

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINARIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

FATORES QUE INTERFEREM NA MANUTENÇÃO DA GESTAÇÃO DE
BOVINOS.

ANDERSON KLOSTER MUNHOZ

Tese apresentada ao programa de
Pós-Graduação em Zootecnia
como parte dos requisitos para
obtenção do título de Doutor.

BOTUCATU – SÃO PAULO
NOVEMBRO – 2023.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINARIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

FATORES QUE INTERFEREM NA MANUTENÇÃO DA GESTAÇÃO DE
BOVINOS.

ANDERSON KLOSTER MUNHOZ

Médico Veterinário

Orientador: José Luiz Moraes Vasconcelos

Tese apresentada ao programa de
Pós-Graduação em Zootecnia
como parte dos requisitos para
obtenção do título de Doutor.

BOTUCATU – SÃO PAULO

NOVEMBRO – 2023.

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: MARIA CAROLINA A. CRUZ E SANTOS-CRB 8/10188

Munhoz, Anderson Kloster.

Fatores que interferem na manutenção da gestação de
bovinos / Anderson Kloster Munhoz. - Botucatu, 2023

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia

Orientador: José Luiz Moraes Vasconcelos

Capes: 50405004

1. Bovinos - Fecundidade. 2. Haptoglobinas. 3. Prenhez.
4. Bovinos - Reprodução.

Palavras-chave: Fertilidade; Haptoglobina; PAGs; Perda de
gestação.



ATESTADO DE APROVAÇÃO - DEFESA

Atestamos que **ANDERSON KLOSTER MUNHOZ**, RA nº: ZNP190292, RG nº MG-15.452.346, expedido pela PC/MG, defendeu, no dia 14/11/2023, a tese intitulada **FATORES QUE INTERFEREM NA MANUTENÇÃO DA GESTAÇÃO DE BOVINOS**, junto ao Programa de Pós Graduação em Zootecnia, Curso de Doutorado, tendo sido 'APROVADO'.

Atestamos ainda que a obtenção do título dependerá de homologação pelo Órgão Colegiado competente.

Botucatu, 14 de novembro de 2023



Cláudia Cristina Moreci
Assistente Administrativo
Seção de Pós-Graduação / FMVZ

BIOGRAFIA DO AUTOR

Anderson Kloster Munhoz, nascido no município de Natal – RN, em 26 de Setembro de 1989, filho de Nelson Munhoz e Rosilda Aparecida Kloster Munhoz. No ano de 2007 iniciou seus estudos no curso de Medicina Veterinária na Universidade Federal de Uberlândia (UFU), durante a graduação focou seus estudos e estágio na área de produção e reprodução de bovinos.

No ano de 2012 mudou-se para Agropecuária Fazenda Brasil, Nova Xavantina - MT para realizar estágio de conclusão de curso, retornou para Uberlândia para finalizar a graduação e se mudou para o estado do Mato Grosso trabalhar na mesma empresa, com reprodução de gado de corte, mas agora na cidade de Canabrava do Norte - MT. No ano de 2014 mudou-se para Carmo do Rio Claro - MG onde participou de pesquisas na área de desenvolvimento de programas de sincronização do ciclo estral (IATF) em vacas de leite, sob orientação do Prof. Dr. José Luiz Moraes Vasconcelos. Em meados de 2014, mudou-se para Campinas - SP para desenvolver seu projeto de mestrado na fazenda Atibainha em gado de leite. Em 2015 mudou-se para Botucatu - SP e seguiu participando de projetos de pesquisa em gado de leite e corte junto ao professor Zequinha.

Em 2017 ingressou no programa de mestrado em zootecnia pela FMVZ-UNESP/Botucatu-SP, no departamento de pós graduação em produção animal sob a orientação do Prof. Dr. José Luiz Moraes Vasconcelos. Durante o mestrado desenvolveu trabalhos na área de fertilidade de vacas de corte e leite, tendo como trabalho para apresentação e obtenção do título de mestre intitulado como: Efeito da sexagem do sêmen na fertilidade a IATF e produtividade das filhas. Em 2019 ingressou no programa de doutorado em zootecnia pela FMVZ-UNESP/Botucatu-SP, no departamento de pós graduação em produção animal sob a orientação do Prof. Dr. José Luiz Moraes Vasconcelos. Durante o doutorado conduziu trabalhos buscando melhorar na fertilidade e produtividade de fazendas de leite e corte. Para obtenção do título de doutor, realizou o trabalho intitulado como: Fatores que interferem na manutenção da gestação de bovinos.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Nelson Munhoz e Rosilda Ap. Kloster Munhoz, e minha irmã Susiandra Kloster Munhoz, por não medirem esforços para juntos batalharmos pelos sonhos um do outro. A união, amor e companheirismo fizeram e fazem muita diferença em nossas trajetórias.

Meus avós Vicente Kloster (in memoriam) e Lourival Munhoz (in memoriam) por toda humildade, força de vontade, amor e carisma durante todo tempo que passamos juntos. Cada um com seu exemplo de perseverança e fé que levarei para sempre comigo. A minha Vó Olga por ser exemplo de amor, força e acolhimento.

A Camila, Wal, Bi e Gi por ter acolhido e acompanhado de perto muitos momentos importantes desse projeto de Doutorado e de vida, que se tornou realidade. Sempre dispostos a ajudar!

Amo todos vocês e esse sonho a se realizar é nosso!

Muito obrigado.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradecer a Deus pela oportunidade e por todas as bênçãos ocorridas na minha vida e de minha família durante toda minha caminhada.

A toda minha família que mesmo distante sempre me apoiou e incentivou a seguir em frente.

Ao grande amigo, professor e orientador José Luiz Moraes Vasconcelos (Zequinha), por toda paciência, alegria, companheirismo, incentivo e cobranças. O senhor fez uma diferença imensurável em minha vida, e sempre levarei comigo a meta de sempre ajudar, acolher e somar ao próximo. De nada adianta conhecimento sem influenciar positivamente pessoas. Todo dia é dia de aprender alguma coisa.

Aos professores Reinaldo Cooke e Ky Pohler da Texas A&M University por toda parceria e disponibilidade. Também aos amigos Alice, Eduardo e Ramiro por toda ajuda laboratorial.

Aos membros da banca Bruno Cappellozza, Ronaldo Cerri, Marcos Pereira, Leandro Cruppe e Otávio Machado pela atenção e oportunidade de trabalharmos juntos.

A turma do clube da IATF, Susi, Camila, Maurilio e Vinicius que rodaram muitos e muitos quilômetros para que o projeto saísse do papel. Muito energético e moda boa!

A minha casa e família República Boi na Zona por todos momentos vividos durante esses longos anos de pós graduação desde 2015. Alce, Frangão, Xanfro, Italiano, Kissaça, Mineiro, Pialo, Sanhaço, Leitoa, Barbela, Anzor, Cuspe, Chicuta, Mateusão, Cobre, Mexicano, Xucro e toda turma mais nova que continua seguindo a tradição da nossa casa.

À todos os amigos de Uberlândia - MG, que apesar da distância sempre se mostraram presentes em minha vida e de minha família, convivendo e acompanhando meu pai e minha mãe, além de me proporcionarem excelentes momentos em minha cidade. Em especial Ícaro Lemes, Orlandino Jr, Gustavo Calixto, Marcio Paulo, Pedro Urias, Guilherme Gordão, Lucas Muleta, Marcos Muller, Pedro Artur, Fernando Catraca, Celso Jr, João Paulo, Douglas e Túlio Cunha (in memoriam).

À toda comunidade da FMVZ, principalmente a querida Cláudia por toda sua paciência e estímulo, e também ao amigo Renatão! Vocês são diferenciados!!! Muito obrigado por tudo.

A todos que se seguem pela ajuda durante todo o experimento, sem eles esse projeto não seria possível: Guampa, Sirvia, Ginete, B.O, Sacolinha, Extra virgem, Cunhado, Chavinho, Curtão e a toda família Conapec Jr. Muito obrigado!!!

VIII

A todos amigos e parceiros da Zoetis representados por Ocilon e Francisco.

Aos amigos da Select Sires em nome de Leandro Cruppe e Izaias Jr.

A todas as fazendas que abriram as portas e nos deram a oportunidade de realizar o estudo.

Todo esforço e comprometimento dos funcionários das propriedades que não somaram esforços para nos ajudar.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Muito obrigado a todos. Vocês fizeram diferença na minha vida! Sou grato a todos.

SUMÁRIO

Lista de Abreviaturas	8
Sumário de Tabelas	9
Sumário de Figuras	10
Resumo	11
Abstract	12

Capítulo 1 - Considerações Iniciais

Introdução	14
Revisão de Literatura	15
1. Períodos de ocorrência de perda de gestação leite	16
2. Fatores que impactam a perda de gestação	16
a. Doenças Bacterianas ou virais	16
b. Doenças uterinas e não uterinas	17
c. Genética	18
d. Tamanho Útero	19
e. Nutrição	20
f. Categoria	21
g. Touro	22
h. Estresse térmico	24
i. Expressão de estro	25
j. Glicoproteínas associadas a Gestação (PAGs)	26
k. Haptoglobina	27
Referências Bibliográficas	29

Capítulo 2 – Experimento 1: Fatores que interferem na manutenção da gestação em gado de leite.

1. Introdução	41
---------------	----

2. Material e Métodos	42
2.1. Localização e animais	42
2.2. Protocolo de sincronização	42
2.3. Avaliação do Escore de Condição Corporal	42
2.4. Número de inseminações, produção de leite, DEL	42
2.5. Controle Sanitário	43
2.6. Detecção Estro	43
2.7. Sêmen	43
2.8. Diagnóstico de gestação	43
2.9. Parto	43
2.10. Perdas de Gestação	43
2.11. Amostras de Sangue	44
2.12. Análises de PAGES	44
2.13. Análises de Haptoglobina	44
3. Análise Estatística	44
4. Resultados e Discussão	46
5. Conclusão	53
6. Referências Bibliográficas	54

Capítulo 3 – Preditores de sucesso da manutenção da gestação do dia 31 até o parto de vacas Holandesas em lactação

1. Introdução	57
2. Material e Métodos	60
3. Resultados e Discussão	62
4. Conclusão	63
5. Referências Bibliográficas	64

LISTA ABREVIATURAS

IATF – Inseminação Artificial em Tempo Fixo

CL – Corpo Lúteo

PGF- Prostaglandina

P4 – Progesterona

IEP – Intervalo entre partos

FERT – Fertilização

EEM – Perda Embrionária Precoce

LEF – Perda Embrionária Tardia

TE – Transferência de Embrião

TETF – Transferência de embrião em tempo fixo

BoHV-1 – Herpes Vírus Bovino tipo 1

IBR – Rinotraqueite infecciosa bovina

BVD – Diarréia Viral Bovina

EXP1 – Experimento 1

DG60 – Diagnóstico de gestação aos 60 dias

DG71 – Diagnóstico de gestação aos 71 dias

VAC – Vacinados

CON – Controle

PAGs – Glicoproteínas Associadas a Gestação

LISTA TABELAS

Tabela 1 – P/IA média aos 31d, 62d e 120d; perdas de gestação d31 a d62, d60 a d120, d120 ao parto, taxa de parição e perdas totais.

Tabela 2 – Médias de ECC, leite, DEL no d-11, expressão de cio no d0 e haptoglobina d24 de todos animais avaliados.

Tabela 3 – Médias de ECC, leite, expressão de cio no d0 e haptoglobina d24 por paridade (primíparas e multíparas).

Tabela 4 – Taxa de prenhez aos 31d, 62d, 120d, taxa de parição e perdas de gestação entre períodos 31-62d, 62-120d, 120-parto por paridade (primíparas e multíparas).

Tabela 5 – Médias de ECC, leite, DEL no d-11, expressão de cio no d0 e haptoglobina d24 por estação (fria e quente).

Tabela 6 – Taxa de prenhez aos 31d, 62d, 120d, taxa de parição e perdas de gestação entre períodos 31-62d, 62-120d, 120-parto por estação (fria e quente).

Tabela 7 – Média de ECC, leite, expressão de cio, concentração de haptoglobina no d24 e concentração de PAGs no d24 de acordo com status de prenhez (vazia ou prenha) no DG31, DG62, DG120 e parto.

Tabela 8 - Média de ECC, leite, expressão de cio, concentração de haptoglobina no d24, concentração de PAGs no d24, haptoglobina no d31 de acordo com status de perda de gestação (não perdeu ou perdeu) entre os períodos d31-d62, d62-d120, d120-parto e d31-parto.

Tabela 9 – Taxa de expressão de cio e concentrações de haptoglobina e PAGs no d24 pós IATF em vacas Holandesas lactantes de acordo com status de prenhez nos diagnósticos d31, d62, d120 e Parto.

Tabela 10 – Expressão de cio e concentração de haptoglobina e PAGs de acordo com a perda de gestação em vacas Holandesas lactantes submetidas a protocolo de IATF.

LISTA FIGURAS

Figura 1 - Probabilidade de perda gestação (d 31 até parto) de acordo com PAGs no dia 31.

Figura 2 – Diagrama do delineamento experimental.

Fig. 3. Taxa de prenhez em vacas Holandesas lactantes submetidas a protocolo de IATF.

Fig. 4. Perdas de gestação em vacas Holandesas lactantes submetidas a protocolo de IATF.

Fig. 5. Probabilidade de perda de gestação, entre d31-d62, d62-d120, d120-parto e d31 ao parto, em vacas Holandesas lactantes de acordo com a concentração de PAGs no dia 31 da gestação.

1 **Resumo**

2 Falhas reprodutivas estão entre as principais causas de perda econômica em bovinos,
3 sendo que perdas de gestação é uma das principais causas de falhas reprodutivas. Perdas de
4 gestação tem sido o foco de intensas investigações, porém pouco progresso tem sido
5 observado na compreensão dos mecanismos envolvidos, provavelmente devido ao grande
6 número de animais necessários para permitir interpretação correta dos dados. Os objetivos
7 desta pesquisa foram: 1) determinar fatores que contribuem para perdas de gestação em
8 bovinos 2) usar esse conhecimento para tentar desenvolver estratégias para diminuir perdas de
9 gestação. Fêmeas bovinas lactantes da raça holandesa (708 primíparas e 844 multíparas)
10 foram submetidas a protocolo de IATF. A fertilidade foi avaliada no primeiro diagnóstico de
11 gestação aos 31 dias e sua gestação acompanhada até o parto. Perdas de gestação foram
12 mensuradas entre quatro momentos, e as médias por período foram: 31-62d - 13,0% (74/568),
13 62-120d – 6,48% (32/494), 120d-parto – 12,1% (56/462) e 31d-parto– 28,5% (162/568).
14 Houve efeito de categoria na fertilidade e taxa de parição, de forma que primíparas tiveram
15 maior taxa de parição que multíparas, 32,1% (229/708) vs. 20,7% (177/844), $P < 0,01$ e menor
16 perda de gestação 30d-parto, 21,1% (59/288) vs. 34,9% (103/280), $P < 0,01$, respectivamente.
17 Animais prenhes no d31 e que se mantiveram prenhes até o parto tiveram maior expressão de cio
18 comparado aos animais que não emprenharam e/ou emprenharam e perderam a gestação,
19 $P < 0,01$. Da mesma forma, animais prenhes no d31 e que mantiveram a prenhez até o parto,
20 apresentaram maior concentração média de PAGs no d24 considerando DG31, DG62, DG120
21 e parto, $P < 0,01$. A haptoglobina no d24 não foi um preditor de sucesso da gestação do 31d-
22 parto, $P > 0,05$. Conclui-se que um protocolo de IATF bem definido com alta expressão de cio
23 pode influenciar positivamente a manutenção da gestação, assim como as PAGs no d31
24 podem ser utilizadas como preditor de sucesso da gestação até o parto, possibilitando associar
25 fatores com estratégias para reduzir as perdas de gestação.

26
27 Palavras chaves: Perda de gestação, PAGs, Fertilidade, Haptoglobina.

28
29

1 Abstract

2 Reproductive failures are among the main causes of economic loss in cattle, with
3 pregnancy loss being one of the main causes of reproductive failures. Pregnancy losses have
4 been the focus of intense investigations, but little progress has been observed in understanding
5 the mechanisms involved, probably due to the large number of animals required to allow
6 correct interpretation of the data. The objectives of this research were: 1) to determine factors
7 that contribute to pregnancy losses in cattle 2) to use this knowledge to try to develop
8 strategies to reduce pregnancy losses. Lactating female Holstein cattle (708 primiparous and
9 844 multiparous) were subjected to an TAI protocol. Average pregnancy losses per period
10 were: 30-62d - 13.0% (74/568), 62-120d - 6.48% (32/494), 120d-delivery - 12.1% (56/462)
11 and 31d-delivery – 28.5% (162/568). There was a category effect on fertility and calving rate,
12 so that primiparous had a higher calving rate than multiparous, 32.1% (229/708) vs. 20.7%
13 (177/844), $P < 0.01$, and lower 30d-delivery pregnancy loss, 21.1% (59/288) vs. 34.9%
14 (103/280), $P < 0.01$, respectively. Animals pregnant on d31 and that remained pregnant until
15 parturition had greater heat expression compared to animals that did not become pregnant
16 and/or became pregnant and lost the pregnancy, $P < 0.01$. Likewise, animals pregnant on d31
17 and that maintained pregnancy until parturition had a higher mean concentration of PAGs on
18 d24 considering DG31, DG62, DG120 and parturition, $P < 0.01$. Haptoglobin at d24 was not a
19 predictor of pregnancy success at 31d-partum, $P > 0.05$. It is concluded that a well-defined TAI
20 protocol with high heat expression can positively influence the maintenance of pregnancy,
21 just as PAGs on d31 can be used as a predictor of success from pregnancy to calve, making it
22 possible to associate factors with strategies to reduce pregnancy losses.

23

24 Palavras chaves: Pregnancy loss, PAGs, fertility e Haptoglobin.

25

26

27

28

29

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1. INTRODUÇÃO

O desempenho produtivo e reprodutivo vai além do diagnóstico de gestação, sendo muito importante que as gestações resultem em partos. Em rebanhos de corte, o foco principal de fazendas de cria é a maximização do número de bezerros produzidos por vaca/ano. Porém, devido a práticas reprodutivas menos intensivas quando comparado ao rebanho leiteiro, há percepção defasada das falhas reprodutivas dentro do rebanho, dificultando a compreensão do momento da falha reprodutiva, perda de gestação. Já em rebanhos de leite, a rentabilidade da atividade depende da produtividade dos animais e à medida que aumenta o intervalo entre partos (IEP) menor é a produtividade e menores taxas de reposição. São várias as possíveis causas para estas perdas de gestação, que tem grande impacto na produção de bovinos (Dunne et al., 2000; Berg et al., 2010) e que podem ocorrer por erros de manejo ou por doenças multifatoriais (Grooms & Bolin, 2005).

As perdas gestacionais englobam perdas embrionárias (fertilização até 42 dias) e fetais (43 até 280 dias de gestação) (Hubbert et al., 1972). Estudos demonstram que taxas de fertilização são relativamente altas, variando de 80 a 100% (Cerri et al., 2009; Diskin & Screenan, 1980; Wielbold 1988; Ryan et al., 1993; Sartori et al., 2002), porém no primeiro diagnóstico de gestação (~ 30 dias) são observadas taxas de concepção em torno de 28 a 40% (Buttler, 1998; Dransfield, 1998; Chebel, 2003) o que mostra que as perdas são altas nas fases iniciais de gestação (Lucy, 2001).

Perdas de gestação são consideradas responsáveis pela maior causa de perda econômica para os produtores de bovinos (Dunne et al., 2000; Berg et al., 2010). Em 2006, De Vries et al., avaliaram que o custo de uma perda de gestação varia de US\$ 110 a US\$ 962 para a vacas em lactação nos EUA, o custo dependendo do estágio da gestação em que se ocorre a perda e dos dias no leite na concepção. Esse impacto econômico também é evidente em rebanhos de corte (Geary 2008). Portanto, a identificação de fatores que interferem na manutenção da gestação são vitais para evolução de estratégias para serem utilizadas em fazendas.

27

28

29

30

31

32

33

2. REVISÃO DE LITERATURA

1. PERÍODOS DE OCORRÊNCIA DAS PERDAS DE GESTAÇÃO LEITE

Devido a maior intensificação dos manejos reprodutivos em bovinos de leite quando comparado a bovinos de corte, já se produziu muito mais informações e pesquisas relevantes nesse sistema de produção. A perda de gestação tem impacto negativo no desempenho produtivo, reprodutivo e econômico nos rebanhos leiteiros e essas perdas podem ocorrer em diferentes estágios da gestação. Wiltbank, et.al., 2016 em revisão descreveram quatro períodos fundamentais para falhas reprodutivas durante o primeiro trimestre de gestação. O primeiro período ocorre durante a primeira semana após o acasalamento com falta de fertilização e morte do embrião precoce, produzindo grandes perdas de gestação, principalmente sob condições ambientais e hormonais específicas. Em geral, 20 a 50% das vacas leiteiras de alta produção já sofreram perda de gestação durante a primeira semana pós cobertura, mesmo com métodos para diminuir as perdas de gestação durante esse período, melhorando qualidade de oócitos, aliviando o estresse térmico, doenças inflamatórias, perda de condição corporal e aumentando as concentrações de progesterona (P4) durante o desenvolvimento folicular pré-ovulatório.

O segundo período crucial, dos dias 8 a 27, abrange o alongamento do embrião e o período clássico de “reconhecimento materno da gestação”, com perdas em média de aproximadamente 30%, mas com uma grande variação entre fazendas (25 a 41%). A manutenção do corpo lúteo (CL) da gestação é produzida pelo sinal embrionário interferon-tau e alteração nos padrões secretores uterinos das prostaglandinas F2 α , E1 e E2. Falhas ou atrasos no alongamento de trofoblastos e / ou desenvolvimento embrionário resultam em perda de gravidez durante o segundo período crucial, possivelmente devido a histotrofos sub-óticos.

O terceiro período crucial é durante o segundo mês de gestação, entre os dias 28 e 60, com perdas de aproximadamente 12% de acordo com resumo dos resultados publicados de mais de 20.000 gestações em vacas leiteiras de alta produção. Atrasos ou defeitos no desenvolvimento dos placentomas corioalantóicos ou embriões resultam em regressão de CL ou morte de embriões durante este período crucial.

O quarto período durante o terceiro mês de gestação teve menores perdas (aproximadamente 2%), em comparação com os três primeiros períodos, mas pode ser elevado em algumas vacas, principalmente naquelas que carregam gêmeos no mesmo corno

uterino. Assim, existem causas variadas para as perdas de gestação durante cada período crucial que correspondem às principais alterações fisiológicas no embrião, ambiente uterino e ovário. Da mesma forma, as estratégias para reduzir essas perdas provavelmente exigirão uma abordagem multifacetada, usando métodos racionais que visam a fisiologia crítica em cada período crucial.

Recentemente foi realizada uma meta-análise por Albaaj et. al., 2023 com total de 19.723 registros de diagnóstico de perda gestacional de 46 estudos para observar a incidência de perdas gestacionais até o período de 90 dias de gestação em vacas de leite, divididas em quatro estágios e quantificado a porcentagem de perdas por período. 1- Período embrionário inicial (19 a 32 dias) – 27%; 2- período embrionário tardio (30 a 45 dias); 3- período fetal inicial (45 a 60 dias) – 13%; 4- período fetal tardio (60 a 90 dias) – 2%. Fornecendo um resumo formal das perdas de gestação em bovinos de leite.

2. FATORES QUE IMPACTAM A PERDA DE GESTAÇÃO

As perdas de gestação trazem impactos negativos na produtividade e prejuízos para cadeia leiteira. São diversos os fatores que podem estar associados a esse evento, fazendo com que tenham maior ou menor perda de gestação. Dentre eles, citaremos alguns abaixo:

a. Doenças bacterianas e virais

Doenças infecciosas estão relacionadas a cerca de 37 a 50% das causas de perdas de gestação (Khodakaram-tafi & Ikede 2005; Mcewan & Carman 2005). Infecções ocasionadas por bactérias e vírus podem comprometer tanto o trato reprodutivo da fêmea e do macho bovino quanto o conceito em qualquer uma das suas fases de desenvolvimento. Dependendo do estágio gestacional e do agente etiológico pode ocorrer mortalidade embrionária precoce, culminando com repetições de cio a intervalos regulares; mortalidade embrionária tardia e repetição de cio a intervalo irregular; mortalidade fetal, com conseqüente abortamento, mumificação ou maceração fetal; natimortalidade e ainda mortalidade neonatal. Esses sinais clínicos interferem diretamente na avaliação da eficiência reprodutiva de um rebanho por comprometerem negativamente alguns parâmetros como taxas de: concepção, prenhez aos 30 e aos 60 dias, nascimento, abortamento e descarte de fêmeas por falhas na reprodução, entre outros (Junqueira et al., 2006).

Como fatores com impactos diretos da fertilidade dos bovinos, temos o herpes-vírus bovino tipo I, causador da IBR, causando impacto direto na função ovariana e qualidade embrionária (Kelling, 2007; Miller & Van der Maaten, 1986); o vírus BVD, o qual infecta

100 tecidos e interfere na qualidade folicular e desenvolvimento embrionário (Grooms 2004;
101 Grooms et.al., 2007); e a leptospirose causadora de morte fetal, absorção e infertilidade
102 (Mineiro et. al.,2007). Estudo realizado no Brasil por Aono et al. 2013 em fêmeas nelore de
103 corte nos estados de Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, verificaram elevada incidência
104 (>60%) de animais soropositivos para BoHV-1, BVDV e/ou Leptospira spp no rebanho, o que
105 é associado a provável causa da diminuição da eficiência dos sistemas de cria pelo impacto
106 reprodutivo negativo dessas doenças. Nesse estudo, a vacinação dos animais contra doenças
107 reprodutivas (IBR, BVD, Leptospirose) comparado aos não vacinados resultou em diminuição
108 das perdas de gestação entre 30 e 120 dias (1,68% vs. 4,61%, respectivamente). O
109 acometimento dessas doenças e seu impacto reprodutivo também foram demonstrados por
110 Pereira et. al., 2013, que avaliaram os efeitos da vacinação contra doenças reprodutivas,
111 porém, em rebanhos leiteiros nos estados de Minas Gerais e Paraná. Foi encontrado elevado
112 número de animais soro positivos para BoHV-1, BVDV e Leptospira spp, ressaltando a
113 importância das doenças reprodutivas e imunização adequada em programas de eficiência
114 reprodutiva tanto em sistemas de produção de gado de corte ou leite. Em seu estudo, Pereira
115 et. al., 2013, observaram que a vacinação contra doenças reprodutivas (IBR, BVDV,
116 Leptospirose) melhorou os parâmetros reprodutivos de rebanhos sem histórico de vacinação,
117 EXP2: DG71: VAC - 47,8% vs. CON - 34,4%, P = 0,03; EXP3: DG60: VAC – 33,6% vs.
118 CON – 27,5%, P = 0,01. Também foi observado diminuição nas perdas de gestação entre o
119 primeiro e segundo diagnóstico, EXP1: Perda de gestação: VAC – 6,9% vs. CON – 16,0%, P
120 = 0,03. Como indicação, os animais devem receber duas doses da vacina antes da IA, com
121 objetivo de garantir a resposta máxima dos anticorpos e resultados reprodutivos positivos na
122 concepção e manutenção da gestação.

123 **b. Doenças uterinas e não uterinas**

124 O evento do parto e início da lactação de vacas leiteiras é um momento de extrema
125 importância pois podem ter certas ocorrências que impactam a vida reprodutiva futura das
126 fêmeas. O parto causa trauma e elevada frequência de inflamações (Bradford et al., 2015),
127 aumentando o risco de ocorrência de doenças uterinas (Vieira-Neto et al., 2016). Durante os
128 60 primeiros dias de lactação cerca de 30-45% das vacas apresentam algum tipo de doença
129 clínica, sendo que a maioria dessas doenças pós parto estão associadas com redução de
130 fertilidade (Santos et al., 2010; Ribeiro et al., 2016; Carvalho et al., 2019).
131 Edelhoff et al., 2020, realizaram estudo para verificar a incidência de doenças uterinas e não
132 uterinas em vacas leiteiras girolando e associar essas doenças com a fertilidade dessas vacas
133 que foram submetidas a TETF. Nesse estudo, 63,3% das vacas apresentaram doenças uterinas

134 (endometrite subclínica, endometrite clínica, metrite e retenção de placenta) e 20,6%
135 apresentaram doenças não uterinas (claudicação, mastite, pneumonia e deslocamento de
136 abomaso). A manutenção da gestação do dia da TE até o d59 foi reduzida ($P \leq 0,01$) no
137 primeiro serviço de TE, quando comparado animais que tiveram doenças uterinas (25,4%) e
138 não tiveram (41,7%). Ao incluir todos os serviços de TE, as doenças uterinas também
139 impactaram os resultados (36,2% vs. 46,4%). Se tratando das doenças não uterinas, a redução
140 aconteceu somente na segunda TE para animais que apresentaram doenças não uterinas ou
141 não (25,9% vs. 39,0%, $P=0,02$) respectivamente.

142 A redução na fertilidade ou manutenção da gestação em vacas com doenças uterinas
143 pode ser justificada pelo comprometimento da capacidade de sustentação da prenhez,
144 mostrando que a inflamação no início da lactação interrompe o desenvolvimento inicial do
145 embrião durante o período de pré-implantação, redução do alongamento do concepto e
146 sobrevivência do mesmo em vacas leiteiras. Enquanto a inflamação não uterina pode afetar o
147 folículo em desenvolvimento, oócito, fertilização, desenvolvimento embrionário precoce, ou
148 uma combinação dos mesmos (Ribeiro et al., 2016). Foi observado também por Chebel et.
149 al., 2004, a associação de doenças pós-parto (febre do leite e retenção de placenta) com menor
150 taxa de concepção, assim como a maior probabilidade de perder a prenhez de 31 a 45 dias
151 após a IA estar associada a vacas que apresentaram mastite.

152 c. Genética

153 A cadeia de produção de carne bovina brasileira através da atividade de cria é impactada
154 diretamente pela quantidade em quilos de bezerros produzidos por matriz (Bo et al., 2007;
155 Oaigen, 2008; Baruselli et al., 2012). A utilização de biotecnologias da reprodução tem
156 desempenhado papel incisivo e disseminador do aumento da produtividade e rentabilidade das
157 propriedades através da utilização do melhoramento genético advindo de sêmen de touros
158 geneticamente superiores. O que possibilita também a utilização do cruzamento entre raças
159 buscando heterose e maior/melhor produção de carne (nelore x angus, por exemplo). Fator
160 muito importante e capaz de gerar maior lucratividade e retorno financeiro ao sistema de
161 produção da cria. Pelo lado científico, tem se observado algumas diferenças na fertilidade e
162 manutenção da gestação em alguns cruzamentos.

163 Em estudo realizado por Franco et. al., 2018 foi observado que vacas nelore
164 inseminadas com sêmen Nelore, tiveram maior taxa de prenhez aos 30 dias comparado com
165 vacas inseminadas com sêmen de Angus. Resultados que podem ser sustentados pela idéia de
166 que embriões de *B. indicus* × *B. indicus* são mais capacitados para sobreviver a temperaturas
167 elevadas nos estágios iniciais de desenvolvimento em comparação com embriões de *B.*

168 *indicus* × *B. taurus* (Barros et al., 2002). Também observaram que vacas acasaladas com
169 sêmen Angus apresentaram menor perda gestacional e maior concentração circulante de
170 PAGs, indicando um efeito benéfico da heterose no desenvolvimento embrionário e na
171 manutenção da gestação nesses animais, conforme visto em estudos anteriores (Pegorer et al.,
172 2007). O que gera questionamentos se a secreção de PAGs pode estar relacionada à própria
173 composição genética do embrião, e não ao genótipo materno. Ou seja, existem fatores
174 genéticos que podem estar ligados ao desenvolvimento do embrião e conseqüentemente ao
175 reconhecimento materno e manutenção da gestação.

176 Em estudo recente, Madureira et. al., 2022 avaliaram a relação entre a taxa genômica de
177 prenhez de filhas (GDPR) com parâmetros reprodutivos como prenhez na primeira IA, P/IA
178 geral e perdas gestacionais. Os resultados demonstraram que as chances de prenhez
179 aumentaram à medida que o GDPR aumentou, enquanto as chances de perdas gestacionais
180 diminuíram à medida que o GDPR aumentou. Esses achados mostram que o GDPR foi
181 associado a melhor desempenho reprodutivo em novilhas, vacas primíparas e multíparas. E
182 demonstraram a importância da avaliação genômica e evolução genética do rebanho.

183 **d. Tamanho de Útero**

184 Recentemente, foram realizados estudos que associaram o tamanho e posição do útero
185 com a fertilidade de vacas leiteiras em lactação. Baez et. al.,2016 reportaram que de acordo
186 com que o volume uterino aumenta, tem se uma diminuição na P/IA e que esses impactos
187 negativos na fertilidade foram predominantemente verificados em multíparas. Young et.
188 al.,2017, desenvolveram uma escala de tamanho (cervical ou uterino) e posicionamento de
189 útero (SPS) em relação a pelve. Animais com escore SPS1 (pequeno trato reprodutivo e útero
190 e cornos pequenos na cavidade pélvica) tiveram melhor fertilidade que animais com escore
191 SPS2 (trato reprodutivo intermediário com tamanho de útero e cornos saindo da cavidade
192 pélvica). A porcentagem de animais com escore SPS2 teve diferente P/IA quando comparada
193 com animais de escore SPS3 (trato reprodutivo grande e posicionado fora da cavidade
194 pélvica). Foi observado por Madureira 2020 que o tamanho e posição do útero tem relação
195 com a paridade dos animais, onde primíparas tem maior frequência de animais escore de útero
196 SPS1 (42,6%) e menor frequência de escore de útero SPS3 (7,1%) comparado com
197 multíparas, SPS1 (15%), SPS3 (22%). Deixando claro uma relação existente entre tamanho
198 do trato reprodutivo e posicionamento com parâmetros de fertilidade em vacas de leite em
199 lactação. Concluíram que animais classificados como SPS3 tem mais falhas de ovulação,
200 redução da P/IA, decréscimo na concentração de PAGs no d31 e maior incidência de perda de
201 gestação. Informações essas que sugerem uma associação de mecanismos biológicos com

202 tamanho do útero, sendo necessários mais estudos para entender e explicar o mecanismo de
203 ação responsável pela redução na fertilidade.

204 **e. Nutrição**

205 As alterações de condição corporal e peso dos animais ocorrem naturalmente durante o
206 parto e início da lactação, tanto em bovinos de leite quanto corte. Essas alterações são capazes
207 de influenciar os resultados futuros da lactação e/ou fertilidade desses animais. A observação
208 somente do peso corporal não é um bom indicador das reservas corporais do animal devido a
209 diferentes fatores como paridade, estágio da lactação, tamanho do animal, raça e gestação
210 (Roche et. al., 2013). Diversos estudos já foram realizados avaliando BEN, perda de ECC e
211 incidência de doenças mostrando os efeitos na fertilidade de vacas leiteiras em lactação. De
212 tal maneira que o ECC tem recebido grande atenção e se tornado uma ferramenta para auxiliar
213 no manejo de programas nutricionais em rebanhos leiteiros, diretamente associado com
214 produção de leite, reprodução e saúde Waltner et. al., 1993; Roche et. al., 2009.

215 Barletta et. al., 2017 observaram uma associação entre a mudança do ECC durante o
216 período de transição com algumas características importantes, por exemplo, animais que
217 ganharam ECC durante o período de transição (21 dias antes parto a 21 pós parto), tiveram
218 menor concentração circulante de NEFA e BHBA pós parto, menos problemas de saúde,
219 retorno mais rápido a ciclicidade e maior fertilidade. Em outro estudo, Middleton et. al., 2019
220 relataram maior P/IA no primeiro serviço de vacas que mantiveram ou ganharam ECC
221 comparado com vacas que perderam ECC nos primeiros 30 dias em lactação ($P=0,02$).
222 Também avaliaram as perdas de gestação e vacas que perderam condição corporal durante os
223 primeiros 30 DEL tiveram maior perda de gestação entre 35 e 60 dias após a primeira IA em
224 comparação com vacas que mantiveram ou ganharam condição corporal durante esse período
225 ($P<0,05$). Em contrapartida, Carvalho et. al., 2014 não relataram diferença na perda de
226 gestação de 40 a 70 dias com as alterações de ECC, porém relataram aumento na chance de
227 embriões degenerados em animais que perderam mais condição corporal durante os primeiros
228 21 dias em lactação.

229 Em mini revisão Frickie et. al., 2023, verificaram que podemos definir claramente uma
230 relação em que os rebanhos que conseguem emprenhar suas vacas mais rápido após o PEV
231 tendem a ter vacas parindo com ECC mais baixo, e isso, por sua vez, faz com que um maior
232 número de animais mantenham ou ganhem ECC pós parto e esses animais têm maior
233 fertilidade do que vacas que perdem ECC. Chamado de ciclo da alta fertilidade, esse processo
234 juntamente com adoção de melhores programas reprodutivos pode explicar grande parte da
235 variação no desempenho reprodutivo entre rebanhos leiteiros. A melhor estratégia para evitar

236 vacas com elevado ECC no parto é implementar uma estratégia de manejo reprodutivo para
237 maximizar a proporção de vacas prenhes no rebanho em 130 DEL (Middleton et al., 2019).

238 Em gado de corte, Carvalho et. al., 2022, avaliaram a alteração do ECC do parto, IATF
239 e diagnóstico de gestação aos 30 dias após IATF nas taxas de prenhez de vacas *Bos indicus*.
240 Os resultados encontrados foram de maior taxa de prenhez em vacas que pariram com $ECC \geq$
241 5,0 independentemente da alteração de ECC pós parto, e também, obtiveram maiores taxas de
242 prenhez em vacas que mantiveram ou ganharam ECC nos 30 dias após IATF em relação ao
243 ECC do parto, quando nenhum hormônio exógeno é administrado e ocorre o estabelecimento
244 da prenhez (Reese et al., 2020). O escore de condição corporal (ECC) e os efeitos da restrição
245 de nutrientes também afetam o desenvolvimento inicial do embrião. Vacas e novilhas com
246 diminuição do ECC ou do peso corporal pós - cobertura não apenas apresentam maiores
247 perdas gestacionais, mas especificamente apresentam embriões com graus de qualidade
248 inferiores e uma maior porcentagem de embriões em estágios imaturos quando coletados no
249 dia 7 de gestação (Bridges et al., 2012; Perry et al., 2013; Kruse et al., 2017). Os resultados
250 dos estudos sustentam que essas falhas não se devem à falha na fertilização ou à concentração
251 de progesterona abaixo do ideal, mas a alguma outra incompetência do desenvolvimento
252 relacionada ao ambiente materno (Spitzer et al., 1978; Kruse et al., 2017).

253 **f. Categoria**

254 Se tratando da influência e associação de fertilidade com número de lactações ou
255 partos, observa – se grandes diferenças em rebanhos de leite e corte. Atualmente a categoria
256 mais desafiadora em rebanhos de corte são as primíparas. O efeito da paridade na P/IA foi
257 amplamente relatado em *Bos indicus* e *taurus*, em geral, primíparas têm menor fertilidade do
258 que vacas múltíparas, 45,2% (3.924/8.677) vs. 51,8% (24.245/46.767), $P < 0,01$ (Sá Filho et.
259 al., 2009), respectivamente. Recentemente Reese et. al., 2020, realizaram uma meta – análise
260 de perda de gestação em bovinos de corte e verificaram efeito da paridade nas perdas de
261 gestação, onde primíparas apresentaram maior EEM ($P = 0,002$) em comparação com
262 nulíparas e vacas múltíparas; e nulíparas tiveram maior LEF em comparação com vacas
263 primíparas e múltíparas ($P = 0,048$). Um dos fatores que pode ser associado para justificar o
264 aumento das perdas de gestação em primíparas (*Bos indicus*) é a demanda nutricional
265 combinada de crescimento contínuo e produção de leite durante sua primeira lactação, o que
266 geralmente, pode ocasionar maior perda de ECC do parto a IATF do que em vacas múltíparas
267 (Meneghetti and Vasconcelos (2008)), menor expressão de estro (múltíparas - 76,9%
268 [1435/1867] vs. primíparas - 59,1% [558/945], ($P < 0,001$), Alves et.al., 2021), menor
269 fertilidade (múltíparas - 63,5% [1229/1935] vs. primíparas - 45,8% [441/962], ($P < 0,001$),

270 Alves et. Al., 2021) e conseqüentemente maior perda de gestação pela menor expressão de
271 estro.

272 Em Carvalho et. al.,2014, no primeiro diagnóstico de gestação (32 ou 40d pós
273 inseminação), primíparas tiveram maior P/IA comparadas com múltíparas (52,7% vs. 43,1%,
274 $P=0,003$). Em dois rebanhos avaliados no estudo, foi realizado o segundo diagnóstico de
275 gestação 70 dias pós inseminação, e primíparas também tiveram maior P/IA comparado a
276 múltíparas (49,8% vs. 38,4%, $P=0,008$). Porém não foi observado diferença nas perdas de
277 gestação ($P=0,34$).

278 **g. Touros**

279 Os touros tem papel essencial na reprodução e difusão de genética melhoradora em
280 rebanhos de leite ou corte. Através da utilização de biotecnologias reprodutivas como a IA
281 convencional, IATF, FIV e TE, os produtores e técnicos passam a usufruir de ferramentas
282 altamente capazes de difundir a genética de animais melhoradores independente do tamanho
283 do rebanho. Além do importante papel de seleção e melhoramento de características
284 produtivas e econômicas, tem-se estudado e buscado a compreensão a respeito do papel do
285 macho desde a fecundação até a parição das matrizes, ou seja, a verificação do impacto do
286 macho na manutenção da gestação das fêmeas.

287 O'Callaghan et. al., (2022) realizaram estudo com objetivo de avaliar a contribuição
288 do touro no transporte dos espermatozoides, falha na fertilização, desenvolvimento
289 embrionário inicial, crescimento e sobrevivência do concepto. Foram utilizados touros de alta
290 fertilidade ($n = 3$; +4.37%) vs. baixa fertilidade ($n = 3$; -12.7%), sendo selecionados com uma
291 diferença média de 17,1% entre os grupos. No experimento 1, novilhas foram superovuladas e
292 inseminadas, após 7 dias foram abatidas e nesse momento foi coletado o útero, realizado
293 flushing e recuperação das estruturas (oócitos não fertilizados/ embriões) para classificação de
294 acordo com o grau de desenvolvimento. Os resultados obtidos foram uma maior proporção de
295 embriões em estágio mais avançado de desenvolvimento (blastocisto inicial, blastocisto e
296 blastocisto expandido) quando utilizado sêmen de alta vs. baixa fertilidade ($P < 0,05$); assim
297 como número médio de células embrionárias no d7 ($P < 0,001$), respectivamente, fatores os
298 quais podem ser indicativo de embriões de qualidade superior. No experimento 2, foram
299 coletados oócitos de novilhas e vacas em abatedouro e produzidos embriões com touros de
300 alta vs. baixa fertilidade. Os embriões foram transferidos nas receptoras (média de 8 embriões
301 por receptora) e após 15 dias as novilhas foram abatidas para avaliação da taxa de recuperação
302 dos conceptos e dimensões (comprimento e largura). Consistente com o encontrado no exp.1 a

303 respeito da qualidade do embrião, a sobrevivência do conceito no d15 foi maior em touros de
304 alta vs. baixa fertilidade (59,4% vs. 45,0%; $P < 0,05$), respectivamente. A fertilidade dos
305 touros pode estar associada ao desenvolvimento inicial do embrião além da fertilização,
306 através de alterações no transcriptoma do espermatozóide (Feugang et.al.,2010), metaboloma
307 e proteoma de espermatozóides e plasma seminal (Memili et. al.,2020). Ou seja, durante a
308 fertilização, o espermatozoide entrega além do DNA paterno, um pacote incluindo RNAs,
309 fatores de transcrição e moléculas de sinalização celular (Krawetz, 2005). Kropp e outros
310 (2017), relacionaram diferenças na metilação do espermatozoide entre touros de fertilidade
311 variada com perfis transcriptômicos em embriões pré implantação e concluíram que as
312 consequências da função espermática podem não ser vistas até muito depois da fertilização.

313 Em Franco et. al., 2020, foi avaliado o efeito de touros em diferentes estágios de
314 desenvolvimento embrionário e fetal (dia 24 (PAGs), dia 31 (PAGs + US), dia 60 (US) após
315 inseminação). Todos os touros utilizados nesse experimento passaram por avaliações
316 comerciais de padrão de qualidade de sêmen e atenderam todos os requisitos mínimos para
317 utilização a campo, portanto, nenhuma diferença na fertilidade dos touros poderia ser prevista
318 no início do estudo. Como resultado, verificaram que não houve efeito de touro na prenhez
319 dia 31 ($P = 0,31$), porém, foi observada grande variação na incidência de perdas gestacionais
320 durante os dois períodos avaliados, com alterações no ranking de fertilidade dos touros
321 dependendo do período analisado. Em estudo realizado por Munhoz, 2022, foi observado
322 fator de elevado interesse para cadeia produtiva de melhoramento genéticos, que foi o efeito
323 de touro nos índices de manutenção da gestação ($P < 0,01$), tanto em perdas do DG1 (25 dias
324 pós TE) até o DG2 (83 dias pós TE) variando de 28,1% a 55,1%, quanto em perdas do DG2
325 ao parto variando de 18,4% a 57%. Reforçando a importância em desenvolver marcadores que
326 possam identificar touros com alta ou baixa perda gestacional, o que seria muito benéfico para
327 avaliação da fertilidade dos touros aumentando a eficiência reprodutiva e consequentemente,
328 melhorando a manutenção da gestação nas fêmeas em rebanhos de leite e corte.

329

330

331 **h. Estresse térmico**

332 O estresse térmico causa um grande impacto negativo na taxa de prenhez durante as
333 épocas quentes do ano. As possíveis melhorias observadas têm como base a exploração do
334 conhecimento de como o estresse térmico afeta o processo reprodutivo. O oócito pode ser
335 danificado pelo estresse térmico nos estágios iniciais da foliculogênese e permanece sensível

336 ao estresse térmico no período periovulatório. Possivelmente, a elevação da temperatura
337 corporal é capaz de alterar os padrões de foliculogênese, qualidade oocitária e comprometer a
338 taxa de fertilização (Hansen, 2019).

339 O desempenho reprodutivo é afetado por efeitos deletérios do estresse térmico no
340 ovócito, na fertilização e no desenvolvimento embrionário inicial (Hansen & Arechiga, 1999).
341 Nos períodos próximos à ovulação até o terceiro dia do desenvolvimento embrionário, as
342 vacas são muito susceptíveis ao estresse térmico, e temperaturas elevadas reduzem a
343 proporção de embriões que continuam em desenvolvimento (Ealy et al., 1993).

344 O estresse térmico afeta não só o ovócito e o embrião em fase inicial de
345 desenvolvimento, mas também pode reduzir o crescimento embrionário até o dia 17, que é um
346 momento crítico para a produção embrionária de interferon-tau (sinal para bloquear a
347 regressão do CL). A disfunção do desenvolvimento embrionário inicial resulta de suas
348 próprias ações ou do ambiente do oviduto ou do útero no qual o embrião reside. A exposição
349 de um embrião a elevada temperatura leva-o a tornar-se hipertérmico, podendo levá-lo à
350 morte. Deste modo, fêmeas submetidas a estresse térmico no dia após a concepção podem
351 impedir o desenvolvimento de embriões neste período até sete dias pós-concepção levando a
352 uma menor taxa de sobrevivência embrionária (Hansen, 2005), devido a aspectos fisiológicos
353 e celulares de função reprodutiva que são interrompidos por aumento na temperatura corporal
354 causado por estresse térmico (Hansen et al., 2001). E mesmo com o avanço da gestação,
355 estresses severos podem inibir o desenvolvimento embrionário posterior ou prosseguimento
356 da prenhez (Hansen et al., 2001).

357 Pereira et. al., 2013 evidenciaram os efeitos do estresse térmico em estudo realizado
358 em Minas Gerais com vacas em lactação. Os animais tiveram sua temperatura corporal
359 mensuradas nos dias d-3, d-2, d0 e d7 em relação a IATF. A média de P/IA aos 32 dias foi de
360 17% quando os animais apresentaram dois ou mais eventos de temperatura acima de 39,1°C,
361 25% quando apresentaram um evento e 37% quando nenhum momento foi aferido
362 temperatura acima de 39,1°C, mostrando claramente o efeito negativo do estresse térmico na
363 fertilidade. Em estudo recente, Pereira et. al., 2022 avaliaram a duração do protocolo de IATF
364 (9d vs. 10d), e observaram efeito do estresse térmico na prenhez aos 32 dias em ambos
365 protocolos, onde animais que não tiveram nenhum evento com temperatura acima de 39,1°C
366 tiveram melhor fertilidade que animais que apresentaram dois eventos com temperatura
367 mensurada acima de 39,1°C (33,9% (221/652) vs. 17,8% (120/674), respectivamente. Em
368 compilado de dados não publicados, Pereira et. al., observaram efeito do estresse térmico na

369 P/IA 32d (<39,1°C - 37,6% vs. ≥39,1C - 24,6%, P<0,01); na P/IA 60d (<39,1°C - 32,3% vs.
370 ≥39,1C - 19,6%, P<0,01) e também nas perdas de gestação entre 32-60d (<39,1°C - 14,2%
371 vs. ≥39,1C - 20,7%, P<0,01), demonstrando que o estresse térmico tem efeito deletério desde
372 a foliculogênese até a manutenção da gestação.

373 **i.Expressão Estro**

374 Avaliar a expressão de estro é uma maneira de avaliar a resposta dos animais aos
375 protocolos reprodutivos e está diretamente relacionada com a fertilidade e manutenção da
376 gestação dos animais de corte ou leite. Davoodi et al., 2016, verificaram melhora no ambiente
377 uterino para desenvolvimento do embrião em animais que expressaram estro, associado a
378 secreção de glicoproteínas ovidutais (Buhih, 2002) e nutrientes endometriais, fatores que
379 contribuem para o melhor crescimento inicial do concepto (Gray et. al.,2001).

380 Pereira et.al., (2016), verificaram a importância da expressão do estro em protocolos de
381 IATF e TETF e observaram que a expressão do cio foi associada ao aumento de fertilidade e
382 redução na perda de prenhez, sugerindo que o ambiente hormonal que leva a uma não
383 expressão do estro, também produz alterações uterinas que diminuem a probabilidade de
384 manutenção da gestação durante o período crítico entre primeiro e segundo mês de gestação.
385 Alguns estudos anteriores mostraram uma grande redução (46% a 50% menos) na perda de
386 gestação em vacas que apresentaram estro próximo ao momento da IA (Galvão et al., 2004;
387 Pereira et al., 2014). Seguindo a lógica de raciocínio, vacas que expressam cio, tem um
388 folículo dominante maior, (CIO - 13,8mm vs. NÃO CIO - 12,7mm, (P=0,01), Cooke et. al.,
389 2019)), consequentemente maior produção de P4 pelo CL após a IATF (CIO - 3,37ng/ml vs.
390 2,70ng/ml, (P=0,02), Cooke et. al., 2019; Vasconcelos et. al., 2001) e maior produção de
391 PAGs no dia 28 da gestação (Pohler et. al., 2016). Em resposta ao E2 produzido pelo folículo
392 pré-ovulatório, estão associadas mudanças na estrutura e função do trato reprodutivo (área
393 endometrial, expressão gênica uterina, histotrófico uterino), todos fatores que podem ser
394 favoráveis ao estabelecimento da prenhez e manutenção da gestação em bovinos (Motta et.
395 al.,2020 e Bartol et. al., 1981).

396 Cooke et. al., 2019 avaliaram o tamanho do concepto no dia 15 pós inseminação, e
397 animais que expressaram estro tiveram conceptos maiores (CIO - 2,74cm vs. NÃO CIO -
398 0,98cm, P=0,02), maior expressão de mRNA da prostaglandina E sintase e IFNt, de acordo
399 com a hipótese do estudo que a expressão do estro durante o protocolo de IATF promoveria a
400 cascata de sinalização do IFNt no 15º dia de gestação. O estradiol é realmente impactante na
401 modulação e manutenção da prenhez. Alguns pesquisadores avaliaram as perdas de gestação
402 em diferentes programas de IATF baseados em GnRH ou E2/P4 para sincronização da

403 ovulação (Pereira et al., 2013a), e foi observado maior perda de gestação durante o estresse
404 calórico no verão (19,6% vs. 11,0%) para vacas que receberam IATF após um programa
405 baseado em GnRH em comparação com os protocolos E2/P4 que usaram ECP para
406 sincronizar a ovulação. Assim, acreditam que o E2 insuficiente não apenas produz
407 estimulação inadequada do hipotálamo, resultando em falta de estro, mas também pode alterar
408 a expressão uterina de genes e proteínas, produzindo um ambiente menos compatível com a
409 manutenção da prenhez após d 32 da gestação. Ainda no contexto dos efeitos benéficos da
410 expressão de cio, Pereira e colaboradores (2016) verificaram incremento na P/TE em vacas
411 que manifestaram cio, tanto na P/TE 32d (CIO - 46,2% [645/1397] vs. NÃO CIO - 32,7%
412 [193/606], $P < 0,01$) quanto P/TE 60d (CIO - 37,5% [525/1397] vs. NÃO CIO - 25,1%
413 [150/606], $P < 0,01$). Além disso, houve efeito da manifestação de cio nas Perdas 32-60d (CIO
414 - 22,7% [43/193] vs. NÃO CIO - 18,6% [120/645], $P < 0,01$). O mesmo aconteceu na IATF,
415 P/IA 32d (CIO - 38,9% [1785/4584] vs. NÃO CIO - 25,5% [222/846], $P < 0,01$), P/IA 60d
416 (CIO - 33,3% [1530/4584] vs. NÃO CIO - 20,1% [179/846], $P < 0,01$) e Perdas 32-60d 60d
417 (CIO - 14,4% [255/1785] vs. NÃO CIO - 20,1% [43/222], $P < 0,01$). O que demonstra grande
418 importância da expressão de cio em programas de IATF ou TETF para melhor fertilidade e
419 manutenção da gestação.

420 **j. Glicoproteínas associadas a Gestação (PAGs)**

421 A formação da placenta se dá quando o embrião atinge a fase de blastocisto e contém
422 dois tipos distintos de células diferenciadas: o trofoblasto (células externas e o embrioblasto
423 (massa celular interna). As células trofoblásticas são responsáveis pela formação da placenta,
424 enquanto a massa celular interna forma o embrião e suas membranas. As PAGs são expressas
425 pelas células trofoblásticas binucleadas gigantes da placenta e podem ser detectadas na
426 circulação materna por volta do dia 22 a 26 de gestação, e têm sido usadas para diagnosticar
427 com precisão a prenhez, monitorar a viabilidade fetal e função placentária em bovinos,
428 ovinos, caprinos, búfalos, bisões, e alces (Sasser et al., 1986; Sousa et al., 2006; Szafranska e
429 outros, 2006).

430 Pohler et al. (2013) identificaram o dia 24 como o primeiro aumento significativo na
431 concentração detectável de PAG em vacas de leite pós-parto submetidas a programas de
432 IATF. Pesquisas adicionais indicaram que as concentrações de PAG entre os dias 28 e 31 de
433 gestação têm o potencial de serem fortes preditores de sucesso embrionário tardio em bovinos
434 de corte e leiteiro. Em vacas em lactação, o aumento das concentrações circulantes de PAGs
435 no dia 31 teve maior probabilidade de sucesso na gravidez, enquanto as vacas com

436 concentrações reduzidas de PAGs tiveram maior probabilidade de mortalidade embrionária
437 entre os dias 31 e 60 (Pohler et. al.,2016).

438 A perda de gestação entre os dias 30 e 60, denominada mortalidade embrionária tardia,
439 representa um desafio econômico e é de aproximadamente 12% em bovinos leiteiros em
440 lactação (Wiltbank et.al., 2016). Entretanto, existe variação entre fazendas, método de
441 criação, paridade e sazonalidade, com intervalos relatados variando de 10 a mais de 25%
442 (Vasconcelos et.al., 1997; Cartmill et.al., 2001; Galvão et.al.,2004). As taxas mais altas de
443 mortalidade embrionária tardia geralmente ocorrem em gestações de embriões produzidos in
444 vitro com perdas médias de aproximadamente 20% (Taverne et.al.,2002; Farin et.al.,2006).
445 Em 2016, Pohler et al. mostraram que as concentrações circulantes de PAG no dia 31 eram
446 preditivas do sucesso da gestação em vacas após a transferência de embriões produzidos in
447 vitro e as perdas entre os dias 24 e 31 de gestação foram de aproximadamente 20,8%. Além
448 disso, as concentrações de PAG no dia 24 foram significativamente diferentes entre as vacas
449 diagnosticadas prenhes ou não usando ultrassom. Porém Pohler et al.(2016) não avaliaram a
450 precisão real das concentrações de PAG circulantes no dia 24 como ferramenta para
451 diagnosticar a prenhez ou como um preditor do sucesso da prenhez até o dia 60 da gestação.

452 Pohler et. al., (2013) verificaram que vacas que não mantiveram a prenhez até o dia 70
453 da gestação, tenderam a ter uma diminuição na concentração de PAGs, sugerindo uma
454 inadequada função placentária. Sugeriram que PAGs no d28 pode ser usado para diagnosticar
455 e prever a sobrevivência embrionária ou fetal até pelo menos o dia 72 da gestação.

456 **k. Haptoglobina**

457 A resposta de fase aguda de um organismo constitui uma reação sistêmica desencadeada
458 por distúrbios na homeostasia causados por processos inflamatórios, infecciosos, traumáticos
459 e neoplásicos. Um dos sinais desta reação é o incremento da secreção hepática de proteínas de
460 fase aguda na circulação sanguínea, que ocorre antes mesmo das alterações no leucograma e
461 expressão de sinais clínicos (Ceciliani et al., 2012). Uma das proteínas mais amplamente
462 estudadas na medicina humana e veterinária é a haptoglobina (Eckersall et al., 2007), a qual
463 desempenha importante papel fisiológico e imuno-regulador em processos infecciosos e
464 inflamatórios (Arredouani et al., 2005).

465 Durante processos infecciosos e inflamatórios, uma larga produção hepática de
466 haptoglobina ocorre a partir de estímulos gerados através da secreção das citocinas pró-
467 inflamatórias como o fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa) e das interleucinas 1 e 6 (IL-1 e
468 IL-6) pelos macrófagos no local da lesão (Kurash et al., 2004; Murata et al., 2004). Além da

469 produção hepática, leucócitos migram para o sítio inicial da infecção e contribuem para a
470 expressão desta proteína *in loco*, sendo também sintetizada e liberada em menor quantidade
471 por neutrófilos em resposta à sua ativação (Thielen et al., 2005; Theilgaard-Mönch et al.,
472 2006). Dessa forma, a haptoglobina tem suas concentrações séricas elevadas drasticamente
473 em resposta aos processos patológicos. A resposta inflamatória e proteínas de fase agudas, são
474 conhecidas por prejudicar a função reprodutiva, desenvolvimento do folículo, ovulação e
475 estabelecimento de prenhez (Battaglia et al., 2000; Williams et al., 2001; Hansen et al., 2004).

476 Em estudo para avaliar os efeitos do temperamento e aclimatação no desempenho
477 reprodutivo de fêmeas *bos taurus*, Cooke et. al., 2012 observaram que após o processo de
478 aclimatação, as novilhas que passaram por esse procedimento apresentaram concentrações
479 plasmáticas de cortisol e haptoglobina menor que as não aclimatadas ($P < 0,01$). O que também
480 foi demonstrado por outros grupos de pesquisa, os quais indicaram que a aclimatação do gado
481 aos procedimentos de manejo é uma alternativa para prevenir o aumento das concentrações de
482 cortisol em resposta ao estresse do manejo (Crookshank et al., 1979; Curley et al., 2006;
483 Cooke e outros, 2009b). Sabe – se que o cortisol provoca uma reação inflamatória e aumenta
484 as concentrações circulantes de proteínas de fase aguda (Cooke e Bohnert, 2011), o que pode
485 justificar as concentrações plasmáticas reduzidas de haptoglobina em novilhas aclimatadas.

486 Em outro estudo Cooke et. al (2017), observaram que quanto maior a concentração de
487 haptoglobina no momento da IATF, menor era a probabilidade de prenhez (efeito linear -
488 $P < 0,01$). O aumento dos níveis dessa proteína se dá a partir de 6 a 12 horas do estímulo
489 estressante e se mantém elevado pelo período que ele ocorre (Arthington et al., 2003; Mitchell
490 et al., 2008; Lomborg et al., 2008). Pode-se concluir que independente da raça, os bovinos
491 agressivos tem seu crescimento prejudicado (Voisinet et al., 1997b; Nkrumah et al., 2007),
492 saúde e qualidade de carcaça (Fell et al., 1999; Burdick et al., 2011), taxas de prenhez
493 reduzidas, maior perda de prenhez resultando em menores taxas de parição (Cooke et. al.,
494 2017), demonstrando a importância do temperamento do gado nos sistemas de produção de
495 carne bovina.

496 3. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

497 ALVES RLOR, SILVA MA, CONSENTINI CEC, E SILVA LO, FOLCHINI NP, OLIVA
498 AL, ET AL. **Hormonal combinations aiming to improve reproductive outcomes of *Bos***
499 ***indicus* cows submitted to estradiol/progesterone-based timed AI protocols.**
500 *Theriogenology* 2021;169:89e99. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2021.04.007>.

- 501 AONO, F., COOKE, R.F., ALFIERI, A., VASCONCELOS, J.L.M., 2013. **Effects of**
502 **vaccination against reproductive diseases on reproductive performance of beef cows**
503 **submitted to fixed-timed AI in Brazilian cow-calf operations.** *Theriogenology* 79, 242–
504 248.
- 505 ARREDOUANI, M. S., KASRAN, A., VANOIRBEEK, J. A., BERGER, F. G.,
506 BAUMANN, H. & CEUPPENS, J. L. 2005. **Haptoglobin dampens endotoxin induced**
507 **inflammatory effects both in vitro and in vivo.** *Immunology*, 114, 263–71.
- 508 ARTHINGTON, J. D., EICHER, S. D., KUNKLE, W. E. & MARTIN, F. G. 2003. **Effect**
509 **of transportation and commingling on the acute-phase protein response, growth, and**
510 **feed intake of newly weaned beef calves.** *Journal of Animal Science*, 81, 1120–1125
- 511 BAEZ GM, BARLETTA RV, GUENTHER JN, GASKA JM, WILTBANK MC. **Effect of**
512 **uterine size on fertility of lactating dairy cows.** *Theriogenology* 2016;85:1357e66.
513 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.04.022>
- 514 BARLETTA, R. V., M. MATURANA FILHO, P. D. CARVALHO, T. A. DEL
515 VALLE, A. S. NETTO, F. P. RENNÓ, R. D. MINGOTI, J. R. GANDRA, G. B. MOURÃO,
516 P. M. FRICKE, R. SARTORI, E. H. MADUREIRA, AND M. C. WILTBANK. 2017.
517 **Association of changes among body condition score during the transition period with**
518 **NEFA and BHBA concentrations, milk production, fertility, and health of Holstein**
519 **cows.** *Theriogenology* 104:30–36. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.07.030>.
- 520 BARROS, C. M., F. M. MONTEIRO, D. S. MELLO, L. M. CARVALHO, A. B.
521 TEIXEIRA, L. A. TRINCA, AND E. C. FREITAS. 2002. **Resistance of *Bos indicus* to heat**
522 **shock, compared to crossbred or *Bos taurus*, at early stages of in vitro embryo**
523 **development.** In: *Proceedings of the International Symposium on Reproduction in Domestic*
524 *Ruminants*, Crieff, Scotland. p. A4.
- 525 BARTOL, F. F., W. W. THATCHER, G. S. LEWIS, E. L. BLISS, M. DROST, AND F.
526 W. BAZER. 1981. **Effect of estradiol-17beta on PGF and total protein content in bovine**
527 **uterine flushings and peripheral plasma concentration of 13, 14-dihydro-15-keto-**
528 **PGF(2alpha).** *Theriogenology* 15:345–358. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(81\)90002-9](https://doi.org/10.1016/0093-691X(81)90002-9)
- 529 BARUSELLI PS, SALES JNS, SALA RV, VIEIRA LM, SÁ FILHO, MF. **History,**
530 **evolution and perspectives of timed artificial insemination programs in Brazil.** *Animal*
531 *Reproduction*, v.9 Issue 3, p.139-152, 2012.

- 532 BATTAGLIA, D. F., H. B. KRASA, V. PADMANABHAN, C. VIGUIE, AND F. J.
533 KARSCH. 2000. **Endocrine alterations that underlie endotoxin induced disruption of**
534 **the follicular phase in ewes.** Biol. Reprod. 62:45–53. doi:10.1095/biolreprod62.1.45
- 535 BERG DK, VAN LEEUWEN J, BEAUMONT S, BERG M, PFEFFER PL. **Embryo loss in**
536 **cattle between Days 7 and 16 of pregnancy.** Theriogenology 2010;73:250-60.
- 537 BÓ GA, CUTAIA L, PERES LC, PINCINATO D, MAROSA D, BARUSELLI PS.
538 **Technologies for fixed-time artificial insemination and their influence on reproductive**
539 **performance of Bos indicus cattle. Society of Reproduction and Fertility, supplement 64,**
540 **p.223-236, 2007.**
- 541 BRADFORD, B. J., K. YUAN, J. K. FARNEY, L. K. MAMEDOVA, AND A. L.
542 CARPENTER. 2015. **Invited review: Inflammation during the transition to lactation:**
543 **New adventures with an old flame.** J. Dairy Sci. 98:6631–6650.
544 <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9683>.
- 545 BUHI, W. C. 2002. **Characterization and biological roles of oviductspecific, oestrogen-**
546 **dependent glycoprotein.** Reproduction 123:355– 362.
- 547 BURDICK, N. C., R. D. RANDEL, J. A. CARROLL, AND T. H. WELSH. 2011.
548 **Interactions between temperament, stress, and immune function in cattle.** Int. J. Zool.
549 2011:1–9. doi:10.1155/2011/373197
- 550 BUTTLER, W. R. **Review: effect of protein nutrition on ovarian and uterine**
551 **physiology in dairy cattle.** Journal of Dairy Science, v. 81, p. 2533–2539, 1998.
- 552 CARTMILL, J. A., S. Z. EL-ZARKOUNY, B. A. HENSLEY, T. G. ROZELL, J. F.
553 SMITH, AND J. S. STEVENSON. 2001. **An alternative AI breeding protocol for dairy**
554 **cows exposed to elevated ambient temperatures before or after calving or both.** J. Dairy
555 Sci. 84:799–806. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)74536-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74536-5).
- 556 CARVALHO, M. R., F. PEÑAGARICANO, J. E. P. SANTOS, T. DEVRIES, B.
557 MCBRIDE, AND E. S. RIBEIRO. 2019. **Long-term impact of clinical disease postpartum**
558 **on milk production, reproduction, and culling of dairy cows.** J. Dairy Sci. 102:11701–
559 11717. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17025>.
- 560 CECILIANI, F., CERON, J. J., ECKERSALL, P. D. & SAUERWEIN, H. 2012. **Acute**
561 **phase proteins in ruminants.** Journal of Proteomics, 75, 4207– 4231.
- 562 CERRI, R.L., H.M. RUTIGLIANO, F.S. LIMA, D.B. ARAÚJO, AND J.E. SANTOS.
563 2009c. **Effect of source of supplemental selenium on uterine health and embryo quality**
564 **in high-producing dairy cows.** Theriogenology 71:1127-1137.

- 565 CERRI, R.L., H.M. RUTIGLIANO, R.C. CHEBEL, AND J.E.P. SANTOS. 2009b. **Period**
566 **of dominance of the ovulatory follicle influences embryo quality in lactating dairy cows.**
567 *Reproduction* 137:813-823.
- 568 CERRI, R.L., S.O. JUCHEM, R.C. CHEBEL, H.M. RUTIGLIANO, R.G. BRUNO, K.N.
569 GALVÃO, W.W. THATCHER, AND J.E. SANTOS. 2009a. **Effect of fat source differing**
570 **in fatty acid profile on metabolic parameters, fertilization, and embryo quality in high-**
571 **producing dairy cows.** *J. Dairy Sci.* 92:1520-1531.
- 572 CHEBEL, R. C., J. E. P. SANTOS, J. P. REYNOLDS, R. L. A. CERRI, S. O. JUCHEM,
573 AND M. OVERTON. 2004. **Factors affecting conception rate after artificial insemination**
574 **and pregnancy loss in lactating dairy cows.** *Anim. Reprod. Sci.* 84:239–255.
575 <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2003.12.012>.
- 576 CHEBEL, R.C., SANTOS, J.E.P., CERRI, R.L.A., GALVAO, K.N., JUCHEM, S.O.,
577 THATCHER, W.W., 2003. **Effect of resynchronization with GnRH on day 21 after**
578 **artificial insemination on pregnancy rate and pregnancy loss in lactating dairy cows.**
579 *Theriogenology* 60, 1389–1399.
- 580 COOKE RF. **Early career achievement award: supplementing omega-6 fatty acids to**
581 **enhance early embryonic development and pregnancy establishment in *Bos indicus* and**
582 ***B. taurus* beef cows.** *J Anim Sci.* 2019;97(1):485-95. <http://dx.doi.org/10.1093/jas/sky414>.
583 [PMid:30351357](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30351357/).
- 584 COOKE, R. F., AND J. D. ARTHINGTON. 2013. **Concentrations of haptoglobin in**
585 **bovine plasma determined by ELISA or a colorimetric method based on peroxidase**
586 **activity.** *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 97:531–536. doi:10.1111/j.1439-0396.2012.01298.x
- 587 COOKE, R. F., D. W. BOHNERT, M. MENEGHETTI, T. C. LOSI, AND J. L. M.
588 VASCONCELOS. 2011. **Effects of temperament on pregnancy rates to fixed-timed AI in**
589 ***Bos indicus* beef cows.** *Livest. Sci.* 142:108–113. doi:10.1016/j.livsci.2011.06.024
- 590 COOKE, R. F., J. D. ARTHINGTON, D. B. ARAUJO, AND G. C. LAMB. 2009. **Effects**
591 **of acclimation to human interaction on performance, temperament, physiological**
592 **responses, and pregnancy rates of Brahman-crossbred cows.** *J. Anim. Sci.* 87:4125–4132.
593 doi:10.2527/jas.2009-2021
- 594 COOKE, R., SCHUBACH, K., MARQUES, R., PERES, R., SILVA, L., CARVALHO, R.,
595 CIPRIANO, R., BOHNERT, D., PIRES, A., VASCONCELOS, J., 2017. **Effects of**
596 **temperament on physiological, productive, and reproductive responses in beef cows.** *J.*
597 *Anim. Sci.* 95, 1–8.

- 598 CROOKSHANK, H. R., M. H. ELISSALDE, R. G. WHITE, D. C. CLANTON, AND H.
599 E. SMALLEY. 1979. **Effect of transportation and handling of calves upon blood serum**
600 **composition.** J. Anim. Sci. 48:430–435.
- 601 CURLEY, K. O., JR., J. C. PASCHAL, T. H. WELSH, JR., AND R. D. RANDEL. 2006.
602 Technical note: **Exit velocity as a measure of cattle temperament is repeatable and**
603 **associated with serum concentration of cortisol in Brahman bulls.** J. Anim. Sci. 84:3100–
604 3103. doi:10.2527/jas.2006-055
- 605 DAVOODI S, COOKE RF, FERNANDES ACDC, CAPPELLOZZA BI,
606 VASCONCELOS JLM, CERRI RLA. **Expression of estrus modifies the gene expression**
607 **profile in reproductive tissues on Day 19 of gestation in beef cows.** Theriogenology
608 2016;85:645e55.
- 609 DE VRIES A. **Economic value of pregnancy in dairy cattle.** J Dairy Sci 2006; 89:3876-
610 85.
- 611 DISKIN, M.G, SCREENAN, J.M. **Fertilization and embryonic mortality rates in beef**
612 **heifers after artificial insemination.** J Reprod Fertil (1980);59:463–8.
- 613 DRANSFIELD MB, NEBEL RL, PEARSON RE, WARNICK LD. **Timing of**
614 **insemination for dairy cows identified in estrus by a radiotelemetric estrus detection**
615 **system.** J Dairy Sci 1998; 81:1874–1882.
- 616 DUNNE, L., DISKIN, M., SREENAN, J., 2000. **Embryo and fetal loss in beef heifers**
617 **between day 14 of gestation and full term.** Anim. Reprod. Sci. 58, 39-44.
- 618 EALY AD, DROST M, HANSEN PJ. 1993. **Developmental changes in embryonic**
619 **resistance to adverse effects of maternal heat stress in cows.** J Dairy Sci, 76:2899-2905.
- 620 ECKERSALL, P. D., LAWSON, F. P., BENICE, L., WATERSTON, M. M., LANG, T. L.,
621 DONACHIE, W. & FONTAINE, M. C. 2007. **Acute phase protein response in an**
622 **experimental model of ovine caseous lymphadenitis.** BMC Veterinary Research, 3, 1–6.
- 623 EDELHOFF, I. N. F., M. H. C. PEREIRA, J. J. BROMFIELD, J. L. M. VASCONCELOS,
624 AND J. E. P. SANTOS. 2020. **Inflammatory diseases in dairy cows: Risk factors and**
625 **associations with pregnancy after embryo transfer.** J. Dairy Sci. 103:11970–11987.
626 <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19070>
- 627 FARIN PW, PIEDRAHITA JA, FARIN CE. **Errors in development of fetuses and**
628 **placentas from in vitro-produced bovine embryos.** Theriogenology 2006;65:178-91.

- 629 FELL, L. R., I. G. COLDITZ, K. H. WALKER, AND D. L. WATSON. 1999.
630 **Associations between temperament, performance and immune function in cattle**
631 **entering a commercial feedlot.** Aust. J. Exp. Agric. 39:795–802. doi:10.1071/EA99027
- 632 FEUGANG, J. M., N. RODRIGUEZ-OSORIO, A. KAYA, H. WANG, G. PAGE, G. C.
633 OSTERMEIER, E. K. TOPPER, AND E. MEMILI. 2010. **Transcriptome analysis of bull**
634 **spermatozoa: Implications for male fertility.** Reprod. Biomed. Online 21:312–324.
635 <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2010.06.022>.
- 636 FRANCO G, REESE S, POOLE R, RHINEHART J, THOMPSON K, COOKE R, ET AL.
637 **Sire contribution to pregnancy loss in different periods of embryonic and fetal**
638 **development of beef cows.** Theriogenology 2020;154:84e91. [https://doi.org/](https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2020.05.021)
639 [10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2020.05.021](https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2020.05.021)
- 640 FRANCO, G.A., Peres, R.F.G., Martins, C.F.G., REESE, S.T., VASCONCELOS, J.L.M.,
641 POHLER, K.G., 2018. **Sire contribution to pregnancy loss and pregnancy-associated**
642 **glycoprotein production in Nelore cows.** J. Anim. Sci. 96, 632–640.
- 643 GALVAO KN, SANTOS JEP, JUCHEM SO, CERRI RLA, COSCIONI AC,
644 VILLASENOR M. **Effect of addition of a progesterone intravaginal insert to a timed**
645 **insemination protocol using estradiol cypionate on ovulation rate, pregnancy rate, and**
646 **late embryonic loss in lactating dairy cows.** J Anim Sci 2004; 82: 3508-17.
- 647 GEARY, T.W.. **Estratégias para reduzir perdas embrionárias.** In **anais do XII Curso**
648 **Novos Enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos** (Uberlandia – Brasil), 2008.
- 649 Grooms DL, Bolin SR, Coe PH, Borges RJ, Coutu CE. **Fetal protection against continual**
650 **exposure to bovine viral diarrhea virus following administration of a vaccine containing**
651 **an inactivated bovine viral diarrhea virus fraction to cattle.** Am J Vet Res 2007;68:1417–
652 22.
- 653 GROOMS, D.L, BOLIS, C.A, 2005. **Diagnosis of fetal loss caused by bovine viral**
654 **diarrhea virus and *Leptospira* spp.** Theriogenology 21, 463-472.
- 655 GROOMS, D.L., 2004. **Reproductive consequences of infection with bovine viral**
656 **diarrhea virus.** Vet. Clin. Food Anim. 20, 5-19.
- 657 HANSEN, J.P. **Managing the Heat-Stressed Cow to Improve Reproduction.**
658 Proceedings of the 7 Western Dairy Management Conference. March 9-11,2005.
- 659 HANSEN, J.P., ARÉCHIGA, F.C. **Strategies for Managing Reproduction in the Heat-**
660 **Stressed Dairy Cow.** Journal Animal Science 1999.Vol.77.

- 661 HANSEN, J.P., DROST, M., RIVERA, M.R., PAULA-LOPES, F.F., ALKATANANI,
662 M.Y., KRININGER III, E.C., CHASE, C.C. **Adverse impact of heat stress on embryo**
663 **production: causes and strategies for mitigation.** *Theriogenology*. 2001. 55: 91-103.
- 664 HANSEN, P. J. 2019. **Reproductive physiology of the heat-stressed dairy cow:**
665 **implications for fertility and assisted reproduction.** *Anim. Reprod.* 16:497–507.
666 <https://doi.org/10.21451/1984-3143-AR2019>
- 667 HANSEN, P. J., P. SOTO, AND R. P. NATZKE. 2004. **Mastitis and fertility in cattle–**
668 **possible involvement of inflammation or immune activation in embryonic mortality.** *Am.*
669 *J. Reprod. Immunol.* 51:294– 301. doi:10.1111/j.1600-0897.2004.00160.x
- 670 HUBBERT, W., DENNIS, S., ADAMS, W., BIERSCHWAL, C., BIGGERS, J.,
671 CARROLL, E., DUNNE, H., HUTTON, N., KENDRICK, J., KENNEY, R., 1972.
672 **Recommendations for standardizing bovine reproductive terms.** *Cornell Vet.* 62, 216-
673 237.
- 674 JUNQUEIRA, J.R.C, FREITAS, J.C., ALFIERI, A.F., ALFIERI, A.A., 2006.
675 **Reproductive performance evaluation of a beef cattle herd naturally infected with the**
676 **BoHV-1 BVDV and Leptospira hardjo.** *Semin. Cienc. Agrar.* 27, 471-480.
- 677 KELLING, C.L., 2007. **Viral Diseases of the Fetus.** *Virology, Nebraska Center for*
678 **Virology Papers.** *Virology Papers*, pp. 399-408.
- 679 KHODAKARAM-TAFI, A., IKEDE, B.O., 2005. **A retrospective study of sporadic**
680 **bovine abortions, stillbirths, and neonatal abnormalities in Atlantic Canada from 1990**
681 **to 2001.** *Can. Vet. J.* 46,635-637.
- 682 KRAWETZ, S. A. 2005. **Paternal contribution: New insights and future challenges.**
683 *Nat. Rev. Genet.* 6:633–642. <https://doi.org/10.1038/nrg1654>.
- 684 KROPP J, CARRILLO JA, NAMOUS H, DANIELS A, SALIH SM, SONG J, KHATIB
685 H. **Male fertility status is associated with DNA methylation signatures in sperm and**
686 **transcriptomic profiles of bovine preimplantation embryos.** *BMC Genomics* 2017; 18
- 687 KURASH, J. K., SHEN, C.-N. & TOSH, D. 2004. **Induction and regulation of acute**
688 **phase proteins in transdifferentiated hepatocytes.** *Experimental Cell Research*, 292, 342–
689 358.
- 690 LOMBORG, S. R., NIELSEN, L. R., HEEGAARD, P. M. H. & JACOBSEN, S. 2008.
691 **Acute phase proteins in cattle after exposure to complex stress.** *Veterinary Research*
692 *Communications*, 32, 575–82.

- 693 LUCY, M.C., 2001. **Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end**
694 *J. Dairy Sci.* 84,1277–1293.
- 695 MCEWAN, B., CARMAN, S., 2005. **Animal health laboratory reports – cattle. Bovine**
696 **abortion update, 1998-2004.** *Can. Vet. J.* 46, 46.
- 697 MEMILI, E., A. A. MOURA, AND A. KAYA. 2020. **Metabolomes of sperm and**
698 **seminal plasma associated with bull fertility.** *Anim. Reprod. Sci.* 220:106355.
699 <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106355>.
- 700 MILLER JM, VAN DER MAATEN MJ. **Experimentally induced infectious bovine**
701 **rhinotracheitis virus infection during early pregnancy: effect on the bovine corpus**
702 **luteum and conceptus.** *Am J Vet Res* 1986;47: 223–8.
- 703 MINEIRO ALBB, BEZERRA EEA, VASCONCELLOS AS, COSTA FAL, MACEDO
704 NA. **Leptospiral infection in bovine and its association with reproductive failure and**
705 **climatic conditions.** *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 2007;59:1103–
706 9.
- 707 MITCHELL, G. B., CLARK, M. E., SIWICKY, M. & CASWELL, J. L. 2008. **Stress**
708 **alters the cellular and proteomic compartments of bovine bronchoalveolar lavage fluid.**
709 *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 125, 111– 125.
- 710 MOTTA IG, ROCHA CC, BISINOTTO DZ, MELO GD, ATAIDE GA JR, SILVA AG,
711 GONZAGA VH, SANTOS JA, FREITAS BG, LEMES KM, MADUREIRA EH. **Increased**
712 **pregnancy rate in beef heifers resynchronized with estradiol at 14 days after TAI.**
713 *Theriogenology.* 2020;147:62-70. <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.02.009>.
714 PMID:32097817.
- 715 MURATA, H., SHIMADA, N. & YOSHIOKA, M. 2004. **Current research on acute**
716 **phase proteins in veterinary diagnosis: An overview.** *Veterinary Journal*, 168, 28–40.
- 717 NKRUMAH JD, KEISLER DH, CREWS JR DH, BASARAB JA, WANG Z, LI C, PRICE
718 MA, OKINE EK, MOORE SS. **Genetic and phenotypic relationships of serum leptin**
719 **concentration with performance, efficiency of gain, and carcass merit of feedlot cattle.** *J*
720 *Anim Sci* 2007;85:2147-2155
- 721 OAIGEN RP, BARCELLOS JOJ, CHRISTOFARI LF, BRACCINI NETO J, OLIVEIRA
722 TE, PRATES ER. **Melhoria organizacional na produção de bezerros de corte a partir dos**
723 **centros de custos.** *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.37, n.3, p.580–587, 2008.
- 724 PEGORER, M. F., J. L. M. VASCONCELOS, L. A. TRINCA, P. J. HANSEN, AND C.
725 M. BARROS. 2007. **Influence of sire and sire breed (Gyr versus Holstein) on**

726 **establishment of pregnancy and embryonic loss in lactating Holstein cows during**
727 **summer heat stress.** *Theriogenology* 67:692–697. doi:10.1016/j.
728 *theriogenology*.2006.09.042

729 PEREIRA, M. H., A. D. RODRIGUES, T. MARTINS, W. V. OLIVEIRA, P. S.
730 SIL VEIRA, M. C. WILTBANK, AND J. L. VASCONCELOS. 2013A. **Timed artificial**
731 **insemination programs during the summer in lactating dairy cows: Comparison of the**
732 **5-d Cosynch protocol with an estrogen/ progesterone-based protocol.** *J. Dairy Sci.*
733 96:6904–6914.

734 PEREIRA, M.H.C.; COOKE, R.F. ; ALFIERI, A.A. ; VASCONCELOS, J.L.M. . **Effects**
735 **of vaccination against reproductive diseases on reproductive performance of lactating**
736 **dairy cows submitted to AI.** *Animal Reproduction Science (Print)*, v. 96, p. 2837, 2013.

737 PEREIRA, M.H.C.; RODRIGUES, A.D.P.; DE CARVALHO, R.J.; WILTBANK, M.C.;
738 VASCONCELOS, J.L.M. **Increasing length of an estradiol and progesterone timed**
739 **artificial insemination protocol decreases pregnancy losses in lactating dairy cows.**
740 *Journal of Dairy Science*, v. 97, p. 1454-1464, 2014.

741 PEREIRA, M.H.C.; WILTBANK, M.C. ; VASCONCELOS, J.L.M. **Expression of estrus**
742 **improves fertility and decreases pregnancy losses in lactating dairy cows that receive**
743 **artificial insemination or embryo transfer.** *Journal of Dairy Science*, v. 99, p. 2237, 2015.

744 POHLER, K.G, PERES, R.F.G, GREEN, J.A, GRAFF, H, MARTINS, T,
745 VASCONCELOS, J.L.M. **Use of bovine pregnancy-associated glycoproteins to predict**
746 **late embryonic mortality in postpartum Nelore beef cows.** *Theriogenology* 2016; 85:
747 1652–9. 353.

748 POHLER. K.G, GEARY. T.W., JOHNSON. C.L., ATKINS. J.A., JINKS. E.M., BUSCH.
749 D.C., GREEN. J.A., MACNEIL. M.D., SMITH. M.F. **Circulating bovine pregnancy**
750 **associated glycoproteins are associated with late embryonic/fetal survival but not**
751 **ovulatory follicle size in suckled beef cows.** *J. Anim. Sci.*, 91 (2013), pp. 4158-4167.

752 REESE. S. T, FRANCO. G. A., POOLE R. K., HOOD. R., FERNANDEZ MONTERO.
753 L., OLIVEIRA FILHO. R. V., COOKE. R. F., POHLER. K. G. **Pregnancy loss in beef**
754 **cattle: A meta-analysis.** *Animal Reproduction Science* 212 (2020) 106251.

755 RIBEIRO, E. S., G. GOMES, L. F. GRECO, R. L. A. CERRI, A. VIEIRA-NETO, P. L. J.
756 MONTEIRO JR., F. S. LIMA, R. S. BISINOTTO, W. W. THATCHER, AND J. E. P.
757 SANTOS. 2016. **Carryover effect of postpartum inflam matory diseases on**

- 758 **developmental biology and fertility in lactating dairy cows.** J. Dairy Sci. 99:2201–2220.
759 <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10337>
- 760 ROCHE JR, FRIGGENS NC, KAY JK, FISHER MW, STAFFORD KJ, BERRY DP.
761 **Invited review: body condition score and its association with dairy cow productivity,**
762 **health, and welfare.** J Dairy Sci 2009; 92:5769e801.
- 763 ROCHE JR, KAY JK, FRIGGENS NC, LOOR JJ, BERRY DP. **Assessing and managing**
764 **body condition score for the prevention of metabolic disease in dairy cows.** Vet Clin
765 North Am Food Anim Pract 2013; 29:323e36. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2013.03.003>.
- 766 RYAN DP, PRICHARD JF, KOPEL E, GODKE RA. **Comparing early embryo**
767 **mortality in dairy- cows during hot and cool seasons of the year.** Theriogenology 1993;
768 39: 719-37.
- 769 SA FILHO OG, MENEGHETTI M, PERES RFG, LAMB GC, VASCONCELOS JLM.
770 **Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for Bos indicus cows**
771 **II: strategies and factors affecting fertility.** Theriogenology 2009;72:210e8.
772 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.02.008>
- 773 SANTOS, J. E. P., R. S. BISINOTTO, E. S. RIBEIRO, F. S. LIMA, L. F. GRECO, C. R.
774 STAPLES, AND W. W. THATCHER. 2010. **Applying nutrition and physiology to**
775 **improve reproduction in dairy cattle.** Soc. Reprod. Fertil. Suppl. 67:385–403.
776 <https://doi.org/10.7313/upo9781907284991.030> .
- 777 SARTORI, R., R. SARTOR-BERGFELT, S.A. MERTENS, J.N. GUENTHER, J.J.
778 PARRISH, AND M.C. WILTBANK. 2002. **Fertilization and early embryonic**
779 **development in heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in**
780 **winter.** J. Dairy Sci. 85:2803-2812.
- 781 SASSER, R. G., C. A. RUDER, K. A. IVANI, J. E. BUTLER, AND W. C. HAMILTON.
782 1986. **Detection of pregnancy by radioimmunoassay of a novel pregnancy-specific**
783 **protein in serum of cows and a profile of serum concentrations during gestation.** Biol.
784 Reprod. 35:936–942. <https://doi.org/10.1095/biolreprod35.4.936>.
- 785 SOUSA N, AYAD A, BECKERS J, GAJEWSKI Z. **Pregnancy-associated glycoproteins**
786 **(PAG) as pregnancy markers in the ruminants.** J Physiol Pharmacol. 2006;57(Suppl.
787 8):153-71. PMID:17242480
- 788 TAVERNE MAM, BREUKELMAN SP, PERENYI Z, DIELEMAN SJ, VOS PLAM,
789 JONKER HH, ET AL. **The monitoring of bovine pregnancies derived from transfer of in**
790 **vitro produced 1114 embryos.** Reprod Nutr Dev 2002;42:613-24.

- 791 THEILGAARD-MÖNCH, K., JACOBSEN, L. C., NIELSEN, M. J., RASMUSSEN, T.,
792 UDBY, L., GHARIB, M., ARKWRIGHT, P.D., GOMBART, A.F., CALAFAT, J.,
793 MOESTRUP, S.K., PORSE, B.T. & BORREGAARD, N. 2006. **Haptoglobin is synthesized**
794 **during granulocyte differentiation, stored in specific granules, and released by**
795 **neutrophils in response to activation.** *Blood*, 108, 353–361.
- 796 THIELEN, M. A., MIELENZ, M., HISS, S. & SAUERWEIN, H. 2005. **Qualitative**
797 **detection of haptoglobin mRNA in bovine and human blood leukocytes and bovine milk**
798 **somatic cells.** *Veterinárni Medicína*, 50, 515–520.
- 799 VASCONCELOS JLM, SARTORI R, OLIVEIRA HN, GUENTHER JG, WILTBANK
800 MC. **Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and**
801 **pregnancy rate.** *Theriogenology* 2001;56:307e14. [https://doi.org/10.1016/S0093-](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(01)00565-9)
802 [691X\(01\)00565-9](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(01)00565-9).
- 803 VASCONCELOS, J.L.M, SILCOX, R.W, LACERDA, J.A, PURSLEY, J.R, WILTBANK,
804 M.C. **Pregnancy rate, 1118 pregnancy loss, and response to heat stress after AI at 2**
805 **different times from ovulation in 1119 dairy cows.** *Biol Reprod* 1997; 56:230.
- 806 VIEIRA-NETO, A., F. S. LIMA, J. E. P. SANTOS, R. D. MINGOTI, G. S.
807 VASCONCELLOS, C. A. RISCO, AND K. N. GALVÃO. 2016. **Vulvovaginal laceration as**
808 **a risk factor for uterine disease in postpartum dairy cows.** *J. Dairy Sci.* 99:4629–4637.
809 <https://doi.org/10.3168/jds.2016-10872>.
- 810 VOISINET, B. D., T. GRANDIN, J. D. TATUM, S. F. O’CONNOR, AND J. J.
811 STRUTHERS. 1997B. **Feedlot cattle with calm temperaments have higher average daily**
812 **gains than cattle with excitable temperaments.** *J. Anim. Sci.* 75:892–896.
- 813 WALTNER SS, MCNAMARA JP, HILLERS JK. **Relationships of body condition score**
814 **to production variables in high producing Holstein dairy Cattle1.** *J Dairy Sci* 1993;
815 76:3410e9.
- 816 WIEBOLD JL. **Embryonic mortality and the uterine environment in first-service**
817 **lactating dairy cows.** *J Reprod Fertil* 1988; 84: 393-9.
- 818 WILLIAMS, C. Y., T. G. HARRIS, D. F. BATTAGLIA, C. VIGUIE, AND F. J.
819 KARSCH. 2001. **Endotoxin inhibits pituitary responsiveness to gonadotropin-releasing**
820 **hormone.** *Endocrinology* 142:191
- 821 WILTBANK. M. C., BAEZ. G. M., A. GARCIA-GUERRA. A., TOLEDO. M. Z.,
822 MONTEIRO. P. L., MELO. L. F., OCHOA. J.C., SANTOS. J. E., SARTORI. R. **Pivotal**

823 **periods for pregnancy loss during the first trimester of gestation in lactating dairy cows.**
824 Theriogenology, 86 (2016), pp. 239-253.

825 YOUNG CD, SCHRICK FN, POHLER KG, SAXTON AM, DI CROCE FA, ROPER DA,
826 WILKERSON JB, EDWARDS JL. **Short communication: a reproductive tract scoring**
827 **system to manage fertility in lactating dairy cows.** J Dairy Sci 2017;100: 5922e7.
828 <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12288>

829

830

831

832

833

834

835

836

837

838

839

840

841

842

843

844

845

846

847

848

849

850

851

852

853

854

855

856

857

CAPÍTULO 2 – EXPERIMENTO 1

858

FATORES QUE INTERFEREM NA MANUTENÇÃO DA GESTAÇÃO

859

EM GADO DE LEITE.

860

861

862

863

864

865

866

867

868

869

870

871

872

873

874

875

876

877

878 **1. Introdução**

879 Nas últimas décadas, ocorreu uma grande evolução na indústria de laticínios em
880 relação ao desempenho reprodutivo de vacas em lactação. O desenvolvimento de programas
881 de fertilidade e sua adoção pelos produtores e técnicos é um importante fator impulsionador
882 dessa melhora reprodutiva (Carvalho et al., 2018; Fricke e Wiltbank, 2022). A eficiência
883 reprodutiva é um determinante importante da lucratividade dos rebanhos leiteiros por causa de
884 sua ligação direta com ciclo ideal de produção de leite e descarte. Entretanto, os desafios para
885 elevar os tais resultados e diminuir as perdas de gestação continuam elevados. Somente o fato
886 da fêmea entrar em lactação associado ao seu estado de saúde já são possíveis fatores para
887 alterar a qualidade do oócito, ambiente uterino e sucesso reprodutivo de vacas leiteiras
888 (Chagas et al., 2007; Leroy et al., 2008; Bromfield et al., 2015; Ribeiro e outros, 2016). Além
889 disso, uma grande proporção de vacas em lactação apresenta doenças clínicas pós-parto (i.e.,
890 metrite, mastite, claudicação e problemas digestivos e respiratórios), que têm consequências a
891 longo prazo na reprodução (Ribeiro e Carvalho, 2017; Carvalho et al., 2019).

892 O verdadeiro sucesso de uma gestação se dá quando a mesma resulta em parto. Quando
893 temos a perda do bezerro no meio desse caminho, temos grande prejuízo gerado ao produtor,
894 principalmente quando demoramos para identificar essa perda e a vaca fica vazia no rebanho.
895 A identificação precoce de vacas não prenhes ou que perderam a gestação, ajuda a reduzir o
896 número de vacas vazias no rebanho, permitindo que a mesma seja inserida na rotina
897 reprodutiva novamente o mais rápido possível.

898 Portanto, buscar informações a respeito de fatores que possam interferir na
899 manutenção da gestação são de grande importância para auxiliar a tomada de decisões quanto
900 a melhor estratégia reprodutiva a seguir. Buscando uma combinação de boas práticas de
901 manejo com alta taxa de concepção e parição.

902 O objetivo deste estudo foi determinar o percentual e momento de perdas de gestação
903 em bovinos de leite entre o primeiro diagnóstico de gestação até o parto, e avaliar possíveis
904 fatores associados as perdas de gestação. A hipótese desse estudo foi que fêmeas com maiores
905 concentrações de PAGs e menores concentrações de haptoglobina no d24 e d31 teriam maior
906 chance de sucesso na gestação até o parto.

907

908

909

910 **2. Materiais e métodos**

911 **2.1 – Localização e animais**

912 Foram utilizadas 1.552 vacas holandesas em lactação (708 primíparas e 844
913 multíparas). Todos os procedimentos com animais seguiram as recomendações do *Guide for*
914 *the Care and Use of Agricultural Animals in Agricultural Research and Teaching* (FASS,
915 1999). Todos os procedimentos com animais seguiram as recomendações e princípios éticos
916 na experimentação animal, Protocolo CEUA 0045/2018, determinados pela Câmara de Ética
917 no Uso de Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Universidade
918 Estadual Paulista, Campus de Botucatu/SP, Brasil.

919 Os animais estavam localizados em 3 propriedades localizadas em dois estados: Itatiba
920 - SP, Tapiratiba – SP e São Gotardo – MG.

921

922 **2.2 – Protocolo de sincronização**

923 As fêmeas foram sincronizadas com o seguinte protocolo de IATF: d-11, 2mg de
924 benzoato de estradiol (BE) i.m (Gonadiol®, Zoetis, SP, Brasil) + 100 mg
925 diacetatotetraidratado de gonadorelina (GnRH) i.m (Cystorelin®, Merial, SP, Brasil)
926 administrados concomitante à inserção do dispositivo intravaginal de 1,9 mg de P4 (CIDR®,
927 Zoetis, SP, Brasil); No d-4, administração de 25 mg de dinoprost (PGF) i.m (Lutalyse®,
928 Zoetis, SP, Brasil); No d-2, 25 mg de dinoprost i.m (Lutalyse®, Zoetis, SP, Brasil) + 1,0 mg
929 cipionato de estradiol (ECP) i.m (ECP, Zoetis, SP, Brasil) + remoção do implante (CIDR); no
930 d0 IATF.

931

932 **2.3 – Avaliação do escore de condição corporal (ECC)**

933 O escore de condição corporal dos animais foi avaliado seguindo a escala de 1 (muito
934 magra) a 5 (muito gorda) (WILDMAN et al., 1982). As avaliações foram realizadas no d-11.

935

936 **2.4 – Número de inseminações, produção de leite, DEL**

937 No d-11, foram coletadas as informações de número de inseminações, produção de
938 leite (média de produção dos últimos 7 dias) e dias em lactação.

939

940

941

942

943 **2.5 – Controle sanitário**

944 Todos os animais foram vacinados contra as principais doenças reprodutivas (IBR,
945 BVD, Leptospirose) de acordo com calendário sanitário definido por cada propriedade.

946

947 **2.6 – Detecção de estro**

948 Todos os animais receberam adesivo marcador Estrotect® após a remoção do CIDR®
949 no dia -2 na base da cauda. Os animais foram considerados em estro quando houve a ativação
950 do adesivo marcador de estro (ocorre alteração na cor do adesivo acionada por contato/calor).
951 A avaliação foi realizada no momento da IATF.

952

953 **2.7 – Sêmen**

954 Foram utilizados sêmen convencional de 40 touros comerciais da raça Holandesa.

955

956 **2.8 – Diagnóstico de gestação**

957 Foi realizado diagnóstico de gestação aos 31 ± 3 dias, 62 ± 3 dias e 120 ± 7 dias. A
958 prenhez por IA (P/IA) foi calculada dividindo o número de vacas prenhas no diagnóstico de
959 31 e 62 dias após IA pelo número de animais que receberam IA. As perdas de gestação foram
960 calculadas dividindo o número de vacas que perderam gestação pelo número de vacas
961 prenhes.

962

963 **2.9 – Parto**

964 O parto foi considerado com 280 ± 15 dias. A taxa de parição foi calculada pela divisão
965 do número de animais que pariram pelo número de animais prenhes aos 31 dias.

966

967 **2.10 – Perdas de Gestação**

968 As perdas embrionárias/fetal foram divididas em 3 fases para melhor interpretação e
969 entendimento. Fase 1 – Perda embrionária tardia (31 – 62 dias); Fase 2 - Perda fetal inicial (62
970 – 120 dias); Fase 3 - Perda fetal tardia (120 dias – parto) e perdas totais (31 dias -parto).

971

972

973

974

975 **2.13 – Amostras de sangue**

976 As amostras de sangue foram coletadas de 100% dos animais no d24 (1552 animais) e
977 somente dos animais prenhes no d31 (568 animais), por punção venosa coccígea em tubos
978 comerciais de coleta de sangue a vácuo com ativador de coágulo de 10 mL (Vacuplast, CRAL
979 artigos para laboratório LTDA, SP, Brasil).

980 Após coleta, os tubos foram colocados no gelo imediatamente, mantidos a 4° C por 12 h e
981 centrifugados a 1.500 g por 15 min à temperatura ambiente (20 - 25°C) para coleta de plasma.
982 O plasma foi armazenado a -20° C para posterior análise de PAGs e Haptoglobina.

983

984 **2.14 – Análises Glicoproteínas Associadas a Gestação (PAGS)**

985 As concentrações circulantes de PAGs no plasma foram determinadas por um PAG
986 ELISA, conforme descrito por Green et al., (2005) e usado no estudo de Pohler et al., (2016a).
987 O ensaio incluía o anticorpo poli clonal (PAG 45) que detectou alterações nas concentrações
988 circulantes maternas de PAGs associadas à mortalidade embrionária tardia. Cada ensaio de
989 PAG incluía uma curva padrão, uma amostra combinada de vacas prenhes no dia 60 da
990 gestação e uma amostra combinada de vacas não gestantes e a sensibilidade do ensaio foi de
991 0,28 ng / mL de PAG.

992

993 **2.15 – Análise de haptoglobina**

994 As amostras de sangue foram colocadas imediatamente no gelo após coleta, deixado
995 coagular por 24 h a 4°C, centrifugado a 1000 × g à temperatura ambiente por 15 min para
996 soro coleta, e armazenados a -20°C. As concentrações séricas de haptoglobina foram
997 determinadas de acordo com o procedimento colorimétrico descrito por Cooke e Arthington
998 (2013). O CV intra e inter-ensaio foi de 3,27% e 2,5% para haptoglobina sérica,
999 respectivamente.

1000

1001 **2.16 – Análise Estatística**

1002 Todos os dados foram analisados, utilizando a fêmea como unidade experimental, e
1003 aproximação de Satterthwaite para determinar o denominador GL, para os testes de efeitos
1004 fixos. Os dados quantitativos foram analisados com o procedimento MIXED do SAS (SAS
1005 Inst., Inc., Cary, NC, EUA), os dados binários analisados com o procedimento GLIMMIX do
1006 SAS (SAS Inst., Inc) com distribuição binomial e função de ligação logit, e os resultados são
1007 relatados como médias dos quadrados mínimas. As declarações do modelo continham, os

1008 efeitos fixos do resultado reprodutivo (diagnóstico de gestação e perda de gestação; negativo
1009 ou positivo), paridade (vacas primíparas e multíparas), estação (fria ou quente), DEL, fazenda
1010 e a interação resultante. Esses modelos usaram animal (resultado reprodutivo × estação ×
1011 paridade × fazenda), touro (fazenda) como variáveis aleatórias. Os diagnósticos de gestação
1012 (D31, D62, D120 e parto) e as perdas gestacionais (perdas do dia D31 ao D62, do dia D62 ao
1013 D120, do dia D120 ao parto) ao longo do experimento foram comparadas por meio de um
1014 modelo contendo o efeito fixo de período, tendo animal (resultado reprodutivo × estação ×
1015 paridade × fazenda), como variáveis aleatórias.

1016 A probabilidade de perda gestacional também foi avaliada de acordo com as
1017 concentrações séricas de haptoglobina e PAG no D31. O procedimento GLM do SAS foi
1018 inicialmente utilizado para determinar se essas variáveis afetavam a perda gestacional de
1019 forma linear, quadrática ou cúbica. O procedimento LOGISTIC foi utilizado para gerar o
1020 modelo de regressão, determinar os valores de intercepto e inclinação de acordo com
1021 estimativas de máxima verossimilhança de cada efeito significativo de ordem contínua, e a
1022 probabilidade de prenhez foi determinada usando a seguinte equação: Probabilidade = (e
1023 equação logística)/(1 + e equação logística). Curvas logísticas foram construídas de acordo
1024 com os valores mínimos e máximos detectados para cada variável. A significância estatística
1025 foi fixada em $P \leq 0,05$ e as tendências foram determinadas se $0,05 > P \leq 0,10$. Os resultados
1026 da ANOVA foram relatados de acordo com os principais efeitos fixos quando a interação
1027 resultado reprodutivo x paridade não foi significativa.

1028

1029

1030

1031

1032

1033

1034

1035

1036

1037

1038

1039

1040

1041 3. Resultados e Discussão

1042 A taxa de prenhez média dos animais trabalhados foi de 36,6% (568/1552) aos 31 dias e
 1043 31,8% (494/1552) aos 62 dias; com uma perda de gestação média de 13,0% (74/568) entre 31-
 1044 62d. Aos 120 dias, a taxa de prenhez foi de 29,8% (462/1552) e a taxa de parição de 26,2%
 1045 (406/1552); com perdas entre 62 e 120 dias de 6,48% (32/494) e entre os 120 dias até o parto
 1046 de 12,1% (56/462). Totalizando as perdas do DG31 até parto de 28,5% (162/568), (tabela 1).
 1047 Em meta análise recente, Albaaj et. al., 2022, utilizando 19.723 registros de diagnóstico em
 1048 46 estudos, demonstraram as perdas em 4 momentos distintos: 27% - estágios embrionários
 1049 (19 a 32 dias), 13% - embrionários tardios (30 a 45 dias), 7% - fetais iniciais (45 a 60 dias) e
 1050 2% - fetais posteriores (60 a 90 dias). O diferencial do nosso estudo foi a avaliação e
 1051 acompanhamento da gestação até o parto.

1052 **Tabela 1** – P/IA geral média aos 31d, 62d e 120d; perdas de gestação d31 a d62, d60 a d120,
 1053 d120 ao parto, taxa de parição e perdas totais.

Item	Média	SEM
DG d 31, %	36.6 (568/1552)	1.2
DG d 62, %	31.8 (494/1552)	1.2
Perda d 31 a 62, %	13.0 (74/568)	1.4
DG d 120, %	29.8 (462/1552)	1.2
Perda d 62 120, %	6.48 (32/494)	1.11
Parto, %	26.2 (406/1552)	1.1
Perda d 120 até parto, %	12.1 (56/462)	1.5
Perda total, %	28.5 (162/568)	1.9

1061

1062 As médias de ECC, produção de leite e DEL no d-11; assim como expressão de cio a
 1063 IATF e haptoglobina no d24 estão expressos na tabela 2.

1064 **Tabela 2** – Médias de ECC, leite, DEL no d-11, expressão de cio no d0 e haptoglobina d24 de
 1065 todos animais avaliados.

1066

Item	Média	
ECC d -11	3.06	0.01
Leite d -11, kg/d	36.8	0.3
DEL d -11, d	105	2
Cio d 0, %	87.4 (1274/1457)	0.8
Hapto d 24, mg/mL	0.332	0.020

1071

1072 Foram trabalhadas 708 vacas primíparas e 844 multíparas e houve diferença entre o
1073 ECC médio: 3,08 vs 3,04, $P < 0,01$, respectivamente (tabela 3).

1074 Multíparas tiveram maior produção de leite que primíparas, 39,2 litros vs. 35,3 litros,
1075 $P < 0,01$ (tabela 3).

1076 Não houve diferença de expressão de cio ao protocolo entre as categorias animais e nem
1077 na concentração de haptoglobina no d24, $P > 0,05$ (tabela 3).

1078 **Tabela 3** – Médias de ECC, leite, expressão de cio no d0 e haptoglobina d24 por paridade
1079 (primíparas e multíparas).

Item	Paridade			
	Primípara	Multípara	SEM	P=
	n = 708	n = 844	-	-
ECC d -11	3.08	3.04	0.01	< 0.01
Leite d -11, kg/d	35.3	39.2	0.4	< 0.01
Cio d 0, %	89.7 (602/680)	88.4 (672/777)	1.3	0.48
Hapto d 24, mg/mL	0.328	0.299	0.031	0.55

1086 Primíparas apresentaram melhor fertilidade que multíparas aos 31d: 41,4% (288/708)
1087 vs. (280/844), $P < 0,01$, aos 62d: 37,1% (260/708) vs. 26,8% (234/844), $P < 0,01$ e aos 120d:
1088 35,1% (246/708) vs. 24,6% (216/844). Assim como a taxa de partição: 32,1% (229/708) vs.
1089 20,7% (177/844), respectivamente (tabela 4).

1090 Se tratando de perdas de gestação, as multíparas tem maiores perdas que primíparas.
1091 Perdas d31-d62: 17,1% (46/280) vs. 9,48% (28/288), $P < 0,01$, perdas 120-parto: 15,4%
1092 (39/216) vs. 7,73% (17/246), $P < 0,0162$ e consequentemente maiores perdas desde o d31 até o
1093 parto: 34,9% (103/280) vs. 21,1% (59/288), $P < 0,01$ (tabela 4). Carvalho et. al., (2014)
1094 também encontraram melhor P/IA em primíparas do que em multíparas (49,8% vs. 38,4%;
1095 $p = 0,008$), respectivamente. Sabe-se que as vacas multíparas apresentam redução na P/IA e
1096 maior risco de perda de gestação em comparação com as primíparas, e essas diferenças foram
1097 atribuídas a diferenças na produção de leite, balanço energético e incidência de doenças
1098 periparturientes, mastite e claudicação (Santos et al. 2004).

1099

1100

1101

1102

1103

1104 **Tabela 4** – Taxa de prenhez aos 31d, 62d, 120d, taxa de parição e perdas de gestação entre
1105 períodos 31-62d, 62-120d, 120-parto por paridade (primíparas e múltíparas).

Item	Paridade			
	Primípara	Múltípara	SEM	P=
DG d 31, %	41.4 (288/708)	32.7 (280/844)	1.8	< 0.01
DG d62, %	37.1 (260/708)	26.8 (234/844)	1.7	< 0.01
Perda d 31 a 62, %	9.48 (28/288)	17.1 (46/280)	2.1	0.01
DG d120, %	35.1 (246/708)	24.6 (216/844)	1.7	< 0.01
Perda d 62 a 120, %	5.63 (14/260)	7.80 (18/234)	1.9	0.87
Parto, %	32.1 (229/708)	20.7 (177/844)	1.6	< 0.01
Perda d 120 até parto, %	7.73 (17/246)	15.4 (39/216)	2.3	0.01
Perda total, %	21.1 (59/288)	34.9 (103/280)	2.7	< 0.01

1114 As perdas de gestação totais entre múltíparas e primíparas foi um ocorrido interessante,
1115 o qual podemos observar uma diferença de 65% na eficiência da manutenção da gestação

1116 A distribuição dos animais trabalhados por estação foi de 55,3% na estação fria e 44,7%
1117 na quente. Animais trabalhados na estação quente apresentaram menor ECC (quente – 3,05
1118 vs. fria 3,08, P<0,01), menor produção de leite (quente – 36,5 litros vs. 38,0 litros, P<0,01),
1119 menor expressão de cio (quente – 85,3% (545/659) vs. 92,8% (729/798), P<0,01 e menor
1120 concentração de haptoglobina (quente – 0,250 ng/ml vs. fria – 0,376 ng/ml), P<0,01(tabela 5).
1121 Menta et. al., 2022 ao avaliar os efeitos do estresse térmico no final da gestação e início da
1122 lactação, observaram que o estresse térmico está associado a uma redução na produção de
1123 leite dos 3 primeiros meses da lactação no animal.

1124 Em temperaturas elevadas, o crescimento folicular é afetado, assim como a qualidade do
1125 oócito, o desenvolvimento inicial do embrião, a função endometrial e o meio endócrino em
1126 vacas leiteiras (Thatcher, 1974; Wolfenson e Roth, 2019). O estresse térmico prejudica a
1127 produção e secreção de hormônios ovarianos, como estradiol e inibina (Wolfenson e Roth,
1128 2019), o que afeta a dominância folicular. Com a secreção de LH (Wise et al., 1988) e
1129 progesterona (Wolfenson et al., 2002) alteradas, pode-se prejudicar a maturação final e a
1130 ovulação do folículo pré-ovulatório e afetar o estabelecimento e a manutenção da gestação.
1131 Foi demonstrado por Pereira et. al., (2015) efeitos negativos do estresse térmico em
1132 características fisiológicas geralmente associadas à fertilidade, como a diminuição de 6,7% de
1133 vacas com CL no momento da aplicação da PGF, diâmetro do folículo ovulatório (diminuição
1134 de 0,9mm), diminuição de 6.8% de expressão de estro e 5,4% na ovulação. Demonstrando o
1135 efeito negativo durante a estação quente. Efeitos reportados novamente em Pereira et al.,
1136 2017b.

1137 **Tabela 5** – Médias de ECC, leite, DEL no d-11, expressão de cio no d0 e haptoglobina d24
 1138 por estação (fria e quente).

Item	Estação			
	Fria	Quente	SEM	P =
	n = 859	n = 693	-	-
ECC d -11	3.08	3.05	0.01	< 0.01
Leite d -11, kg/d	38.0	36.5	0.4	< 0.01
Cio d 0, %	92.8 (729/798)	85.3 (545/659)	1.2	< 0.01
Hapto d 24, mg/mL	0.376	0.250	0.031	< 0.01

1145 A fertilidade foi maior durante estação fria, aos 31d: 40,2% (338/859) vs. 33,8%
 1146 (230/693), $P < 0,01$, aos 62d: 35,0% (296/859) vs. 29,0%, $P = 0,01$, e aos 120d: 32,8%
 1147 (278/859) vs. 26,9% (184/693), $P = 0,01$, respectivamente (tabela 6). O que está de acordo com
 1148 demonstrado por Pereira et. al., 2013, onde animais que apresentaram mais eventos de
 1149 temperatura acima de 39,1°C apresentaram pior fertilidade, nenhum evento com temperatura
 1150 acima 39,1°C – P/IA: 37%, um evento – P/IA: 25% e dois ou mais eventos P/IA: 17%. Em
 1151 estudo recente, Pereira et. al., 2022, novamente foi observado que animais que não tiveram
 1152 nenhum evento com temperatura acima de 39,1°C tiveram melhor fertilidade que animais que
 1153 apresentaram dois eventos com temperatura mensurada acima de 39,1°C (33,9% (221/652) vs.
 1154 17,8% (120/674), respectivamente, mostrando claramente o efeito negativo do estresse
 1155 térmico na fertilidade.

1156 Quando comparada a eficiência reprodutiva entre as estações, observamos melhor
 1157 desempenho reprodutivo na estação fria e proporcionalmente uma redução de 15,9% na
 1158 fertilidade aos 31 dias, 17,1% aos 62 dias, 18,0% aos 120 dias e 12,1% ao parto quando
 1159 comparada com a estação quente. Vasconcelos et.al., 2018, também observaram uma redução
 1160 na eficiência reprodutiva de animais com temperatura superior a 39,1°C durante o protocolo
 1161 de IATF na prenhez aos 32 dias ($< 39,1^{\circ}\text{C} = 39,9\%$ vs. $> 39,1^{\circ}\text{C} = 28,6\%$, $P < 0,01$) e aos 60
 1162 dias ($< 39,1^{\circ}\text{C} = 34,1\%$ vs. $> 39,1^{\circ}\text{C} = 22,8\%$, $P < 0,01$).

1163

1164

1165

1166

1167

1168

1169 **Tabela 6** – Taxa de prenhez aos 31d, 62d, 120d, taxa de parição e perdas de gestação entre
1170 períodos 31-62d, 62-120d, 120-parto por estação (fria e quente).

1171

Item	Estação			
	Fria	Quente	SEM	P =
1173 DG d 31, %	40.2 (338/859)	33.8 (230/693)	1.7	< 0.01
1174 DG d62, %	35.0 (296/859)	29.0 (198/693)	1.6	0.01
1175 Perda d 31 a 62, %	12.9 (42/338)	13.6 (32/230)	2.0	0.82
1176 DG d120, %	32.8 (278/859)	26.9 (184/693)	1.6	0.01
1177 Perda d 62 120, %	6.48 (18/296)	6.95 (14/198)	2.0	0.87
1177 Parto, %	28.1 (238/859)	24.7 (168/693)	1.5	0.13
1178 Perda d 120 até parto, %	14.8 (40/278)	8.28 (16/184)	2.3	0.06
1178 Perda total, %	30.1 (100/338)	25.9 (62/230)	2.6	0.26

1179

1180 Não houve interação entre paridade e estação ($P > 0,05$), e As perdas de gestação foram
1181 iguais em todos os períodos avaliados, d31-d62: 12,9% (42/338) vs. 13,6% (32/230), d62-
1182 d120: 6,48% (18/296) vs. 6,95% (14/198), d120-parto: 14,8% (40/278) vs. 8,28% (16/184),
1183 $P > 0,05$ (tabela 6).

1184 Foram avaliadas características de produção e fisiológicas dos animais de acordo com o
1185 diagnóstico de gestação (prenha vs. não prena). De forma que os animais prenhes
1186 apresentaram melhor escore de condição corporal, Prenhe: 3,07 vs. não prena: 3,04, $P < 0,01$
1187 (tabela 7).

1188 Animais prenhes tiveram maior expressão de cio durante o protocolo que os animais
1189 não prenhes, $P < 0,01$, demonstrando a importância da expressão de cio ao protocolo de IATF.
1190 Davoodi et al., 2016, verificaram melhora no ambiente uterino para desenvolvimento do
1191 embrião em animais que expressaram estro, associado a secreção de glicoproteínas ovidutais
1192 (Buhih, 2002) e nutrientes endometriais, fatores que contribuem para o melhor crescimento
1193 inicial do concepto (Gray et. al., 2001). Pereira et.al., (2016), ao avaliarem a importância da
1194 expressão do estro em protocolos de IATF e TETF observaram que a expressão do cio foi
1195 associada ao aumento de fertilidade e redução na perda de prenhez, sugerindo que o ambiente
1196 hormonal que leva a uma não expressão do estro, também produz alterações uterinas que
1197 diminuem a probabilidade de manutenção da gestação durante o período crítico entre primeiro
1198 e segundo mês de gestação. Vasconcelos et. al., 2018, reportaram que a expressão de estro
1199 melhorou a sincronização ao protocolo (97,4% [489/501] vs. 81% [202/248]; $P < 0,01$), as
1200 concentrações de P4 no dia 7 ($3,22 \pm 0,16$ vs. $2,77 \pm 0,17$ ng/ml; $P < 0,01$), P/IA aos 32 dias
1201 (51,2% [252/489] vs. 39,4% [81/202]; $P < 0,01$), P/IA aos 60 dias (46,3% [230/489] vs.

1202 31,1% [66/202]; $P < 0,01$), e diminuiu as perdas de gestação (9,3% [22/252] vs. 19,8%
1203 [15/81]; $P < 0,01$), em comparação com vacas não detectadas em estro.

1204 Animais prenhes tiveram concentração de PAGs no d24 sempre superior aos animais
1205 não prenhes e/ou animais que perderam a gestação, $P \leq 0,01$ (tabela 7). O mesmo foi
1206 encontrado por Pohler et al. (2013) os quais indicaram que as concentrações de PAG entre os
1207 dias 28 e 31 de gestação têm o potencial de serem fortes preditores de sucesso embrionário
1208 tardio em bovinos de corte e leiteiro. Em vacas em lactação, o aumento das concentrações
1209 circulantes de PAGs no dia 31 teve maior probabilidade de sucesso na gravidez, enquanto as
1210 vacas com concentrações reduzidas de PAGs tiveram maior probabilidade de mortalidade
1211 embrionária entre os dias 31 e 60 (Pohler et. al.,2016). Em estudo recente, Yang et. al.,2024,
1212 utilizaram vacas holandesas prenhes que foram submetidas à inseminação artificial no dia 0 e
1213 tiveram embrião viável na 6ª semana de gestação, para coleta de amostras de leite e
1214 mensuração da concentração de PAG no leite como preditor de sucesso da gestação até a 40ª
1215 semana. Observaram que vacas primíparas ($n = 5.624$) apresentaram valores de PAG de leite
1216 significativamente maiores ($P < 0,05$) na 6ª semana do que vacas múltíparas ($n = 4.243$) e que
1217 vacas que sofreram perda fetal ($n = 1.790$) entre a 7ª e a 40ª semanas exibiram valores mais
1218 baixos ($P < 0,05$) de PAG no leite na 6ª semana do que vacas que mantiveram a gestação ($n =$
1219 8.077) até a 40ª semana. No nosso estudo, a concentração de PAG nos momentos avaliados
1220 não diferiu entre vacas primíparas e múltíparas.

1221 Houve uma tendência de animais prenhes aos 120 dias terem apresentado no d24
1222 concentrações de haptoglobina menores comparado aos animais não prenhes, prenhes – 0,261
1223 ng/ml vs. não prenhes - 0,357 ng/ml, $P=0,04$ (tabela 7).

1224 Foi realizada a avaliação de características de produção e fisiológicas dos animais de
1225 acordo com a perda de gestação (perdeu vs. não perdeu). Para essa avaliação foram
1226 considerados todos os animais prenhes aos 31 dias e avaliadas as perdas de gestação por
1227 período avaliado no estudo. Dessa maneira, os animais que perderam a gestação do d31 até o
1228 parto, tinham menor concentração de PAGs no d31 que os animais que não perderam, 4,33
1229 ng/ml vs. 5,69 ng/ml, $P < 0,01$ (tabela 8). De acordo com Pohler et. al., (2013) foi verificado
1230 que vacas que não mantiveram a prenhez até o dia 70 da gestação, tenderam a ter uma
1231 diminuição na concentração de PAGs, sugerindo uma inadequada função placentária.
1232 Sugeriram que PAGs no d28 pode ser usado para diagnosticar e prever a sobrevivência
1233 embrionária ou fetal até pelo menos o dia 72 da gestação.

1234

1235 **Tabela 7** – Média de ECC, produção de leite, expressão de cio, concentração de haptoglobina
 1236 no d24 e concentração de PAGs no d24 de acordo com status de prenhez (vazia ou prenha) no
 1237 DG31, DG62, DG120 e parto.

Item	Vazia	Prenha	SEM	P=
DG d 31	n = 984	n = 568	-	-
ECC d -11	3.04	3.07	0.01	< 0.01
Leite d -11, kg/d	37.4	37.1	0.3	0.60
Cio d 0, %	82.7 (767/926)	95.5 (507/531)	1.2	< 0.01
Hapto d 24, mg/mL	0.352	0.274	0.030	0.07
PAG d 24, ng/mL	0.630	1.180	0.136	< 0.01
DG d 62	n = 1058	n = 494	-	-
ECC d -11	3.05	3.08	0.01	< 0.01
Leite d -11, kg/d	37.4	37.1	0.4	0.55
Cio d 0, %	83.6 (883/996)	95.7 (441/461)	1.3	< 0.01
Hapto d 24, mg/mL	0.356	0.270	0.032	0.05
PAG d 24, ng/mL	0.653	1.221	0.140	< 0.01
DG d 120	n = 1090	n = 462	-	-
ECC d -11	3.05	3.08	0.01	< 0.01
Leite d -11, kg/d	37.4	37.2	0.4	0.62
Cio d 0, %	83.7 (860/1026)	96.4 (414/431)	1.3	< 0.01
Hapto d 24, mg/mL	0.357	0.261	0.032	0.04
PAG d 24, ng/mL	0.673	1.208	0.136	< 0.01
Parto	n = 1146	n = 406	-	-
ECC d -11	3.05	3.08	0.01	< 0.01
Leite d -11, kg/d	37.4	37.3	0.4	0.85
Cio d 0, %	84.0 (904/1073)	97.0 (370/384)	1.3	< 0.01
Hapto d 24, mg/mL	0.351	0.266	0.033	0.08
PAG d 24, ng/mL	0.691	1.223	0.146	0.01

1258

1259

1260

1261

1262

1263

1264

1265

1266 **Tabela 8** - Média de ECC, leite, expressão de cio, concentração de haptoglobina no d24,
 1267 concentração de PAGs no d24, haptoglobina no d31 de acordo com status de perda de
 1268 gestação (não perdeu ou perdeu) entre os períodos d31-d62, d62-d120, d120-parto e d31-
 1269 parto.

	Não perderam	Perderam	SEM	P=
Perda d 31 a 60	n = 494	n = 74	-	-
Cio d -11, %	95.4 (441/461)	94.7 (66/70)	1.8	0.78
Hapto d 24, mg/mL	0.271	0.414	0.048	0.05
PAG d 24, ng/mL	1.227	0.873	0.153	0.14
Hapto d 31, mg/mL	0.227	0.178	0.033	0.35
Perda d 60 a 120	n = 462	n = 32	-	-
Cio d -11, %	96.0 (414/431)	88.0 (27/30)	2.3	0.03
Hapto d 24, mg/mL	0.262	0.396	0.057	0.15
PAG d 24, ng/mL	1.22	1.20	0.21	0.96
Hapto d 31, mg/mL	0.221	0.297	0.045	0.32
Perda d 120 ao parto	n = 406	n = 56	-	-
Cio d -11, %	96.5 (370/384)	88.8 (44/47)	2.1	0.02
Hapto d 24, mg/mL	0.264	0.223	0.054	0.63
PAG d 24, ng/mL	1.24	0.985	0.197	0.42
Hapto d 31, mg/mL	0.221	0.254	0.42	0.63
Perda total (d 31 ao parto)	n = 406	n = 162	-	-
Cio d -11, %	96.6 (370/384)	92.1 (137/147)	1.4	0.04
Hapto d 24, mg/mL	0.267	0.347	0.039	0.17
PAG d 24, ng/mL	1.24	1.00	0.124	0.19
Hapto d 31, mg/mL	0.221	0.233	0.026	0.75

1270

1271

1272

1273

1274

1275

1276

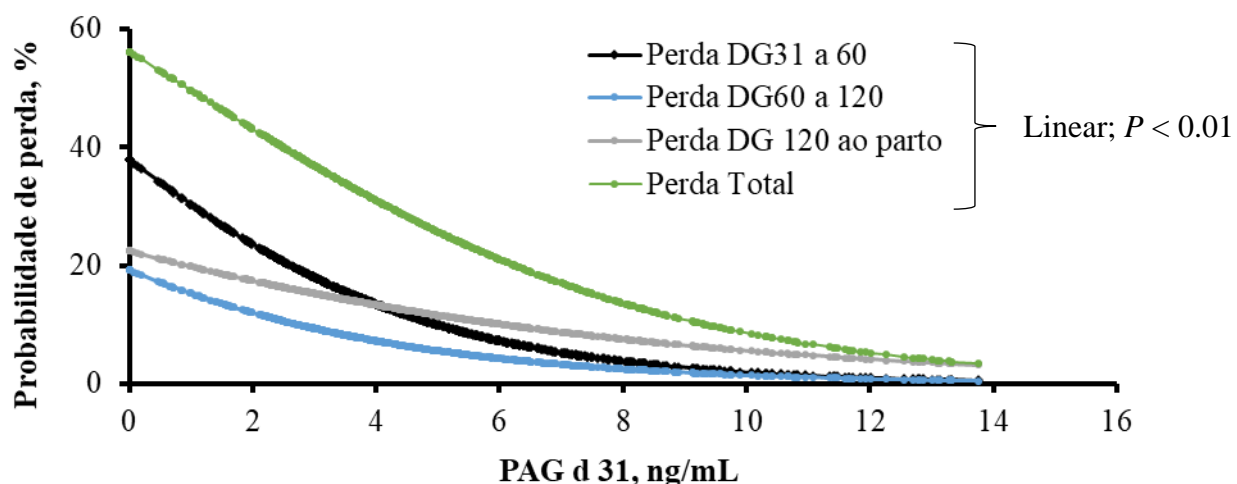
1277 Foi encontrada uma tendência da expressão de cio ter efeito positivo na manutenção da
 1278 gestação até o parto, de forma que animais que perderam a gestação tiveram menor expressão
 1279 de cio que os animais que tiveram sucesso na gestação até o parto.

1280 Fator interessante em nosso estudo foi a probabilidade de perda de gestação de acordo com
 1281 a concentração de PAGs no d31, de forma que a concentração de PAGs pode ser utilizada
 1282 como preditor de sucesso da manutenção da gestação até o parto (figura 1). Atualizando o que
 1283 havia na literatura descrito por Pohler et. al., 2013 até os 72 dias.

1284

1285 **Figura 1** - Probabilidade de perda gestação (d 31 até parto) de acordo com PAGs no dia 31.

1286



1287

1288

1289

1290 4. Conclusões

1291 A concentração de PAGs no d31 pode ser utilizada como preditor de sucesso da
 1292 manutenção da gestação do d31 até o parto.

1293 A expressão de estro no protocolo de IATF é fator preditor de melhor fertilidade e
 1294 menor perda de gestação até o parto.

1295 A concentração de haptoglobina nos momentos avaliados não pode ser utilizada como
 1296 fator preditor de fertilidade ou sucesso na gestação.

1297

1298

1299 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1300 BROMFIELD JJ, SANTOS JEP, BLOCK J, WILLIAMS RS, SHELDON IM. **Physiology**
1301 **and endocrinology symposium: Uterine infection: Linking infection and innate**
1302 **immunity with infertility in the high-producing dairy cow.** J Anim Sci 2015;93:2021-33.
- 1303 CARVALHO, M. R., F. PEÑAGARICANO, J. E. P. SANTOS, T. DEVRIES, B.
1304 MCBRIDE, AND E. S. RIBEIRO. 2019. **Long-term impact of clinical disease postpartum**
1305 **on milk production, reproduction, and culling of dairy cows.** J. Dairy Sci. 102:11701–
1306 11717. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17025>.
- 1307 CARVALHO, P. D., V. G. SANTOS, J. O. GIORDANO, M. C. WILTBANK, AND P. M.
1308 FRICKE. 2018. **Development of fertility programs to achieve high 21-day pregnancy**
1309 **rates in high-producing dairy cows.** Theriogenology 114:165–172. [https://](https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.03.037)
1310 doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.03.037
- 1311 COOKE, R. F., AND J. D. ARTHINGTON. 2013. **Concentrations of haptoglobin in**
1312 **bovine plasma determined by ELISA or a colorimetric method based on peroxidase**
1313 **activity.** J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. 97:531–536. doi:10.1111/j.1439-0396.2012.01298.x
- 1314 FASS. 1999. **Guide for the care and use of agricultural animals in agricultural**
1315 **research and teaching.** Consortium for Developing a Guide for the Care and Use of
1316 Agricultural Animals in Agricultural Research, and Teaching.
- 1317 FRICKE, P. M., M. C. WILTBANK, AND J. R. PURSLEY. 2022. **The high fertility**
1318 **cycle.** JDS Commun. 4:127–131. <https://doi.org/10.3168/jdsc.2022-0280>.
- 1319 GREEN JA, PARKS TE, AVALLE MP, TELUGU BP, MCLAIN AL, PETERSON AJ,
1320 ET AL. **The establishment of an ELISA for the detection of pregnancy-associated**
1321 **glycoproteins (PAGs) in the serum of pregnant cows and heifers.** Theriogenology
1322 2005;63:1481e503.
- 1323 POHLER, K.G, PERES, R.F.G, GREEN, J.A, GRAFF, H, MARTINS, T,
1324 VASCONCELOS, J.L.M. **Use of bovine pregnancy-associated glycoproteins to predict**
1325 **late embryonic mortality in postpartum Nelore beef cows.** Theriogenology 2016; 85:
1326 1652–9. 353.
- 1327 RIBEIRO, E. S., G. GOMES, L. F. GRECO, R. L. A. CERRI, A. VIEIRA-NETO, P.
1328 L. J. MONTEIRO JR., F. S. LIMA, R. S. BISINOTTO, W. W. THATCHER, AND J. E. P.
1329 SANTOS. 2016. **Carryover effect of postpartum inflammatory diseases on**
1330 **developmental biology and fertility in lactating dairy cows.** J. Dairy Sci. 99:2201–2220.
1331 <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10337>.

- 1332 WILDMAN, E. E., G. M. JONES, P. E. WAGNER, R. L. BOMAN, H. F. TROUTT,
1333 AND T. N. LESCH. 1982. **A dairy cow body condition scoring system and its relationship**
1334 **to selected production characteristics.** J. Dairy Sci. 65:495–501
- 1335 YANG, M. K., YEH, R. H., LEE, C. J., YEH, Y. H., CHEN, Y. H., BANHAZI. T.,
1336 TUA, P.A. **Pregnancy maintenance and fetal loss assessment in Holstein cows through**
1337 **analyzing pregnancy-associated glycoproteins in milk.** Theriogenology 2024; 217:11-17.
- 1338 YOUNG C, SCHRICK F, POHLER K, SAXTON A, DI CROCE F, ROPER D,
1339 WILKERSON J, EDWARDS J. **A reproductive tract scoring system to manage fertility in**
1340 **lactating dairy cows.** J Dairy Sci. 2017;100(7):5922-7. [http://dx.doi.org/10.3168/jds.2016-](http://dx.doi.org/10.3168/jds.2016-12288)
1341 [12288.](http://dx.doi.org/10.3168/jds.2016-12288) PMid:28478009
- 1342

**CAPÍTULO 3 – Preditores de sucesso da manutenção da gestação do dia
31 até o parto de vacas Holandesas em lactação.**

O artigo a seguir está redigido de acordo com as exigências para publicação no periódico *Animal Reproduction Science*, excetuando-se o idioma.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32

1. Introdução

Nas últimas décadas buscou-se um grande aumento de produtividade dos animais na indústria leiteira com melhorias no desempenho reprodutivo de vacas em lactação. O desenvolvimento de programas de fertilidade e sua adoção pelos produtores e técnicos foi um importante fator impulsionador dessa evolução reprodutiva (Carvalho et al., 2018; Fricke e Wiltbank, 2022), fator de grande importância e determinante da lucratividade dos rebanhos leiteiros por conta de sua ligação direta com o ciclo ideal de produção de leite e descarte de fêmeas.

O escore de condição corporal é uma ferramenta de manejo simples e utilizada há muito tempo para avaliar os estoques de gordura corporal de vacas leiteiras da raça Holandesa (Ferguson et al., 1994). Barletta et al. (2017) observaram uma associação entre a mudança do ECC durante o período de transição com alguns marcadores de saúde do rebanho. Por exemplo, animais que ganharam ECC durante o período de transição (21 dias antes parto a 21 pós parto), tiveram menor concentração circulante de ácido graxo não esterificado (AGNE) e beta-hidroxibutirato (BHBA) pós parto, menos problemas de saúde (retenção de placenta, mastite, cetose, pneumonia), retorno mais rápido a ciclicidade e maior fertilidade. Em outro estudo, Middleton et al. (2019) relataram maior P/IA no primeiro serviço de vacas que mantiveram ou ganharam ECC comparado com vacas que perderam ECC nos primeiros 30 dias em lactação. Esses autores também avaliaram as perdas de gestação e vacas que perderam condição corporal durante os primeiros 30 DEL tiveram maior perda de gestação entre 35 e 60 dias após a primeira IA em comparação com vacas que mantiveram ou ganharam condição corporal durante esse período.

Recentemente, Frickie et al. (2023) verificaram que podemos definir claramente uma relação em que os rebanhos que conseguem emprenhar suas vacas mais rápido após o PEV tendem a ter vacas parindo com ECC mais baixo, e isso, por sua vez, faz com que um maior número de animais mantenham ou ganhem ECC pós parto, resultando em uma maior fertilidade quando comparado às vacas que perdem ECC. Chamado de ciclo da alta fertilidade, esse processo juntamente com adoção de melhores programas reprodutivos pode explicar grande parte da variação no desempenho reprodutivo entre rebanhos leiteiros. Estratégias tem sido utilizadas com objetivo de evitar vacas com elevado ECC no parto, e uma delas é a implementação de manejo reprodutivo intensivo, maximizando a proporção de

1 vacas prenhes no rebanho até 130 dias em lactação para que a mesma não ganhe tanto ECC
2 até o parto. (Middleton et al., 2019).

3 O evento do parto e início da lactação de vacas leiteiras é um momento de extrema
4 importância pois podem ter certas ocorrências que impactam a vida reprodutiva futura das
5 fêmeas. O parto causa trauma e, com isso, um aumento na ocorrência de eventos inflamatórios
6 (Bradford et al., 2015), aumentando o risco de ocorrência de doenças uterinas (Vieira-Neto et
7 al., 2016). Durante os 60 primeiros dias de lactação, cerca de 30-45% das vacas apresentam
8 algum tipo de doença clínica, sendo que a maioria dessas doenças pós-parto estão associadas
9 com redução de fertilidade (Santos et al., 2010; Ribeiro et al., 2016; Carvalho et al., 2019).

10 Edelhoff et al. (2020) realizaram um estudo para verificar a incidência de doenças
11 uterinas e não uterinas nos primeiros 60 dias pós parto em vacas leiteiras Girolando e
12 associaram essas doenças com a fertilidade em vacas que foram submetidas a transferência de
13 embrião em tempo fixo (TETF). Nesse estudo, 63,3% das vacas apresentaram doenças
14 uterinas (endometrite subclínica, endometrite clínica, metrite e retenção de placenta) e 20,6%
15 apresentaram doenças não uterinas (claudicação, mastite, pneumonia e deslocamento de
16 abomaso). A manutenção da gestação do dia da TE até o dia 59 foi reduzida em vacas leiteiras
17 que tiveram doenças uterinas (25,4%) vs. vacas que não apresentaram (41,7%). Ao incluir
18 todos os serviços de TE, as doenças uterinas também impactaram os resultados (36,2% vs.
19 46,4%). As doenças não uterinas também podem ser associadas a menor manutenção da
20 gestação, como observado nos animais submetidos a segunda TE, com doenças não uterinas
21 (25,9%) vs. sem doenças não uterinas (39,0%).

22 A alteração de ECC desde o pré parto, o evento do parto e a elevada incidência de
23 doenças pós parto, desencadeiam processo inflamatório, diretamente ou indiretamente, local
24 ou sistêmico causados por infecção ou por estresse e estão relacionados a saúde do animal.
25 Toda essa alteração na homeostase do animal, pode levar a alterações hormonais, provocando
26 a ativação do eixo hipotalâmico hipofisário adrenal. Inicialmente o estresse provocará um
27 estímulo nervoso que chega ao cérebro, no hipotálamo, provocando a liberação do hormônio
28 liberador de corticotrofina (CRH), que irá atuar sobre a adenohipófise estimulando a produção
29 e secreção do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) que irá através da circulação sanguínea
30 até o córtex da adrenal estimular a secreção de glicocorticoides, principalmente cortisol,
31 elevando sua concentração circulante (Jurueña et al., 2004). O cortisol produzido na glândula
32 adrenal é o mais importante sistema neuroendócrino de resposta ao estresse, agindo no eixo
33 hipotálamo hipófise, resultando em supressão da liberação do hormônio gonadotrófico

1 (GnRH), diminuindo/inibindo a liberação de LH e FSH. Essa alteração na liberação de LH e
2 FSH tem efeitos diretos no sistema reprodutivo do animal, como, por exemplo, alterando o
3 crescimento folicular, produção de estradiol, expressão de cio, ovulação e produção de
4 progesterona pelo corpo lúteo, que pode impactar o reconhecimento materno e manutenção da
5 gestação. (Rensis, R. e Scaramuzzi, 2003; Kadokawa; Sakatani; Hansen, 2012; De rensis;
6 Garcia-Isperto; Lópezgatiús, 2015; Megahed, et al., 2008).

7 Cooke e Bohnert (2011), foram os primeiros a realizar um estudo avaliando os efeitos
8 do CRH sob as concentrações de citocinas pró-inflamatórias e proteínas da fase aguda em
9 bovinos. Esses autores demonstraram que a infusão de CRH gerou um conseqüente aumento
10 das concentrações plasmáticas de cortisol e desencadeou, uma resposta pró-inflamatória de
11 citocinas. Após a síntese e liberação na circulação, as citocinas pró-inflamatórias provocam
12 duas principais respostas de fase aguda: 1) aumento da temperatura corporal (por alteração do
13 ponto de ajuste de temperatura no hipotálamo) e regulação da resposta febril pela estimulação
14 da síntese de prostaglandina E2 com objetivo de destruir bactérias e microorganismos no
15 hospedeiro e acelerar a proliferação de células imunes, e 2) alteração do metabolismo
16 hepático e regulação gênica, favorecendo a síntese hepática das proteínas de fase aguda
17 (Carroll e Forsberg, 2007). Foi encontrado efeito de aumento da temperatura, aumento nas
18 concentrações de ceruloplasmina e haptoglobina. Pode se verificar que tanto alterações
19 hormonais como imunológicas são geradas em decorrência de estímulos estressantes,
20 independentemente se for patogênico ou não, e que as alterações podem ocorrer inicialmente
21 de maneira individualizada ou de maneira mútua.

22 Com intenção de monitorar e avaliar os níveis de estresse e saúde nos animais, novas
23 técnicas estão sendo utilizadas. Uma delas com alto potencial de uso em diferentes segmentos
24 da cadeia produtiva pecuária brasileira, é a mensuração da haptoglobina. A haptoglobina é
25 uma proteína utilizada como um bioindicador de saúde animal na bovinocultura de leite e
26 corte, a qual desempenha importante papel fisiológico e imuno-regulador em processos
27 infecciosos e inflamatórios (Arredouani et. al., 2005). A haptoglobina é definida como uma
28 glicoproteína, que faz parte do grupo das alfa-2- globulinas e tem diferentes formas entre as
29 espécies de mamíferos. Quando se dá início a um processo inflamatório, infeccioso ou
30 estressante, tal fato faz com que as células de defesa (macrófagos, linfócitos e monócitos)
31 iniciem a secreção de citocinas pró inflamatórias: fator de necrose tumoral alfa (TNF- α),
32 interleucina 1 (IL-1) e interleucina 6 (IL-6) que, por sua vez, estimulam o fígado a sintetizar
33 proteínas de fase aguda como a haptoglobina. As concentrações séricas de haptoglobina

1 atingem o pico 24 a 72 h após um estresse agudo em bovinos (Arthington et al., 2008; Cooke
2 e Bohnert, 2011). Esse aumento da concentração no animal traz efeitos comprometedores a
3 sua produtividade, pode estar relacionado a doenças uterinas em vacas de leite e trazer efeitos
4 negativos na qualidade do folículo, oócito, embrião inicial, desenvolvimento do concepto e
5 diminuição da prenhez (Ribeiro et. al, 2016) indicando e apoiando dados anteriores que
6 relatam que a resposta de fase aguda é prejudicial à função reprodutiva das fêmeas (Peter et
7 al., 1989; Battaglia et al., 2000; Williams et al., 2001). As doenças inflamatórias prevalentes
8 no período pós-parto inicial têm impactos duradouros na manutenção da gestação em vacas
9 leiteiras e o aumento da concentração de haptoglobina pode ser um indicativo de melhor ou
10 pior manutenção da gestação, assim como as glicoproteínas associadas a gestação (PAGS).

11 As PAGs são secretadas pela placenta de ruminantes (Wallace et. al.,2015) e têm sido
12 usadas para diagnosticar a gestação em bovinos (Sasser et al., 1986; Zoli et al., 1992; Green et
13 al., 2005) podendo servir como um marcador da função placentária (Perry et al., 2005;
14 Breukelman et al., 2012; Pohler et al., 2013) e utilizadas para monitorar a viabilidade fetal e
15 prever perdas embrionárias em bovinos de leite e corte. O primeiro aumento significativo de
16 PAGs na circulação materna pode ser identificado entre os dias 22 e 24 de gestação (Arnold et
17 al., 2012; Pohler et al., 2013); no entanto, os papéis fisiológicos das PAGs permanecem
18 obscuros. Já foram levantadas algumas hipóteses de que possam ajudar a processar fatores de
19 crescimento na interface placenta-uterina, desempenhar papel na adesão entre o útero e a
20 placenta ou atuar como um fator de controle da modulação imunológica materna (Austin et
21 al., 1999; Hoeben et al., 1999; Wallace et al., 2015). Vários fatores demonstraram influenciar
22 a concentração circulante de PAGs, incluindo paridade, dias pós-parto, resposta ao estro,
23 touro e viabilidade embrionária (Pohler et al., 2016b; Franco et al., 2018).

24 O objetivo desse estudo foi avaliar as concentrações de haptoglobina e PAGs durante o
25 período inicial da gestação (d24 e d31) e demais fatores que possam interferir na manutenção
26 da gestação até o parto de vacas Holandesas em lactação.

27

28 **2. Materiais e métodos**

29 Todos os animais utilizados no presente estudo foram tratados de acordo com práticas
30 aceitáveis e protocolos experimentais revisados e aprovados pela Universidade Estadual
31 Paulista (UNESP) – Comitê de Ética no Uso de Animais (0037/2021). Há uma representação
32 do delineamento experimental na Figura 2. Todos animais foram vacinados contra as

1 principais doenças reprodutivas (IBR, BVD, Leptospirose) de acordo com calendário sanitário
2 definido pela propriedade.

3 Este estudo foi conduzido em fazendas comerciais nos municípios de Itatiba – São
4 Paulo, Tapiratiba – São Paulo e São Gotardo – Minas Gerais. Vacas de leite Holandesas não
5 gestantes e lactantes foram designadas para o estudo. Os animais utilizados foram submetidos
6 ao protocolo de sincronização da ovulação para IATF: d-11, 2mg de benzoato de estradiol
7 (BE) i.m (Gonadiol®, Zoetis, SP, Brasil) + 100 mg diacetatotetraidratado de gonadorelina
8 (GnRH) i.m (Cystorelin®, Merial, SP, Brasil) administrados concomitante à inserção do
9 dispositivo intravaginal de 1,9 mg de P4 (CIDR®, Zoetis, SP, Brasil); No d-4, administração
10 de 25 mg de dinoprost (PGF) i.m (Lutalyse®, Zoetis, SP, Brasil); No d-2, 25 mg de dinoprost
11 i.m (Lutalyse®, Zoetis, SP, Brasil) + 1,0 mg cipionato de estradiol (ECP) i.m (ECP, Zoetis,
12 SP, Brasil) + remoção do implante (CIDR); no d0 IATF. O escore de condição corporal dos
13 animais foi avaliado no d-11 seguindo a escala de 1 (muito magra) a 5 (muito gorda)
14 (WILDMAN et al., 1982), assim como a coleta das informações de número de inseminações,
15 produção de leite e DEL. A expressão de cio foi avaliada através de adesivo EstroTECT® após a
16 remoção do CIDR® no dia -2 na base da cauda e leitura da ativação do adesivo marcador de
17 estro no momento da IATF. Os animais foram inseminados com sêmen de touros comerciais
18 da raça Holandesa.

19 O status de prenhez foi avaliado pela presença de embrião/feto nos dias 31, 62 e 120
20 através de ultrassonografia com aparelho Mindray DP10 com probe retal 7,5hz. O parto foi
21 considerado com 280 ± 15 dias e as perdas de gestação foram calculadas dividindo o número
22 de vacas que perderam gestação pelo número de vacas prenhes no período.

23

24

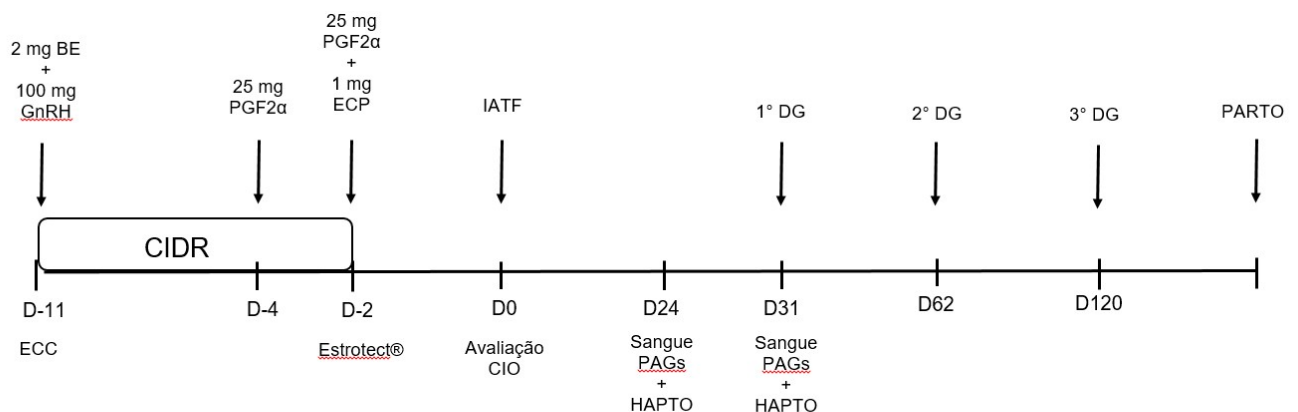


Figura 2 – Diagrama do delineamento experimental:

- Protocolo para sincronização da ovulação – D-11: inserção de dispositivo intravaginal (CIDR) de P4, aplicação de 2 mg de benzoato de estradiol (BE) e 100 mg de diacetatotetraidratado de gonadorelina (GnRH); D-4: administração de 25 mg de dinoprost trometamina (PGF2α); D-2: retirada do dispositivo intravaginal, administração de 25 mg de dinoprost trometamina e 1 mg de cipionato de estradiol; D0: Inseminação Artificial em Tempo Fixo; D31: Primeiro Diagnóstico de Gestação (DG); D62: Segundo Diagnóstico de Gestação; D120: Terceiro Diagnóstico de Gestação; Parto.
- Coleta de dados- D-11: ECC: avaliação visual do Escore de Condição Corporal (ECC); D-2: Colagem adesivo EstroTECT®; D0: Avaliação expressão CIO através de leitura do adesivo; D24: colheita de sangue de todos animais para dosagem PAGs + Haptoglobina; D31: Diagnóstico de Gestação (1°DG) + colheita de sangue dos animais prenhes; D62: 2° DG; D120: 3°DG; PARTO: avaliação de partição (SIM ou NÃO).

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32

As amostras de sangue foram coletadas de 100% dos animais no d24 e somente dos animais prenhes no d31, através de punção venosa coccígea em tubos comerciais de coleta de sangue a vácuo com ativador de coágulo de 10 mL (Vacuplast, CRAL artigos para laboratório LTDA, SP, Brasil). Após coleta, os tubos foram colocados no gelo imediatamente, mantidos a 4° C por 12 h e centrifugados a 1.500 g por 15 min à temperatura ambiente (20 - 25°C) para coleta de plasma. O plasma foi armazenado a -20° C para posterior análise de PAGs e Haptoglobina.

As concentrações circulantes de PAGs no plasma foram determinadas por um PAG ELISA, conforme descrito por Green et al., (2005) e usado no estudo de Pohler et al. (2016a). O ensaio incluía o anticorpo poli clonal (PAG 45) que detectou alterações nas concentrações circulantes maternas de PAGs associadas à mortalidade embrionária tardia. Cada ensaio de PAG incluía uma curva padrão, uma amostra combinada de vacas prenhes no dia 60 da gestação e uma amostra combinada de vacas não gestantes e a sensibilidade do ensaio foi de 0,28 ng / mL de PAG.

As concentrações séricas de haptoglobina foram determinadas de acordo com o procedimento colorimétrico descrito por Cooke e Arthington (2013). O CV intra e inter-ensaio foi de 3,27% e 2,5% para haptoglobina sérica, respectivamente.

3. Resultados e Discussão

O ECC médio dos animais trabalhados foi de 3.06, com produção de leite de 36,8 kg/dia e 105 de DEL. A expressão de cio ao protocolo de IATF foi de 87,4% (1274/1457) e haptoglobina média no d24 de 0.332 ng/ml.

O resultado de prenhez médio dos animais trabalhados foi de 36,6% (568/1552) no d31, 31,8% (494/1552) no d62, 29,8% (462/1552) no d120, com taxa de parição de 26,2% (406/1552). As perdas de gestação média por período avaliado foram: d31-d62 – 13,0% (74/568), d62-d120 – 6,5% (32/494) e d120 ao parto – 12,1% (56/462).

Albaaj et. al., 2022, avaliaram as perdas de gestação (embrionária e fetal) em momentos diferentes e reportaram, 27% de perdas embrionárias do dia 19 a 32, 13% - entre 30 a 45 dias, 7% - entre 45 a 60 dias e 2% - entre 60 e 90 dias. Nosso estudo teve a avaliação e acompanhamento da gestação até o parto.

1 Primíparas tiveram maior fertilidade que multíparas no d31, d62 e d120, assim como
2 maior taxa de parição ($P<0,05$), (figura 1). Assim como menores perdas de gestação entre
3 d31-d62, entre 120-parto e perdas totais do d31 ao parto ($P<0,05$), (figura 2). A maior
4 fertilidade de primíparas vem sendo demonstrada ao longo dos últimos anos pelo grupo
5 GERAR – ZOETIS. Em 2023, a média de prenhez aos 32 dias nas primíparas foi de 39,9%
6 (18.257/45.757) vs. multíparas 34,8% (27.240/78.276).

7 Animais que mantiveram a gestação até o parto tiveram maior expressão de cio
8 comparado aos animais que perderam a gestação ou não emprenharam, assim como maior
9 concentração de PAGs no d24 ($P<0,05$), porém, não foi observado diferença na concentração
10 de haptoglobina também no d24 ($P>0,05$), (tabela 1). A importância da expressão de cio já foi
11 demonstrada em estudos anteriores onde animais com cio tiveram uma grande redução nas
12 perdas de gestação comparado com animais sem cio (Galvão et al., 2004; Pereira et al., 2014).
13 Seguindo essa lógica de raciocínio, vacas que expressam cio, tem um folículo dominante
14 maior (Cooke et. al., 2019), conseqüentemente maior produção de P4 pelo CL após a IATF
15 (Cooke et. al., 2019; Vasconcelos et. al., 2001) e maior produção de PAGs no dia 28 da
16 gestação (Pohler et. al., 2016). O estradiol produzido pelo folículo pré-ovulatório, está
17 associado a mudanças na estrutura e função do trato reprodutivo (área endometrial, expressão
18 gênica uterina, histotrófico uterino), sendo fatores favoráveis ao estabelecimento da prenhez e
19 manutenção da gestação em bovinos (Motta et. al., 2020 e Bartol et. al., 1981).

20 Os animais que perderam a gestação apresentaram menor concentração de PAGs no d31
21 ($P<0,01$). Uma tendência de menor concentração no d62 ($P=0,04$) e efeito da concentração de
22 PAGs na manutenção da gestação do d31 até o parto ($P<0,01$), (tabela 2).

23 Pohler et. al., (2013) verificaram que vacas que não mantiveram a prenhez até o dia 70
24 da gestação, tenderam a ter uma diminuição na concentração de PAGs, sugerindo uma
25 inadequada função placentária. Sugeriram que PAGs no d28 pode ser usado para diagnosticar
26 e prever a sobrevivência embrionária ou fetal até pelo menos o dia 72 da gestação. Já em
27 nosso estudo de maneira inédita, a mensuração das PAGs no d31 pode ser utilizada como
28 preditor de sucesso da gestação do d31 até o parto (tabela 2). Em pesquisa recente, Yang
29 et.al., 2024, avaliaram a concentração de PAG no leite de vacas prenhas na 6° semana de
30 gestação com objetivo de prever o sucesso da gestação até a 40° semana de gestação.
31 Observaram que primíparas tiveram maior concentração de PAG que multíparas ($P<0,05$) e
32 vacas que sofreram perda de gestação entre a 7° e 40° semana, apresentaram valores mais
33 baixos de PAG na 6° semana comparado com as que mantiveram a gestação ($P < 0,05$).

1 Assim como nosso estudo, com menor concentração de PAGs nos animais que perderam a
2 gestação.

3 A haptoglobina é um importante marcador e sinalizador de reações inflamatórias e/ou
4 estresse. A elevação das concentrações de haptoglobina foi largamente associada a incidência
5 de doenças principalmente no pós parto (Edelhoff et. al.,2020, Huzzey et. al.,2009), o que tem
6 impacto direto na queda da produção de leite, reprodução e taxa de descarte da propriedade.
7 Porém, ao mensurar suas concentrações no d24 e d31 pós IATF como feito no estudo, não
8 houve interferência na fertilidade e manutenção da gestação.

9

10 **4. Conclusão**

11 Esse experimento mostrou que as perdas de gestação em vacas holandesas em lactação
12 totalizaram 28,5% do d31 até o parto. Primíparas tem maior fertilidade e menores perdas de
13 gestação.

14 As PAGs no d31 podem ser utilizadas como preditor de manutenção da gestação até o
15 parto e a expressão de cio durante o protocolo de IATF é fator importante para manutenção da
16 gestação. Ao contrário da nossa hipótese, a haptoglobina nos momentos avaliados não teve
17 relação com a fertilidade e manutenção da gestação.

18

19 **Referências bibliográficas**

20 ABDALLA. H., ELGHAFGHUF. A., ELSOHABY. I., NASR. M. A. **Maternal and**
21 **non-maternal factors associated with late embryonic and early fetal losses in dairy cows.**
22 *Theriogenology*, 100 (2017), pp. 16-23.

23 ABREU. F., GEARY. T, CRUPPE. L., MADSEN. C., JINKS. E., POHLER.
24 K., VASCONCELOS. J., DAY. M. **The effect of follicle age on pregnancy rate in beef**
25 **cows.** *J. Anim. Sci.*, 92 (2014), pp. 1015-1021.

26 AHMAD. N., SCHRICK. F., BUTCHER. R., INSKEEP. E. **Effect of persistent**
27 **follicles on early embryonic losses in beef cows.** *Biol. Reprod.*, 52 (1995), pp. 1129-1135.

28 BARTOL FF, THATCHER WW, LEWIS GS, BLISS EL, DROST M, BAZER FW.
29 **Effect of estradiol-17b on PGF and total protein content in bovine uterine flushings and**
30 **peripheral plasma concentration of 13, 14-dihydro-15-keto-PGF2a.** *Theriogenology*
31 1981;15:345e58. <https://doi.org/>

32 BERG DK, VAN LEEUWEN J, BEAUMONT S, BERG M, PFEFFER PL. **Embryo**
33 **loss in cattle between Days 7 and 16 of pregnancy.** *Theriogenology* 2010;73:250-60.

- 1 BRIDGES. G., KRUSE. S., FUNNELL. B., PERRY. G., GUNN, P., ARIAS.
2 R, LAKE., S. **Changes in body condition on oocyte quality and embryo survival.** Proc.
3 Appl. Reprod. Strategies Beef Cattle, 23 (2012), pp. 269-283.
- 4 BUTTLER, W. R. **Review: effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology**
5 **in dairy cattle.** Journal of Dairy Science, v. 81, p. 2533–2539, 1998.
- 6 CARTMILL, J.A., EL ZARKOUNY, S.Z., HENSLEY, B.A., LAMB, G.C.,
7 STEVENSON, J.S.,2001a. **Stage of cycle, incidence, and timing of ovulation, and**
8 **pregnancy rates in dairy cattle after three timed breeding protocols.** J. Dairy Sci. 84,
9 1051–1059.
- 10 CERRI, R.L., H.M. RUTIGLIANO, F.S. LIMA, D.B. ARAÚJO, AND J.E. SANTOS.
11 2009c. **Effect of source of supplemental selenium on uterine health and embryo quality**
12 **in high-producing dairy cows.** Theriogenology 71:1127-1137.
- 13 CERRI, R.L., H.M. RUTIGLIANO, R.C. CHEBEL, AND J.E.P. SANTOS. 2009b.
14 **Period of dominance of the ovulatory follicle influences embryo quality in lactating**
15 **dairy cows.** Reproduction 137:813-823.
- 16 CERRI, R.L., S.O. JUCHEM, R.C. CHEBEL, H.M. RUTIGLIANO, R.G. BRUNO,
17 K.N. GALVÃO, W.W. THATCHER, AND J.E. SANTOS. 2009a. **Effect of fat source**
18 **differing in fatty acid profile on metabolic parameters, fertilization, and embryo quality**
19 **in high-producing dairy cows.** J. Dairy Sci. 92:1520-1531.
- 20 CHEBEL, R.C., SANTOS, J.E.P., CERRI, R.L.A, GALVAO, K.N., JUCHEM, S.O.,
21 THATCHER, W.W.,2003. **Effect of resynchronization with GnRH on day 21 after**
22 **artificial insemination on pregnancy rate and pregnancy loss in lactating dairy cows.**
23 Theriogenology 60, 1389-1399
- 24 CHENG. Z., ABUDUREYIMU. A., OGUEJIOFOR. C. F., ELLIS. R., BARRY. A.
25 T., CHEN. X., ANSTAETT. O. L., BROWNLIE. J., WATHES. D. C. **BVDV alters uterine**
26 **prostaglandin production during pregnancy recognition in cows.**
27 **Reproduction**, 151 (2016), pp. 605-614.
- 28 CORTEZ, A. et al. **Detecção de ácidos nucléicos de Brucella spp., Leptospira spp.,**
29 **herpesvirus bovino e vírus da diarréia viral bovina, em fetos abortados e em animais**
30 **mortos no perinatal.** Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.58, p.1228,
31 2006.

- 1 COSTA, E.O. **Leptospirose. Abortamentos Infeciosos de Bovinos.** In:
2 CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 11, Belo Horizonte. Anais...
3 Belo Horizonte, 1995. p.71-79.
- 4 DE VRIES A. **Economic value of pregnancy in dairy cattle.** J Dairy Sci 2006;
5 89:3876-85.
- 6 DEKEYSER J. 1984. **Bovine genital campylobacteriosis, p.181-191.** In: Butzler
7 **J.P. (Ed.), Campylobacter infection in man and animal.** CRC Press, Boca Raton, Florida.
- 8 DISKIN, M.G, SCREENAN, J.M. **Fertilization and embryonic mortality rates in**
9 **beef heifers after artificial insemination.** J Reprod Fertil (1980);59:463–8.
- 10 DISKIN. M. G., MORRIS. D.G. **Embryonic and early foetal losses in cattle and**
11 **other ruminants.** Reprod. Domest. Anim., 43 (Suppl 2) (2008), pp. 260-267.
- 12 DISKIN. M., WATERS. S., PARR. M., KENNY. D. **Pregnancy losses in cattle:**
13 **potential for improvement.** Reprod. Fertil. Dev., 28 (2016), pp. 83-93.
- 14 DRANSFIELD MB, NEBEL RL, PEARSON RE, WARNICK LD. **Timing of**
15 **insemination for dairy cows identified in estrus by a radiotelemetric estrus detection**
16 **system.** J Dairy Sci 1998; 81:1874–1882.
- 17 DUNNE, L., DISKIN, M., SREENAN, J., 2000. **Embryo and fetal loss in beef**
18 **heifers between day 14 of gestation and full term.** Anim. Reprod. Sci. 58, 39-44.
- 19 EALY, A.D.; DROST, M.; HANSEN, P.J. **Developmental changes in embryonic**
20 **resistance to adverse effects of maternal heat stress in cows.** Journal Dairy Science, v.76,
21 p.2899-2905, 1993.
- 22 FARIN. P. W., PIEDRAHITA. J. A., FARIN. C.E. **Errors in development of fetuses**
23 **and placentas from in vitro-produced bovine embryos.** Theriogenology, 65 (2006),
24 pp. 178-191.
- 25 FARR, R.W. **Leptospirosis.** Clin. Infect. Dis., v.21, p.1-8, 1995.
- 26 FRAY, M.D. et al. **Bovine viral diarrhoea virus: its effects on ovarian function in**
27 **the cow.** Veterinary Microbiology, v. 77, p. 185-194, 2000.
- 28 GALVAO KN, SANTOS JEP, JUCHEM SO, CERRI RLA, COSCIONI AC,
29 VILLASENOR M. **Effect of addition of a progesterone intravaginal insert to a timed**
30 **insemination protocol using estradiol cypionate on ovulation rate, pregnancy rate, and**
31 **late embryonic loss in lactating dairy cows.** J Anim Sci 2004; 82: 3508-17.

- 1 GEARY, T.W.. **Estratégias para reduzir perdas embrionárias.** In anais do XII
2 Curso Novos Enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos (Uberlândia – Brasil), 2008.
- 3 GOODGER W.J. & SKIRROW S.Z. 1986. **Epidemiologic and economic analysis of**
4 **an unusually long epizootic of trichomoniasis in a large California dairy herd.** J. Am.
5 Vet. Med. Assoc. 189:772-776.
- 6 GROOMS DL, BOLIN SR, COE PH, BORGES RJ, COUTU CE. **Fetal protection**
7 **against continual exposure to bovine viral diarrhea virus following administration of a**
8 **vaccine containing an inactivated bovine viral diarrhea virus fraction to cattle.** Am J Vet
9 Res 2007;68:1417–22.
- 10 GROOMS DL. **Reproductive consequences of infection with bovine viral diarrhea**
11 **virus.** Vet Clin Food Anim 2004;20:5–19.
- 12 GROOMS, D.L, BOLIS, C.A, 2005. **Diagnosis of fetal loss caused by bovine viral**
13 **diarrhea virus and *Leptospira* spp.** Theriogenology 21, 463-472.
- 14 GROOMS, D.L., 2004. **Reproductive consequences of infection with bovine viral**
15 **diarrhea virus.** Vet. Clin. Food Anim. 20, 5-19.
- 16 HANSEN, J.P. **Managing the Heat-Stressed Cow to Improve Reproduction.**
17 Proceedings of the 7 Western Dairy Management Conference. March 9-11,2005.
- 18 HANSEN, J.P., ARÉCHIGA, F.C. **Strategies for Managing Reproduction in the**
19 **Heat-Stressed Dairy Cow.** Journal Animal Science 1999.Vol.77.
- 20 HANSEN, J.P., DROST, M., RIVERA, M.R., PAULA-LOPES, F.F.,
21 ALKATANANI, M.Y., KRININGER III, E.C., CHASE, C.C. **Adverse impact of hear stress**
22 **on embryo production: causes and strategies for mitigation.** Theriogenology. 2001. 55:
23 91-103.
- 24 HUBBERT, W., DENNIS, S., ADAMS, W., BIRSCHWAL, C., BIGGERS, J.,
25 CARROLL, E., DUNNE, H., HUTTON, N., KENDRICK, J., KENNEY, R., 1972.
26 **Recommendations for standardizing bovine reproductive terms.** Cornell Vet. 62, 216-
27 237.
- 28 HUZZEY, J. M., T. F. DUFFIELD, S. J. LEBLANC, D. M. VEIRA, D. M. WEARY,
29 AND M. A. G. VON KEYSERLINGK. 2009. **Short communication: Haptoglobin as an**
30 **early indicator of metritis.** J. Dairy Sci. 92:621–625.
- 31 JUNQUEIRA, J.R.C, FREITAS, J.C., ALFIERI, A.F., ALFIERI, A.A., 2006.
32 **Reproductive performance evaluation of a beef cattle herd naturally infected with the**
33 **BoHV-1 BVDV and *Leptospira hardjo*.** Semin. Cienc. Agrar. 27, 471-480.

1 KELLING CL. **Viral Diseases of the Fetus. Virology, Nebraska Center for**
2 **Virology Papers.** Virology Papers 2007:399–408.

3 KELLING, C.L., 2007. **Viral Diseases of the Fetus. Virology, Nebraska Center for**
4 **Virology Papers.** Virology Papers, pp. 399-408.

5 KHODAKARAM-TAFI, A., IKEDE, B.O., 2005. **A retrospective study of sporadic**
6 **bovine abortions, stillbirths, and neonatal abnormalities in Atlantic Canada from 1990**
7 **to 2001.** Can. Vet. J. 46,635-637.

8 KRUSE. S., BRIDGES. G., FUNNELL. B., BIRD. S., LAKE. S., ARIAS.
9 R., AMUNDSON. O., LARIMORE. E., KEISLER. D., PERRY. G. **Influence of post-**
10 **insemination nutrition on embryonic development in beef heifers.**
11 Theriogenology, 90 (2017), pp. 185-190.

12 LEDOUX. D, PONSART. C, GRIMARD. B, GATIEN. J, DELOCHE. M, FRITZ.
13 S, LEFEBVRE. R, HUMBLLOT. P. **Sire effect on early and late embryonic death in**
14 **French Holstein cattle. Animal,** 9 (2015), pp. 766-774.

15 LUCY, M.C., 2001. **Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will**
16 **itend?** J. Dairy Sci. 84,1277–1293.

17 LUSSIER, J.G., MATTON, P., DUFOUR, J.J., 1987. **Growth rates of follicles in the**
18 **ovary of the cow.** J. Reprod. Fert. 81, 301–307.

19 MADSEN CA, PERRY GA, MOGCK CL, DALY RF, MACNEIL MD, GEARY TW.
20 **Effects of preovulatory estradiol on embryo survival and pregnancy establishment in**
21 **beef cows.** Anim Reprod Sci 2015;158:96e103. [https://doi.org/10.1016/](https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2015.05.006)
22 [j.anireprosci.2015.05.006.](https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2015.05.006)

23 MAURER, R. AND CHENAULT, J. 1983. **Fertilization failure and embryonic**
24 **mortality in parous and nonparous beef cattle.** Journal. Animal. Science., 56 (1983),
25 pp. 1186-1189.

26 MCEWAN, B., CARMAN, S., 2005. **Animal health laboratory reports – cattle.**
27 **Bovine abortion update, 1998-2004.** Can. Vet. J. 46, 46.

28 MILLER JM, VAN DER MAATEN MJ. **Experimentally induced infectious bovine**
29 **rhinotracheitis virus infection during early pregnancy: effect on the bovine corpus**
30 **luteum and conceptus.** Am J Vet Res 1986;47: 223–8.

31 MINEIRO ALBB, BEZERRA EEA, VASCONCELLOS AS, COSTA FAL,
32 MACEDO NA. **Leptospiral infection in bovine and its association with reproductive**

- 1 **failure and climatic conditions.** Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia
2 2007;59:1103–9.
- 3 MOTTA JC, MADUREIRA G, SILVA LO, ALVES RLOR, SILVESTRI M, DRUM JN, ET
4 AL. **Interactions of circulating estradiol and progesterone on changes in endometrial**
5 **area and pituitary responsiveness to GnRH.** Biol Reprod 2020;103:643e53.
6 <https://doi.org/10.1093/biolre/ioaa065>.
- 7 PELLEGRIN A.O., LAGE A.P., SERENO J.B., RAVAGLIA E., COSTA M.S. &
8 LEITE R.C. 2002. **Bovine Genital Campylobacteriosis in Pantanal, Mato Grosso do Sul**
9 **State, Brazil.** Rev. Élev. Méd. Vét. Pays Trop. 55(3)160-173.
- 10 PEREIRA, M.H.C.; COOKE, R.F. ; ALFIERI, A.A. ; VASCONCELOS, J.L.M. .
11 **Effects of vaccination against reproductive diseases on reproductive performance of**
12 **lactating dairy cows submitted to AI.** Animal Reproduction Science (Print), v. 96, p. 2837,
13 2013.
- 14 PEREIRA, M.H.C.; RODRIGUES, A.D.P.; DE CARVALHO, R.J.; WILTBANK,
15 M.C.; VASCONCELOS, J.L.M. **Increasing length of an estradiol and progesterone timed**
16 **artificial insemination protocol decreases pregnancy losses in lactating dairy cows.**
17 Journal of Dairy Science, v. 97, p. 1454-1464, 2014.
- 18 PEREIRA, M.H.C.; WILTBANK, M.C. ; VASCONCELOS, J.L.M. **Expression of**
19 **estrus improves fertility and decreases pregnancy losses in lactating dairy cows that**
20 **receive artificial insemination or embryo transfer.** Journal of Dairy Science, v. 99, p. 2237,
21 2015.
- 22 PERRY GA, SMITH MF, LUCY MC, GREEN JA, PARKS TE, MACNEIL MD, ET
23 AL. **Relationship between follicle size at insemination and pregnancy success.** Proc Natl
24 Acad Sci U S A 2005;102:5268e73. <https://doi.org/10.1073/pnas.0501700102>.
- 25 PERRY. G, PERRY. B, WALKER. J, WRIGHT. C, SALVERSON. R, PATTERSON.
26 H. **Evaluation of prior grazing experience on reproductive performance in beef heifers.**
27 Prof. Anim. Sci., 29 (2013), pp. 595-600.
- 28 PERRY. G., SMITH. M., ROBERTS. A., MACNEIL. M., GEARY. T. **Relationship**
29 **between size of the ovulatory follicle and pregnancy success in beef heifers.** J. Anim.
30 Sci., 85 (2007), pp. 684-689.
- 31 POHLER, K.G, PERES, R.F.G, GREEN, J.A, GRAFF, H, MARTINS, T,
32 VASCONCELOS, J.L.M. **Use of bovine pregnancy-associated glycoproteins to predict**

- 1 **late embryonic mortality in postpartum Nelore beef cows.** *Theriogenology* 2016; 85:
2 1652–9. 353.
- 3 POHLER. K.G, GEARY. T.W., JOHNSON. C.L., ATKINS. J.A., JINKS.
4 E.M., BUSCH. D.C., GREEN. J.A., MACNEIL. M.D., SMITH. M.F. **Circulating bovine**
5 **pregnancy associated glycoproteins are associated with late embryonic/fetal survival but**
6 **not ovulatory follicle size in suckled beef cows.** *J. Anim. Sci.*, 91 (2013), pp. 4158-4167.
- 7 POPE. W. **Uterine asynchrony: a cause of embryonic loss.** *Biol. Reprod.*, 39 (1988),
8 pp. 999-1003.
- 9 REESE. S. T, FRANCO. G. A., POOLE R. K., HOOD. R., FERNANDEZ
10 MONTERO. L., OLIVEIRA FILHO. R. V., COOKE. R. F., POHLER. K. G. **Pregnancy loss**
11 **in beef cattle: A meta-analysis.** *Animal Reproduction Science* 212 (2020) 106251.
- 12 RUFINO, F.A.1 ; SENEDA, M.M.2 ; ALFIERI, A.A. **Impacto do herpesvírus**
13 **bovino 1 e do vírus da diarreia viral bovina na transferência de embriões.** *Archives of*
14 *Veterinary Science*, v. 11, n. 1, p. 78-84, 2006.
- 15 RYAN DP, PRICHARD JF, KOPEL E, GODKE RA. **Comparing early embryo**
16 **mortality in dairy- cows during hot and cool seasons of the year.** *Theriogenology* 1993;
17 39: 719-37.
- 18 SANTOS JEP, THATCHER WW, CHEBEL RC, CERRI RLA, GALVÃO KN. **The**
19 **effect of embryonic 708 death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization**
20 **programs.** *Anim Reprod Sci* 709 2004;82–83:513-35.
- 21 SARTORI, R., R. SARTOR-BERGFELT, S.A. MERTENS, J.N. GUENTHER, J.J.
22 PARRISH, AND M.C. WILTBANK. 2002. **Fertilization and early embryonic**
23 **development in heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in**
24 **winter.** *J. Dairy Sci.* 85:2803-2812.
- 25 SPITZER, J., NISWENDER, G., SEIDEL, G., WILTBANK, J., 1978. **Fertilization**
26 **and blood levels of progesterone and LH in beff heifers on a restricted energy diet.** *J.*
27 *Anim. Sci.* 46, 1071-1077.
- 28 STOESSEL F. 1982. **Las Enfermedades Venereas de los Bovinos: trichomoniasis y**
29 **vibriosis genital.** Zaragoza, Acribia. 163p.
- 30 TAVERNE MAM, BREUKELMAN SP, PERENYI Z, DIELEMAN SJ, VOS PLAM,
31 JONKER HH. **The monitoring of bovine pregnancies derived from transfer of in vitro**
32 **produced embryos.** *Reprod Nutr Dev* 2002;42:613-24.

1 VASCONCELOS, J.L.M, SILCOX, R.W, LACERDA, J.A, PURSLEY, J.R,
2 WILTBANK, M.C. **Pregnancy rate, 1118 pregnancy loss, and response to heat stress**
3 **after AI at 2 different times from ovulation in 1119 dairy cows.** Biol Reprod 1997; 56:230.

4 WIEBOLD JL. **Embryonic mortality and the uterine environment in first-service**
5 **lactating dairy cows.** J Reprod Fertil 1988; 84: 393-9.

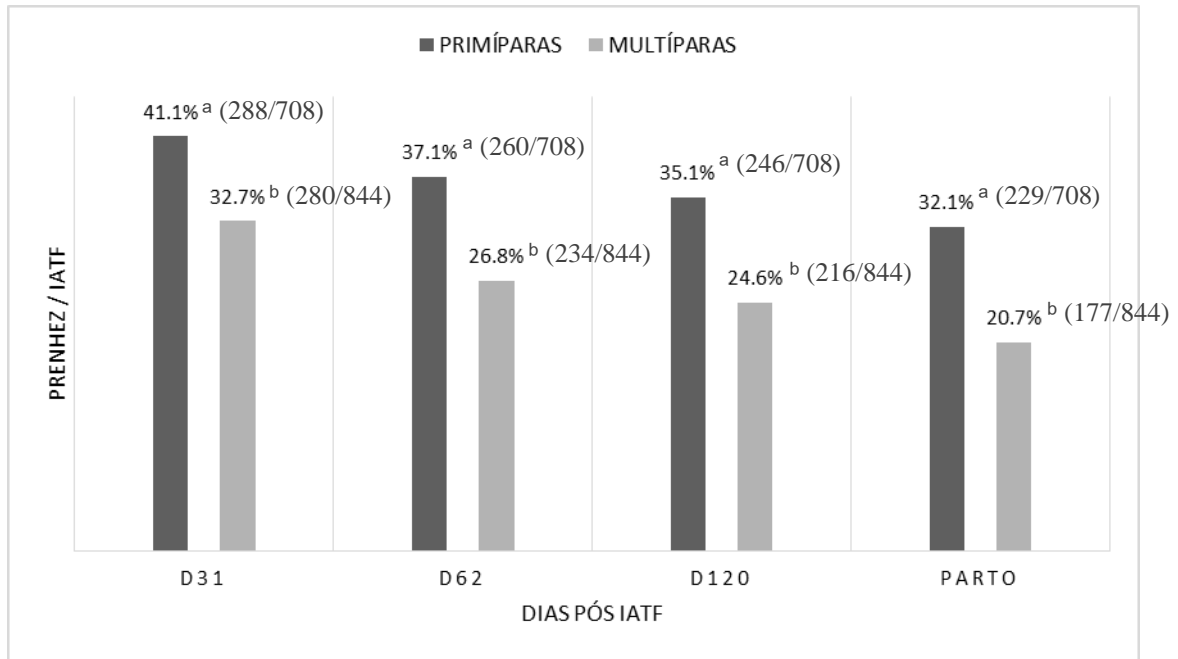
6 WILTBANK. M. C., BAEZ. G. M., A. GARCIA-GUERRA. A., TOLEDO. M.
7 Z., MONTEIRO. P. L., MELO. L. F., OCHOA. J.C., SANTOS. J. E., SARTORI. R. **Pivotal**
8 **periods for pregnancy loss during the first trimester of gestation in lactating dairy cows.**
9 Theriogenology, 86 (2016), pp. 239-253.

10 YANG, M. K., YEH, R. H., LEE, C. J., YEH, Y. H., CHEN, Y. H., BANHAZI. T.,
11 TUA, P.A. **Pregnancy maintenance and fetal loss assessment in Holstein cows through**
12 **analyzing pregnancy-associated glycoproteins in milk.** Theriogenology 2024; 217:11-17.

15 **IMPLICAÇÕES**

16 O presente estudo trará contribuições para pesquisadores e pecuaristas na área de
17 reprodução animal, já que demonstrou importantes resultados de perdas gestacionais em
18 bovinos de leite e principalmente de maneira inédita, a utilização das PAGs como preditores
19 de sucesso na manutenção da gestação até o parto.

20
21
22
23
24
25



1

2 **Fig. 3.** Taxa de prenhez em vacas Holandesas lactantes submetidas a protocolo de IATF. A
3 prenhez foi verificada com a detecção de um conceito viável com ultrassonografia transretal
4 (7.5-MHz transdutor; Mindray DP-10, Mindray Medical International Limited; Shenzhen,
5 China) nos dias 31, 62 e via palpação retal aos 120 pós IATF e de acordo com o nascimento
6 dos bezerros. Valores entre parênteses representa número da vacas com diagnóstico positivo
7 dividido pelo total de animais inseminados com diagnóstico. Valores com diferentes letras
8 (a,b) são diferentes ($P \leq 0,05$).

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

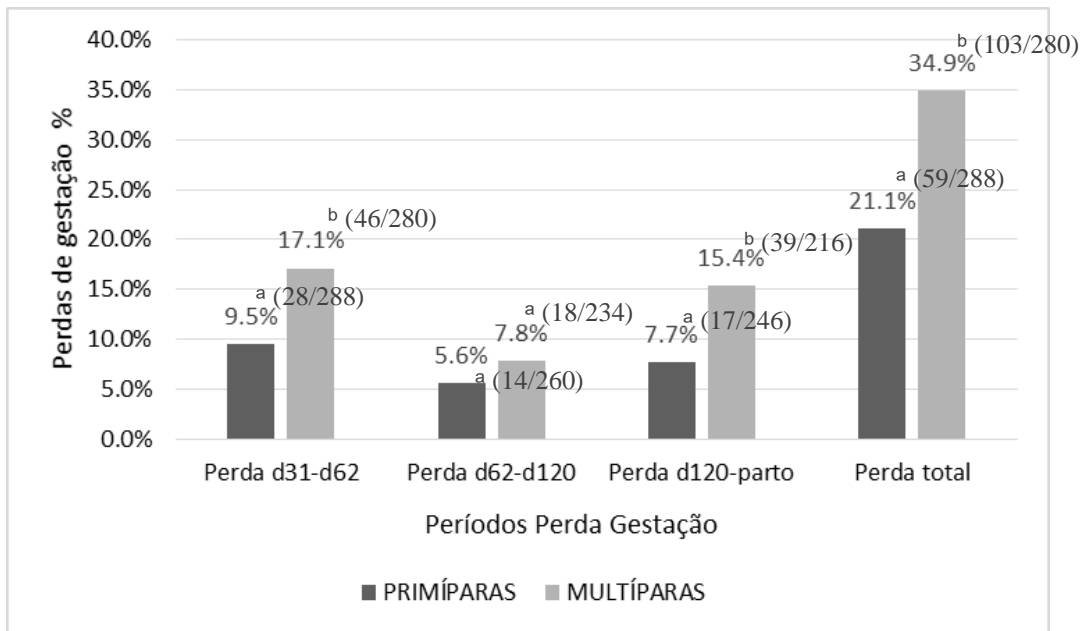


Fig. 4. Perdas de gestação em vacas Holandesas lactantes submetidas a protocolo de IATF. A prenhez e perda foi verificada com a detecção de um conceito viável com ultrassonografia transretal (7.5-MHz transdutor; Mindray DP-10, Mindray Medical International Limited; Shenzhen, China) nos dias 31, 62 e via palpação retal aos 120 pós IATF e de acordo com o nascimento dos bezerros. Valores entre parênteses representa número da vacas que perderam a gestação dividido pelo total de animais diagnosticados prenhes no período. Valores com diferentes letras (a,b) são diferentes ($P \leq 0,05$).

1 **Tabela 9** – Taxa de expressão de cio e concentrações de haptoglobina e PAGs no d24 pós
 2 IATF em vacas Holandesas lactantes de acordo com status de prenhez nos diagnósticos d31,
 3 d62, d120 e Parto.
 4

	Vazias	Prenhas	SEM	P=
DG d 31	n = 984	n = 568	-	-
Cio d 0, %	82.7 (767/926)	95.5 (507/531)	1.2	< 0.01
Hapto d 24, mg/mL	0.352	0.274	0.030	0.07
PAG d 24, ng/mL	0.630	1.180	0.136	< 0.01
DG d 60	n = 1058	n = 494	-	-
Cio d 0, %	83.6 (883/996)	95.7 (441/461)	1.3	< 0.01
Hapto d 24, mg/mL	0.356	0.270	0.032	0.05
PAG d 24, ng/mL	0.653	1.221	0.140	< 0.01
DG d 120	n = 1090	n = 462	-	-
Cio d 0, %	83.7 (860/1026)	96.4 (414/431)	1.3	< 0.01
Hapto d 24, mg/mL	0.357	0.261	0.032	0.04
PAG d 24, ng/mL	0.673	1.208	0.136	< 0.01
Parto	n = 1146	n = 406	-	-
Cio d 0, %	84.0 (904/1073)	97.0 (370/384)	1.3	< 0.01
Hapto d 24, mg/mL	0.351	0.266	0.033	0.08
PAG d 24, ng/mL	0.691	1.223	0.146	0.01

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

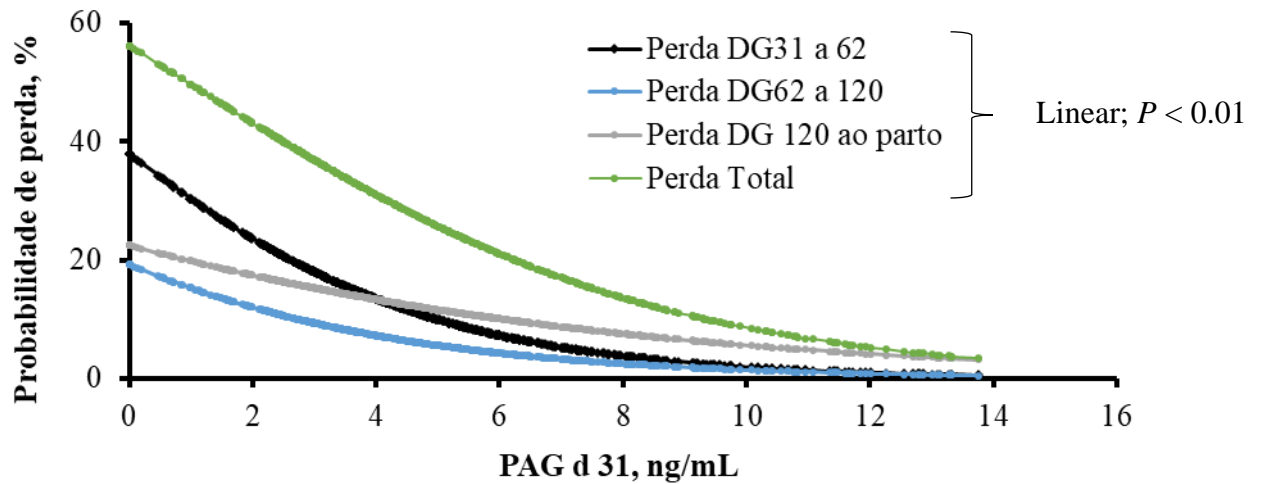
22

23

- 1 **Tabela 10** – Expressão de cio e concentração de haptoglobina e PAGs de acordo com a perda
 2 de gestação em vacas Holandesas lactantes submetidas a protocolo de IATF.

	Não perderam	Perderam	SEM	P=
Perda d 31 a 60	n = 494	n = 74	-	-
Cio d -11, %	95.4 (441/461)	94.7 (66/70)	1.8	0.78
Hapto d 24, mg/mL	0.271	0.414	0.048	0.05
PAG d 24, ng/mL	1.227	0.873	0.153	0.14
Hapto d 31, mg/mL	0.227	0.178	0.033	0.35
Perda d 60 a 120	n = 462	n = 32	-	-
Cio d -11, %	96.0 (414/431)	88.0 (27/30)	2.3	0.03
Hapto d 24, mg/mL	0.262	0.396	0.057	0.15
PAG d 24, ng/mL	1.22	1.20	0.21	0.96
Hapto d 31, mg/mL	0.221	0.297	0.045	0.32
Perda d 120 ao parto	n = 406	n = 56	-	-
Cio d -11, %	96.5 (370/384)	88.8 (44/47)	2.1	0.02
Hapto d 24, mg/mL	0.264	0.223	0.054	0.63
PAG d 24, ng/mL	1.24	0.985	0.197	0.42
Hapto d 31, mg/mL	0.221	0.254	0.42	0.63
Perda total (d 31 ao parto)	n = 406	n = 162	-	-
Cio d -11, %	96.6 (370/384)	92.1 (137/147)	1.4	0.04
Hapto d 24, mg/mL	0.267	0.347	0.039	0.17
PAG d 24, ng/mL	1.24	1.00	0.124	0.19
Hapto d 31, mg/mL	0.221	0.233	0.026	0.75

3
 4
 5
 6
 7
 8
 9
 10
 11
 12



1

2 **Fig. 5.** Probabilidade de perda de gestação, entre d31-d62, d62-d120, d120-parto e d31 ao
 3 parto, em vacas Holandesas lactantes de acordo com a concentração de PAGs no dia 31 da
 4 gestação. Vacas foram submetidas a protocolo de IATF. A prenhez foi verificada com a
 5 detecção de um conceito viável com ultrassonografia transretal (7.5-MHz transdutor;
 6 Mindray DP-10, Mindray Medical International Limited; Shenzhen, China) nos dias 31, 62 e
 7 via palpação retal aos 120 pós IATF e de acordo com o nascimento dos bezerros. Houve
 8 efeito linear para ambas variáveis ($P < 0,01$).

9

10

11

12

13

14

15