL et al., 2006; STARBUCK et al., 2001). Estas divergências encontradas pelos

pesquisadores pode ser atribuída ao número de animais incluídos nos estudos, aos fatores de manejo e ao tipo de análise da progesterona. A progesterona é necessária, sem dúvida, para a sobrevivência e desenvolvimento do concepto (SPENCER et al., 2004). Como esperado, no D21 do presente trabalho, vacas gestantes tiveram concentrações de P4 estatisticamente maiores que vacas não gestantes.

O efeito do estresse calórico na concentração sanguínea de progesterona é bastante controverso. Enquanto alguns estudos mostram os efeitos negativos do estresse calórico sobre a concentração de progesterona (HOWEL et al., 1994; JONSSON et al., 1997), outros mostram que este efeito não foi encontrado (GUZELOGLU et al. 2001; ROTH et al., 2000) . No presente estudo, o período do ano mostrou ter efeito sobre as concentrações de progesterona, tanto ao redor do dia 14 como do dia 21 do ciclo estral. Como esperado, maiores concentrações de progesterona foram encontradas no período do inverno. Estes resultados estão de acordo com os encontrados por outros pesquisadores, que mostram que a concentração plasmática de progesterona depende, não somente da síntese pelo CL, mas também da sua secreção na circulação que, por sua vez, depende do fluxo sanguíneo, 30% menor no período de estresse calórico (LUBLIN & WOLFENSON, 1996) .

É interessante reportar que foi diagnosticado prenhez em fêmeas com concentrações séricas abaixo de 1ng/dl de progesterona em todas as biotécnicas. Alguns autores consideram este resultado um erro na dosagem hormonal (AMBROSE et al., 1999). Porém, deve-se considerar que, possivelmente, a quantidade de progesterona ligada aos receptores uterinos têm maior relevância que a concentração de progesterona circulante.

As receptoras de embrião, por se tratarem de fêmeas repetidoras de serviço, não tiveram a concentração de progesterona afetada pela produção de leite. Este resultado era esperado, uma vez que estas fêmeas tinham $320,7 \pm 10,5$ DEL e produção de $24,9 \pm 0,49$. Molento et al. (2004) reportaram que o pico de lactação ocorre ao redor do segundo mês da lactação e este período está correlacionado negativamente a concentração de progesterona (VASCONCELOS et al., 1999). Isto se deve a alta

ingestão de matéria seca que aumenta o fluxo sanguíneo no fígado e o metabolismo de hormônio esteróides (SANGSRITAVONG et al., 2002; HOMMEIDA et al., 2004). Como todos os animais da IA e IATF estavam ao redor do pico de lactação e apresentavam alta produção, esta variável foi removida pela regressão logística no modelo estatístico inicial e não fez parte do modelo final da análise.

6. CONCLUSÃO

De acordo com os objetivos previamente delineados e os resultados obtidos, pode-se concluir que:

- O meloxicam não aumentou as taxas de concepção e a perda gestacional de receptoras de embrião da raça Holandesa quando administrado nos dias sete, oito e nove após a inovulação de embriões produzidos *in vivo*.
- Para vacas submetidas a IA e IATF, a administração do meloxicam nos dias 14, 15 e 16 não alterou as taxas de concepção e a perda gestacional.
- Sugere-se que o meloxicam seja evitado nos dias 14, 15 e 16, principalmente em receptoras de embrião, que tenham sido inovuladas ou inseminadas e possam se tornar gestantes.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALILA, H.W.; CORRADINO, R.A.; HANSEL, W. A comparison of the effects of cyclooxygenase prostanoids on progesterone production by small and large luteal cells. **Prostaglandins**, v. 36, p. 259-270, 1988b.

ALILA, H.W.; DOWD, J.P.; CORRADINO, R.A.; HARRIS, W.V.; HANSEL, W.. Control of progesterone production in small and large bovine luteal cells separated by flow cytometry. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.82, p. 645-652, 1988a.

AL-KATANANI, Y.M.; WEBB, D.W.; HANSEN, P.J. Factors affecting seasonal variation in non-return rate to first service in lactating Holstein cow in a hot climate **Journal of Dairy Science**, v.82, p. 2611–2616, 1999.

AMBROSE, J.D.; DROST, M.; MONSON, R.L.; RUTLEDGE, J.J.; LEIBFRIED-RUTLEDGE, M.L.; THATCHER, M.J.; KASSA, T.; BINELLI, M.; HANSEN, P.J.; CHENOWETH, P.J.; THATCHER, W.W. Efficacy of timed embryo transfer with fresh and frozen in vitro produced embryos to increase pregnancy rates in heat-stressed cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p.2369-2376, 1999.

AMIRIDIS, G.S.; TSILIGIANNI, TH.; DOVOLOU, E.; REKKAS, C.; VOUZARAS, D.; MENEGATOS, I. Combined administration of gonadotropin-releasing hormone, progesterone, and meloxicam is an effective treatment for the repeat-breeder cow. **Theriogenology**, v. 72, p. 542–548, 2009.

ANDERSON, L.E.; WU, Y.; TSAI, S.; WILTBANK, M.C. Prostaglandin F_{2α} receptor in the Corpus Luteum: recent information on the gene, messenger ribonucleic acid, and protein. **Biology of Reproduction**, v. 64, p. 1041-1047, 2001.

AROSH, J.A.; BANU, S.K.; KIMMINS, S.; CHAPDELAIN, P.; MACLAREN, L.A.; FORTIER, M.A. Effect of interferon-tau on prostaglandin biosynthesis, transport, and signaling at the time of maternal recognition of pregnancy in cattle: evidence of polycrine actions of prostaglandin E2. **Endocrinology**, v. 145, p.5280-5293, 2004.

BADINGA, L.; COLLIER, R.J.; THATCHER, W.W. ; WILCOX, C.J. Effects of Climatic and Management Factors on Conception Rate of Dairy Cattle in Subtropical Environment. **Journal of Dairy Science**, v.68 (1), 1985, p. 78–85, 1985.

BARTOL, F.F.; ROBERTS, R.M.; BAZER, F.W.; LEWIS, G.S; GODKIN, J.D.; THATCHER, W.W: Characterization of proteins produced in vitro by periattachment bovine conceptuses. **Biology of Reproduction**, v. 32, p.681-693, 1985.

BARUSELLI, P.S.; MADUREIRA, E.H.; MARQUES, M.O.; RODRIGUES, C.A.; NASSER, L.F.; SILVA, L.C.P.; REIS, E.L.; SÁ FILHO, M.F.Efeito do tratamento com eCG conforme o escore de condição corporal na taxa de concepção de vacas Nelore inseminadas em tempo fixo. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.32, p.228, 2004.

BASU, S. & KINDAHL, H. Development of a continuous blood collection technique and a detailed study of prostaglandin F2 alpha release during luteolysis and early pregnancy in heifers. **Zentralblatt fur Veterinarmedizin. Reihe A.**, v. 34(7), p.487-500, 1987.

BASU, S. Maternal recognition of pregnancy-a review of the literature. **Nord. Vet. Med.**, v. 37, p. 57-79, 1985.

BASU, S.; KINDAHL, H.; HARVEY, D.; AND BETTERIDGE, K.J. Metabolites of PGF2 alpha in blood plasma and urine as parameters of PGF2 alpha release in cattle. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.28, p. 409- 420, 1987.

BATTYE, K.M.; FAIRCLOUGH, R.J.; CAMERON, A.W.N.; TROUNSON, A.O. Evidence for prostaglandin involvement in early luteal regression of the superovulated nanny goat (*capra hircus*). **Journal of Reproduction and Fertility**, v.84, p.425-430,1988.

BAZER F.W.; BURGHARDT, R.C.; JOHNSON, G.A.; SPENCER, T.E.; WU, G. Interferons and progesterone for establishment and maintenance of pregnancy: interactions among novel cell signaling pathways. **Reproductive Biology**, v.8, p. 179–211, 2008.

BAZER, F.W.; OTT, T.L.; SPENCER, T.E. Endocrinology of the transition from recurring estrous cycles to establishment of pregnancy in subprimate mammals. In: **Bazer FW (ed.), The Endocrinology of Pregnancy**. New Jersey: Humana Press, p.1–34, 1998.

BAZER, F.W.; SPENCER, T.E.; JOHNSON, G.A; BURGHARDT, R.C.; WU, G. Comparative aspects of implantation. **Reproduction**, v.138, p.195-209, 2009.

BINELLI, M.; THATCHER, W.W.; MATTOS, R.; BARUSELLI, P.S. Antiluteolytic strategies to improve fertility in cattle. **Theriogenology**, v. 56, p. 1451–1463, 2001.

BURNS, G.; LONG,; GIBBONS, J.; SHULL, J. bovine embryo type, grade and recipient synchrony, but not corpus luteum quality, influenced pregnancy rates in commercial embryo transfer. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 24(1), p.165-165, 2011.

CAMMAS, L.; REINAUD, P.; BORDAS, N.; DUBOIS, O.; GERMAIN, G.; CHARPIGNY, G. Developmental regulation of prostacyclin synthase and prostacyclin receptors in the ovine uterus and conceptus during the periimplantation period. **Reproduction**, v. 131, p. 917–927, 2006.

CARTER, F.; FORDE, N.; DUFFY, P.; WADE, M.; FAIR, T.; CROWE, M.A.; EVANS, A.C.; KENNY, D.A.; ROCHE, J.F.; LONERGAN, P. Effect of increasing progesterone

concentration from Day 3 of pregnancy on subsequent embryo survival and development in beef heifers. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 20, p. 368–375, 2008.

CARTMILL, J.A.; EL-ZARKOUNY, S.Z.; HENSLEY, B.A.; LAMB, G.C.; STEVENSON, J.S. Stage of Cycle, Incidence, and Timing of Ovulation, and Pregnancy Rates in Dairy Cattle after Three Timed Breeding Protocols. **Journal of Dairy Science**, v. 84 (5), p. 1051–1059, 2001.

CHAMPE, P.C.; HARVEY, R.A. Biochemistry 2nd edition, Lippincott Raven Publishers, Philadelphia, USA, p. 161-268, 1994.

CHEBEL, R.C.; DEME´TRIO, D.G.B.; METZGER, J. Factors affecting success of embryo collection and transfer in large dairy herds. **Theriogenology**, v.69, p. 98–106, 2008.

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

CHRISTIANSON, W.T. Stillbirths, mummies, abortions and early embryonic death. **Veterinary Clinics of North America, Food Animal Practice**, v. 8, n. 3, p.623-639, 1992.

COLAZO, M.G.; KASTELIC, J.P.; MAPLETOFT, R.J. Effects of estradiol cypionate (ECP) on ovarian follicular dynamics, synchrony of ovulation, and fertility in CIDR-based, fixed-time AI programs in beef heifers. **Theriogenology**, v. 60, p. 855-865, 2003.

Committee on Bovine Reproductive Nomenclature, 1972. Recommendations

CRITCHLEY, H.O.; OSEI, J.; HENDERSON, T.A.; BOSWELL, L.; SALES, K.J.; JABBOUR, H.N.; HIRANI, N. Hypoxia-inducible factor-1alpha expression in human endometrium and its regulation by prostaglandin E-series prostanoid receptor 2 (EP2). **Endocrinology**, v. 147, p. 744–753, 2006.

DANIELA GARCIA BORGES Demétrio. Fatores que afetam a taxa de concepção após a inseinação artificial ou a transferencia de embriões em vacas Holandesas em lactação. Dissertação apresentada a Faculdade de Medicina Veterinária e zootecnia Campus de Botucatu, 2006.

DAVIS, J.S.; RUEDA, B.R.; BOROWISKI, K.S. Microvascular endothelial cells of the corpus luteum. Review. **Reproduction Biology and Endocrinology**, v.1, p.89, 2003.

DE RENSIS, F, & SCARAMUZZI, R.J. Heatstress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow—a review. **Theriogenology**, v. 60 (1), p.1139–1151, 2003.

DEJARNETTE, M.J.; SALVERSON, R.R.; MARSHALL, C.E. Incidence of premature estrus in lactating dairy cows and conception rates to standing estrus or fixed-time inseminations after synchronization using GnRH and PGF2. **Animal Reproduction Science**, v. 67, p. 27–35, 2001.

DEWITT, D.L. Renal abnormalities and an altered inflammatory response in mice lacking cyclooxygenase II. **Nature**, v. 378, p. 406–409, 1999.

DIAZ, F.J.; ANDERSON, L.E.; WU, Y.L.; RABOT, A.; TSAI, S.J.; WILTBANK, M.C. Regulation of progesterone and prostaglandin F2a production in the CL. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v.191, p. 65-80, 2002.

DOCHI, O.; TAKAHASHI, K.; HIRAI, T.; HAYAKAWA, H.; TANISAWA, M.; YAMAMOTO, Y.; KOYAMA, H. The use of embryo transfer to produce pregnancies in repeat-breeding dairy cattle. **Theriogenology**, v. 69, p. 124-128, 2008.

EALY, A.D.; DROST, M.; HANSEN, P.J. Developmental changes in embryonic resistance to adverse effects of maternal heat stress in cows. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 2899-2905, 1993.

EALY, A.D.; GREEN, J.A.; ALEXENKO, A.P.; KEISLER, D.H.; ROBERTS, R.M. Different ovine interferon-tau genes are not expressed identically and their protein products display different activities. **Biology of Reproduction**, v. 58, p.566-573, 1998.

EALY, A.D.; LARSON, S.F.; LIU, L.; ALEXENKO, A.P.; WINKELMAN, G.L.; KUBISCH, H.M.; BIXBY, J.A.; ROBERTS, R.M: Polymorphic forms of expressed bovine interferon-tau genes: relative transcript abundance during early placental development, promoter sequences of genes and biological activity of protein products. **Endocrinology**, v.142, p.2906-2915, 2001.

ECHTERNKAMP, S.E.; CUSHMAN, R.A.; ALLAN, M.F. Size of ovulatory follicles in cattle expressing multiple ovulations naturally and its influence on corpus luteum development and fertility. **Journal of Animal Science**, v.87, p. 3556–3568, 2009.

ELLI, M.; GAFFURI, B.; FRIGERIO, A.; ZANARDELLI, M.; COVINI, D.; CANDIANI, M.; VIGNALI, M. Effect of a single dose of ibuprofen lysinate before embryo transfer on pregnancy rates in cows. **Reproduction**, v. 121, p.151-154, 2001.

EMOND, V.; MACLAREN, L.A.; KIMMINS, S.; AROSH, J.A.; FORTIER, M.A & LAMBERT RD. Expression of cyclooxygenase-2 and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in the endometrial epithelium of the cow is up-regulated during early

pregnancy and in response to intrauterine infusions of interferon-t. **Biology of Reproduction**, v. 70, p.54–64, 2004.

ERDEM, H.; GUZELOGLU, A. Effect of meloxicam treatment during early pregnancy in Holstein heifers. **Reproduction in Domestic Animal**, v.45 (4), p. 625–628, 2010.

FAZLEABAS, A.T.; KIM, J.J.; STRAKOVA, Z. Implantation: embryonic signals and the modulation of the uterine environment—a review. **Placenta**, v. 25, p. S26-S31, 2004.

FITZGERALD, G.A. COX-2 and beyond: approaches to prostaglandin inhibition in human disease. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 2, p.879, 2003.

FREDRICKSON, G.; KINDAHL, H.; EDQVIST, L. E. 11- Ketotetranor PGF metabolites, a suitable indicator for measuring prostaglandin release during the normal oestrus cycle and early pregnancy in the goat. **Animal Reproduction Science**, v. 7, p. 537, 1984.

FRITON, G.M.; CAJAL, C.; RAMIREZ-ROMERO, R.; KLEEMANN, R. Clinical efficacy of meloxicam (metacam) and flunixin meglumine as adjuncts to antibacterial treatment of respiratory disease in cattle. **Berl Munch Tierarztl Wochenschr** v.117, p. 304–309, 2004.

GARCÍA-ISPIERTO, F.; LOPEZ-GATIUS, P.; SANTOLARIA, J.L.; YAÑIZ, C.; NOGAREDA, M.; LOPEZ-BEJAR, F.; DE RENSIS. Relationship between heat stress during the peri-implantation period and early fetal loss in dairy cattle. **Theriogenology**, v. 65, p. 799–807, 2006.

GINTHER, O.J.; SILVA, L.A.; ARAUJO, R.R.; BEG, M.A. Temporal associations among pulses of 13,14-dihydro-15-keto-PGF₂α, luteal blood flow, and luteolysis in cattle. **Biology of Reproduction**, v. 76, p. 506–513, 2007.

GREEN, M.P.; HUNTER, M.G.; MANN, G.E. Relationships between maternal hormone secretion and embryo development on day 5 of pregnancy in dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v. 88, p. 179–189, 2005.

GRIMARD, B.; FRERET, S.; CHEVALLIER, A.; PINTO, A.; PONSART, C.; HUMBLLOT, P. Genetic and environmental factors influencing first service conception rate and late embryonic/foetal mortality in low fertility dairy herds **Animal Reproduction Science** v. 91(1–2)p. 31–44, 2006.

GUZELOGLU, A.; AMBROSE, J.D.; KASSA, T.; DIAZ, T.; THATCHER, M.J.; THATCHER, W.W. Long term follicular dynamics and biochemical characteristics of dominant follicles in dairy cows subjected to acute heat stress. **Animal Reproduction Science**, v. 66, p. 15-34, 2001.

GUZELOGLU, A.; ERDEM, H.; SARIBAY, M.K.; THATCHER, W.W.; TEKELI, T. Effect of timely flunixinmeoglumine treatment on pregnancy rates in Holstein heifers. **Reproduction, Fertility and Development**, v.18, p. 183, 2005.

GUZELOGLU, A.; ERDEM, H.; SARIBAY, M. K.; THATCHER, W.W.; TEKELI, T. Effect of the administration of flunixin meglumine on pregnancy rates in Holstein heifers. **Veterinary Record**, v. 160, p. 404-406, 2007.

GWAZDAUSKAS, F.C.; THATCHER, W.W.; KIDDY, C.A; PAAPE, M.J.; WILCOX, C.J. hormonal patterns during heat-stress following PGF2a salt induced luteal regression in heifers. **Theriogenology**, v. 16, p. 271-285, 1981.

HANSEN PJ. Embryonic mortality in cattle from the embryo's perspective. **Journal of Animal Science**, v. 80 (2), p. E33–E44, 2002.

Hansen PJ. Strategies for enhancing reproduction of lactating dairy cows exposed to **heatstress**. In: **Proceedings of the 16th Annual Convention American Embryo Transfer Association, Madison**, p. 62–72, 1997

HANSEN, P.J. & ARÉCHIGA, C.F. Strategies for managing reproduction in Heat-stressed Dairy Cow. **Journal of Animal Science**, v. 77 (2), p.36-50, 1999.

HASLER, J. Factors affecting frozen and fresh embryo transfer pregnancy rates in cattle. *Theriogenology*, v. 56, p. 1401–1415, 2001.

HAYASHI, K.; ACOSTA, T.J.; BERISHA, B.; KOBAYASHI, S.; OHTANI, M.; SCHAMS, D.; MIYAMOTO, A. Changes in prostaglandin secretion by the regressing bovine corpus luteum. **Prostaglandins Other Lipid Mediators**, v.70, p. 339-349, 2003.

HELMER, S.D.; HANSEN, P.J.; ANTHONY, R.V.; THATCHER, W.W; BAZER, F.W; ROBERTS, R.M: Identification of bovine trophoblast protein-1, a secretory protein immunologically related to ovine trophoblast protein-1. **Journal of Reproduction and Fertility**; v.79, p.83-91, 1987.

HERNANDEZ-LEDEZMA, J.J.; SIKES, J.D.; MURPHY, C.N.; WATSON, A.J.; SCHULTZ, G.A.; ROBERTS, R.M. Expression of bovine trophoblast interferon in conceptuses derived by in vitro techniques. **Biology of Reproduction**, v. 47, p. 374-380, 1992.

HERZOG, K.; VOSS, C.; KASTELIC, J.P.; BEINDORFF, N.; NIEMANN, H.; BOLLWIN, H. Luteal blood flow during the first three weeks of pregnancy in lactating Dairy cows. **Theriogenology**, v.75(3), p. 549-554, 2011.

HIRSCH, A.C. & PHILIPP, H.. Effects of meloxicam on reproduction parameters in dairy cattle. **J. vet. Pharmacol. Therap.** v.32, p. 566–570, 2009.

HOLMES, P.V. & GORDASHKO, B.J. Evidence of prostaglandin involvement in blastocyst implantation. **Embryo/ exp. Morph**, v. 55, p. 109-122, 1980

HOMMEIDA, A.; NAKAO, T.; KUBOTA, H. Luteal function and conception in lactating cows and some factors influencing luteal function after first insemination. **Theriogenology**, v.62, p. 217–225, 2004.

HOWELL, J.L.; FUQUAY, J.W.; SMITH, A.E. Corpus luteum growth and function in lactating Holstein cows during spring and summer. **Journal of Dairy Science**, v. 77, p. 735–739, 1994.

HUANG, J.C.; GOLDSBY, J.S.; WUN, W.S. Prostacyclin enhances the implantation and live birth potentials of mouse embryos. **Human Reproduction**, v. 19, p. 1856–1860, 2004a.

HUANG, J.C.; WUN, W.S.; GOLDSBY, J.S.; MATIJEVIC-ALEKSIC, N.; WU, K.K. Cyclooxygenase-2-derived endogenous prostacyclin enhances mouse embryo hatching. **Human Reproduction**, v. 19, p.2900–2906, 2004b.

HUANG, J.C.; WUN, W.S.; GOLDSBY, J.S.; WUN, I.C.; FALCONI, S.M.; WU, K.K. Prostacyclin enhances embryo hatching but not sperm motility. **Human Reproduction**, v. 18, p. 2582–2589, 2003.

HUANG, J.C; GOLDSBY, J.S.; ARBAB, F.; MELHEM, Z.; ALEKSIC, N.; WU, K.K. Oviduct prostacyclin functions as a paracrine factor to augment the development of embryos. **Human Reproduction**, v. 19(12), p.2907–12, 2004.

HWANG, D.H.; POOL, S.H.; RORIE, R.W.; BOUDREAU, M.; GODKE, R.A. Transitional changes in arachidonic acid metabolism by bovine embryos at different developmental stages. **Prostaglandins**, v.35, p. 387–40, 1988.

JONSSON, N.N.; MCGOWAN, M.R.; MCGUIGAN, K.; DAVISON, T.M.; HUSSAIN, A.M.; MATSCHOSS, M. Relationships among calving season, heat load, energy balance and postpartum ovulation of dairy cows in a subtropical environment **Animal Reproduction Science**, v.47, p. 315–326, 1997.

KAVEH, K.; BAKAR, A.Z.M.; EKRAMI, B.; NAVA, G.H.; TAJIK, P.; BOLOURCHI, M.; TAMADON, A. Effects of post Insemination Flunixin Meglumine Injection on Corpus Luteum Maintenance, Plasma Progesterone Concentrations and pregnancy rate in heat-stressed Holstein Dairy Cows. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 10 (16), p. 2176-2180, 2011.

KINDAHL, H.; GRANSTROM, E.; EDQVIST, L. E. Prostaglandin levels in peripheral plasma during the reproductive cycle. **Advances Prostaglandin Thromboxane Research**, v. 2, p.667-71, 1976.

KNICKERBOCKER, J.J.; WILTBANK, M.C.; NISWENDER, G.P. Mechanisms of luteolysis in domestic livestock. **Domestic Animal Endocrinology**, v.5, p.91-107, 1988.

KONIGSSON, K.; ODENSVIK, K.; KINDAHL, H. Endocrine, metabolic and clinical effects of intravenous endotoxin injection after pre-treatment with meloxicam in heifers. **Journal of Veterinary Medicine**, v.49, p.408–414, 2002.

KUBISCH, H.M.; LARSON, M.A.; ROBERTS, R.M. Relationship between age of blastocyst formation and interferon-tau secretion by in vitro-derived bovine embryos. **Molecular Reproduction and Development**, v. 49, p.254-260, 1998.

KUMMER, C.L & COELHO. T.C.R.B. Antiinflamatórios Não Esteróides Inibidores da Ciclooxigenase-2 (COX-2): Aspectos Atuais. **Rev Bras Anestesiol**; v. 52 (4), p. 498 – 512, 2002.

LALA, P.K. Interruption of murine pregnancy by activation of antigenon-specific killer cells in the endometrium with indomethacin, high dose IL-2 or a combination. **Research in Immunology**, v. 141, p.159–167, 1990.

LANGENBACH, R.; LOFTIN, C.; LEE, C.; TIANO, H. Cyclooxygenase knockout mice models for elucidating isoform-specific functions. **Biochemical Pharmacology**, v. 58, p. 1237–1246, 1999a.

LANGENBACH, R.; LOFTIN, C.D.; LEE, C.; TIANO, H. Cyclooxygenase deficient mice: a summary of their characteristics and susceptibilities to inflammation and carcinogenesis. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 889, p. 52–61, 1999b.

LEROY, J.L.M.R.; OPSOMER, G.; DE VliegHER, S.; VANHOLDER, T.; GOOSSENS, L.; GELDHOF, A.; *et al.* Comparison of embryo quality in highyielding dairy cows, in dairy heifers and in beef cows. **Theriogenology** v. 64, p. 2022–36, 2005.

LIM, H.; PARIA, B.C.; DAS, S.K.; DINCHUK, J.E.; LANGENBACH, R.; TRZASKOS, J.M.; DEY, S.K. Multiple female reproductive failures in cyclooxygenase 2-deficient mice. **Cell**, v.91, p. 197–208, 1997.

LONERGAN, P. Influence of progesterone on oocyte quality and embryo development in cows. **Theriogenology**, v. 76 (9), p. 1594-1601, 2011.

LONERGAN, P.;WOODS, A.; FAIR, T.; CARTER, F.; RIZOS, D.; WARD, F.; QUINN, K.; EVANS, A.. Effect of embryo source and recipient progesterone environment on embryo

development in cattle. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 19, p. 861–868, 2007.

LUBLIN, A.; WOLFENSON, D. Lactation and pregnancy effects on blood flow to mammary and reproductive systems in HS rabbits. **Comp. Biochem. Physiol.**, v. 115A, p. 277–285, 1996.

LUCY, M.C. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? **Journal of Dairy Science**, v.84, p.1277–93, 2001.

MANN GE, LAMMING GE, ROBINSON RS, WATHES DC. The regulation of interferon-tau production and uterine hormone receptors during early pregnancy. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 54, p. 317–28,1999.

MANN, G.E.; LAMMING, G.E.; ROBINSON, R.S.;WATHES, D.C. The regulation of interferon- τ production and uterine hormone receptors during pregnancy. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.54, p.317–328, 1999.

MANN, G.E.; LAMMING, G.E. Progesterone inhibition of development of the luteolytic signal in cows. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 104, p. 1-5, 1995.

MANN, G.E.; PAYNE, J.H.; LAMMING, G.E. Hormonal regulation of oxytocin-induced prostaglandin F $_{2\alpha}$ secretion by the bovine and ovine uterus in vivo. **Domestic Animal Endocrinology**, v.21, p.127-141, 2001a.

Manual of the International Embryo Transfer Society, 3rd ed., **IETS**; 1998.

MARNETT, L.J. Aspirin and the potential role of prostaglandins in colon Cancer. **Cancer Research**, v. 52, p. 5575–5589, 1992.

MATSUMOTO, H.; WEN-GE M.; SMALLEY, W.; TRZASKOS, J.; BREYER, R.M.; DEY, S.K.. Diversification of Cyclooxygenase-2-Derived Prostaglandins in Ovulation and Implantation. **Biology of Reproduction**, v. 64, p.1557–1565, 2001.

MCCRACKEN, J. A.; SCHRAMM, W.; OKULICZ, W. C. Hormone receptor control of pulsatile secretion of PGF₂ α from ovine uterus during luteolysis and its abrogation in early pregnancy. **Animal Reproduction Science**, v.7, p.31-55, 1984.

MCCRACKEN, J.A.; CUSTER, E.E.; LAMSA, J.C. Luteolysis: a neuroendocrine-mediated event. **Physiological Reviews**, v. 79 (2), p. 263-323, 1999.

MCGUIRE, W.J.; JUENGEL, J.T.; NISWENDER, G.D. Protein kinase C second messenger system mediates the antistereoidogenic effects of PGF₂ alfa in the ovine corpus luteum in vivo. **Biology of Reproduction**, v.51, p.800-806, 1994.

MCNAUGHTAN, J.W.; SILCOX, R.W.; EGGETT, D.L.; ABEL, T.; YELLAND, R.J.; LINGARD, S.; COATES, S. The effect of prostaglandin inhibitor rates of heifer embryo transfer recipients. **Theriogenology**, v.57, p. 551, 2002.

MCNAUGHTAN, J.W.; SILCOX, R.W.; EGGETT, D.L.; ABEL. T.; YELLAND, R.J.; LINGARD, S.; COATES, S.The effect of prostaglandin inhibitor on pregnancy rates of heifer embryo transfer recipients. **Theriogenology**, v.57, p. 551, 2002.

MCNEILL, R. E., DISKIN, M. G., SREENAN, J. M., AND MORRIS, D. G. Associations between milk progesterone concentration on different days and with embryo survival during the early luteal phase in dairy cows. **Theriogenology**, v. 65, p. 1435–1441, 2006.

MERRILL, M. L.; ANSOTEGUI, R. P.; BURNS, P. D.; MACNEIL, M. D.; GEARY, T. W. Effects of flunixin meglumine and transportation on establishment of pregnancy in beef cows. **Journal of Animal Science**, v. 85, p. 1547-1554, 2007.

DISKIN, M.G. & MORRIS, D.G. Embryonic and Early Foetal Losses in Cattle and Other Ruminants. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 43 (2), p.260–267, 2008.

MILVAE, R.A.; ALILA, H.W. Involvement of lipoxygenase products of arachidonic acid metabolism in bovine luteal function. **Biology of Reproduction**, v.35, p.1210-1215, 1986.

MIYAMOTO, Y.; SKARZYNSKI, D.J.; OKUDA, K. Is tumor necrosis factor_ a trigger for the initiation of endometrial prostaglandin F2_ release at luteolysis in cattle? **Biology of Reproduction**, v. 62, p.1109–1115, 2000.

MOLENTO, C.F.M; MONARDES, H.; RIBAS, N.P.; BLOCK, E. Curvas de lactação de vacas holandesas do Estado do Paraná, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.5, p.1585-1591, 2004.

NANCARROW, C. D.; BUCKMASTER, J.; CHAMELEY, W. Hormonal changes around oestrus in the cow. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 32 (2), p.320-1, 1973.

NISWENDER, G.D.; JUENGEL, J.L.; SILVA, P.J.; ROLLYSON, M.K.; MCINTUSH, E.W. Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. **Physiological Reviews**, v.80, p.1-28, 2000.

ODENSVIK, K.; GUSTAFSSON, H.; KINDAHL, H. The effect on luteolysis by intensive oral administration of flunixin granules in heifers. **Animal Reproduction Science**, v.50, p.35–44, 1998.

ODENSVIK, K. & GUSTAFSSON, H. Effect of flunixin during asynchronous embryo transfer in the heifer. **Animal Reproduction Science**, v. 36, p. 13-24, 1994.

OLIVEIRA, J.F.; HEMKES, L.E.; ASHLEY, R.L.; PURCELL, S.H.; SMIRNOVA, N.P.; VEERAMACHANENI, D.N.; ANTHONY, R.V.; HANSEN, T.R. Expression of interferon (IFN)-stimulated genes in extrauterine tissues during early pregnancy in sheep is the consequence of endocrine interferon-tau release from uterine vein. **Endocrinology**, v. 149 (3), p. 1252-9, 2009.

OTT, T.L. & GIFFORD, C.A. Effects of early conceptus signals on circulating immune cells: lessons from domestic ruminantes. **American Journal of Reproductive Immunology**, v. 64 (4), p. 245-54, 2010.

PAYNE, J.H.; LAMMING, G.E. The direct influence of the embryo on uterine PGF2 and PGE2 production in sheep. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 101, p. 737–741, 1994.

PETERSON, A. J.; FAIRCLOUGH, R. J.; PAYNE, E. Hormonal changes around bovine luteolysis. **Prostaglandin**, v.10, p.675-685, 1975.

PIERONI, J.P. Dissertação apresentada a Faculdade de ciencias agrarias e veterinarias, campus de Jabticabal. Influencia do local de inovulação de embriões produzidos in vivo e in vitro sobre as taxas de concepção de fêmeas bovinas e sua relação com a morfologia uterina, 2009.

POYSER, N.L. The control of prostaglandin production by the endometrium in relation to luteolysis and menstruation. **Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v.53, p.147–195, 1995.

PRATT, B.R.; BUTCHER, R.L.; INSKEEP, E.K. Antiluteolytic effect of the conceptus and of PGE2 in ewes. **Journal of Animal Science**, v. 45, p. 784–791, 1995.

PRYCE, J.E.; ROYAL, M.D.; GARNSWORTHY, P.C.; MAO, I.L. Fertility in the high-producing dairy cow. **Livestock Production Science**, v. 86, p. 125–135, 2004.

PUGLIESI, G.; SHRESTHA, H.K.; , HANNAN, M.A.; CARVALHO, G.R.; BEG, M.A.; GINTHER, O.J. Effects of inhibition of prostaglandin F_{2α} biosynthesis during preleuteolysis and luteolysis in heifers. **Theriogenology**, v.76 , p. 640–65, 2011.

PUTNEY, D.J.; DROST, M.; THATCHER, W.W. Influence of summer heat stress on pregnancy rates of lactating dairy cattle following embryo transfer or artificial insemination. **Theriogenology**, v. 31(4), p.765-778, 1989.

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

RABAGLINO, M.B.; RISCO, C.A.; THATCHER, M.J.; LIMA, F.; SANTOS, J.E.P.; THATCHER, W.W. Use of a five-day progesterone-based timed AI protocol to determine if flunixin meglumine improves pregnancy per timed AI in dairy heifers. **Theriogenology**, v. 73, p. 1311–1318, 2010.

ROBERTS, R.M.; CHEN, Y.; EZASHI, T.; WALKER, A.M. Interferons and the maternal-conceptus dialog in mammals. **Seminars in Cell and Development Biology**, v.19 (2), p. 170-177, 2008.

ROBERTS, R.M.; LEAMAN, D.W.; CROSS, J.C. Interferons as hormones of pregnancy. **Endocrine Reviews**, v.13, p.432-452, 1992.

ROBINSON, R.S; HAMMOND, A.J; WATHES, D.C; HUNTER, M.G; MANN. G.E. Corpus Luteum–Endometrium–Embryo Interactions in the Dairy Cow: Underlying

Mechanisms and Clinical Relevance. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 43 (2), p.104–112, 2008.

ROCHE, J. F., IRELAND, J. J., BOLAND, M. P., AND MCGEADY, T. M. Concentrations of luteinising hormone and progesterone in pregnant and non-pregnant heifers. **Veterinary Record**, v. 116, p.153–155, 1985.

RODRIGUES, C.A., AYRES, H., FERREIRA, R.M., TEIXEIRA, A.A.; MANCILHA, R.F.; OLIVEIRA, M.E.F.; SOUZA, A.H.; BARUSELLI, P.S. Comparação entre a taxa de concepção após inseminação artificial ou transferência de embriões em vacas Holandesas de alta produção repetidoras de serviço. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 35, p. s1255-s1255, 2007a.

RODRIGUES, CA.; TEIXEIRA, A.A.; FERREIRA, R.M.; AYRES, H.; RANIERI, A.L.; FREITAS, B.G.; BARUSELLI, P.S. Pregnancy loss (between 30 and 60 days) in high producing repeat breeder Holstein cows submitted to embryo transfer. **Annual Conference of the International embryo transfer society/ 23rd annual meeting sociedade brasileira de tecnologia de embriões**, Cordoba, Argetina, 2010.

RODRIGUES, C. A., TEIXEIRA, A. A., FERREIRA, R. M., SALES, J. N., RANIERI, A. L., AYRES, H., FREITAS, B. G., AND BARUSELLI, P. S. Pregnancy loss (between 30 and 60 days) after artificial insemination or embryo transfers in high production repeated-breeders dairy cows. In: `International **Symposium of Animal Reproduction,Argentina**'. (Ed. G.A. Bó.) (IRAC: Cordoba), 2009b.

ROTH, Z.; MEIDAN, R.; BRAW-TAL, R.; WOLFENSON, D. Immediate and delayed effects of heat-stress on follicular development and its assosiation with plasma FSH and inhibition concentration in cow. **Jounal of Reproduction and Fertility**, v. 120, p.83-90, 2000.

ROYAL, M.D.; DARWASH, A.O.; FLINT, A.P.F.; WEBB, R.; WOOLLIAMS, J.A.; LAMMING, G.E. Declining fertility in dairy cattle: changes in traditional and endocrine parameters of fertility. **Animal Science**, v. 70, p. 487–501, 2000.

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

SÁ FILHO, M.F.; REIS, E.L.; VIEL, J.R.J.; NICHI, M.; MADUREIRA, E.H.; BARUSELLI, P.S. Dinâmica folicular em vacas Nelore em anestro tratadas com implante auricular, eCG e GnRH. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.32, p. 235, 2004.

SALES, K.J.; JABBOUR, H.N. Cyclooxygenase enzymes and prostaglandins in pathology of the endometrium. **Reproduction**, v. 126, p. 559–567, 2003.

SALLES, H.O.; SOARES, A.T.; MOURA SOBRINHO, P.A.; MORAES, M.A.J.; ANDRIOLI-PINHEIRO, A.; AZEVEDO, H.C. Redução do número de aplicações do flunixin meglumine no controle da regressão pré-matura de corpos lúteos em cabras superovuladas. In: Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 24, 1996, Goiânia, GO. Anais Goiânia: Sociedade Goiana de Veterinária, 1996. p.113-114.

SANGSRITAVONG, S.; COMBS, D.K.; SARTORI, R.; ARMENTANO, L.E.; WILTBANK, M.C. High feed intake increases liver blood flow and metabolism of progesterone and estradiol-17 β in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 2831–2842, 2002.

SANTOS, J.E.P.; RUTIGLIANO, H.M.; SÁ FILHO, M.F. Risk factors for resumption of postpartum estrous cycles and embryonic survival in lactating dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v. 110 (3-4), p. 207–22, 2009.

SANTOS, J.E.P.; THATCHER, W.W.; CHEBEL, R.C.; CERRI, R.L.A.; GALVÃO, K.N. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrous synchronization programs. **Animal Reproduction Science**, v.82-83, p.513-535, 2004.

SARTORI, R.; SARTOR-BERGFELT, R.; MERTENS, S.A.; GUENTHER, J.N.; PARRISH, J.J.; WILTBANK, M.C. Fertilization and early embryonic development in heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in winter. **Journal of Dairy Science**, v.85 (11), p.2803-2812, 2002.

SARTORI, R.; SARTORI-BERGFELT, R.; MERTENS, S.A.; GUENTHER, J.N.; PARISH, J.J.; WILTBANK, M.C. Fertilization and early embryonic development in heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in winter. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 2803–2812, 2002.

SARTORI, R.; SUAREZ-FERNANDEZ, C.A.; SULLIVAN, L.N.; GEIGER, L.N.; GUENTHER, J. N.; WILTBANK, M. C. Fertilization rate and embryo quality in superovulated Holstein heifers and lactating cows artificially inseminated in the body of the uterus or in the tip of the uterine horns. **Theriogenology**, v. 59, p. 533, 2003.

SCENNA, F.N.; HOCKETT, M.E.; TOWNSA, T.M.; SAXTON, A.M.; ROHRBACH, N.R.; WEHRMAN, M.E.; SCHRICK, F.N.. Influence of a prostaglandin synthesis inhibitor administered at embryo transfer on pregnancy rates of recipient cows. **Prostaglandins & other Lipid Mediators**, v. 78, p.38–45, 2008.

SCHRICK, F.N.; HOCKETT, M.E.; TOWNS, T.M.; SAXTON, A.M.; WERT, N.E.; WEHRMAN, M.E. Administration of a prostaglandin inhibitor immediately prior to embryo transfer improve pregnancy rates in cattle. **Theriogenology**, v. 55, p. 370, 2001.

SHAFIQ N, MALHOTRA S, PANDHI P. Comparison of nonselective cyclo-oxygenase (COX) inhibitor and selective COX-2 inhibitors on preimplantation loss, postimplantation loss and duration of gestation: an experimental study. **Contraception**, v. 69, p. 71–75, 2004.

SILKE, V.; DISKIN, M.G.; KENNY, D.A.; , BOLAND, M.P.; DILLON, P.; MEE, J.F; SREENAN, J.M. Extent, pattern and factors associated with late embryonic loss in dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v. 71, p.1-12, 2002.

SMITH, W.L.; DEWITT, D.L.; GARAVITO, R.M. Cyclooxygenases: structural, cellular, and molecular biology. **Annual Review of Biochemistry**, v.69, p.145–182, 2000.

SOARES, M.J. The prolactin and growth hormone families: pregnancy-specific hormones/cytokines at the maternal-fetal interface. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 2, p. 51, 2004.

SONG, B.S.; KIM, J.S.; KIM, C.H.; HAN, Y.M.; LEE, D.S.; LEE, K.K.; KOO, D.B. Prostacyclin stimulates embryonic development via regulation of the cAMP response element-binding protein–cyclo-oxygenase-2 signalling pathway in cattle. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 21, p. 400–407, 2009.

SOUZA, A.H. Inseminação Artificial em Tempo fixo em vacas Holandesas de alta produção. Tese de doutorado apresentada a Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

SPELL, A.R.; BEAL, W.E.; CORAH, L.R.; LAMB, C.G. Evaluating recipient and embryo factors that affect pregnancy rates of embryo transfer in beef cattle **Theriogenology**, v. 56, p. 287–297, 2001.

SPENCER, T.E.; BURGHARDT, R.C.; JOHNSON, G.A.; BAZER, F.W. Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy. **Animal Reproduction Science**, v. 83, p.537-550, 2004.

SPENCER, T.E.; JOHNSON, G.A.; BAZER, F.W.; BURGHARDT, R.C. Fetal–maternal interactions during the establishment of pregnancy in ruminants. **Society of Reproduction and Fertility Supplement**, v. 64, p. 379–396, 2007a.

SPENCER, T.E.; JOHNSON, G.A.; BAZER, F.W.; BURGHARDT, R.C.; PALMARINI, M. Pregnancy recognition and conceptus implantation in domestic ruminants: roles of progesterone, interferons and endogenous retroviruses. **Reproduction, Fertility and Development**, v.19, p. 65-78, 2007b.

STARBUCK, G.R.; DARWASH, A.O.; MANN, G.E., et al. The detection and treatment of post insemination progesterone insufficiency in dairy cows. **British Society of Animal Science** (Occasional Publication), v.26, p. 447-450, 2001.

STRONGE, A. J., SREENAN, J. M., DISKIN, M. G., MEE, J. F., KENNY, D. A., AND MORRIS, D. G. Post-insemination milk progesterone concentration and embryo survival in dairy cows. **Theriogenology**, v. **64**, p. 1212–1224, 2005.

TEIXEIRA, A.A. Dissertação apresentada a Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, da Universidade de São Paulo. Impacto da Inseminação Artificial em tempo fixo na eficiência reprodutiva de vacas de leite de alta produção. 2010.

TENHAGEN, B.A.; DRILLICH, M.; SURHOLT, R.; HEUWIESER, W. Comparison of timed AI of synchronized ovulation to AI at estrus: reproductive and economic considerations. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 85-94, 2004.

THATCHER, W. W., A. GUZELOGLU, R. MATTOS, M. BINELLI, T. R. HANSEN, AND J. K. PRU. Uterine-conceptus interactions and reproductive failure in cattle. **Theriogenology**, v. 56, p.1435–1450, 2001a.

THOMPSON, J.A.; MAGEE, D.D.; TOMASZEWSKI, M.A.; WILKS, D.L.; FOURDRAINE, R.H. Management of summer infertility in Texas Holstein dairy cattle **Theriogenology**, v., 46 p. 547–558, 1996.

THORBURN, G. D.; COX, R. I. CURRIE, W. B. Prostaglandin F and progesterone concentrations in the utero-ovarian venous plasma of the ewe during the oestrous cycle and early pregnancy. **Journal of Reproduction and Fertility**. v.18, p.151-8, 1973.

TORRES-JÚNIOR, J.R.S.; PIRES, M.F.A.; SÁ, W.F.; FERREIRA, A.M., VIANA, J.H.M.; CAMARGO, L.S.A.; RAMOS, A.A.; FOLHADELLA, I.M.; POLISSENI, J.; FREITAS, C.; CLEMENTE, C.A.A.; SÁ FILHO, M.F.; PAULA-LOPES, F.F.; BARUSELLI, P.S. Effect of maternal heat-stress on follicular growth and oocyte competence in *Bos indicus* cattle. **Theriogenology**, v. 69, p. 155-166, 2008.

TRALDI, A.S. Superovulação com gonadotrofina da menopausa humana (hMG) e prevenção da regressão prematura dos corpos lúteos em caprinos. São Paulo, 1995. 154f. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, 1995.

TRALDI, A.S.; VISINTIN, J.Á.; MIZUTA, K.; DELA LIBERA, A.M.P. Utilização de antiprostaglandínico na prevenção da regressão prematura de corpos lúteos em caprinos. In: Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, Belo Horizonte. v. 11, p.244, 1995a.

TSAI, S.; WILTBANK, M.C. ProstaglandinF2a induces expression of prostaglandin G/H Synthase-2 in the ovine corpus luteum: a potential positive feedback loop during luteolysis. **Biology of Reproduction**, v. 57, p. 1016-1022, 1997.

UENO, N.; MURAKAMI, M.; TANIOKA, T. Coupling between cyclooxygenase, terminal prostanoic synthase, and phospholipase A2. **The Journal of Biological Chemistry**, v.276, p.34918, 2001.

VASCONCELOS, J.L.; SILCOX, R.W.; ROSA, G.J.; PURSLEY, J.R.; WILTBANK, M.C.; Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v. 52, p. 1067–1078, 1999.

VASCONCELOS, J.L.M.; DEMÉTRIO, D.G.B.; SANTOS, R.M.; CHIARI, J.R.; RODRIGUES C.A.; SÁ FILHO O.G. Factors potentially affecting fertility of lactating dairy cow recipients. **Theriogenology**, v. 65, p. 192–200, 2006.

VASCONCELOS, J.L.M.; SARTORI, R.; OLIVEIRA, H.N.; GUENTHER, J.N.; WILTBANK, M.C. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rates **Theriogenology**, v. 56, p. 307–314, 2001.

WILLIAMS, E.J.; FISCHER, D.P.; NOAKES, D.E.; ENGLAND, G.C.; RYCROFT, A.; DOBSON, H.; SHELDON, I. The relationship between uterine pathogen growth density and ovarian function in the post partum dairy cow. **Theriogenology**, v. 68, p. 549-559, 2007.

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

WOLFENSON, D.; LEW, B.J. ; THATCHER, W.W.; GRABER, Y. ; MEIDAN, R. Seasonal and acute heat stress effects on steroid production by dominant follicles in cows. **Animal Reproduction Science**, v. 47 p. 9–19, 1997.

ZIECIK, A.J.; WACLAWIK, A.; BOGACKI, M. Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy in pigs – lipid signaling system. **Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes**, v. 116, p. 443–449, 2008.

8. ANEXOS

Anexo A –Perda gestacional na TE de acordo com o período do ano

		Período do ano	
		Período 1	Período 2
TE	Perda gestacional	27,4% (28/102)	22,2%(18/81)

Anexo B – TC inicial, final e perda gestacional na TE, de acordo com o período do ano e com o grupo (controle/tratado)

		Período do ano			
		Período 1		Período 2	
		Controle	Tratado	Controle	Tratado
TE	TC inicial	45,0% (55/122)	38,8% (47/121)	32,8% (41/125)	32,2% (40/124)
	TC final	34,4% (42/122)	26,4% (32/121)	25,6% (32/125)	25,0% (31/124)
	Perda gestacional	23,6% (13/55)	31,9% (15/47)	21,9% (9/41)	22,5% (9/40)

Anexo C – TC inicial, final e perda gestacional da TE, de acordo com a produção de leite

		Produção de leite	
		≤25L	≥25,1L
TE	TC inicial	39,5% (102/258)	35,2% (78/221)
	TC final	29,0% (75/258)	27,1% (60/221)
	Perda gestacional	26,4% (27/102)	23,0% (18/78)

Anexo D – TC inicial, final e perda gestacional da TE, de acordo com a produção de leite e com o grupo (controle/tratado)

		Produção de leite			
		≤25L		≥25,1L	
		Controle	Tratado	Controle	Tratado
TE	TC inicial	40,6% (52/128)	38,4% (50/130)	37,7% (43/114)	32,7% (35/107)
	TC final	29,6% (38/128)	28,4% (37/130)	30,7% (35/114)	23,3% (25/107)
	Perda Gestacional	(26,9% (14/52)	26% (13/50)	18,6% (8/43)	28,5% (10/35)

Anexo E – Perda gestacional da TE, de acordo com o grau do embrião involado

	Grau embrionário		
	1	2	3
Perda gestacional	13,8% (5/36)	31,1% (33/106)	19,5% (8/41)

Anexo F- Perda gestacional da TE, de acordo com o grau do embrião involado e com o grupo (controle/tratado)

		Grau embrionário					
		1		2		3	
		Controle	Tratado	Controle	Tratado	Controle	Tratado

Perda gestacional	11,7% (2/17)	15,7%(3/19)	30,3%(17/56)	32,0%(16/50)	13%(3/23)	27,7%(5/18)
-------------------	-----------------	-------------	--------------	--------------	-----------	-------------

Anexo G- TC inicial e final da TE, de acordo com a sincronia doadora-receptora

	Sincronia doadora-receptora		
	-1	0	+1
TC final	27,7%(38/137)	28,1%(54/192)	28,2%(37/131)

Anexo H- TC inicial e final da TE, de acordo com a sincronia doadora-receptora e com o grupo (controle/tratado)

	Sincronia doadora-receptora					
	-1		0		+1	
	Controle	Tratado	Controle	Tratado	Controle	Tratado
TC inicial	35,9% (23/64)	30,1% (22/73)	44,2% (42/95)	40,2% (39/97)	36,6% (26/71)	35,0% (21/60)
TC final	32,8% (21/64)	23,2% (17/73)	29,4% (28/95)	26,8% (26/97)	29,5% (21/71)	26,6% (16/60)

Anexo I- TC inicial e final da TE, de acordo com o estágio de desenvolvimento embrionário

	Estádio de desenvolvimento embrionário			
	Morula	Blastocisto inicial	Blastocisto	Blastocisto expandido
TC inicial	37,0% (87/235)	34,1% (42/123)	38,3% (46/120)	57,1% (8/14)
TC final	28,9% (68/235)	23,5% (29/123)	26,6% (32/120)	57,1% (8/14)
Perda Gestacional	21,8% (19/87)	30,9% (13/42)	30,4% (14/46)	0% (0/8)

Anexo J- TC inicial e final da TE, de acordo com o estágio de desenvolvimento embrionário e com o grupo (controle/tratado)

		Estádio de desenvolvimento embrionário							
		Morula		Blastocisto inicial		Blastocisto		Blastocisto expandido	
		Controle	Tratado	Controle	Tratado	Controle	Tratado	Controle	Tratado
TE	TC inicial	40,6% (48/118)	33,3% (39/117)	32,7% (20/61)	35,4% (22/62)	40,9% (25/61)	35,5% (21/59)	42,8% (3/7)	71,4% (0/5)
	TC final	33,0% (39/118)	24,7% (29/117)	24,5% (15/61)	22,5% (14/62)	27,8% (17/61)	25,4% (15/59)	42,8% (3/7)	71,4% (0/5)
	Perda Gestacional	18,7% (9/48)	25,6% (10/39)	25,0% (5/20)	36,3% (8/22)	32% (8/25)	28,5% (6/21)	0% (0/3)	0% (0/5)

Anexo L – TC inicial, final e perda gestacional na IA de acordo com o período do ano

		Período do ano	
		Período 1	Período 2
IA	TC inicial	27% (27/100)	35,3% (75/212)
	TC final	21% (21/100)	29,2% (62/212)
	Perda gestacional	22,2% (6/27)	17,3% (13/75)

Anexo M – TC inicial, final e perda gestacional na IA de acordo com o período do ano e com o grupo (controle/tratado)

		Período do ano			
		Período 1		Período 2	
		Controle	Tratado	Controle	Tratado
IA	TC inicial	26,9% (14/52)	27,0% (13/48)	32,0% (33/103)	38,5% (42/109)
	TC final	25,0% (13/52)	16,6% (8/48)	25,2% (26/103)	33,0% (36/109)
	Perda gestacional	7,1% (1/14)	38,4% (5/13)	21,2% (7/33)	42% (6/42)

Anexo N - TC inicial, final e perda gestacional na IA, de acordo com a produção de leite

		Produção de leite	
		≤35,0L	≥35,1L
IA	TC inicial	35,4% (67/189)	26,3% (30/114)
	TC final	29,1% (55/189)	20,1% (23/114)
	Perda gestacional	17,9% (12/67)	23,3% (7/30)

Anexo O – TC inicial, final e perda gestacional na IA, de acordo com a produção de leite e com o grupo

		Produção de leite			
		≤35,0L		≥35,1L	
		Controle	Tratado	Controle	Tratado
IA	TC inicial	32,2% (29/90)	38,3% (38/99)	26,2% (16/61)	26,4% (14/53)
	TC final	27,7% (25/90)	30,3% (30/99)	19,6% (12/61)	20,7% (11/53)
	Perda Gestacional	13,7% (4/29)	21,0% (8/38)	25% (4/16)	21,4% (3/14)

Anexo P- TC inicial, final e perda gestacional na IATF, de acordo com a produção de leite

		Produção de leite	
		≤35,0L	≥35,1L
IATF	TC inicial	33,5% (60/179)	30,2% (42/139)
	TC final	29,6% (53/179)	25,8% (36/139)
	Perda gestacional	11,6% (7/60)	14,2% (6/42)

Anexo Q – TC inicial, final e perda gestacional na IATF, de acordo com a produção de leite e com o grupo

		Produção de leite			
		≤35,0L		≥35,1L	
		Controle	Tratado	Controle	Tratado
IATF	TC inicial	37,8% (36/95)	28,5% (24/84)	29,4% (20/68)	30,9% (22/71)
	TC final	34,7% (33/95)	23,8% (20/84)	27,9% (19/68)	23,9% (17/71)
	Perda gestacional	8,3% (3/36)	16,6% (4/24)	5,0% (1/20)	22,7% (5/22)

Anexo R – TC final e perda gestacional de vacas submetidas a IATF de acordo com o período do ano

		Período do ano	
		Período 1	Período 2
IATF	TC final	16,8%(18/107)	34,9%(80/229)
	Perda gestacional	14,2%(3/21)	12,0%(11/91)

Anexo S – TC final e perda gestacional de vacas submetidas a IATF de acordo com o período do ano e o grupo (controle/tratado)

		Período do ano			
		Controle	Período 1	Período 2	
			Tratado	Controle	Tratado
IATF	TC final	16,6%(9/54)	16,9%(9/53)	38,9%(46/118)	30,6%(34/111)
	Perda gestacional	0% (0/9)	25%(3/12)	11,1%(5/46)	15,0%(6/40)

Anexo T- TC inicial, final e perda gestacional de vacas submetidas a IATF, de acordo com a categoria animal

		Categoria animal	
		Primíparas	Múltiparas
IATF	TC inicial	40% (66/165)	26,9% (46/171)
	TC final	35,1% (58/165)	23,3% (40/171)
	Perda gestacional	12,1% (8/66)	13% (6/46)

Anexo U- TC inicial, final e perda gestacional de vacas submetidas a IATF de acordo com a categoria e grupo (tratado/controle)

		Categoria animal			
		Primíparas		Múltiparas	
		Controle	Tratado	Controle	Tratado
IATF	TC final	41,8% (36/86)	37,9% (30/79)	27,9% (24/86)	25,8% (22/85)
	TC final	38,3% (33/86)	31,6% (25/79)	25,5% (22/86)	21,1% (18/85)
	Perda gestacional	8,3% (3/36)	16,6% (5/30)	8,3% (2/24)	18,1% (4/22)