

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA REPRODUTIVA EM BOVINOS DE CORTE APÓS A
UTILIZAÇÃO DA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL SEGUIDA DA TRANSFERÊNCIA
DE EMBRIÕES PRODUZIDOS *IN VITRO***

German Holguín Sanabria

PORTO ALEGRE, MARÇO DE 2018.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

Avaliação da eficiência reprodutiva em bovinos de corte após a utilização da
Inseminação Artificial seguida da Transferência de Embriões produzidos *in vitro*

Autor: German Holguín Sanabria

Dissertação apresentada como requisito parcial
para obtenção do grau de Mestre em Ciências
Veterinárias na área de Biotécnicas da
Reprodução Animal.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Bertolini

PORTO ALEGRE

2018

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

CIP - Catalogação na Publicação

Holguín Sanabria, German

Avaliação da eficiência reprodutiva em bovinos de corte após a utilização da inseminação artificial seguida da transferência de embriões produzidos in vitro / German Holguín Sanabria. -- 2018.

77 f.

Orientador: Marcelo Bertolini.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre, BR-RS, 2018.

1. Inseminação artificial. 2. Embrião. 3. Bovino. 4. Biotécnicas da reprodução. I. Bertolini, Marcelo, orient. II. Título.

German Holguín Sanabria

Avaliação da eficiência reprodutiva em bovinos de corte após a utilização da Inseminação Artificial seguida da Transferência de Embriões produzidos *in vitro*.

Aprovado em 15 de março de 2018.

APROVADO POR:

Prof. Dr. Marcelo Bertolini, Orientador
Faculdade de Veterinária
Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Prof. Dr. José Luiz Rigo Rodrigues
Faculdade de Veterinária
Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Prof. Dr. João Batista Souza Borges
Faculdade de Veterinária
Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Prof. Dr. Paulo Ricardo Loss Aguiar
Faculdade de Veterinária
Universidade Luterana do Brasil (ULBRA)

AGRADECIMENTOS

A Deus, que abençoa minha vida.

Aos meus pais, Ruben Dario Holguin Zarate que desde o céu me cuida e Maria del Carmen Sanabria Duarte, que, com muito esforço e amor, incentivam-me sempre a buscar meus sonhos.

Também a minhas irmãs Adriana, Nancy, Liliana e Tania Carolina Holguin Sanabria, pelo companheirismo, carinho e que sempre me apoiam em todas minhas decisões.

Ao Professor Dr. Marcelo Bertolini, pela orientação, ensino, oportunidade, apoio, dispensadas a mim neste período. Com muito respeito e admiração lhe agradeço mais uma vez.

Ao Professor Dr. José Luiz Rodrigues, grande incentivador e pelo apoio conferido para a realização deste trabalho.

A família Vigolo, por aceitar-me como um membro mais de essa família aqui no Brasil.

Minha amiga Deisy Rueda, quem foi a pessoa que me incentivou a vir estudar no Brasil.

Aos colegas de laboratório Paula Rodriguez, Luiz Henrique de Aguiar, Felipe Ledur Ongaratto, Eduardo Pradebom da Silva, Camilo Andres Peña Bello, Paula Viero Marchioretto, Favorino José de Freitas Collares, Daiane Mentz, Bruna Rodrigues Wilhelm, Camila de Freitas e Karine Campagnolo pela ajuda em todas as fases do experimento. Não tenho palavras para descrever e agradecer o que fizeram por mim.

RESUMO

A associação da inseminação artificial em tempo fixo (IATF) e a transferência de embriões em tempo fixo (TETF) possui um potencial para aumentar a eficiência reprodutiva em bovinos de corte. Este estudo avaliou o desempenho reprodutivo em bovinos de corte após a IATF seguida da TETF de embriões PIV no início da estação reprodutiva. Um total de 474 fêmeas *Bos taurus* multíparas não lactantes foram sincronizadas pela administração IM de 2 mg de benzoato de estradiol e a inserção intravaginal de um dispositivo de liberação de progesterona com 1 g no D-11, o qual foi removido no D-2, seguido pela administração IM de 0,48 mg de cloprostenol sódico, 400 UI de eCG e 0,5 mg de cipionato de estradiol. No Experimento I (sem detecção de estro, ou não DE, n = 387), a IATF foi realizada 48 h depois (D0), enquanto que no Experimento II (após DE, n = 89), a IA foi realizada 12 h após o início do estro, com a IATF das fêmeas remanescentes 48 h após a remoção do inserto intravaginal (D0). Blastocistos no Dia 7 de desenvolvimento produzidos por FIV a partir de oócitos derivados de abatedouro de fêmeas de corte foram transferidos individualmente (TETF) sete dias após a IATF (D7) para 185/386 e 44/88 fêmeas nos Experimentos I e II, respectivamente, no corno uterino ipsilateral ao corpo lúteo. Em seguida, touros adultos *Bos taurus* foram introduzidos junto às fêmeas (1:25) até o D90. A determinação da taxa de prenhez após a IATF, a IATF+TETF ou a monta natural, a taxa de gemelaridade e as perdas gestacionais foram realizadas por ultrassonografia e palpação retal nos Dias 30, 60 e 125, com os dados analisados pelo teste do Qui-quadrado ($P < 0,05$). O peso ao nascimento, o peso corporal no Dia 110 e o ganho de peso diário até o Dia 110 foram analisados por ANOVA e ANCOVA, com comparações pareadas pelo teste de Turkey ($P < 0,05$). As taxas de prenhez no D30 foram menores na IATF (104/201, 51,7%) do que no grupo IATF+TETF (125/185, 67,6%) após a não DE (Experimento I), mas foram semelhantes entre os grupos IATF (31/44, 70,5%) e IATF+TETF (30/44, 68,2%) após a DE (Experimento II). As taxas de gêmeos foram menores no grupo IATF sem DE (6/97, 6,2%) que no de IATF+TETF sem DE (41/125, 32,7%), e da IATF com DE (1/30, 3,3%) que no IATF+TETF com DE (13/30, 40,7%), com nenhuma diferença observada nas perdas entre prenhezes simples ou de gêmeos. Os resultados de prenhez total foram semelhantes entre os grupos após o final da estação de reprodução, sendo de 91,5% (184/201) e 90,8% (168/185) para IATF e IATF+TETF sem a DE, e 84,4% (38/45) e 84,1% (37/44) para a IATF e a IATF+TETF com a DE, respectivamente. As perdas gestacionais foram maiores após a IATF+TETF

sem a DE (27/126, 21,4%) do que a IATF+TETF com a DE (3/30, 10,0%), e da IATF com (2/32, 6,3%) ou sem a DE (9/104, 8,7%), sem diferenças observadas nas perdas entre prenhez simples e gêmeares. O grupo IATF+TETF com a DE apresentou um maior número de fetos por serviço (0,89) ou por fêmea prenhe (1,44) do que o grupo IATF+TETF sem a DE (0,69 ou 1,30, respectivamente), enquanto que o grupo IATF após a DE foi maior que o grupo IATF sem DE em número de fetos por serviço (0,69 vs. 0,50) mas não por fêmea prenhe (1,03 vs. 1,05), sendo ambos os valores inferiores aos da IATF+TETF. Mais terneiros nasceram por serviço (12-18%) e por fêmea a termo (9-28%) no programa IATF+TETF do que o IATF sozinho. Terneiros gêmeos nasceram 12,5 dias mais cedo, pesando 33% a menos e tiveram uma mortalidade neonatal 25% maior que os nascidos de prenhez simples. Contudo, os ganhos de peso diário até o D110 após o nascimento foram similares entre os grupos, variando de 710 ± 27 a 784 ± 15 g/dia. Em resumo, a detecção de estro aumentou a taxa de prenhez após a IATF e a taxa de gêmeos após IATF+TETF, enquanto o uso da TETF após a IATF com a não DE também aumentou as taxas de prenhez e de gemelaridade. Mais terneiros foram produzidos utilizando o programa IATF+TETF do que o IATF sozinho, com terneiros gêmeos nascendo mais cedo, mais leves e com maior mortalidade neonatal que os terneiros de prenhez simples, mas os ganhos diários de peso corporal até o D110 após o nascimento foram similares entre os grupos. A combinação da IATF e da TETF pode ser mais oportuna para programas reprodutivos com não DE, enquanto o uso da IATF+TETF após a DE pode aumentar a prolificidade e performance reprodutiva. A viabilidade econômica da utilização de IATF+TETF ainda está sob avaliação, por meio da avaliação das taxas de ganho de peso pós-parto e dos pesos corporais ao desmame entre os grupos.

Palavras-chave: Inseminação artificial; embrião; bovino; biotécnicas da reprodução.

ABSTRACT

*The association of timed artificial insemination (TAI) and timed embryo transfer (TET) has the potential to increase reproductive efficiency in beef cattle. This study evaluated reproductive performance in beef cattle after TAI followed by TET of IVP embryos at the onset of the breeding season. A total of 476 multiparous non-suckling *Bos taurus* females were estrous synchronized by the IM administration of 2 mg estradiol benzoate and the insertion of a 1 g intravaginal progesterone release device on D-11, which was removed on D-2, followed by the IM administration of 0.48 mg sodium cloprostenol, 400 IU eCG, and 0.5 mg estradiol cypionate. In Experiment I (no heat detection, or no HD, n=387), TAI was carried out 48 h later (D0), whereas in Experiment II (after HD, n=89), AI was performed 12 h after the onset of estrus up to 48 h after intravaginal insert removal, when remaining females were inseminated (D0). Day-7 blastocysts produced by IVF from abattoir-derived oocytes from beef cattle were individually transferred (TET) seven days after TAI (D7) to 186/387 and 44/89 females in Experiments I and II, respectively, into the uterine horn ipsilateral to the corpus luteum. Then, fertile mature *Bos taurus* bulls were introduced into the female herds (1:25) up to D90. Determination of pregnancy outcome after TAI, TAI+TET or natural mating, twinning rates, and pregnancy losses were performed by ultrasonography and rectal palpation on D30, D60 and D125, with data were analyzed by the Chi-square test ($P < 0.05$). Birth weights, body weights at D110 and daily body weight gains up to D110 were analyzed by ANOVA and ANCOVA, with pairwise comparisons performed by the Tukey test ($P < 0.05$). Pregnancy rates on D30 were lower in TAI (104/201, 51.7%) than TAI+TET group (126/186, 67.7%) after no HD (Experiment I), but were similar between TAI (32/45, 71.1%) and TAI+TET (30/44, 68.2%) groups after HD (Experiment II). Twinning rates were lower in TAI groups with no HD (6/97, 6.2%) and after HD (1/30, 3.3%) than TAI+TET groups with either no HD (41/125, 32.7%) or with HD (13/30, 40.7%). Overall pregnancy outcomes were similar between groups after the end of the breeding season, being 90.0% (181/201) and 90.3% (168/186) for TAI and TAI+TET with no HD, and 84.4% (38/45) and 84.1% (37/44) for TAI and TAI+TET after HD. Pregnancy losses were higher after TAI+TET with no HD (27/126, 21.4%) than TAI+TET after HD (3/30, 10.0%), and TAI with (2/32, 6.3%) or without (9/104, 8.7%) HD, with no differences observed in losses between singleton- and twin-bearing pregnancies. The TAI+TET group after HD had higher number of fetuses per served (0.89) or per pregnant (1.44) female than TAI+TET with no HD (0.69 or 1.30,*

respectively), whereas the TAI group after HD was higher than the TAI group with no HD in number of fetuses per served (0.69 vs. 0.50) but not per pregnant female (1.03 vs. 1.05), with both being lower than the TAI+TET groups. More calves were born per service (12-18%) and per term female (9-28%) in the TAI+TET scheme than TAI alone. Twin calves were born 12.5 days earlier, weighed 33% less and had 25% higher neonatal mortality than singleton calves. However, daily weight gains up to D110 after birth were similar between groups, ranging from 710 ± 27 to 784 ± 15 g/day. In summary, heat detection increased pregnancy rates after TAI and twinning rates after TAI+TET, whereas the use of TET after TAI with no HD also increased pregnancy and twinning rates. More calves were produced using the TAI+TET scheme than TAI alone, with twin calves were born earlier, lighter and had higher neonatal mortality than singleton calves, but daily body weight gains up to D110 after birth were similar between groups. The combination of TAI and TET may be more advisable for reproductive schemes with no HD, whereas the TAI+TET use after HD may increase prolificacy and reproductive performance. The economics of the use of TAI+TET is still under evaluation, by assessing, and post-natal weight gain rates and body weights at weaning between groups.

Keywords: Artificial insemination ; embryo; bovine; biotechnologies of reproduction.

LISTA DE ABREVIATURAS

CCOs	Complexos <i>cumulus</i> -oócito
CIV	Cultivo <i>in vitro</i>
CL	Corpo lúteo
eCG	Gonadotrofina coriônica equina
FIV	Fecundação <i>in vitro</i>
FSH	Hormônio folículo estimulante
IA	Inseminação artificial
IETS	<i>International Embryo Technology Society</i>
IM	Intramuscular
BE	Benzoato de Estradiol
LH	Hormônio luteinizante
MIV	Maturação <i>in vitro</i>
PIV	Produção <i>in vitro</i>
SFB	Soro fetal bovino
TCM 199	<i>Tissue culture medium 199</i>
ECC	Escore de Condição Corporal
CE	Cipionato de Estradiol
E ₂	Estradiol
GnRH	Hormônio liberador de gonadotrofinas
IA	Inseminação Artificial
IATF	Inseminação Artificial em Tempo Fixo
P ₄	Progesterona
PGF _{2α}	Prostaglandina F2 alfa
IVD	Produção de embriões <i>in vivo</i>

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Exportação e importação de carne bovina no mundo. Fonte: USDA, 2016..... 21
- Figura 2. Municípios de maior expressão na produção de gado bovino no Estado do Rio Grande do Sul em 2015. Fonte: IBGE, 2016..... 22
- Figura 3. Evolução do abate de bovinos no Brasil, por trimestre (2011-2016). Fonte: IBGE, 2016..... 23
- Figura 4. Evolução do peso acumulado de carcaças de bovinos no Brasil, por trimestre (2011-2016). Fonte: IBGE, 2016..... 24
- Figura 5. Censo populacional de bovinos da Colômbia em 2016. Fonte: ICA, 2016..... 24
- Figura 6. Taxas de prenhez após a IATF e total de animais inseminados dentro dos dados analisados pelo sistema GERAR no Brasil, de 2007 a 2017. Fonte: Zoetis Relatório IATF, 2017..... 28
- Figura 7. Protocolo padrão de sincronização do estro das fêmeas bovinas de corte solteiras utilizadas nos Experimentos I e II. EB: benzoato de estradiol. P4: progesterone. PGF_{2α}: 0.48 mg sodium cloprostenol. EC: cipionato de estradiol. eCG: gonadotriofina coriônica equina. DE: detecção de estro. AI: inseminação artificial: inseminação artificial em tempo fixo. TET: transferência de embrião em tempo fixo. Azul claro: variações de acordo com o delineamento experimental (veja texto)..... 43
- Figura 8. Taxas de prenhez no Dia 30 entre os grupos de IATF e de IATF+TETF nos Experimentos I (a,b: P<0,05) e II (A,B: P<0,05)..... 48
- Figura 9. Taxas de prenhez gemelares no Dia 60 de prenhez entre os grupos de IATF e de IATF+TET nos Experimentos I (a,b: P<0,05) e II (A,B: P<0,05)..... 48
- Figura 10. Taxas de perdas gestacionais até o parto entre os grupos de IATF e de IATF+TETF nos Experimentos I (a,b: P<0,05) e II (A,B: P<0,05)..... 49
- Figura 11. Taxa de prenhez cumulativa até o final da estação reprodutiva (90 dias), 35 dias após a remoção dos touros, por diagnósticos nos Dias 30 (30 D), 60 (60 D) e 125 (120 D) entre os Grupos IATF e IATF+TETF nos

Experimentos I (a,b,c: P<0,05) e II (A,B: P<0,05).....
50

Figura 12. Número de fetos por fêmea servida e por fêmea prenhe entre os Grupos IATF e IATF+TETF nos Experimentos I (sem detecção de estro, DE; a,b: P<0,05) e II (com DE; A,B: P<0,05)..... 51

- Figura 13. Peso dos terneiros ao nascimento (kg), número de animais nascidos por fêmea (n/n), e taxa de sobrevivência (%) por grupo experimental (IATF, IATF+TETF) e pelo número de terneiros nascidos por fêmea (simples, gêmeos) nos Experimentos I (sem detecção de estro, DE; a,b: $P < 0,05$) e II (com DE; A,B: $P < 0,05$)..... 51
- Figura 14. Ganho de peso médio diário (g/dia, média \pm dp) de terneiros fêmeas e machos, do nascimento ao Dia 110 (médio) de vida, por grupo experimental (IATF, IATF+TETF), por Experimento (I, sem detecção de estro, DE; II, com DE). a,b: $P < 0,05$ 54
- Figura 15. Ganho de peso médio diário (g/dia, média \pm dp) de terneiros de nascimento simples ou de gêmeos, do nascimento ao Dia 110 (médio) de vida, por Experimento vs. prolificidade (I, sem detecção de estro, DE; II, com DE), e por grupo experimental vs. prolificidade (IATF, IATF+TETF). a,b: $P < 0,05$ 55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Produção mundial de carne bovina, 1.000 toneladas (equivalentes de peso de carcaça).....	19
Tabela 2.	Consumo em nível mundial de carne de bovina, 1.000 toneladas (equivalentes de peso de carcaça).....	20
Tabela 3.	Exportação de carne bovina em nível mundial, 1.000 toneladas (equivalentes de peso de carcaça).....	21
Tabela 4.	Taxas de prenhez após a IATF em bovinos por Estado no Brasil e em países vizinhos, de acordo com os dados analisados pelo sistema GERAR no Brasil. Fonte: Zoetis Relatório IATF, 2017.....	29
Tabela 5.	Número e distribuição das fêmeas nos diferentes grupos de IATF ou IATF+TETF nos Experimentos I e II.....	42
Tabela 6.	Classificação dos partos eutócicos e distócicos pelo nível de facilidade ou dificuldade de parição.....	46
Tabela 7.	Peso dos terneiros nascidos de PIV de embriões e terneiros nascidos de IATF nas fêmeas multíparas submetidas à IATF seguida da TETF nos Experimentos I e II.....	51
Tabela 8.	Parâmetros fisiológicos e produtivos dos terneiros do nascimento aos 3-4 meses de idade, por experimento (I, II) e/ou por grupo (IATF, IATF+TETF).....	53
Tabela 9.	Comportamento do escore de condição corporal (ECC) das fêmeas de corte solteiras utilizadas no estudo, desde o início da seleção até a pesagem dos terneiros aos 3-4 meses de idade, por experimento (I, II), por grupo (IATF, IATF+TETF) e por prolificidade.....	56
Tabela 10.	Classificação dos partos eutócicos e distócicos pelo nível de facilidade ou dificuldade de parição, por experimento (I, II) e/ou por grupo(IATF, IATF+TETF).....	57
Tabela 11.	Sexagem fetal por ultrassonografia no dia 60 da prenhez nas fêmeas multiparas submetidas à IATF seguida da TETF sete dias após, nos Experimentos I e II.....	58
Tabela 12.	Terneiros nas vacas solteiras submetidas à IATF seguida da TETF sete dias após, nos Experimentos I e II.....	58

Tabela 13. Terneiros nascidos de PIV de embriões nas fêmeas múltiparas submetidas à IATF seguida da TETF nos Experimentos I e II.....	59
Tabela 14. Custos para a realização da IATF por fêmea bovina nos Experimentos I e II.....	60
Tabela 15. Custo em material de consumo e mão-de-obra para a produção de embriões bovinos de PIV no Laboratório de Embriologia e Biotécnicas da Reprodução (UFRGS) para o Experimento I, por rotina e por embrião.....	61

- Tabela 16. Custo em material de consumo e mão-de-obra para a produção de embriões bovinos de PIV no Laboratório de Embriologia e Biotécnicas da Reprodução (UFRGS) para o Experimento II, por rotina e por embrião..... 61
- Tabela 17. Custo para a realização dos procedimentos de transferência de embriões bovinos de PIV nos Experimentos I e II..... 62
- Tabela 18. Custo total para a realização dos Experimentos I e II, por fêmea trabalhada, por fêmea prenhe e por terneiro nascido vivo..... 62
- Tabela 19. Custo total por grupo dos Experimentos I e II, por fêmea trabalhada, por fêmea prenhe e por terneiro nascido vivo..... 63

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
2.1 Produção mundial de carne bovina	19
2.2 Consumo de carne bovina em nível mundial	20
2.3 Exportação de carne bovina em nível mundial	20
2.4 Quantidade e distribuição do rebanho bovino no Brasil	22
2.5 Abate de animais no terceiro trimestre de 2016 no Brasil	22
2.6 Quantidade e distribuição do rebanho bovino na Colômbia	24
2.7 As biotécnicas reprodutivas como ferramentas para o aumento da produtividade dos rebanhos bovinos	25
2.7.1 <i>Inseminação Artificial (IA) e a criopreservação de gametas e embriões</i>	26
2.7.2 <i>Produção in vivo (IVD) de embriões por superovulação e transferência de embriões (TE)</i>	29
2.7.3 <i>Procedimentos de produção in vitro (PIV) de embriões por fecundação in vitro (FIV)</i>	30
2.7.4 <i>Alguns limitantes na produção de embriões bovinos in vitro</i>	32
2.8 Associação da IATF com a TETF em bovinos para o aumento da produtividade	33
2.8.1 <i>Problemas potenciais da produção de gêmeos pela associação da IATF com a TETF em bovinos</i>	34
3. HIPÓTESES E OBJETIVOS	37
3.1 Hipóteses	37
3.2 Objetivos gerais	37
3.3 Objetivos específicos	37
4. CAPÍTULO ÚNICO: Avaliação da eficiência reprodutiva em bovinos de corte após a utilização da Inseminação Artificial (IATF) seguida da Transferência de Embriões (TETF) produzidos in vitro	38
4.1 Introdução	38
4.2 Material e Métodos	39
4.2.1 <i>Manejo nutricional dos animais</i>	39
4.2.2 <i>Local</i>	39
4.2.3 <i>Animais</i>	39
4.2.4 <i>Seleção das fêmeas para execução dos experimentos</i>	40
4.2.5 <i>Grupos experimentais</i>	40
4.2.6 <i>Protocolo de sincronização da ovulação e inseminação em tempo fixo</i>	41
4.2.8 <i>Produção in vitro (PIV) de embriões</i>	43
4.2.8.1 <i>Obtenção dos oócitos</i>	43
4.2.8.2 <i>Maturação in vitro (MIV)</i>	43
4.2.8.3 <i>Fecundação in vitro (FIV)</i>	44
4.2.8.4 <i>Cultivo in vitro (CIV)</i>	44
4.2.9 <i>Transferência de embriões (TE) ou inovulação</i>	44
4.2.10 <i>Diagnóstico de prenhez e acompanhamento gestacional</i>	44

4.2.11	<i>Monitoramento dos partos e dos neonatos</i>	45
4.2.11.1	<i>Partos eutócicos e distócicos</i>	45
4.2.11.2	<i>Manejo dos neonatos no período hebdomadal imediato</i>	45
4.2.12	<i>Pesagem dos terneiros aos 110 dias de idade</i>	46
4.2.13	<i>Análise estatística dos dados</i>	46
5.	RESULTADOS	46
5.1	Taxas de prenhez total após IATF e IATF+TETF	46
5.2	Taxas de prenhezes gemelares após IATF e IATF+TETF	46
5.3	Perdas gestacionais até o parto	47
5.4	Taxas de prenhez no final da estação reprodutiva	48
5.5	Número de fetos por serviço e por prenhez	48
5.6	Características dos neonatos e terneiros aos 110 dias de idade	48
5.7	Parâmetros produtivos das vacas solteiras submetidas à IATF seguida da TETF sete dias após, nos Experimentos I e II	51
5.8	Classificação dos partos eutócicos e distócicos pelo nível de facilidade ou dificuldade de parição das fêmeas solteiras submetidas à IATF seguida da TETF nos Experimentos I e II	55
5.9	Sexagem fetal por ultrassonografia no dia 60 da prenhez nas fêmeas solteiras submetidas à IATF seguida da TETF nos Experimentos I e II	55
5.10	Terneiros nascidos nas vacas solteiras submetidas à IATF seguida da TETF nos Experimentos I e II	56
5.11	Terneiros nascidos de PIV de embriões nas fêmeas multíparas cíclicas submetidas à IATF seguida da TETF nos Experimentos I e II	57
5.12	Custos para a execução dos Experimentos I e II	57
5.12.1	<i>Custos para a realização da IATF por fêmea bovina</i>	58
5.12.2	<i>Custos para a produção de embriões bovinos de PIV</i>	58
5.12.3	<i>Custo para a realização das transferências de embriões bovinos de PIV nos Experimentos I e II</i>	59
5.12.4	<i>Custo total, por fêmea bovina e por neonato para a realização da IATF e da associação IATF+TETF nos Experimentos I e II</i>	60
5.12.5	<i>Custo total por grupo, por fêmea bovina e por neonato para a realização da IATF e da associação IATF+TETF nos Experimentos I e II</i>	60
6.	DISCUSSÃO	61
6.1	Taxas de prenhez após a IATF e IATF+TETF	61
6.2	Taxas de prenhezes gemelares e freemartinismo	62
6.3	Taxas de perdas gestacionais	63
6.4	Taxas de prenhez no final da estação reprodutiva	63
6.5	Sexagem fetal por ultrassonografia no Dia 60 da prenhez	64
6.6	Partos distócicos pelo nível de dificuldade de parição das fêmeas	64
6.7	Número de fetos por serviço e por prenhez	65
6.8	Peso dos terneiros	65
7.	CONCLUSÕES	67
8.	PERSPECTIVAS	68
9.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69

1. INTRODUÇÃO

O setor da pecuária nas últimas décadas está em um ritmo acelerado de transformações. A crescente demanda de alimentos de origem animal nas economias que mais rápido crescem no mundo tem incrementado significativamente a produção de gado bovino em países como os Estados Unidos da América (EUA) e alguns países da América do Sul, como o Brasil e a Argentina, onde há um aumento da produção de carne. É importante reconhecer que este crescimento tem recebido o auxílio da implementação de inovações tecnológicas e mudanças estruturais no setor. Ao mesmo tempo, milhões de pessoas em zonas rurais ainda criam gado de corte utilizando sistemas tradicionais de produção, embasado em meios de subsistência e de segurança alimentar familiar. O crescimento demográfico e o incremento dos ingressos, junto com as mudanças nas preferências alimentares, tem produzido um aumento da demanda por produtos pecuários, em especial em países como a China, o Japão, a Rússia e o Egito (USDA, 2016).

A eficiência reprodutiva é um fator de manejo importante no desenvolvimento econômico da pecuária de corte. Para que isso ocorra, necessitamos obter fêmeas produtoras de terneiros em momentos específicos do ano, logrando desenvolver animais para reposição de matrizes, engorda e abate. Não podemos esquecer a importância de avançar na genética nos rebanhos de corte, para poder assim incrementar a produtividade. Uma das alternativas para a melhoria genética em diferentes fazendas é por meio de seleção de genética superior, sendo a inseminação artificial (IA) uma aliada na disseminação de genética. Esta técnica foi introduzida no Brasil em meados da década de 1930 e até hoje segue em expansão (Severo, 2015), permitindo que os pecuaristas escolham os touros melhoradores com a genética desejada, oriundas de diferentes partes do mundo, sempre tendo em conta suas preferências e necessidades comerciais, contribuindo para melhorar as características do rebanho (Sá Filho *et al.*, 2012).

Um dos supostos inconvenientes da IA é a necessidade da realização da detecção de estro, ponto crucial para se obter bons resultados. Para um melhor controle deste ponto crítico, foram desenvolvidos protocolos de sincronização da ovulação, nos quais se inseminam todos os animais em tempo fixo, no mesmo momento, sem a necessidade da observação de estro, o que é convencionalmente chamado de programas de IA em tempo fixo (IATF). Segundo dados da Associação Brasileira de Inseminação Artificial, atualmente o Brasil insemina em torno de 10% do total de fêmeas aptas para à reprodução, por todos os métodos disponíveis, sendo a IATF o mais disseminado no momento (Asbia,

2014). Aproximadamente 14 milhões de doses de sêmen foram comercializadas em 2014 no Brasil (Asbia, 2014).

Na IATF, além de se não haver a preconização obrigatória da detecção de estro, o qual é mais difícil de ser realizado em grandes lotes, também ocorre um aumento na taxa de serviço e potencialmente da taxa de prenhez total em bovinos, diminuindo os dias não produtivos dos animais de produção. A aplicação da IATF se faz importante em especial quando aplicada em fêmeas com cria ao pé, induzindo à ciclicidade e ao estabelecimento da prenhez mais precocemente, pela IATF ou pelo repasse com touros, aumentando desta forma a rentabilidade (Baruselli *et al.*, 2002). Não obstante, as taxas de prenhez em programas únicos de IATF em fêmeas cíclicas, apesar da grande vantagem de manejo de não haver a necessidade de observação de estro, tendem a ser menores do que outros programas convencionais de sincronização, como pelo uso de análogos da prostaglandina F2 alfa (PGF_{2α}), além de ser mais oneroso economicamente (Baruselli *et al.*, 2002). Quando em associação à observação de estro seguida da IA e IATF, estas diferenças em eficiência reprodutiva entre as técnicas tendem a não serem significativas, para fêmeas cíclicas (Sá Filho *et al.*, 2012).

Outra biotécnica da reprodução também bastante utilizada no mundo é a transferência de embriões (TE) oriundos de superovulação de fêmeas doadoras (*in vivo-derived*, IVD) ou pela fecundação *in vitro* (FIV), a qual permite que uma fêmea produza um número de descendentes maior que seria possível durante sua vida produtiva. Com embriões de IVD, as limitações residem no custo e impossibilidade de uso eficiente de sêmen sexado, apesar da congelabilidade dos embriões ser favorável, enquanto que embriões de FIV não são eficientemente congeláveis, com menor percentual de prenhez, com a taxa de concepção com o uso de embriões de PIV sendo de aproximadamente 36% (Pontes *et al.*, 2009), mesmo que seja possível o uso eficiente de sêmen sexado. O número total de embriões produzidos *in vivo* no Brasil em 2016 foi de 31.683 (48% em bovinos de corte e 52% em bovinos de leite), o que corresponde a somente 3% do total da produção mundial. Em 2016, o Brasil ocupou o quarto lugar como produtor mundial de embriões produzidos *in vivo*, com os EUA ocupando o primeiro lugar com uma produção de 462.080 (49%) embriões, a França com o segundo lugar, com uma produção anual de 57.039 (6%) embriões, e a Alemanha em terceiro lugar, com uma produção anual de 32.393 (3,5%) embriões produzidos *in vivo* (IETS, 2017).

Tanto a IATF quanto a TETF com embriões de OPU-PIV têm revolucionado a reprodução bovina no Brasil e no mundo nestas últimas décadas. Desta forma, a associação destas biotécnicas em condições favoráveis pode auxiliar no aumento da eficiência reprodutiva dos rebanhos, aproveitando um único protocolo de sincronização para ambas as técnicas, potencialmente incrementando as taxas de prenhez (50% pela IATF e 35% pela TETF) e a prolificidade, sem a obtenção de prenhez gemelares em alto percentual (estimativa de 15 a 20%). Desta forma, e em condições de manejo geral, nutricional, sanitário e reprodutivo adequados, a combinação da IATF com a TETF pode permitir um incremento na renda financeira derivada da produção de bovinos de corte, um dos maiores entraves para um maior investimento e aplicação de tecnologias pelos pecuaristas na indústria pecuária brasileira e gaúcha.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Produção mundial de carne bovina

O mercado mundial da carne bovina alcançou uma produção de 60.486 milhões de toneladas em 2016 (Tabela 1). Os EUA são o maior produtor de carne bovina no mundo, com 11.389 milhões de toneladas, seguidos pelo Brasil, com uma produção de 9.284 milhões, e pela União Europeia, com 7.850 milhões de toneladas (USDA, 2016).

Tabela 1. Produção mundial de carne bovina, 1.000 toneladas (equivalentes de peso de carcaça)

PAÍS	2012	2013	2014	2015	2016	2017
EUA	11.848	11.751	11.075	10.817	11.389	11.808
BRASIL	9.307	9.675	9.723	9.425	9.284	9.470
UNIÃO EUROPEIA	7.708	7.388	7.443	7.691	7.850	7.850
CHINA	6.623	6.730	6.890	6.700	6.900	6.950
ÍNDIA	3.491	3.800	4.100	4.100	4.250	4.350
ARGENTINA	2.620	2.850	2.700	2.720	2.600	2.700
AUSTRÁLIA	2.152	2.359	2.595	2.547	2.075	2.015
MÉXICO	1.821	1.807	1.827	1.850	1.880	1.910
TOTAL	59.713	60.785	61.093	60.022	60.486	61.318

Fonte: USDA, 2016.

2.2 Consumo de carne bovina em nível mundial

Em relação ao consumo de carne bovina no mundo em 2016 (Tabela 2), os EUA estão em primeira posição, com 11.664 milhões toneladas, seguidos pela China com um consumo de 7.673 milhões de toneladas, com o Brasil ocupando a quarta colocação, com 7.499 milhões de toneladas consumidas (USDA, 2016).

Tabela 2. Consumo em nível mundial de carne bovina, 1.000 toneladas (equivalentes de peso de carcaça)

PAÍS	2012	2013	2014	2015	2016	2017
EUA	11.739	11.608	11.241	11.276	11.664	11.845
CHINA	6.667	7.112	7.277	7.339	7.673	7.890
UNIÃO EUROPEIA	7.760	7.520	7.514	7.751	7.890	7.875
BRASIL	7.845	7.885	7.896	7.781	7.499	7.585
ARGENTINA	2.458	2.664	2.503	2.534	2.390	2.465
ÍNDIA	2.080	2.035	2.018	2.294	2.400	2.425
RÚSSIA	2.398	2.398	2.294	1.966	1.915	1.890
MÉXICO	1.836	1.873	1.839	1.797	1.805	1.825
TOTAL	58.272	59.122	59.024	58.164	58.728	59.401

Fonte: USDA, 2016.Z

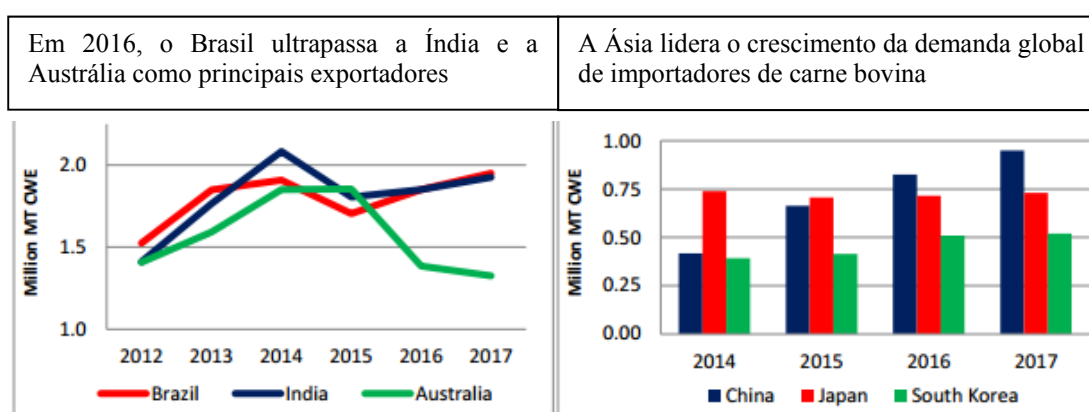
2.3 Exportação de carne bovina em nível mundial

Quanto à exportação de carne bovina em 2016 (Tabela 3, Figura 1), o Brasil é o maior exportador mundial, com 1.850 milhões de toneladas; em segundo lugar encontra-se a Índia com 1.850 milhões de toneladas; a Austrália aparece em terceiro lugar com 1.385 milhões de toneladas, e logo em quarto lugar encontra-se os EUA, com uma exportação de 1.120 milhões de toneladas (USDA, 2016).

Tabela 3. Exportação de carne bovina em nível mundial, 1.000 toneladas (equivalentes de peso de carcaça)

PAÍS	2012	2013	2014	2015	2016	2017
BRASIL	1.524	1.849	1.909	1.705	1.850	1.950
ÍNDIA	1.411	1.765	2.082	1.806	1.850	1.925
AUSTRÁLIA	1.407	1.593	1.851	1.854	1.385	1.325
ESTADOS UNIDOS	1.112	1.174	1.167	1.028	1.120	1.193
NOVA ZELÂNDIA	517	529	579	639	580	550
CANADÁ	335	332	378	390	430	445
PARAGUAI	251	326	389	381	390	395
URUGUAI	360	340	350	373	385	385
UNIÃO EUROPEIA	296	244	301	303	330	350
MÉXICO	200	166	194	228	255	275
ARGENTINA	164	186	197	186	210	235
OUTROS	554	618	595	644	654	668
TOTAL ESTRANGEIRO	7.019	7.948	8.825	8.509	8.319	8.503
TOTAL	8.131	9.122	9.992	9.537	9.439	9.696

Fonte: USDA, 2016.

**Figura 1.** Exportação e importação de carne bovina no mundo. Fonte: USDA, 2016.

2.4 Quantidade e distribuição do rebanho bovino no Brasil

O rebanho bovino brasileiro em 2015 era composto por mais de 215,2 milhões de animais, tendo crescido 1,4% em relação a 2014. Do total nacional, os Estados do Mato Grosso (13,6%), Minas Gerais (11,0%), Goiás (10,2%), Mato Grosso do Sul (9,9%) e Pará (9,4%) apresentam os maiores rebanhos. O Estado do Rio Grande do Sul é composto por 11,2 milhões de cabeças de gado, com os municípios de Alegrete, Santana do Livramento, Dom Pedrito, Uruguaiana e Rosário do Sul, na Campanha Gaúcha, possuindo em 2015 um total de 648.341, 374.411, 657.214, 368.761 e 345.174 cabeças, respectivamente (Figura 2), sendo os maiores produtores de gado no Estado (IBGE, 2016).

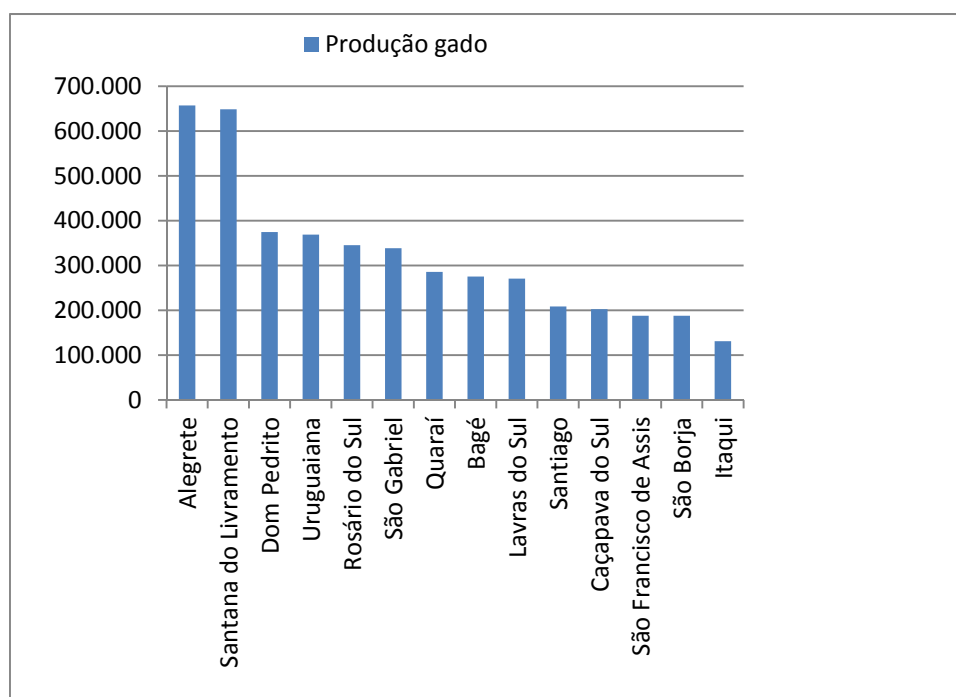


Figura 2. Municípios de maior expressão na produção de gado bovino no Estado do Rio Grande do Sul em 2015. Fonte: IBGE, 2016.

2.5 Abate de animais no terceiro trimestre de 2016 no Brasil

Foram abatidas 7,32 milhões de cabeças de bovinos no 3º trimestre de 2016 no país. Esta quantidade foi 4,1% e 3,5% menor do que a registrada no trimestre imediatamente anterior e no 3º trimestre de 2015, respectivamente (Figura 3).

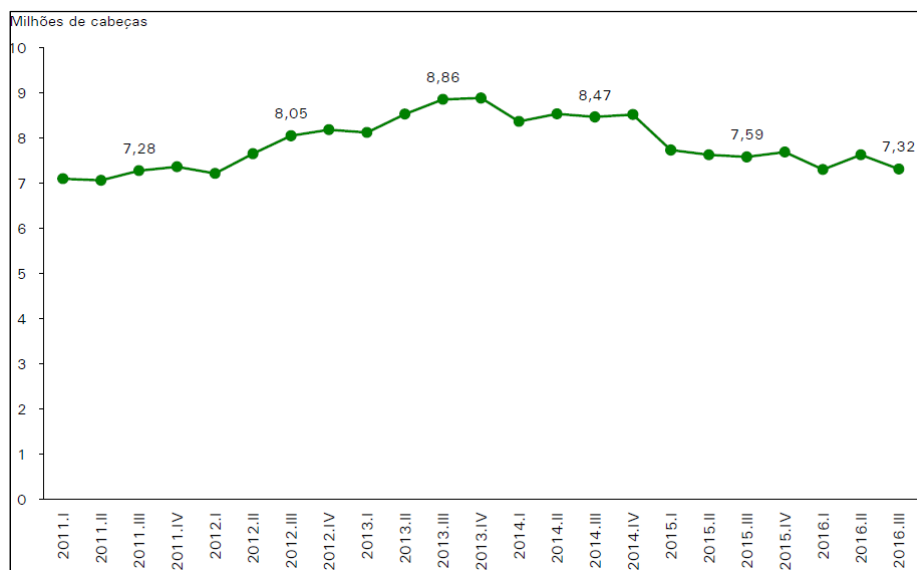


Figura 3. Evolução do abate de bovinos no Brasil, por trimestre (2011-2016). Fonte: IBGE, 2016.

A produção de 1,83 milhões de toneladas de carcaças no 3º trimestre de 2016 no Brasil foi 2,4% menor do que a registrada no trimestre imediatamente anterior e 2,8% menor do que a registrada no 3º trimestre de 2015, com o peso médio das carcaças sendo de 249,6 kg/animal no 3º trimestre de 2016, representando um aumento de 1,9 kg/animal quando comparado com o 3º trimestre de 2015 (Figura 4).

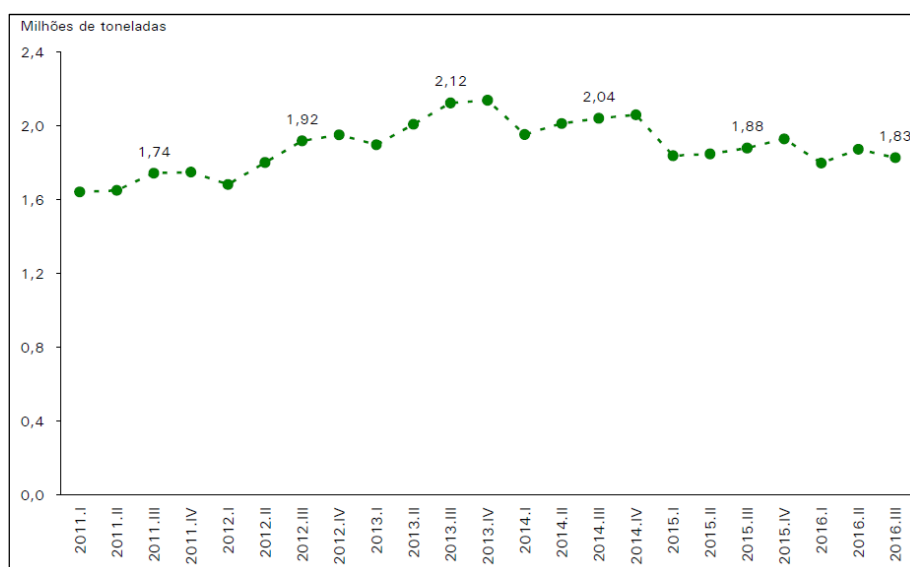


Figura 4. Evolução do peso acumulado de carcaças de bovinos no Brasil, por trimestre (2011-2016). Fonte: IBGE, 2016.

2.6 Quantidade e distribuição do rebanho bovino na Colômbia

O rebanho total de bovinos na Colômbia em 2016 estava constituído por 22.689 milhões de cabeças, distribuído em 494.402 propriedades, principalmente localizadas nos Estados de Antioquia (11, 7%), Córdoba (8,6%), Casanare (8,2%), Meta (7,4%), Santander (6,3%), César (6,0%), Caqueta (5,9%), Cundinamarca (5,6%) e Magdalena (5,4%), que agrupam 65,0% do rebanho total nacional (Figura 5). A Colômbia é privilegiada por sua posição geográfica, ao redor da linha equatorial, contando com regiões com distintas variações térmicas e microclimas que vão desde o nível do mar, até regiões da Cordilheira dos Andes, o que permite a produção de diferentes raças bovinas de carne, leite e duplo propósito (ICA, 2016).

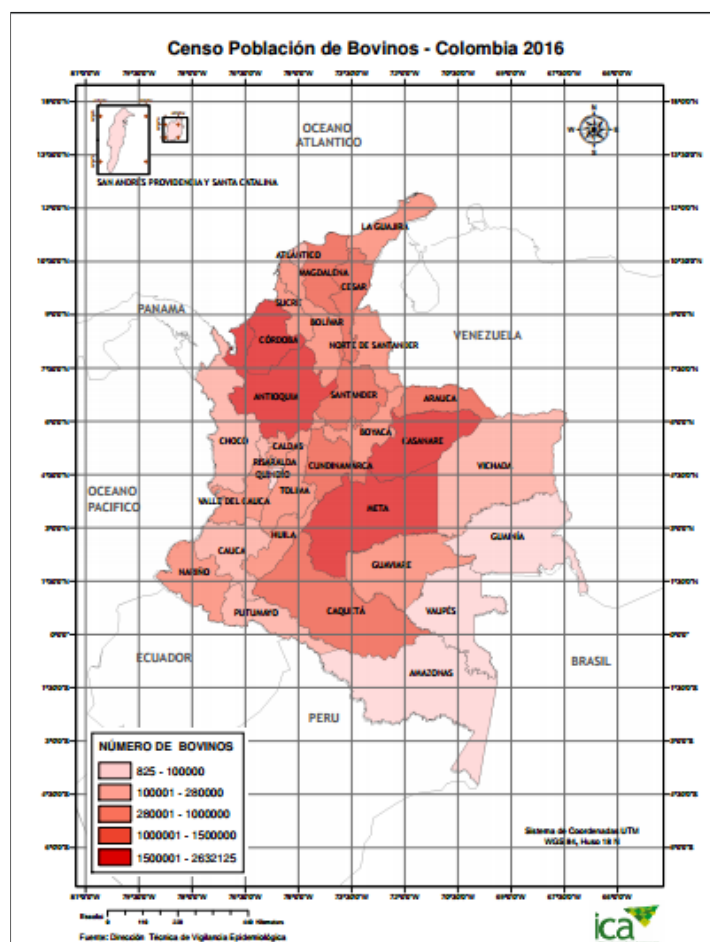


Figura 5. Censo populacional de bovinos da Colômbia em 2016. Fonte: ICA, 2016.

2.7 As biotécnicas reprodutivas como ferramentas para o aumento da produtividade dos rebanhos bovinos

O controle de processos reprodutivos oferece inúmeras vantagens, servindo como instrumento essencial para a aplicação de biotecnologia na produção bovina com enfoque fundamental no aumento da eficiência reprodutiva dos rebanhos. O interesse em se alcançar um maior controle nos processos reprodutivos em animais tem impulsionado um avanço no conhecimento no último centenário, o que também desencadeou o desenvolvimento de quatro gerações de biotecnologias de reprodução em humanos e animais. Em termos gerais, as primeiras três gerações de biotécnicas da reprodução incluem a inseminação artificial (IA) e a criopreservação de gametas e embriões, a produção *in vivo* (IVD) de embriões por superovulação e transferência de embriões (TE), e os procedimentos de produção *in vitro* (PIV) de embriões por fecundação *in vitro* (FIV). Tais procedimentos evoluíram para aplicações comerciais robustas e bem sucedidas, facilitando o aumento da produção por meio da genética, redução do intervalo entre gerações, controle de doenças, e redução dos custos de produção. A quarta geração de biotécnicas engloba processos que ainda estão em nível mais experimental do que comercial, compreendendo a clonagem por transferência nuclear (TN) de células embrionárias ou somáticas, a transgenia e a biologia das células-tronco. Tais tecnologias estão interligadas uma com a outra e com ferramentas moleculares disponíveis, sendo completamente dependentes das gerações anteriores de tecnologias. No entanto, muitos desafios reprodutivos ainda dificultam a maximização do desempenho reprodutivo em bovinos, afetando a produtividade e a rentabilidade. É claro que a aplicação de tais tecnologias como atividades lucrativas permanecerá questionável se não for associada a outros componentes da produção animal, como a sanidade animal, nutrição e práticas de manejo animal adequadas (Bertolini & Bertolini, 2009).

Historicamente, além da mera curiosidade científica, o surgimento e o desenvolvimento de tecnologias reprodutivas foram impulsionadas pelo ganho econômico oferecido pelo aumento potencial no número de descendentes de animais geneticamente superiores ou para aumentar o número de produtos em um rebanho. Em outras palavras, as biotecnologias reprodutivas foram desenvolvidas para oferecer possibilidades de uma maior utilização de germoplasma superior com o mínimo de falhas (Moore & Thatcher, 2006). Por um lado, para aproveitar ao máximo os benefícios das biotecnologias da reprodução, existe uma necessidade de apoio da pesquisa básica em

longo prazo para a compreensão dos complexos mecanismos subjacentes à fisiologia dos sistemas reprodutivos femininos e masculinos e seus ciclos reprodutivos. Como novos resultados surgem, novas perspectivas e aplicações são propostas, testadas, refinadas e, finalmente, colocadas em prática. O uso de animais de fazenda e seus produtos têm contribuído significativamente para a qualidade da saúde humana e para o estabelecimento da civilização. É neste âmbito que as três primeiras gerações de biotécnicas da reprodução têm contribuído enormemente para a satisfação das crescentes exigências da sociedade moderna (Kues & Niemann, 2004).

2.7.1 *Inseminação Artificial (IA) e a criopreservação de gametas e embriões*

A IA faz parte maior da primeira geração de biotécnicas da reprodução, estando em uso por mais de 200 anos. Como uma tecnologia moderna, a IA com sêmen fresco ou congelado tem sido a tecnologia de reprodução mais bem sucedida e eficiente na produção animal nas últimas sete ou oito décadas (Bertolini & Bertolini, 2009). Foi o domínio da criopreservação do sêmen que fez a IA prosperar como uma tecnologia reprodutiva acessível que permitiu o uso generalizado de touros geneticamente superiores (Gordon, 1994). O sêmen congelado impulsionou o avanço no gado leiteiro, tornando a IA mais simples, econômica e bem-sucedida. O uso da IA teve um grande impacto sobre os programas de melhoramento genético em países desenvolvidos, associado com 1,0 a 1,5% de taxas anuais de ganho em características da produção em bovinos leiteiros (Lohuis, 1995). Por meio do ganho genético potencial alcançado usando a IA, estima-se que aproximadamente 50% do aumento da eficiência da produção de leite observada nos países desenvolvidos durante a segunda metade do século XX pode ser atribuído somente ao ganho genético obtido pela utilização generalizada da IA sobre o melhoramento convencional, com os outros 50% correspondendo a avanços significativos nos sistemas de produção *per se*, incluindo a sanidade do rebanho, manejo geral, e nutrição (Gordon, 1994).

O uso da IA tem impulsionado o desenvolvimento de programas eficientes envolvendo a sincronização do estro ou mesmo da ovulação, sem a necessidade de detecção de estro. Com o advento da comercialmente disponível $PGF_{2\alpha}$ e seus análogos na década de 1970, foram desenvolvidos sistemas de sincronização de estro para auxiliar os produtores a incorporar a IA em suas operações, reduzindo o tempo e o trabalho associado com a detecção de estro. Recentemente, com uma melhor compreensão dos perfis endócrinos de fêmeas em todo o ciclo estral, sistemas econômicos e eficientes

foram desenvolvidas para a sincronização da ovulação, o que permite a aplicação da IATF, eliminando ou não a detecção do estro (Bertolini & Bertolini, 2009).

A implementação de um simples programa de IA em um rebanho de fêmeas cíclicas possibilita o serviço de um maior número possível de fêmeas em um curto período, sem a necessidade de determinação da fase do ciclo estral no início do programa. Em adição, com a utilização da IATF, reduz-se ou elimina-se a necessidade de observação de estro, também adicionando a vantagem já mencionada de poder-se induzir à ciclicidade de fêmeas em anestro no início do programa. Estes programas também possuem como principais vantagens a utilização de touros de maior qualidade genética, além de potencialmente reduzir o período de parição, pela IA em um período mais compacto. Essa é uma estratégia de manejo reprodutivo que deve ser aplicada a rebanhos de corte com programas nutricionais, sanitário e genéticos, propiciando a parição durante condições climáticas favoráveis, com disponibilidade de forragem, menores problemas sanitários, como parasitoses e doenças infecciosas, com uma melhoria nos índices produtivos subsequentes (Sá Filho *et al.*, 2012). Por exemplo, estes autores supracitados obtiveram uma taxa de prenhez em bovinos de corte de 50,7% com a IATF nos primeiros 45 dias da estação de monta. Quando se utilizou a IATF em gado *Bos taurus* var. *inducus*, a taxa de prenhez foi de 48,3%, em *Bos taurus* var. *taurus* de 61,7%, e em vacas mestiças alcançou-se 50,7%, não sendo observada diferença entre as raças e cruzas. Entretanto, diferenças foram evidentes quando os animais foram separados por categorias, com 39,6%, 45,2% e 51,8% das fêmeas nulíparas, primíparas com cria ao pé, e múltiparas com cria ao pé resultando gestantes após a IATF, respectivamente. Da mesma forma, quando separadas de acordo com o escore de condição corporal (ECC, de 1 a 5), 43,0%, 49,6% e 52,7% das fêmeas com ECC de 2,5, 3,0 e 3,5 resultaram positivas para a prenhez, respectivamente (Sá Filho *et al.*, 2009). Isto denota a importância da avaliação criteriosa das condições e características do rebanho para a implementação adequada de programas de IA e de IATF. Não obstante, as taxas de prenhez médias após a IATF no país têm se mantido relativamente estáveis ao longo dos últimos anos, com um crescente número de animais sendo incorporados ao banco de dados sistema do sistema GERAR (Zoetis Relatório IATF, 2017), e em várias regiões do Brasil e países vizinhos, conforme evidenciado na Figura 6 e Tabela 4, abaixo.

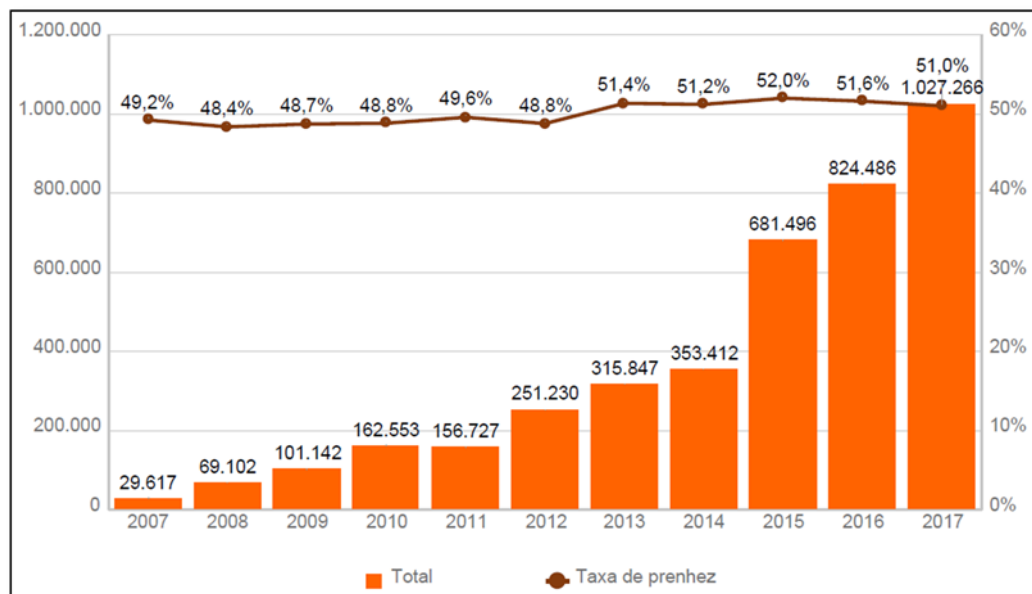


Figura 6. Taxas de prenhez após a IATF e total de animais inseminados dentro dos dados analisados pelo sistema GERAR no Brasil, de 2007 a 2017. Fonte: Zoetis Relatório IATF, 2017.

Como exemplos do sucesso e da aplicação da IATF no Estado do Rio Grande do Sul, em um estudo de Wecker *et al.* (2012), realizaram-se três diferentes protocolos de IATF em fêmeas solteiras múltiparas da raça Brangus e cruzas, com o diagnóstico de prenhes no Dia 30 após a IATF. As taxas de prenhez foram de 61,0% (25/41) para um grupo utilizando hCG, 45,0% (18/40) para um grupo administrado eCG e 40,6% (56/138) para um grupo Controle. Quanto às perdas gestacionais dos 30 aos 60 dias o grupo hCG apresentou 16,7% (3/18) de perdas, enquanto o grupo com eCG atingiu 4,0% (1/25) e o grupo Controle 5,4% (3/56). Em outro estudo no Estado, com fêmeas com cria ao pé, as taxas de prenhes após a IATF foram de 29,7% para o grupo controle, 44,8% para um grupo com 300 UI de eCG e 47,6% para outro grupo com 400 UI de eCG, não havendo diferença significativa entre os grupos (Pessoa *et al.*, 2016).

Tabela 4. Taxas de prenhez após a IATF em bovinos por Estado no Brasil e em países vizinhos, de acordo com os dados analisados pelo sistema GERAR no Brasil. Fonte: Zoetis Relatório IATF, 2017.

Estado/Pais	Total	Taxa de Prenhez (IATF)	Distribuição
AC	688	49,4%	0,07%
AL	2.047	46,2%	0,20%
AM	5.624	49,0%	0,55%
BA	20.063	57,8%	1,95%
DF	219	47,5%	0,02%
ES	722	59,8%	0,07%
GO	242.987	50,3%	23,65%
MA	28.231	51,9%	2,75%
MG	33.007	49,8%	3,21%
MS	190.576	51,7%	18,55%
MT	224.522	51,2%	21,86%
PA	79.642	52,3%	7,75%
PE	832	43,1%	0,08%
PI	1.961	43,6%	0,19%
PR	14.978	50,4%	1,46%
RJ	1.095	53,6%	0,11%
RO	37.783	51,8%	3,68%
RS	43.098	55,0%	4,20%
SP	45.174	46,7%	4,40%
TO	40.098	48,3%	3,90%
Bolívia	4.438	50,6%	0,43%
Paraguai	9.330	45,1%	0,91%
Uruguai	144	58,3%	0,01%

2.7.2 Produção *in vivo* (IVD) de embriões por superovulação e transferência de embriões (TE)

A produção *in vivo* (IVD) de embriões por superovulação seguida da transferência de embriões (TE), implementada comercialmente há cerca de quatro décadas, é uma biotecnologia reprodutiva avançada que também tira proveito dos procedimentos de IA, sendo considerada a segunda geração de biotécnicas da reprodução (Bertolini & Bertolini, 2009). Os progressos alcançados no setor têm posicionado a IVD comercial de embriões bovinos como um grande negócio internacional (Mapletoft & Hasler, 2005; Lonergan, 2007). Fatores que contribuem significativamente para o aumento na comercialização mundial de embriões foram o desenvolvimento da criopreservação de embriões e o uso de procedimentos de lavagem para obterem-se embriões livres de patógenos específicos (Mapletoft & Hasler, 2005). A combinação da superovulação com a transferência de embriões representa para a fêmea o que a IA tem sido para o macho, permitindo a

produção de múltiplos animais a partir de fêmeas geneticamente superiores. Um dos fatores limitantes associados à tecnologia de IVD de embriões é a variabilidade e a falta de previsibilidade na resposta de desenvolvimento folicular e produção de embriões após um tratamento superovulatório (Mapletoft & Hasler, 2005).

Na realidade, pouco progresso tem sido alcançado nos resultados após a aplicação da IVD, como o número médio de embriões transferíveis por doadora e os efeitos colaterais sobre o desempenho reprodutivo dos doadores permanecendo inalteradas nas últimas décadas (Galli *et al.*, 2003; Thibier, 2006). No ano de 2016 foram transferidos 632.638 embriões produzidos *in vivo* em nível mundial, com a Norte América liderando esta atividade, com 52% (332.252) de embriões sendo transferidos. Mais de meio milhão de embriões de IVD são transferidos no mundo a cada ano, com a América do Norte liderando a atividade (Perry, 2017). Como na IA, o desenvolvimento de protocolos de sincronização do estro ou da ovulação têm facilitado a atividade, encurtando consideravelmente o processo. A TE direta de embriões congelados e a TE em tempo fixo (TETF) são procedimentos atualmente em amplo uso em todo o mundo e no país. No entanto, os programas de IVD de embriões são caros, principalmente devido ao custos com mão-de-obra e tratamentos hormonais, além de ainda ser ineficiente o uso do sêmen sexado em fêmeas superovuladas. Uma das vantagens do uso da IVD de embriões em animais de produção, como os bovinos, é o incremento do número e qualidade de descendentes de um animal durante sua vida reprodutiva, utilizando como doador de genética animais superiores e, como receptoras, animais de baixo valor zootécnico. Taxas muito satisfatórias de prenhez podem ser obtidos pela aplicação da IVD em bovinos, tanto com embriões frescos como congelados, com cerca de 62,1% das transferências realizadas no mundo sendo com embriões congelados (Perry, 2017). Em um estudo de Hasler *et al.* (1995), a inovulação de 2.268 embriões produzidos *in vivo* gerou 1.220 prenhez (53,8%). Em outro estudo realizado comparando a taxa de prenhez em vacas de corte, a transferência de embriões a fresco ou com embriões congelados resultou em taxas de prenhez de 83% e 69%, respectivamente (Spell *et al.*, 2001). Isto denota a robustez do processo, apesar das limitações já discutidas acima.

2.7.3 Procedimentos de produção *in vitro* (PIV) de embriões por fecundação *in vitro* (FIV)

A terceira geração de biotécnicas da reprodução inclui a recuperação de oócitos e a fecundação *in vitro* (FIV), e a sexagem de sêmen e de embriões. Procedimentos adicionais também evoluíram, como a transferência de gametas na tuba uterina (GIFT) ou de oócitos no folículo (IFOT), ou de zigotos na tuba uterina (ZIFT) e a injeção intracitoplasmática de espermatozóide (ICSI), com aplicações práticas limitadas mas em ascensão, dependendo da espécie (Bertolini & Bertolini, 2009).

A tecnologia de produção *in vitro* (PIV) de embriões por fecundação *in vitro* (FIV) evoluiu a partir do interesse em desenvolver um sistema para produzir embriões completamente no laboratório. Os resultados alcançados por esta tecnologia é verdadeiramente notável quando se considera que, no início, os embriões eram produzidos geralmente usando oócitos maturados *in vivo* e, depois da fecundação *in vitro*, zigotos eram transitoriamente cultivados *in vivo* nas tubas uterinas de ovelhas ou coelhas antes da transferência definitiva do embrião. O posterior desenvolvimento de sistemas de PIV completos não só facilitou o processo, mas também abriu o caminho para estudos que resultaram em avanços tecnológicos enormes e conhecimentos em muitas áreas relacionadas. A PIV de embriões por FIV em bovinos consiste em três etapas: a primeira, a maturação *in vitro* (MIV) de oócitos primários no estágio de vesícula germinativa recolhidos diretamente dos ovários de fêmeas dadoras; segundo, a fecundação *in vitro* por meio do co-cultivo de oócitos maturados *in vitro* com espermatozoides capacitados *in vitro*; e em terceiro, o cultivo *in vitro* (CIV) de zigotos até estádios de desenvolvimento que lhes permitem serem transferidos para fêmeas receptoras. Hoje, a PIV de embriões bovinos tornou-se rotina em aplicações científicas, na conservação genética ou para fins comerciais. A tecnologia de PIV mostrou um notável aumento da eficiência ao longo dos anos, tanto qualitativa como quantitativamente, manifestada por ascendente taxas de prenhez obtidas após a transferência de embriões. Muitas vantagens foram identificadas na utilização desta tecnologia em relação aos sistemas convencionais para a produção de embriões, com a redução dos custos sendo um dos mais importantes, além da possibilidade de utilização de sêmen sexado e de animais de alto valor genético, visto que uma dose de sêmen poder ser utilizada para fecundar centenas de oócitos (Bertolini & Bertolini, 2009). Outro aspecto a salientar na PIV é a congelabilidade, com os embriões de PIV não apresentando uma sobrevivência pós-congelação adequada para a aplicação

comercial, salvo algumas exceções. Por exemplo, em estudo de Numabe *et al.* (2000), as taxas de prenhez quando se utilizaram embriões produzidos *in vitro* congelados e não congelados foram de 41,3% e 46,7%, respectivamente.

O Brasil têm sido o líder mundial nos últimos anos na utilização da tecnologia de OPU-PIV pela FIV em bovinos, com a transferência de 275.918 mil embriões em 2016, o que representou 61,6% do total da atividade no mundo (IETS, 2017). Não obstante, a atividade têm crescido significativamente na América do Norte nestas últimas décadas, com a TE de 131.397 mil embriões em 2016 (Perry, 2017).

2.7.4 Aspectos na produção de embriões bovinos *in vitro*

O sucesso na produção de embriões *in vitro* envolve muitos fatores como a qualidade de receptora em seu estado reprodutivo, sanitário e nutricional, a qualidade dos oócitos e embriões, que também dependem do aspecto técnico e de cada laboratório. A transferência de embriões pela FIV resulta em taxas de prenhes entre 20 e 60% aos 60 dias de prenhez, com uma média brasileira em torno de 35% (Garcia *et al.*, 2005). Pelo aspecto de menor viabilidade à criopreservação, normalmente faz-se uso de fêmeas receptoras para a transferência de embriões a fresco, onerando a atividade, uma vez que a criopreservação por vitrificação ou congelação clássica diminuem a taxa de prenhez, sendo altamente variável. Outro fator a se ter em conta é a distância entre o laboratório e a fazenda onde se encontram as fêmeas receptoras, que pode limitar e comprometer os resultados na atividade. Todos estes fatores podem influir no sucesso da aplicação comercial desta biotécnica (Stewart *et al.*., 2012).

Em adição aos aspectos já discutidos, cerca de 10 a 12% de perdas embrionárias e fetais são observadas nos primeiros 90 dias de prenhez após a TE de embriões de PIV, além de um aumento na proporção feto-pélvica ao parto resultando em maior frequência de distocias, retenção de placenta, prenhezes prologadas e aumento de peso ao nascimento (Young *et al.*, 1998; Galli *et al.*, 2001). Muitos dos diferentes problemas que se apresentam em prenhezes e partos de receptoras prenhes de PIV se devem aos sistemas de CIV em meios ricos em soro e em co-cultivo de células somáticas. Muitos laboratórios comerciais operam hoje com menor quantidade de soro em seus meios de CIV, sem ou com limitado co-cultivo, logrando a redução em até 95% sobre os diferentes problemas acima mencionados (Numabe *et al.*, 2000; Galli *et al.*, 2001).

Na produção de embriões *in vitro*, os diferentes meios de cultivo são muito bem estudados por que podem afetar ou modificar o desenvolvimento e a estrutura embrionária e modificar a expressão gênica, o que poder alterar o metabolismo dos embriões e seu desenvolvimento, por isto os meios de cultivo são enriquecidos com soro fetal bovino (SFB) e/ou albumina sérica bovina (BSA), que são macromoléculas de origem animal (Felmer *et al.*, 2011, Mingoti *et al.*, 2011).

2.8 Associação da IATF com a TETF em bovinos para o aumento da produtividade

A associação das técnicas de IATF e TETF, onde a fêmea é inicialmente inseminada em tempo fixo após o protocolo de sincronização ou indução do estro/ovulação, para sete dias depois receber um embrião, é uma alternativa viável e interessante em certas circunstâncias para a melhoria dos rebanhos, tanto em número quanto em qualidade, e aumento da eficiência reprodutiva e prolificidade. A grande maioria dos estudos disponíveis que fizeram uso desta associação de técnicas utilizaram embriões de IVD para a TETF, o que pode aumentar as taxas de prenhez, mas também aumentam significativamente as taxas de prenhezes gemelares.

Dahlen *et al.* (2012) obtiveram um aumento na taxa de prenhez com inovulação de embriões produzidos *in vivo*, com uma taxa de prenhez de 69,7 % com a utilização de IATF+TE quando comparado com o grupo fêmeas que foram submetidas somente à IATF, nas quais alcançou-se uma taxa de prenhez de 38,5%, sendo de 33,3% para o grupo de fêmeas que receberam somente um embrião (TE). Porém, as vantagens econômicas pelo aumento nas taxas de prenhez também estão associadas a um aumento na prolificidade, pela probabilidade de obtenção de prenhezes gemelares. Se por um lado o aumento no número de terneiros pode ser vantajoso economicamente, a estratégia de aplicação da associação IATF+TETF deve ser comensurada à realidade dos rebanhos e às condições de manejo geral e nutricional, às categorias animais, entre outros fatores.

Um fator importante na obtenção de prenhezes gemelares e nascimentos de gêmeos é o aumento da produtividade, que pode chegar a 108 kg (51%) a mais nos partos gemelares no momento do desmame do que em partições simples (Davis *et al.*, 1989), o que pode ter um impacto econômico considerável ao produtor. Ao se comparar o desenvolvimento, os terneiros de partos gemelares apresentaram 53,1%, 54,7% e 58,4%

a mais de peso vivo total ao nascimento, aos 150 e aos 200 dias, respectivamente. Porém a sobrevivência de apenas 65,2% dos terneiros de partos gemelares aos 200 dias foi um aspecto negativo observado (Gregory *et al.*, 1996). Por isso, no momento da identificação das fêmeas com prenhez gemelares, é importante estabelecer um manejo nutricional e geral especial, antes e depois do parto. Para evitarem-se as perdas peri- e pós-natais, deve-se intensificar os cuidados no período de parição para atenderem-se as fêmeas com distocias e os terneiros após o nascimento. Também deve-se ajustar a dieta, para atender as exigências pré- e pós-natais de manutenção de gêmeos. Por exemplo, em estudo de Guerra *et al.* (1990), preconizou-se um aumento de 11% na quantidade de alimento para manter o peso e ECC das fêmeas durante a lactação.

Pela maior viabilidade dos embriões de IVD, normalmente evita-se a TE de dois ou mais embriões para cada fêmea receptora, pela maior probabilidade de obtenção de prenhez gemelares, o que pode ser um agravante de manejo, dependendo das condições de cada propriedade. Por exemplo, trabalhos realizados para a produção de prenhez gemelares em vacas de corte comparando um grupo de vacas com IATF+TETF e outro grupo com a inovulação de dois embriões de IVD, a taxa de prenhez foi de 72,0% e 51,1%, com taxas de gêmeos de 38,7% e 39,1%, respectivamente (Penny *et al.*, 1995). Da mesma forma, Sreenan *et al.* (1989) pesquisaram sobre a produção de gêmeos em novilhas e vacas com a transferência de embriões unilateral e bilateralmente. A taxa de prenhez em novilhas foi de 76% e 75%, e a taxa de prenhez com gêmeos foi de 55% e 60%, respectivamente. Em vacas, as taxas de prenhez foram de 61% e 63% e as taxas de prenhez gemelar foram 33% e 38%, respectivamente. Em outro trabalho, comparou-se a taxa de prenhez diagnosticada entre 45 e 60 dias entre novilhas e vacas, a qual foi de 74% e 68%, com a taxa geral de gêmeos sendo de 60% (Guerra *et al.*, 1990). Em estudo semelhante comparando vacas e novilhas *Bos taurus* var. *taurus* com diferentes raças, como Angus (A), Hereford (H) e cruzamentos, as fêmeas múltiparas obtiveram taxas de prenhez de 69% para o grupo da raça Angus, 87% para o grupo da raça Hereford, 75% para o grupo de cruzamento, enquanto que as fêmeas nulíparas alcançaram 56% para o grupo da raça Angus, 67% para o grupo da raça Hereford, 62% de prenhez para o grupo de cruzamento. A taxa de produção de gêmeos nas fêmeas múltiparas foi de 89% para o grupo da raça Angus, 31% para o grupo da raça Hereford, 54% para o grupo do cruzamento, e nas fêmeas nulíparas de 36% para o grupo da raça Angus, 50% para o grupo da raça Hereford, 50% para o grupo do cruzamento (Anderson *et al.*, 1982).

2.8.1 Problemas potenciais da produção de gêmeos pela associação da IATF com a TETF em bovinos

O aumento da prolificidade pela produção de gêmeos em bovinos pode estar associada a vantagens econômicas, se condições de manejo das fêmeas com prenhez gemelares forem intensificadas para evitarem-se perdas pré-, peri- e pós-natais. Neste contexto, é importante também conhecer em qual etapa da prenhez ocorrem maiores perdas, tanto embrionárias como fetais. Em um estudo realizado onde se trabalhou com um grupo de IA e o segundo de TE, em fêmeas *Bos taurus* var. *indicus*, as taxas de prenhez para o grupo IA aos 25, 45 e 60 dias foram de 94,6%, 88,1%, 83,4%, respectivamente, com as taxas de perdas tanto embrionárias como fetais sendo de 4,6%, 4,7% e 1,2%, respectivamente, com as taxas de prenhez para o grupo de TE sendo de 100,0%, 97,8% e 89,9 % respectivamente para os Dias 25, 45 e 60, e as taxas de perdas tanto embrionárias como fetais sendo de 2,2%, 7,9% e 0,7%, respectivamente (Barros *et al.*, 2001). Em outro estudo realizado para comparar a taxa de perdas gestacionais entre a IATF e a TE de embriões de PIV a fresco, com e sem expressão de estro, no grupo IATF com e sem expressão de estro as taxas de perdas foram de 14,4% e 20,1%, enquanto que para o grupo TE com e sem expressão de estro, as taxas de perdas foram de 18,6% e 22,7%, respectivamente, o que segundo os autores, resultou em uma menor taxa de perdas nos grupos de expressão do estro (Pereira *et al.*, 2016).

Quando são mencionados os problemas que ocorrem em prenhez e partos de gêmeos, a distocia e a retenção de placenta são os problemas mais frequentemente encontrados (Turman *et al.*, 1971; Bellows *et al.*, 1971, 1974). Em um estudo realizado com fêmeas multíparas e nulíparas, com a transferência de dois embriões, as taxas de distocia nos partos gemelares foram de 10% e 28%, e de retenção de placenta foram de 24% e 35% para novilhas, respectivamente (Guerra *et al.*, 1990). No comparativo entre partos simples e partos de gêmeos, as taxas de distocia foram de 20,6% e 46,9%, e de 1,9% e 27,9 para retenção de placenta, respectivamente (Echternkamp *et al.*, 1999). A indução prematura de partos também aumentou a proporção de fêmeas com retenção de placenta (Echternkamp *et al.*, 1987). Outros dos problemas que aumentam quando se produzem gêmeos são os abortos, que foram de 14,1% em prenhez gemelares, comparado a 3,6% em prenhez simples em bovinos (Echternkamp *et al.*, 1992).

Conforme mencionado, para uma fêmea bovina ser considerada produtiva, esta deve produzir um terneiro ao ano. Interessantemente, estimou-se que quando se produzem

gêmeos em gado de corte, aumenta-se a eficiência de produção de carne em 24% (Guerra *et al.*, 1990). Em estudo de Echterkamp *et al.* (2002), fêmeas com prenhez simples produziram 0,89 terneiros ao ano, com um terneiro com peso médio de 48,2 kg. Já as fêmeas com prenhez gemelares ou triplas produziram 1,52 ou 1,83 terneiros/vaca/ano, com a fêmea de parto gemelar com dois terneiros com 38,4 kg de peso médio. Aos 200 dias de idade, os terneiros simples e gêmeos alcançaram um peso médio de 264 kg e 240 kg, e no momento do abate, de 600 kg contra 589 kg, respectivamente, não havendo diferenças entre grupos, com um aumento de produtividade porque as fêmeas com partos gemelares pela produção de um novilho ou novilha a mais do que as fêmeas de partos simples.

3. HIPÓTESES E OBJETIVOS

3.1 Hipóteses

- a) A utilização combinada da IATF com a TETF de blastocistos bovinos produzidos *in vitro* aumenta a eficiência reprodutiva de rebanhos bovinos de corte de raças europeias por aumentar a produtividade em kg de terneiro ao desmame aos sete meses de idade em comparação a animais submetidos somente à IATF.
- b) A adoção de práticas de manejo diferenciadas para as fêmeas bovinas submetidas à IATF+TETF com gêmeos pode antecipar, remediar, evitar ou compensar os problemas de perdas inerentes à gemelaridade, ainda certificando uma maior produtividade em kg de terneiro ao desmame aos sete meses de idade em comparação a animais submetidos somente à IATF.

3.2 Objetivos gerais

- a) Aplicação eficaz de distintas estratégias tecnológicas e biotécnicas da reprodução para o aumento da eficiência reprodutiva dos rebanhos bovinos.
- b) Avaliar a viabilidade da IATF+TETF de embriões produzidos *in vitro* em bovinos de corte.

3.3 Objetivos específicos

- a) Comparar as taxas de prenhez total em fêmeas de corte inseminadas por IATF (grupo controle IATF) com fêmeas inseminadas por IATF, seguida da TETF com embriões

de PIV sete dias após (grupo experimental IATF+TETF) com e sem detecção de estro.

- b) Comparar as taxas de prenhez gemelar e perdas gestacionais em fêmeas de corte inseminadas por IATF (grupo controle IATF) com fêmeas inseminadas por IATF, seguida da TETF com embriões de PIV sete dias após (grupo experimental IATF+TETF)) com e sem detecção de estro.
- c) Comparar as taxas de distocia, sobrevivência pós-natal e de desenvolvimento de terneiros nascidos até os 100 dias de vida, de fêmeas de corte inseminadas por IATF (grupo controle IATF) com fêmeas inseminadas por IATF, seguida da TETF com embriões de PIV sete dias após (grupo experimental IATF+TETF), comparando prenhezes e produtos de prenhezes simples e gemelares.
- d) Quantificar o custo da implementação do uso combinado da IATF e TETF em vacas de corte múltiparas.

4. CAPÍTULO ÚNICO: Avaliação da eficiência reprodutiva em bovinos de corte após a utilização da Inseminação Artificial seguida da Transferência de Embriões produzidos *in vitro*

4.1 Introdução

A pecuária de corte é uma atividade que fomenta a economia nacional e do Estado. Por este motivo, esta atividade deve possuir índices satisfatórios de eficiência condizentes com a economia nacional, o que ainda não vem sendo alcançado de modo geral. Para uma fêmea bovina ser considerada produtiva, esta deve produzir um terneiro ao ano. Neste contexto, um objetivo importante da atividade de produção animal, visando um aumento na produtividade, é a melhoria da eficiência reprodutiva dos rebanhos, tendo em conta que a produção de terneiros é um dos aspectos essenciais que sustenta a cadeia de produção de carne e leite (Davis *et al.*, 1983). O uso de biotécnicas da reprodução tem sido de grande importância na produção pecuária, e uma forma de melhorar a eficiência reprodutiva dos rebanhos é o emprego eficaz de biotecnologias aplicadas à reprodução bovina. Muitos produtores já estão familiarizados com o uso de biotecnologias reprodutivas para o aumento da eficiência reprodutiva de seus rebanhos, o que pode

umentar ainda mais o potencial de eficiência econômica na agropecuária (Kues & Niemann, 2004).

Neste estudo, associamos duas biotécnicas da reprodução, a IATF e a TETF com embriões produzidos *in vitro* a partir de oócitos de ovários de fêmeas bovinas de corte obtidos em abatedouro, buscando comparar a eficiência reprodutiva subsequente e os índices de produção e produtividade em rebanhos de fêmeas bovinas de corte não lactantes, com ou sem a observação de estro seguida da IA antes da IATF. Além disto, visamos identificar distintos ajustes de manejo nestes rebanhos, com vistas ao atendimento de necessidades adicionais que prenhezes gemelares poderiam incidir nos rebanhos, em termos de escore de condição corporal das fêmeas gestantes, facilidade de parto, morbidade e mortalidade perinatal, entre outros parâmetros. Por final, também visamos avaliar a viabilidade econômica desta associação IATF+TETF em termos de custos para a produção de terneiros por fêmea/ano, além da avaliação do crescimento ponderal dos terneiros até o desmame, da taxa de prenhez inicial, final e na estação reprodutiva subsequente, e do potencial ganho genético pela utilização de sêmen de maior mérito genético para a PIV de embriões bovinos.

4.2 Material e Métodos

4.2.1 Manejo nutricional dos animais

Todos os animais utilizados nos experimentos estavam sob regime alimentar extensivo em campo nativo e suplementação mineral.

4.2.2 Local

As etapas dos experimentos envolvendo animais foram realizadas nas fazendas Santa Rita, Irion e São José, localizadas no município de Rosário do Sul, Rio Grande do Sul. As atividades realizadas nestas fazendas incluíram a seleção de fêmeas multíparas solteiras por ciclicidade e ECC, sincronização do ciclo estral, inseminação artificial em tempo fixo, transferência de embriões em tempo fixo, diagnóstico de prenhezes por palpação retal e/ou ultrassonografia, e acompanhamento das prenhezes, dos partos e do crescimento ponderal do terneiros até 3 a 4 meses de idade.

O processo de produção *in vitro* de embriões bovinos, incluindo as etapas de maturação *in vitro* (MIV), fecundação *in vitro* (FIV) e cultivo *in vitro* (CIV), foram realizadas no Laboratório de Embriologia e Biotécnicas da Reprodução, Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

As fazendas Santa Rita e Irion possuem o mesmo proprietário, com a quantidade total de animais de 2.026, das quais 1.200 eram fêmeas com cria ao pé, 600 fêmeas solteiras, 200 novilhas e 26 touros. Na fazenda São José, o total de animais era de 1.484, das quais 542 vacas com cria ao pé e solteiras, 70 novilhas, 480 terneiros, 17 touros, 320 ovelhas e 55 cavalos.

4.2.3 Animais

Foram utilizadas 474 fêmeas bovinas solteiras multíparas de diferentes cruzamentos de raças de corte com predominância Hereford, Angus e Simmental, formando quatro lotes, nas três fazendas. Os animais utilizados foram caracterizados e selecionados quanto às condições zootécnicas, reprodutivas, produtivas e nutricionais para compuseram dois grupos experimentais (I e II).

4.2.4 Seleção das fêmeas para execução dos experimentos

As fêmeas foram identificadas com brincos numerados, inseridos em ambas as orelhas, com a caracterização da pelagem e grau de sangue com fenótipo desde *Bos taurus* var. *taurus* até *Bos taurus* var. *indicus*. Selecionaram-se fêmeas multíparas com escore de condição corporal entre 2,0 e 3,5 (em escala de 1 a 5), boa dentição, e cíclicas ou com ciclicidade iminente. O ECC das fêmeas foi reavaliado em todas as etapas dos experimentos, incluindo as etapas de seleção dos animais (outubro de 2016), IATF (novembro de 2016), diagnóstico de prenhez aos 30 dias (dezembro de 2016), reconfirmação das prenhezes e diagnósticos do gênero fetal e de gemelaridade aos 60 dias (janeiro de 2017), diagnóstico de prenhez ao final da estação reprodutiva (Dia 125, março de 2017), ao parto (julho a setembro de 2017) e 3 a 4 meses após o parto (dezembro de 2017).

4.2.5 Grupos experimentais

A quantidade de fêmeas distribuídas nos grupos experimentais foi baseada na disponibilidade de animais no período que imediatamente antecedeu o início dos experimentos (Outubro de 2016). Dois experimentos foram conduzidos, sendo o Experimento I sem observação de estro antes da IATF, e o Experimento II com observação de estro seguida da IA, antes da IATF (Tabela 5). As fêmeas utilizadas no Experimento I (sem detecção de estro), conduzido nas fazendas Irion e Santa Rita, foram segregadas em dois grupos: (a) Grupo Controle (IATF), as quais foram submetidas a um protocolo de sincronização de ovulação e inseminação artificial em tempo fixo (IATF), e (b) Grupo IATF+TETF, as quais foram submetidas às mesmas condições para IATF do Grupo Controle, sendo que após sete dias, receberam um embrião produzido *in vitro* (IATF+TETF), transferido ipsilateral ao ovário com um único corpo lúteo palpável e compatível com o dia do ciclo estral. Não houve detecção de estro antes da IATF neste experimento.

As fêmeas do Experimento II (com detecção de estro), conduzido na fazenda São José, também foram segregadas em dois grupos: (a) Grupo Controle (IATF), as quais foram submetidas a um protocolo de sincronização de ovulação e IATF, com observação de estro a cada 12 h desde o final do protocolo e IA 12 h após o estro, até o horário da IATF para as fêmeas remanescentes, e (b) Grupo IATF+TETF, as quais foram submetidas às mesmas condições para IATF do Grupo Controle, também com controle de estro e IA até a IATF, sendo que após sete dias, receberam um embrião produzido *in vitro* (IATF+TETF), transferido ipsilateral ao ovário com um único corpo lúteo palpável e compatível com o dia do ciclo estral.

Nos Experimentos I e II foram realizadas observações de retorno ao estro a partir de 18 dias após a IATF, durante um período de 10 dias, seguidos da introdução de touros da raça Angus puros de origem (relação touro/vaca de 1:25) considerados aptos à reprodução após exame andrológico realizado antes do início da estação de monta (Novembro de 2016 até Fevereiro de 2018).

Tabela 5. Número e distribuição das fêmeas nos diferentes grupos de IATF ou IATF+TETF nos Experimentos I e II

Experimento	Grupo	Deteção de estro	n
Experimento I	IATF	Não	201
	IATF+TETF	Não	185
	Total		386
Experimento II	IATF	Sim	44
	IATF+TETF	Sim	44
	Total		88
Total			474

4.2.6 Protocolo de sincronização da ovulação e inseminação em tempo fixo

A sincronização do ciclo estral e da ovulação das fêmeas de ambos os experimentos foi realizada com o seguinte protocolo, e conforme a Figura 7:

Dia -11: Colocação de dispositivo intravaginal de 1 g de progesterona (Primer[®], Tecnopec, Brasil) e administração de 2 mg de benzoato de estradiol (RIC-BE[®], Tecnopec, Brasil) por via intramuscular (IM).

Dia -2: Retirada do dispositivo intravaginal de progesterona, concomitante à administração de 0,48 mg de cloprostenol sódico (análogo da PGF_{2α}, Estron[®], Tecnopec, Brasil), 400 UI de eCG (Folligon[®] Intervet, Schering-Plough Animal Health, Holanda) e 0,5 mg de cipionato de estradiol (E.C.P.[®], Pfizer, EUA).

Dia 0: Inseminação artificial em tempo fixo, 48 h após a retirada do dispositivo intravaginal.

Dia 7: Inovulação de um embrião por fêmea na porção anterior do corno uterino ipsilateral ao ovário com um CL (Grupo IATF+TETF).

No Experimento II, as fêmeas que manifestaram estro entre o Dia -2 e o Dia 0, em duas observações diárias de 60 min, a cada 12 h, foram inseminadas 12 h após a deteção do estro, com as fêmeas remanescentes sendo submetidas à IATF 48 h após a retirada do dispositivo intravaginal.

As fêmeas do Experimento I foram inseminadas em tempo fixo com doses de sêmen comercial de touro da raça Simmental, enquanto que e as fêmeas do Experimento

II, dependendo do cruzamento, foram inseminadas com sêmen comercial de touros das raças Brangus, Braford, Hereford ou Nelore.

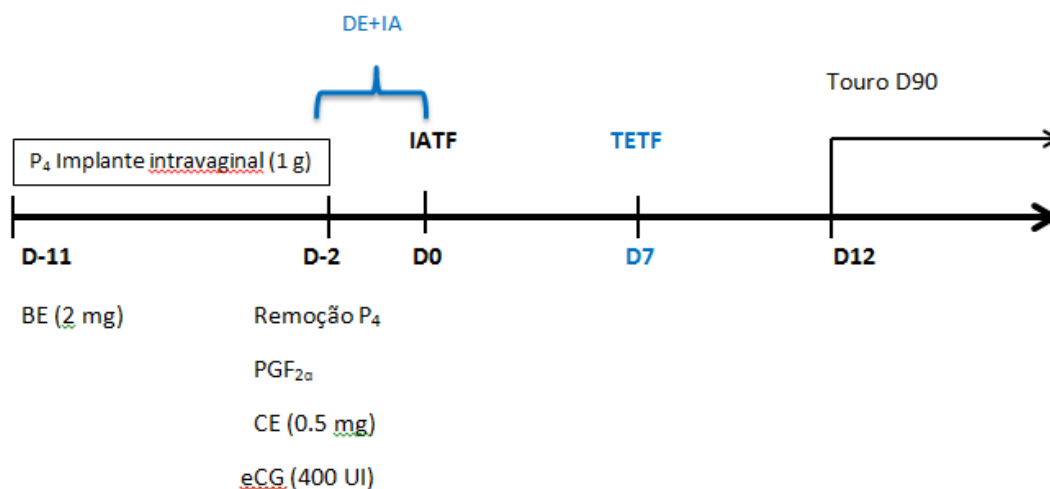


Figura 7. Protocolo padrão de sincronização do estro das fêmeas bovinas de corte solteiras utilizadas nos Experimentos I e II. EB: benzoato de estradiol. P₄: progesterona. PGF_{2α}: 0.48 mg sodico cloprostenol. EC: cipionato de estradiol. eCG: gonadotrofina coriônica equina. DE: detecção de estro. AI: inseminação artificial. IATF: em tempo fixo inseminação artificial. TETF: transferência de embrião em tempo fixo. Azul claro: variações de acordo com o delineamento experimental (veja texto).

4.2.8 Produção *in vitro* (PIV) de embriões

Doses de sêmen comercial de touro da raça Angus foram utilizadas para a produção *in vitro* dos embriões transferidos às fêmeas do Experimento I, enquanto os embriões do Experimento II foram produzidos utilizando sêmen comercial de touro da raça Brangus.

4.2.8.1 Obtenção dos oócitos

Os embriões bovinos produzidos *in vitro* foram produzidos a partir de oócitos provenientes de ovários de abatedouro (Frigorífico Frigoleo, São Leopoldo, RS, Brasil). Para tanto, os ovários foram transportados do abatedouro até o laboratório em um recipiente térmico contendo PBS aquecido a 33°C. Ao chegar ao laboratório, os complexos *cumulus*-oócito (CCOs) foram recuperados por meio de aspiração de folículos com diâmetro entre 3 e 8 mm, com auxílio de uma agulha 18 G acoplada a uma seringa descartável, e armazenados em um tubo de centrifuga de 15 mL. O sedimento foi

transferido para placas de Petri de 90 mm contendo PBS acrescido com 0,4% de albumina sérica bovina (BSA) para a recuperação dos CCOs, sob estereomicroscópio (15x). Os CCOs obtidos foram lavados e transferidos a uma placa de Petri de 35 mm contendo meio de manutenção TCM-199 suplementado com 2,4 mM de NaHCO₃, 0,2 mM de piruvato de sódio, 50 µg de gentamicina e 1 mg de BSA, para então serem avaliados e selecionados morfológicamente conforme descrito por Hasler *et al.* (1995). Os CCOs considerados viáveis apresentavam forma esférica, com três ou mais camadas compactas de células do *cumulus* e citoplasma homogêneo.

4.2.8.2 Maturação *in vitro* (MIV)

Os CCOs previamente selecionados foram submetidos à MIV em gotas de 100 µL de meio de maturação constituído por TCM-199 (Sigma-Aldrich, EUA), suplementado com 10% de soro fetal bovino (Invitrogen, Carlsbad, EUA), 2,4 mM de NaHCO₃, 0,2 mM piruvato de sódio, 50 µg de gentamicina, 5 µg/mL de FSH (Folltropin-V, Bioniche Animal Health, Belleville, ON, Canadá), 5 µg/mL de LH (Lutropin, Bioniche Animal Health), 1 µg/mL de estradiol (Sigma-Aldrich) e 100 ng/mL de fator epidermal de crescimento (EGF, (Sigma-Aldrich), sob óleo mineral. Os CCOs foram maturados *in vitro* por 22 a 24 h em incubadora a 38,8°C em atmosfera de umidade saturada e 5% de CO₂.

4.2.8.3 Fecundação *in vitro* (FIV)

Após a MIV, os CCOs foram lavados e transferidos para gotas de 50 µL (15 CCOs/gota) de meio de fecundação Fert-TALP sob óleo mineral. A palheta de sêmen de touro foi descongelada em banho-maria a 37°C por 50 s, e o conteúdo da palheta depositado em tubos de microcentrífuga. Imediatamente após o descongelamento, foi avaliada a motilidade das células espermáticas, vigor de motilidade e concentração da amostra. Para a segregação espermática e indução da capacitação espermática *in vitro*, os espermatozoides foram selecionados em gradiente descontínuo (45%/90%) de Percoll® (Nutricell, Campinas, SP, Brasil) em centrífuga a 500 g por 8 min. Desprezou-se o sobrenadante e centrifugou-se novamente o sedimento em meio Fert-TALP por 2 min. Após a seleção, o sedimento formado foi suspenso em meio de fecundação, obtendo-se uma dose inseminante de 1x10⁶ espermatozoides/mL. Os CCOs foram incubados com os espermatozoides por 20 h nas mesmas condições da MIV.

4.2.8.4 Cultivo *in vitro* (CIV)

Após a FIV, as estruturas foram transferidas para o meio de manutenção com o objetivo de remover as células do *cumulus* mediante pipetagem. As estruturas recuperadas foram lavadas três vezes e transferidas para o meio de cultivo SOF modificado, suplementado com aminoácidos, 1,5 mM de D-glucose, e 0,4% de BSA, em grupos de 10 a 20 oócitos por gota de 100 µL, e cultivados em incubadora a 38,8°C com atmosfera controlada (5% de O₂, 5% de CO₂, 90% de N₂ e umidade do ar saturada) por sete dias até o estágio de blastocisto.

4.2.9 *Transferência de embriões (TE) ou inovulação*

Os embriões produzidos *in vitro* no estágio de blastocisto e blastocisto expandido foram envasados em palhetas de 0,25 mL e transportados à temperatura de 37°C até as fazendas, onde foram transferidos individualmente a través do cérvix para fêmeas que tinham só um CL e aquelas que não tinham ou tinham mais de um não se transferiu de esta maneira foram selecionadas aleatoriamente dentre as inseminadas em cada Experimento, no corno uterino ipsilateral ao ovário que apresentava apenas um corpo lúteo. Fêmeas com mais de um corpo lúteo foram destinadas ao Grupo somente de IATF.

4.2.10 *Diagnóstico de prenhez e acompanhamento gestacional*

Após 30 e 60 dias da IATF, e 35 dias após a remoção dos touros (final da estação reprodutiva), foi realizado o diagnóstico prenhez (Dias 30, 60 e 125), do gênero fetal e de gemelaridade (Dia 60) por meio de palpação retal e/ou ultrassonografia transretal.

4.2.11 *Monitoramento dos partos e dos neonatos*

Todas as fêmeas periparturientes foram agrupadas em uma área próxima dos centros de manejo em cada propriedade, onde eram monitoradas a cada 4 a 6 h para sinais de parto.

4.2.11.1 *Partos eutócicos e distócicos*

Os partos foram classificados quanto ao nível de facilidade ou dificuldade, de acordo com a Tabela 6 abaixo, proposto por Olson *et al* (2009).

Tabela 6. Classificação dos partos eutócicos e distócicos pelo nível de facilidade ou dificuldade de parição

Nível	DESCRIÇÃO DO GRAU DE FACILIDADE DE PARTO
1	Parto eutócico, espontâneo sem auxílio obstétrico
2	Parto eutócico, espontâneo, com leve auxílio obstétrico
3	Parto distócico, espontâneo, com pouca tração fetal
4	Parto distócico, espontâneo, com tração fetal forçada
5	Parto distócico, espontâneo ou induzido, por Cesareana

4.2.11.2 *Manejo dos neonatos no período hebdomadal imediato*

Após o parto, os neonatos eram submetidos à pesagem, à identificação do sexo e de freemartinismo, resenha e pelagem, à cura do umbigo com solução de iodo a 7% em álcool, sendo identificados por meio de brincos auriculares em ambas as orelhas. Amostra de sangue para separação de soro e pelos da cauda (acondicionados em envelopes identificados individualmente) foram coletados, para futura avaliação de paternidade. As amostras de soro foram congeladas a -20°C. Posteriormente, no laboratório de Virologia da FAVET/UFRGS essas amostras foram agrupadas em *pools* de 50 e utilizadas em diagnóstico molecular de ampliação do DNA com auxílio do PCR para detecção do vírus da Diarreia Viral Bovina (DVBV) junto com todos os *pools* resultando negativos para p BVDV.

4.2.12 *Pesagem dos terneiros aos 110 dias de idade*

Todos os terneiros foram submetidos à pesagem em balança eletrônica entre três e quatro meses de idade (110 dias, em média) para a avaliação do ganho de peso médio por animal.

4.2.13 *Análise estatística dos dados*

Os dados qualitativos entre os grupos, por experimento, foram analisados pelo teste do Chi Quadrado, comparando-se as taxas de prenhez por dia da prenhez, taxas de

perdas gestacionais por dia da prenhez, proporção do sexo fetal no Dia 60 e ao parto, taxa de gemelaridade e de freemartinismo, facilidade de parto e sobrevivência pós-parto, para $P < 0,05$. Os dados quantitativos entre os grupos, por experimento, foram comparados por ANOVA (Proc GLM), com comparações pareadas pelo Teste de Tukey, incluindo as variáveis para o ECC, dias em prenhez, pesos dos neonatos e ganho de peso médio diário dos terneiros nos primeiros 3-4 meses de vida. O peso aos 3-4 meses de idade foi comparado por ANOVA e ANCOVA, utilizando o dia da pesagem como co-variável. A análise estatística foi realizada utilizando o pacote estatístico do programa Minitab (State College, EUA), para $P < 0,05$.

5. RESULTADOS

5.1 Taxas de prenhez total após IATF e IATF+TETF

As taxas de prenhez no Dia 30 foram menores nos grupos de IATF (104/201, 51,7%) do que no grupo IATF+TETF (125/185, 67,6%) sem detecção de estro (Experimento I), mas foram semelhantes entre IA/IATF (31/44, 70,5%) e IA/IATF+TETF (30/44, 68,2%) após a detecção de estro pré-inseminação (Experimento II), conforme ilustrado na Figura 8.

5.2 Taxas de prenhez gemelares após IATF e IATF+TETF

As taxas de prenhez gemelares foram significativamente diferentes nos grupos IATF+TETF do que nos grupos IATF, para ambos os experimentos, conforme antecipado (Figura 11). Embora comparações estatísticas entre experimentos não sejam acuradas, percebeu-se uma semelhança nas taxas de gemelaridade entre os grupos IATF e entre IATF+TETF entre os experimentos, com uma aparente maior probabilidade de gemelaridade no grupo IATF+TETF após observação de estro seguida da IA (Figura 9).

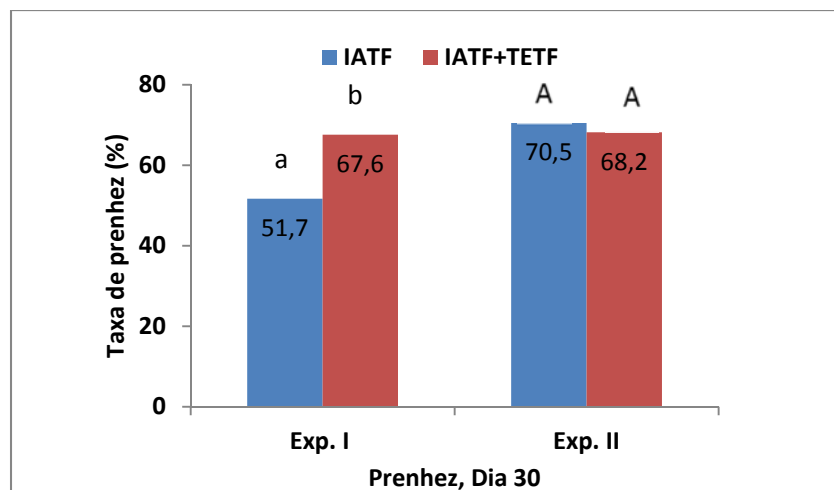


Figura 8. Taxas de prenhez no Dia 30 entre os grupos de IATF e de IATF+TETF nos Experimentos I (a,b: $P<0,05$) e II (A,B: $P<0,05$).

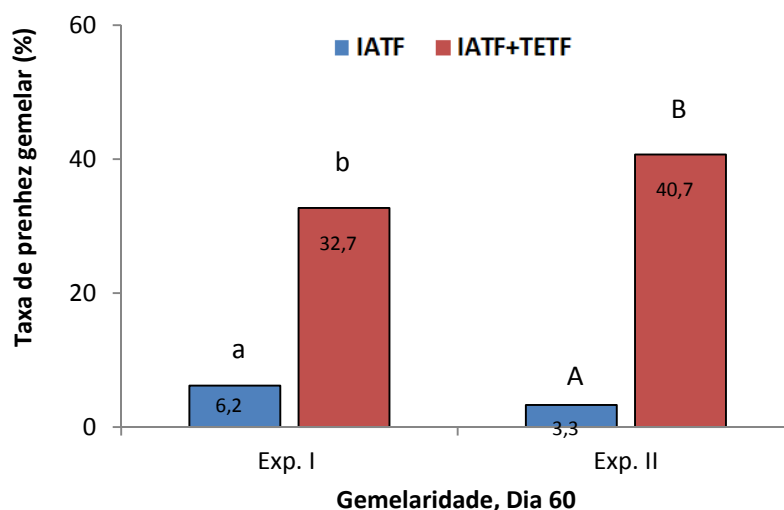


Figura 9. Taxas de prenhez gemelares no Dia 60 de prenhez entre os grupos de IATF e de IATF+TETF nos Experimentos I (a,b: $P<0,05$) e II (A,B: $P<0,05$).

5.3 Perdas gestacionais até o parto.

As perdas de prenhez observadas até o parto, momento do diagnóstico final da estação reprodutiva, foram maiores no Grupo IATF+TETF (31/125, 24,8%) do que o Grupo IATF nos Experimentos I e II (Figura 10), sem diferenças observadas no Experimento I para perdas entre prenhez simples (29/181, 16,0%) e gemelares (13/48, 27,0%), e no Experimento II, com perdas entre prenhez simples (3/46, 6,5%) e gemelares (3/15, 20,0%).

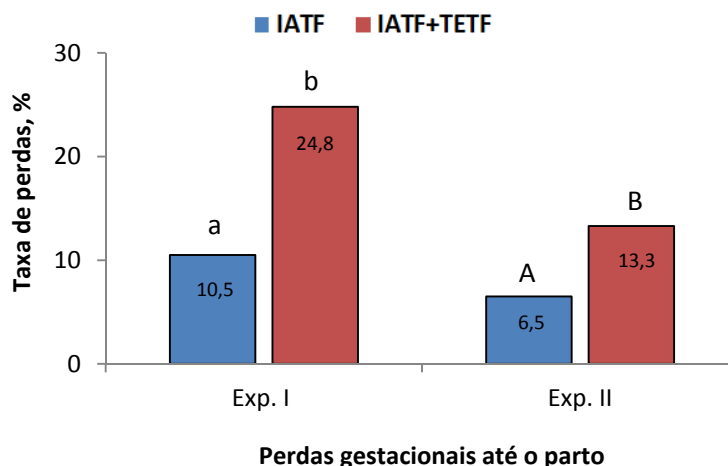


Figura 10. Taxas de perdas gestacionais até o parto de prenhez entre os grupos de IATF e de IATF+TETF nos Experimentos I (a,b: $P<0,05$) e II (A,B: $P<0,05$).

5.4 Taxas de prenhez no final da estação reprodutiva

No geral, os resultados foram semelhantes entre os grupos após o final da estação de reprodução, sendo 91,5% (184/201) e 90,8% (168/185) para IATF e IATF + TETF sem DC (Experimento I), e 84,1% (37/44) e 84,1% (37/44) para IATF e IATF + TETF com DC (Experimento II), de acordo com a Figura 11.

5.5 Número de fetos por serviço e por prenhez

O Grupo IATF+TETF apresentou um maior número de fetos por serviço ou por fêmea prenhe do que o Grupo IATF, em ambos os experimentos (Figura 12).

5.6 Características dos neonatos e terneiros aos 110 dias de idade

Independente dos grupos experimentais, os terneiros de prenhezas gemelares nasceram em média 12,5 dias antes, pesaram individualmente 33% a menos, e apresentaram uma mortalidade neonatal 25% superior aos terneiros de prenhez simples (Figura 13).

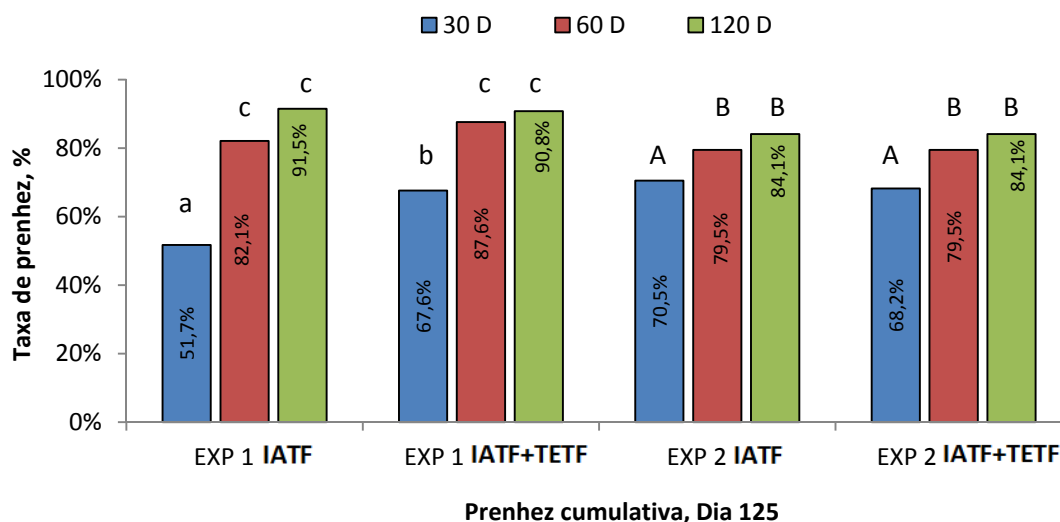


Figura 11. Taxa de prenhez cumulativa até o final da estação reprodutiva (90 dias), 35 dias após a remoção dos touros, por diagnósticos nos Dias 30 (30 D), 60 (60 D) e 125 (120 D) entre os Grupos IATF e IATF+TETF nos Experimentos I (a,b,c: $P<0,05$) e II (A,B: $P<0,05$).

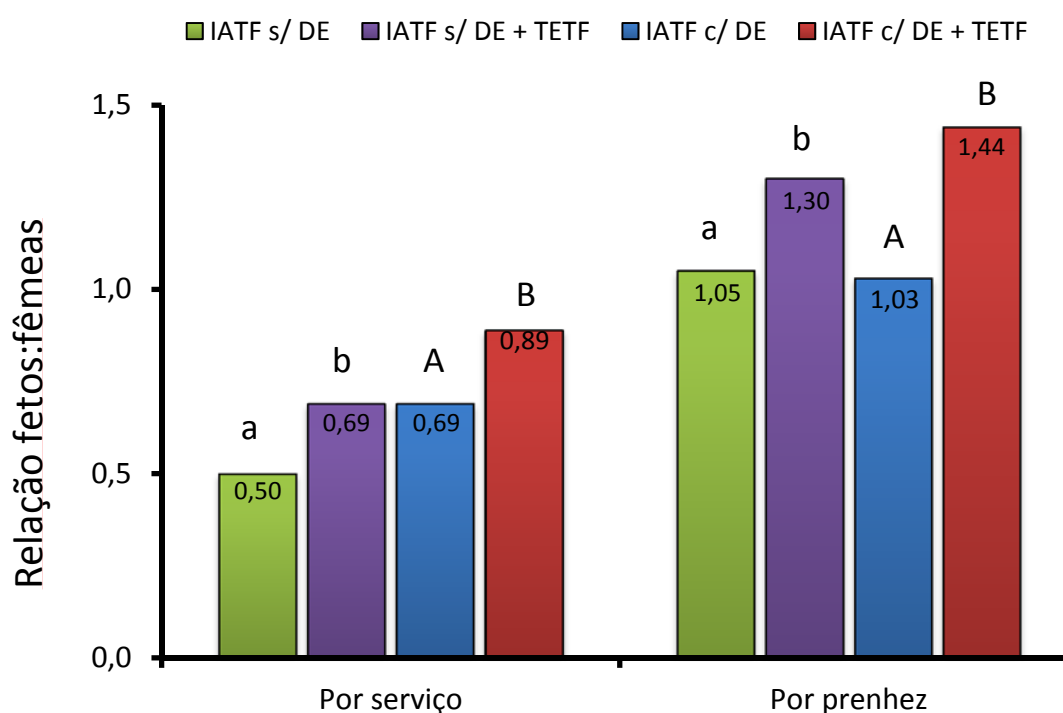


Figura 12. Número de fetos por fêmea servida e por fêmea prenhez entre os Grupos IATF e IATF+TETF nos Experimentos I (sem detecção de estro, DE; a,b: $P<0,05$) e II (com DE; A,B: $P<0,05$).

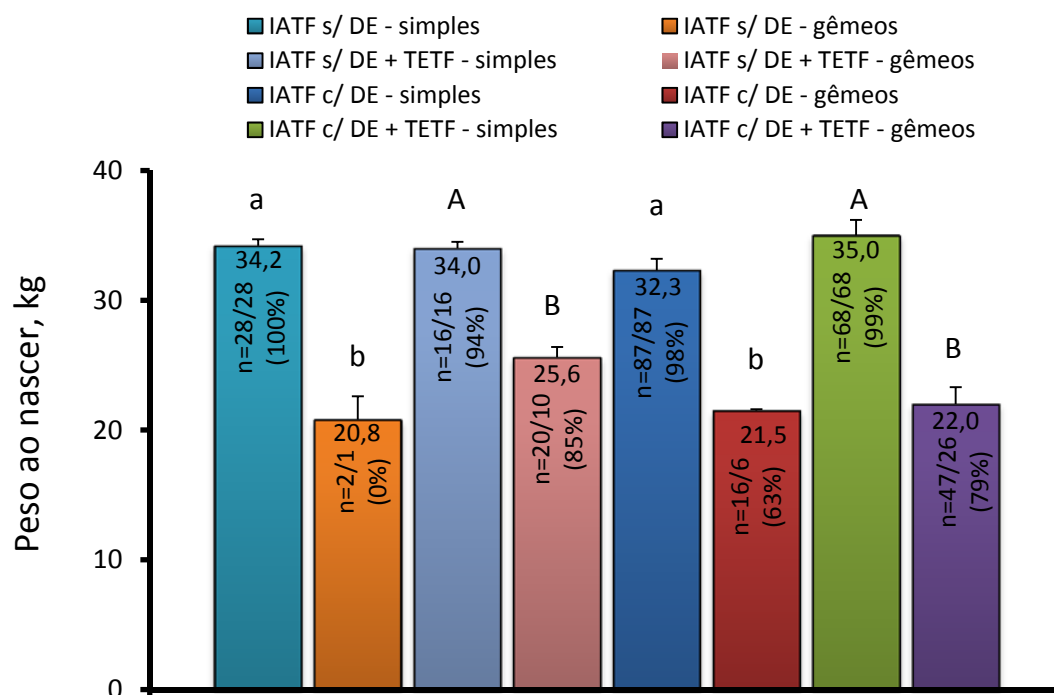


Figura 13. Peso dos terneiros ao nascimento (kg), número de animais nascidos por fêmea (n/n), e taxa de sobrevivência (%) por grupo experimental (IATF, IATF+TETF) e pelo número de terneiros nascidos por fêmea (simples, gêmeos) nos Experimentos I (sem detecção de estro, DE; a,b: P<0,05) e II (com DE; A,B: P<0,05).

Tabela 7. Peso dos terneiros nascidos de PIV de embriões e terneiros nascidos de IATF nas fêmeas múltiparas submetidas à IATF seguida da TETF nos Experimentos I e II

Grupo		Peso terneiros nascidos IATF		Peso terneiros nascidos PIV	
		n	Peso (kg)	n	Peso (kg)
Experimento I	IATF	87	32,3	-	-
		16	21,5	-	-
	IATF+TETF	43	33,7	25	35,4
		22	24,8	25	25,8
Experimento II	IATF	28	34,2	-	-
		2	20,8	-	-
	IATF+TETF	10	33,3	6	34,5
		9	20,1	10	25,8

5.7 Parâmetros produtivos das vacas solteiras submetidas à IATF seguida da TETF sete dias após, nos Experimentos I e II

Houve diferença significativa entre os dias de prenhez, assim como nos dias entre pesagem, ganho de peso total e ganho de peso dia entre os Experimentos I e II ($P < 0.05$). Também houve diferença significativa dos dias de prenhez, dos pesos dos terneiros ao nascimento e aos 3-4 meses entre os grupos IATF e IATF+TETF, e entre os grupos com gêmeos e simples ($P < 0.05$). Porém, os pesos aos 111 dias foram semelhantes, uma vez ajustados os pesos por ANCOVA. Já em relação ao sexo, não houve diferenças significativas entre machos e fêmeas nos diferentes grupos com respeito ao peso ao nascer, peso aos 110 dias (3-4 meses) e ganho de peso diário. Também não foram encontradas diferenças significativas entre os experimentos e grupos com e sem TETF, com exceção do peso ajustado por ANCOVA, que foi menor no Experimento II, Grupo IATF+TETF (Tabela 8).

Tabela 8. Parâmetros fisiológicos e produtivos dos terneiros do nascimento aos 3-4 meses de idade, por experimento (I, II) e/ou por grupo (IATF, IATF+TETF).

Parâmetros		Dias em prenhez	Peso ao nascimento	Peso no Dia 110	Peso no Dia 111, ajustado*	Dias da pesagem	Ganho, Kg	Ganho, kg/dia
Experimento	I	284,6 ± 0,4 ^a	32,0 ± 0,4 ^a	118,1 ± 1,2 ^a	112,4 ± 3,2 ^a	110,9 ± 0,5 ^a	86,0 ± 1,1 ^a	0,777 ± 0,1 ^a
	II	278,9 ± 0,9 ^b	30,3 ± 0,8 ^a	107,7 ± 2,2 ^a	111,9 ± 4,2 ^a	107,0 ± 0,9 ^b	77,4 ± 2,1 ^b	0,727 ± 0,1 ^b
Grupo	IATF	284,1 ± 0,7 ^a	32,1 ± 0,6 ^a	113,1 ± 1,8 ^a	110,9 ± 6,0 ^a	106,9 ± 0,7 ^a	80,9 ± 1,7 ^a	0,758 ± 0,1 ^a
	IATF+TETF	279,4 ± 0,7 ^b	30,2 ± 0,6 ^b	112,7 ± 1,8 ^b	110,7 ± 6,9 ^a	111,0 ± 0,7 ^b	82,5 ± 1,6 ^a	0,747 ± 0,1 ^a
Experimento - grupo	I - IATF	286,3 ± 0,7 ^a	32,7 ± 0,6 ^a	116,8 ± 1,7 ^a	114,2 ± 6,8 ^a	109,1 ± 0,7 ^a	84,0 ± 1,6 ^a	0,770 ± 0,1 ¹
	I - IATF+TETF	282,8 ± 0,6 ^a	31,4 ± 0,5 ^a	119,5 ± 1,6 ^a	107,5 ± 16,7 ^{ab}	112,8 ± 0,6 ^a	88,0 ± 1,5 ^a	0,784 ± 0,1 ^a
	II - IATF	281,8 ± 1,3 ^a	31,6 ± 1,1 ^a	109,4 ± 3,2 ^a	120,6 ± 6,9 ^a	104,7 ± 1,3 ^a	77,8 ± 3,0 ^a	0,745 ± 0,1 ^a
	II - IATF+TETF	276,0 ± 1,2 ^a	28,9 ± 1,1 ^a	106,0 ± 3,1 ^a	100,8 ± 7,5 ^b	109,3 ± 1,3 ^a	77,0 ± 2,9 ^a	0,710 ± 0,1 ^a

*Valores de peso ajustados por ANCOVA, utilizando o dia da pesagem como co-variável (111,1 ± 7,1 dias)

^{a,b}: Números seguidos de letras desiguais na coluna, por parâmetro em avaliação, diferem estatisticamente, para P<0.05

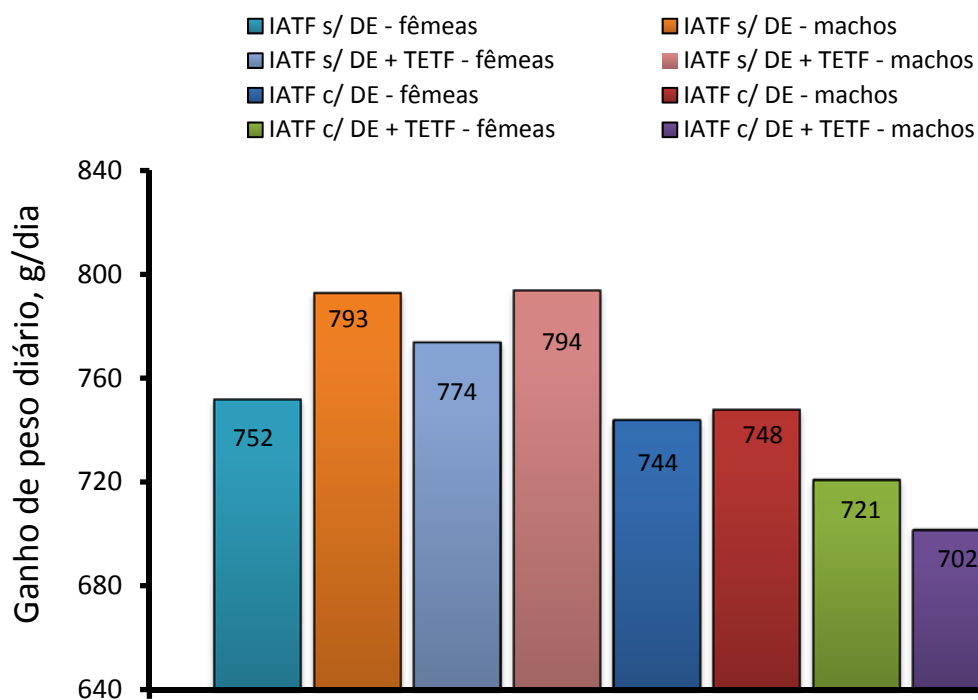


Figura 14. Ganho de peso médio diário (g/dia, média \pm dp) de terneiros fêmeas e machos, do nascimento ao Dia 110 (médio) de vida, por grupo experimental (IATF, IATF+TETF), por Experimento (I, sem detecção de estro, DE; II, com DE).

Em geral, os ganhos diários de peso de terneiros fêmeas e machos até os 110 dias meses de idade foram semelhantes entre os grupos experimentais e entre experimentos, variando de 702 a 794 g/dia (Figura 14). Não houve diferença de ganho de peso médio diário entre terneiros de prenhez simples ou de gêmeos, por experimento, mas quando analisado, independente dos experimentos, terneiros gêmeos do Grupo IATF+TETF tiveram um ganho de peso médio diário menor do que os terneiros de prenhez simples (Figura 15). Terneiros de prenhez simples tiveram um ganho diário médio de 769 ± 12 g/dia, enquanto que terneiros de prenhez gemelares obtiveram um ganho médio de peso/dia de 693 ± 22 g/dia, sendo inferior aos simples, independente do experimento ou do grupo experimental.

O ECC das fêmeas não diferiu significativamente entre experimentos, grupos ou prolificidade, com algumas exceções apresentadas na Tabela 9. As maiores diferenças puderam ser observadas entre o início das atividades e a proximidade da IATF, e dias de diagnósticos de prenhez aos 30, 60 e 125 dias, não diferindo ao parto e aos 110 dias. Percebe-se um aumento gradual do ECC, presumindo-se uma relação com o clima, ambiente e disponibilidade de forragem ao longo do estudo. Da mesma forma, a redução do ECC observada ao parto pode estar relacionada a fatores nutricionais. Já o ECC aos

110 dias também apresenta o fator terneiro/lactação, o que contribui para um menor ECC. Interessantemente, as fêmeas com gêmeos tiveram um ECC maior aos 11 dias do que as fêmeas sem gêmeos.

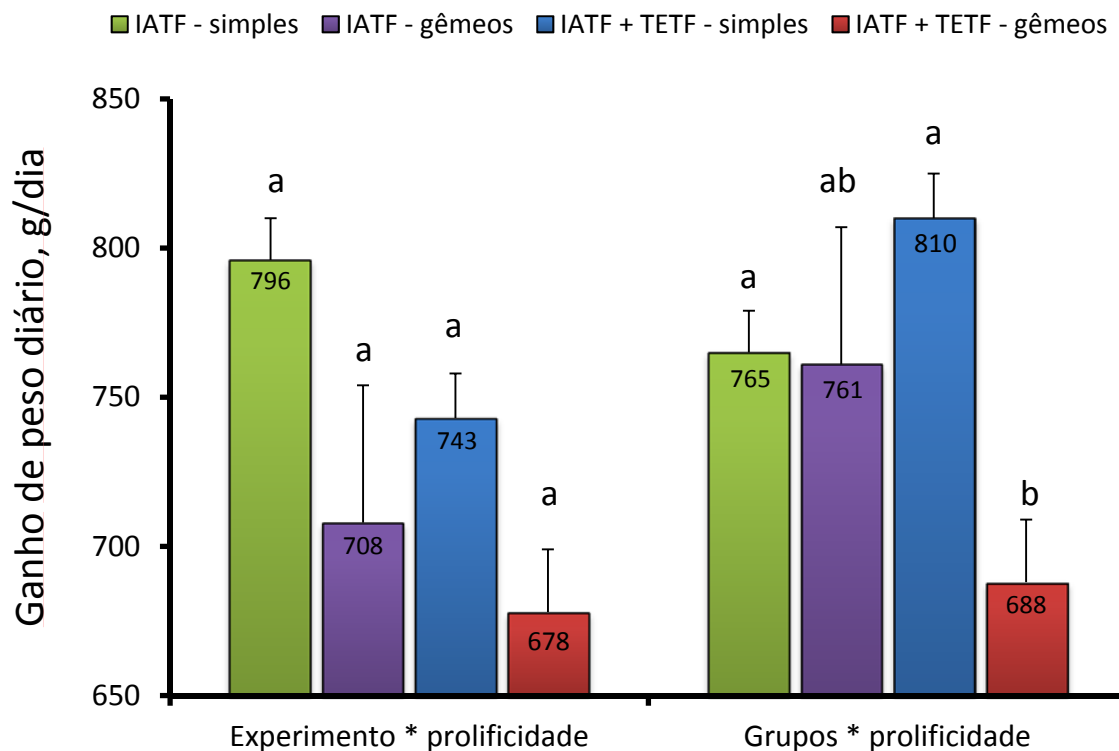


Figura 15. Ganho de peso médio diário (g/dia, média \pm dp) de terneiros de nascimento simples ou de gêmeos, do nascimento ao Dia 110 (médio) de vida, por Experimento vs. prolificidade (I, sem detecção de estro, DE; II, com DE), e por grupo experimental vs. prolificidade (IATF, IATF+TETF). a,b: $P < 0,05$.

Tabela 9. Comportamento do escore de condição corporal (ECC) das fêmeas de corte solteiras utilizadas no estudo, desde o início da seleção até a pesagem dos terneiros aos 3-4 meses de idade, por experimento (I, II), por grupo (IATF, IATF+TETF) e por prolificidade.

Parâmetros		ECC						
		Dia -11	Dia -2	Dia 30	Dia 60	Dia 125	Parto	Dia 110
Experimento	I	2,6 ± 0,0 ^{aA}	3,0 ± 0,0 ^{aB}	3,1 ± 0,0 ^{aB}	3,0 ± 0,0 ^{aB}	3,0 ± 0,0 ^{aB}	2,6 ± 0,0 ^{aA}	2,4 ± 0,0 ^{aA}
	II	2,4 ± 0,0 ^{bA}	2,5 ± 0,0 ^{bB}	2,8 ± 0,0 ^{bB}	3,0 ± 0,0 ^{aB}	3,0 ± 0,0 ^{aB}	2,6 ± 0,0 ^{aA}	3,0 ± 0,0 ^{bB}
Grupo	IATF	2,5 ± 0,0 ^{aA}	2,7 ± 0,0 ^{aB}	2,9 ± 0,0 ^{aB}	3,0 ± 0,0 ^{aB}	3,0 ± 0,0 ^{aB}	2,6 ± 0,0 ^{aA}	2,7 ± 0,0 ^{aB}
	IATF+TETF	2,5 ± 0,0 ^{aA}	2,7 ± 0,0 ^{aB}	3,0 ± 0,0 ^{aB}	3,0 ± 0,0 ^{aB}	3,1 ± 0,0 ^{bB}	2,6 ± 0,0 ^{aA}	2,7 ± 0,0 ^{aB}
Prolificidade	Simples	2,5 ± 0,0 ^{aA}	2,7 ± 0,0 ^{aB}	2,9 ± 0,0 ^{aB}	3,0 ± 0,0 ^{aB}	3,0 ± 0,0 ^{aB}	2,6 ± 0,0 ^{aA}	2,5 ± 0,0 ^{aA}
	Gêmeos	2,5 ± 0,0 ^{aA}	2,7 ± 0,0 ^{aB}	3,0 ± 0,0 ^{aB}	3,0 ± 0,0 ^{aB}	3,0 ± 0,0 ^{aB}	2,5 ± 0,0 ^{aA}	2,9 ± 0,0 ^{bB}

^{a,b}: Números seguidos de letras desiguais na coluna, por parâmetro em avaliação, diferem estatisticamente, para P<0.05.

^{A,B}: Números seguidos de letras desiguais na linha diferem estatisticamente, para P<0.05.

5.8 Classificação dos partos eutócicos e distócicos pelo nível de facilidade ou dificuldade de parição das fêmeas múltíparas cíclicas submetidas à IATF seguida da TETF nos Experimentos I e II

Houve 97% e 100% de partos eutócicos nos grupos IATF, e nos grupos IATF+TETF houve 95% e 96% de partos eutócicos nos Experimentos I e II, respectivamente, enquanto que a o porcentagem de distocia no Experimento I entre partos simples e gêmeos foi de 1,9% (3/155) e 9,3% (3/32) 9,3%, respectivamente, e no Experimento II, de 2,3% (1/44) e 0% (0/44) Tabela 10.

Tabela 10. Classificação dos partos eutócicos e distócicos pelo nível de facilidade ou dificuldade de parição, por experimento (I, II) e/ou por grupo (IATF, IATF+TETF).

Nível*	Experimento I				Experimento II				Total			
	IATF		IATF+TETF		IATF		IATF+TETF		IATF		IATF+TETF	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
1	89	96,0	87	93,0	27	93,0	20	77,0	116	95,0	107	89
2	1	1,0	2	2,0	2	7,0	5	19,0	3	2,0	7	6,0
3	1	1,0	5	5,0	0	0,0	1	4,0	1	1,0	6	5,0
4	1	1,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	1,0	0	0,0
5	1	1,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	1,0	0	0,0
Total	93	76,0	94	78,0	29	24	26	22,0	122	50,0	120	50,0

*Níveis 1 e 2 foram classificados como partos eutócicos, e níveis 3, 4 e 5 foram classificados como partos distócicos.

5.9 Sexagem fetal por ultrassonografia no dia 60 da prenhez nas vacas solteiras submetidas à IATF seguida da TETF sete dias após, nos Experimentos I e II

No Experimento I, no grupo IATF houve um erro na sexagem fetal aos 60 dias de 9% (8/89), e para o grupo de IATF+TETF, houve um erro de 3% (3/109), enquanto que no Experimento II, para um número menor de animais, não houve erro na sexagem fetal aos 60 dias de prenhez nos grupos IATF e IATF+TETF (Tabela 11).

Tabela 11. Sexagem fetal por ultrassonografia no Dia 60 da prenhez nas fêmeas múltiparas submetidas à IATF seguida da TETF nos Experimentos I e II

	Experimento I				Experimento II				Total			
	IATF		IATF+TETF		IATF		IATF+TETF		IATF		IATF+TETF	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Fetos Totais	103	77,0	115	76,0	30	23,0	37	24,0	133	47,0	152	53,0
Não sexados	14	14,0	6	5,0	22	73,0	32	86,0	36	27,0	38	25,0
Sexados	89	86,0	109	95,0	8	27,0	5	14,0	97	73,0	114	75,0
Erro	8	9,0	3	3,0	0	0,0	0	0,0	8	8,0	3	3,0

5.10 Terneiros nascidos das fêmeas múltiparas submetidas à IATF seguida da TETF nos Experimentos I e II

No Experimento I, 98% (85/87) e 167% (10/6) dos terneiros nasceram vivos no grupo IATF de prenhez simples e gemelar, 99% (67/68) e 142% (37/26) no grupo de IATF+TETF de prenhez simples e gemelar, respectivamente. No experimento II, 100% (28/28) e 0% (0/1), e 94% (15/16) e 170% (17/10) dos terneiros nasceram vivos no grupo IATF e IATF+TETF de prenhez simples e gemelar, respectivamente (Tabela 12)

Tabela 12. Terneiros nascidos das fêmeas solteiras submetidas à IATF seguida da TETF sete dias após, nos Experimentos I e II

Grupo	Prenhez	Fêmeas paridas	Terneiros				
			Nascidos	Mortos*	Vivos	% vivos	
Experimento I	IATF	Simple	87	87	2	85	98
		Gêmeos	4	8	1	7	175
		Quadrigêmeos	2	8	5	3	150
	IATF+TETF	Simple	68	68	1	67	99
		Gêmeos	26	47	10	37	142
Experimento II	IATF	Simple	28	28	0	28	100
		Gêmeos	1	2	2	0	0
	IATF+TETF	Simple	16	16	1	15	94
		Gêmeos	10	20	3	17	170

*Informação inclui terneiros natimortos ou com mortalidade perinatal

5.11 Terneiros nascidos de PIV de embriões nas fêmeas múltiparas cíclicas submetidas à IATF seguida da TETF nos Experimentos I e II

Nos Experimentos I e II, as proporções de partos simples e de gêmeos, de terneiros nascidos vivos de embriões de PIV, no grupo de IATF+TETF foram de 37% (25/68) e 31% (5/16), e 47% (22/47) e 45% (9/20), respectivamente (Tabela 13).

Tabela 13. Terneiros nascidos de PIV de embriões nas fêmeas múltiparas submetidas à IATF seguida da TETF nos Experimentos I e II

Grupo	Produtos Totais				Produtos de TETF						
	n	Mortos	Vivos	%	n	%	Mortos	Vivos	%		
Experimento I	IATF	Simples	87	2	85	98,0	-	-	-	-	
		Gêmeos	16	6	10	62,5	-	-	-	-	
	IATF+TETF	Simples	68	1	67	98,5	25	37,0	0	25	37,0
		Gêmeos	47	10	37	79,0	25	48,0	5	20	43,0
Experimento II	IATF	Simples	28	0	28	100,0	-	-	-	-	
		Gêmeos	1	2	0	0,0	-	-	-	-	
	IATF+TETF	Simples	16	1	15	94,0	6	50,0	1	5	31,0
		Gêmeos	20	3	17	85,0	10	50,0	1	9	45,0

5.12 Custos para a execução dos Experimentos I e II

Os custos com material de consumo e mão-de-obra para a execução dos experimentos, considerando-se as etapas que envolveram a IATF, a PIV de embriões bovinos, a TETF e o serviço de IATF/TETF e diagnóstico de prenhez aos 60 dias foi determinado para se poder comparar os resultados entre cada grupo experimental com o respectivo dispêndio, por experimento. Objetiva-se determinar a produtividade de cada sistema (kg de terneiro/fêmea/ano) e o balanço econômico da aplicação da IATF e da associação IATF+TETF após o desmame dos animais aos sete meses de idade, para cada experimento.

5.12.1 Custos para a realização da IATF por fêmea bovina

O custo para a realização da IATF por fêmea bovina no Experimento I, junto às fazendas Santa Rita e Irion, e no Experimento II, junto à fazenda São José, no Município do Rosário do Sul, RS, são apresentados na Tabela 14 abaixo.

Tabela 14. Custos para a realização da IATF por fêmea bovina nos Experimentos I e II

Especificação	Quantidade	Quantificação	Valor unitário (R\$)	Valor total (R\$)
Dispositivo intravaginal de 1 g de progesterona (Primer [®] , Tecnopec, Brasil)	1 unidade	Pacote com 10/R\$ 140,00	R\$ 15,20	R\$ 7.204,80
Benzoato de estradiol (RIC-BE [®] , Tecnopec, Brasil)	2 mg	Frasco c/ 100 mL/R\$ 20,00	R\$ 0,20	R\$ 94,80
Cloprostenol sódico (análogo da PGF _{2α} , Estron [®] , Tecnopec, Brasil)	2 mL	Frasco c/ 60 mL/R\$ 60,00	R\$ 2,00	R\$ 948,00
eCG (Folligon [®] Intervet, Schering-Plough Animal Health, Holanda)	400 UI	Frasco c/ 5000 UI/R\$ 130,00	R\$ 10,40	R\$ 4.929,60
Cipionato de estradiol (E.C.P. [®] Pfizer, EUA)	2 mg	Frasco c/ 10 mL/R\$ 19,00	R\$ 1,30	R\$ 616,20
Sêmen bovino comercial	Palheta de 0,5 mL		R\$ 15,00	R\$ 7.110,00
Médico veterinário (IATF e DG no DG60)	1		R\$ 20,00	R\$ 9.480,00
Bainhas para IA (IMV, França)	Unidade	Pacote c/ 50/R\$ 19,00	R\$ 0,38	R\$ 180,12
Luva p/ palpação retal	Unidade	Caixa c/ 100/R\$ 41,00	R\$ 0,41	R\$ 194,34
Total de fêmeas – custo/fêmea – custo total	Fêmea	474 fêmeas	R\$ 64,89	R\$ 30.757,86

5.12.2 Custos para a produção de embriões bovinos de PIV

O custo para a PIV de embriões bovinos no Laboratório de Embriologia e Biotécnicas da Reprodução (UFRGS) para o Experimento I, para as fazendas Santa Rita e Irion, e para o Experimento II, junto à fazenda São José, no Município do Rosário do Sul, RS, são apresentados nas Tabelas 15 e 16 abaixo, respectivamente.

Tabela 15. Custo em material de consumo e mão-de-obra para a produção de embriões bovinos de PIV no Laboratório de Embriologia e Biotécnicas da Reprodução (UFRGS) para o Experimento I, por rotina e por embrião

Especificação	Quantidade	Valor (R\$)
Meio de maturação (MIV)	10 mL	R\$ 3,09
Meio de fecundação (FIV)	10 mL	R\$ 4,93
Meio de cultivo (CIV)	10 mL	R\$ 8,05
Material para PIV de embriões		R\$ 103,45
Sêmen bovino comercial	1 unidade	R\$ 16,00
Técnico de laboratório (h)	20 h/R\$ 30,00/h	R\$ 600,00
Total	Duas rotinas de PIV	R\$ 735,52
Embriões produzidos/rotina –	185 embriões	R\$ 7,95/embrião

Tabela 16. Custo em material de consumo e mão-de-obra para a produção de embriões bovinos de PIV no Laboratório de Embriologia e Biotécnicas da Reprodução (UFRGS) para o Experimento II, por rotina e por embrião

Especificação	Quantidade	Valor (R\$)
Meio de maturação (MIV)	10 mL	R\$ 3,09
Meio de fecundação (FIV)	10 mL	R\$ 4,93
Meio de cultivo (CIV)	10 mL	R\$ 8,05
Material para PIV de embriões		R\$ 103,45
Sêmen bovino comercial	1 unidade	R\$ 60,00
Técnico de laboratório (h)	20 h/R\$ 30,00/h	R\$ 600,00
Total	Uma rotina de PIV	R\$ 779,52
Embriões produzidos/rotina –	44 embriões	R\$ 17,71/embrião

5.12.3 Custo para a realização das transferências de embriões bovinos de PIV nos Experimentos I e II

Os custos para a transferência de embriões bovinos para os Experimentos I e II, junto às fazendas Santa Rita, Irion e São José no Município do Rosário do sul, RS, são apresentados na Tabela 17 abaixo.

Tabela 17. Custo para a realização dos procedimentos de transferência de embriões bovinos de PIV nos Experimentos I e II

Especificação	Quantidade	Valor unitário (R\$)	Valor (R\$)
Luvas para palpação retal	Caixa c/ 100 unid./R\$ 41,00	R\$ 0,41	R\$ 93,89
Bainhas para inovulação	Pacote c/ 5 unid./R\$ 25,00	R\$ 5,00	R\$ 1.145,00
Palhetas de 0,25 mL estéril (IMV, França)	Pacote c/ 2.000 unid./R\$ 688,00	R\$ 0,34	R\$ 77,86
Medico veterinário (TE)	R\$ 25,00 por TE	R\$ 25,00	R\$ 5.725,00
Total de TEs – custo/TE – custo total	229	R\$ 30,75	R\$ 7.041,75

5.12.4 Custo total, por fêmea bovina e por neonato para a realização da IATF e da associação IATF+TETF nos Experimentos I e II

Os custos totais para a execução dos experimentos, por grupo experimental, considerando-se os valores totais, por fêmea trabalhada, por fêmea prenhe e por terneiro nascido vivo são apresentados na Tabela 18 abaixo.

Tabela 18. Custo total para a realização dos Experimentos I e II, por fêmea trabalhada, por fêmea prenhe e por terneiro nascido vivo

Especificação	Valor total – Exp. I e II (R\$)	Valor por fêmea – Exp. I e II (R\$)	Valor por fêmea prenhe* – Exp. I (R\$)	Valor por fêmea prenhe* – Exp. II (R\$)	Valor por neonato – Exp. I (R\$)	Valor por neonato – Exp. II (R\$)
IATF	R\$ 30.757,86	R\$ 64,89	R\$ 125,41	R\$ 92,10	R\$ 137,29	R\$ 101,95
PIV de embriões bovinos	R\$ 2.250,27	R\$ 9,82	R\$ 14,53	R\$ 14,40	R\$ 17,46	R\$ 13,50
TETF	R\$ 7.041,75	R\$ 30,75	R\$ 45,51	R\$ 45,10	R\$ 54,69	R\$ 42,28
Total – IATF+TETF	R\$ 40.049,88	R\$ 105,46	R\$ 184,45	R\$ 151,60	R\$ 209,44	R\$ 157,73

5.12.5 Custo total por grupo, por fêmea bovina e por neonato para a realização da IATF e da associação IATF+TETF nos Experimentos I e II

Os custos totais para a execução dos experimentos, por grupo experimental, considerando-se os valores totais, por terneiro vivo de embrião produzido *in vitro*, por fêmea trabalhada, por fêmea prenhe e por terneiro nascido vivo são apresentados na Tabela 19 abaixo.

Tabela 19. Custo total por grupo nos Experimentos I e II, por fêmea trabalhada, por fêmea prenhe e por terneiro nascido vivo

Parâmetros	Experimento I		Experimento II	
	Partos Simples	Partos Gêmeos	Partos Simples	Partos Gêmeos
Valor total (R\$)	R\$ 32.293,1	R\$ 1.525,1	R\$ 6.651,8	R\$ 632,76
Valor por fêmea (R\$)	R\$ 64,89	R\$ 105,46	R\$ 64,89	R\$ 105,46
Valor por neonato (R\$)	R\$ 193,37	R\$ 52,73	R\$ 101,95	R\$ 157,73
Dia médio de idade na pesagem	110	110	110	110
n. Produtos/vaca/110 dias	167	16/32	45	6/12
Peso meio dos produtos, kg	120,9	103,9	113,05	93,6
Valor (R\$)/Kg	R\$ 6,00	R\$ 6,00	R\$ 6,00	R\$ 6,00
Lucro/fêmea/110 dias	R\$ 532,02	R\$ 1.151,48	R\$ 678,3	R\$ 1.123,2
Valor Total	R\$ 121.141,8	R\$ 19.948,8	R\$ 30.523,5	R\$ 6.739,2

6. DISCUSSÃO

São muitos os avanços que neste momento se aplicam para o melhoramento da reprodução e produção pecuária, especialmente no gado de corte. O objetivo deste estudo foi associar duas biotecnologias reprodutivas em bovinos de corte, a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) e a transferência de embriões frescos produzidos *in vitro*, em grupos de fêmeas solteiras com ou sem detecção de estro seguido da IA prévia à IATF.

O uso combinado da IATF+TETF pode aumentar as taxas de prenhez e número de terneiros por vaca nos rebanhos, com mais fêmeas resultando prenhes com sêmen de maior valor genético, em menor período de tempo, do que práticas alternativas de inseminação por período prolongado ou mesmo a re-sincronização das fêmeas não gestantes em uma primeira IATF. Não obstante, e apesar de resultar em maiores taxas de prenhez, a utilização de embriões de IVD para a IATF+TETF se torna inviável economicamente, pelos maiores custos inerentes ao processo, pela não possibilidade de uso de sêmen sexado de forma eficiente, e pela maior taxa de gemelaridade, que pode ser uma vantagem ou limitação, dependendo do sistema de produção de bovinos. Já a utilização de embriões de PIV pela FIV pode ser uma alternativa de baixo custo na produção comercial de terneiros, se utilizados ovários de abatedouro para a PIV, com sêmen sexado ou não e de maior qualidade genética, com a probabilidade de

estabelecimento de um maior número de prenhez finais (65-70%) pela interação das taxas de prenhez pela IATF (50%) e pela TETF (35%), com uma taxa de gemelaridade estimada entre 15 e 20%. Nesta prática, resgatam-se ventres que são aptos ao estabelecimento da prenhez, mas que teriam falhado pela ainda imperfeita sincronização da ovulação pela IATF. Em adição, se por um lado a gemelaridade aumenta a prolificidade, esta também pode estar relacionada a perdas econômicas em condições de menor cuidado, causadas por abortos, maior mortalidade perinatal, comprometimento da fertilidade subsequente das fêmeas por questões nutricionais, produção de fêmeas inférteis por freematinismo, e menor desenvolvimento ponderal até o desmame. Desta forma, apesar de haver fatores econômicos extremamente favoráveis para a utilização da associação IATF+TETF com embriões de PIV produzidos a partir de ovários de abatedouro, os resultados em termos de ganhos econômicos somente podem ser alcançados com a adoção de práticas de manejo diferenciadas para as fêmeas com gêmeos que antecipem, remediem ou mesmo compensem os problemas em potencial.

6.1 Taxas de prenhez após a IATF e IATF+TETF

Em um estudo realizado por Dalhen *et al.* (2012) em vacas com cria ao pé da raça Angus, a taxa de prenhez no Dia 30 foi semelhante para as fêmeas submetidas à IATF seguidas da TETF de um embrião produzido *in vivo* congelado, sendo de 48,5% comparado com 47,5% nas fêmeas que só foram inseminadas, com ambas sendo superiores ao grupo de fêmeas que se inovulou um embrião (33,3%). Comparando com nosso estudo, as taxas de prenhez foram de 67,6% (125/185) e 68,2% (30/44) nas fêmeas que receberam um embrião sete dias após a inseminação nos Experimentos I e II, respectivamente.

Neste estudo, as taxas de prenhez nos grupos somente com IATF foram de 51,7% (104/201) e 70,5% (31/44) nos Experimentos I e II, respectivamente. O aumento na taxa de prenhez no Experimento II pode ser devido ao menor número utilizado no estudo, bem como devido ao acompanhamento e IA baseadas no aparecimento do estro. Se comparado a um trabalho de larga escala (Relatório IATF 2016), onde não há menção de resultados com ou sem observação de estro, a taxa de prenhez geral após a IATF de 824.486 fêmeas foi de 51,6%, tendo no Rio Grande do Sul alcançado uma taxa de prenhez de 54,8% para 36,084 fêmeas inseminadas. Em outro estudo em IATF no Estado do Rio Grande do Sul com fêmeas múltiparas solteiras da raças Brangus e cruzas, as taxas de prenhez foram de

61,0% (25/41) para o grupo hCG, 45,0% (18/40) para o grupo eCG e 40,6% (56/138) para o grupo Controle (Wecker *et al.*, 2012). Já em outro estudo nos EUA, a taxa de prenhez em fêmeas de corte após a IATF+TETF de embrião produzido *in vivo* (IVD) foi de 72,0%, comparado à taxa de 51,1% no grupo com a inovulação de dois embriões IVD por fêmea (Penny *et al.*, 1995).

6.2 Taxas de prenhez gemelares e freemartinismo

Em estudo de Dalhen *et al.* (2012), a taxa de gemelaridade após a IATF seguida da TETF de embrião *in vivo* congelado foi o 43,8%, sendo comparável aos grupos IATF+TETF neste estudo, com resultados de gemelaridade ligeiramente menores no Experimento I (41/125, 32,8%), e similares no Experimento II (13/30, 43,3%). Não obstante, salienta-se que também houve prenhez gemelares, nas fêmeas do Grupo IATF nos Experimentos I (6/97, 6,2%) e II (1/30, 3,3%), resultado possivelmente da sensibilidade maior de algumas fêmeas à dose de eCG utilizada no protocolo básico de sincronização do ciclo estral. Outros estudos também foram conduzidos para a produção de prenhez gemelares em fêmeas de corte, comparando a IATF+TE de embriões IVD. Em estudo de Penny *et al.* (1995), as taxas de gemelaridade após a IATF+TETF ou após a TE de dois embriões IVD foram de 38,7% e 39,1%, respectivamente, sendo resultados intermediários ao que observamos em nosso trabalho. Já Sreenan *et al.* (1989), após investigarem a produção de gêmeos em fêmeas nulíparas e múltíparas após a transferência de embriões IVD unilateral ou bilateralmente, as taxas de prenhez gemelares para as nulíparas foram de 55% e 60%, enquanto que nas múltíparas, as taxas foram de 33% e 38%, respectivamente.

O freemartinismo é uma anormalidade sexual em bovinos, que causa infertilidade na fêmea quando em 92 a 98% dos partos gemelares com nascimento de uma fêmea e um macho Padula *et al.* (2005). Neste estudo, houve 43 fêmeas nascidas de partos gemelares, dos quais 7/43 (16%) dos partos não identificamos o sexo dos dois terneiros ao nascimento (mortalidade perinatal e não identificação e localização dos animais junto às áreas de parição). Dos animais identificados, 10/43 (23%) dos partos geraram dois terneiros machos, 10/43 (23%) dois terneiros fêmeas, e 16/43 (37%) geraram uma fêmea e um macho, dos quais 81% (13/16) das fêmeas nascidas foram diagnosticadas com *freemartinismo*. A taxa de fêmeas com freemartinismo foi baixa neste estudo quando

comparado ao trabalho de Echterkamp *et al.* (2002), no qual 95% das fêmeas nascidas com um gêmeo macho apresentaram *freemartinismo*.

6.3 Taxas de perdas gestacionais

Neste estudo, as perdas gestacionais foram maiores no Grupo IATF+TETF no Experimento I (31/125, 24,8%) em comparação ao mesmo grupo do Experimento II (4/30, 13,3%) e aos Grupos IATF dos Experimentos I (10/104, 10,5%) e II (2/31, 6,5%), sem diferenças observadas nas perdas entre prenhez simples e gêmeares. Em estudo de Wecker *et al.* (2012), as perdas gestacionais foram menores quando comparadas a nosso estudo. Comparado ao grupo de IATF, as perdas de prenhez de 30 a 60 dias foram de 16,7% (3/18), 4,0% (1/25) e 5,36% (3/56) nos Grupos com hCG, eCG e Controle, respectivamente.

6.4 Taxas de prenhez no final da estação reprodutiva

Em geral, os resultados após o final da estação de reprodução foram semelhantes entre os grupos, sendo de 91,5% (184/201) e 90,8% (168/185) para os Grupos IATF e IATF + TETF no Experimento I, e de 84,1% (37/44) e 84,1% (37/44) para os Grupos IATF e AITF + TETF no Experimento II, respectivamente. Sa Filho *et al.* (2012) compararam quatro grupos, com semelhança aos grupos de IATF deste estudo, sendo o primeiro com um grupo de IATF sem detecção de estro (DE), seguido de monta ou serviço natural (SN); o segundo com um grupo de IATF com detecção de estro seguido de SN; o terceiro com um grupo de DE seguido de SN; e o quarto com um grupo só de SN. As taxas de prenhez no final da estação reprodutiva de 90 dias alcançaram 92,7%, 91,9%, 85,0% e 83,2%, não havendo diferença entre os experimentos, sendo similares aos observados neste estudo. De grande parte, o importante na avaliação das taxas de prenhez ao final da estação de monta, além da avaliação da fertilidade do rebanho e da obtenção de uma elevada taxa de prenhez, é também obter a prenhez em um maior número de fêmeas no início da estação reprodutiva, o que pode ser intensificado pela utilização da IATF, IA ou mesmo a TETF.

6.5 Sexagem fetal por ultrassonografia no Dia 60 da prenhez

A sexagem fetal pode ser uma informação importante, por discriminar as proporções de fêmeas e machos com um alto grau de acurácia, podendo-se adequar estratégias de manejo ou decisões administrativas de venda de animais, por exemplo. Neste estudo, as taxas de acerto da sexagem realizada aos 60 dias, em comparação à confirmação dos sexos ao parto, foram de 92% no Grupo IATF e 97% Grupo IATF+TETF. Em um estudo para viabilizar a ultrassonografia na identificação do sexo dos fetos em vacas leiteiras no Dia 60 de prenhez, verificou-se após o parto que 99,3% dos diagnósticos foram precisos (Quintela *et al.*, 2011). Um aspecto em particular neste estudo foi a preferência por um diagnóstico de prenhez simples ou gemelares rápido, para reduzir o tempo de manejo das fêmeas, do que a precisão do diagnóstico do sexo fetal.

6.6 Partos distócicos pelo nível de dificuldade de parição das fêmeas

No estudo de Echternkamp *et al.* (2002), fêmeas com prenhez simples resultaram em 20,6% de distocia, enquanto que fêmeas com prenhez gemelares houve um aumento para 46,9% de distocia. Neste estudo, houve uma taxa de distocia de 2% nas fêmeas com prenhez simples e de 7% nas fêmeas com prenhez gemelares, o que demonstrou que as prenhez gemelares não resultaram em aumento significativo de partos distócicos, muito em função de terem sido utilizadas fêmeas múltíparas com bom ECC ao parto.

6.7 Número de fetos por serviço e por prenhez

Os Grupos de IATF e de IATF+TETF no Experimento II apresentaram um maior número de fetos por serviço (0,69 e 0,89) do que os Grupos de IATF e IATF+TETF no Experimento I (0,69 e 0,69), respectivamente. Já o número de fetos por prenhez no grupo de IATF+TETF do Experimento II, mas não de IATF, foi superior (1,44) ao mesmo grupo no Experimento I (1,30). No trabalho de Echternkamp *et al.* (2002), fêmeas com prenhez simples produziram 0,89 terneiros ao ano, enquanto que fêmeas com prenhez gemelares ou triplas produziram 1,52 ou 1,83 terneiros/vaca/ano.

6.8 Peso dos terneiros

A parição de gêmeos normalmente ocorre mais precocemente do que a prenhez de feto simples, provavelmente pelo maior estresse no ambiente uterino, desencadeando a liberação mais precoce de maiores níveis de cortisol fetal, antecipando os eventos que conduzem ao parto Dalhen *et al.* (2012). Desta forma, os resultados de antecipação do parto em média de 12,5 dias no grupos de prenhezes gemelares era uma expectativa normal neste estudo. Outra aspecto a considerar é que, em prenhezes gemelares, os pesos dos neonatos são normalmente menores do que neonatos simples Echterkamp *et al.* (2002). Neste estudo, neonatos gêmeos pesaram 33% a menos do que neonatos simples, com uma taxa de mortalidade neonatal 25% maior do que para os terneiros simples, mas ainda sendo foi menor do que os resultados relatados por Sakaguchi *et al.* (2002), no qual a taxa de mortalidade em partos gemelares atingiu 39%. Nos grupos de gêmeos dos Grupos IATF e IATF+TETF nos Experimentos I e II, os pesos médios ao nascimento foram de 20,8 kg e 25,5 kg, e 21,5 kg e 22,0 kg, enquanto que para os terneiros simples os pesos foram de 34,0 kg e 34,2 kg, e 32,5 kg e 35,0 kg, respectivamente. Em estudo de Echterkamp *et al.* (2002), fêmeas com prenhezes simples produziram um terneiro com peso médio de 48,2 kg, e fêmeas com prenhezes gemelares, dois terneiros com 38,4 kg, mas obviamente, o fator racial e o delineamento experimental diferem entre estes estudos.

A porcentagem de terneiros que nasceram vivos por fêmea parida no Experimento I, no grupo de IATF, foi de 98% (85/87) e 167% (10/6) para prenhezes simples e gemelares, e de 99% (67/68) e 142% (37/26) para o grupo de IATF+TETF, respectivamente. No experimento II, 100% (28/28) dos terneiros nasceram vivos no grupo de IATF de partos simples, havendo a morte dos dois terneiros da prenhez gemelar deste mesmo grupo (0% de nascimentos vivos, 0/1). Já no grupo IATF+TETF, obteve-se 94% (16/15) e 170% (17/10) de terneiros vivos para os partos simples e gemelares, respectivamente. Podemos observar que nos partos simples houve um menor número de terneiros/fêmea, mas a porcentagem de nascidos vivos por parto foi maior, enquanto que no grupo IATF+TETF foi maior o número de terneiros/fêmea, com uma porcentagem de terneiros vivos menor, proporcionalmente. Um fator importante é reconhecer o porcentagem de terneiros nascidos vivos de transferência de embriões produzidos *in vitro*, sendo de 37% (25/68) e de 43% (20/47) de partos simples e gemelares no grupo IATF+TETF no Experimento I, respectivamente. No Experimento II, as taxas de terneiros de partos simples e gemelares no grupo IATF+TETF foram de 31% (5/16) e

45% (9/20), respectivamente. Quando adotamos a TETF após a IATF, as fêmeas que não emprenham da IATF, por falhas de concepção e não por infertilidade, tem a oportunidade de emprenhar após a TETF, aumentando a eficiência reprodutiva. Da mesma forma, Dalhen *et al.* (2012) descreveram que fêmeas submetidas à IATF+TETF de embrião IVD apresentaram mais fetos por fêmea servida (69,7%) em comparação aos fetos de fêmeas servidas somente pela IATF (48,5%).

Um outro fator muito relevante nesta associação IATF+TETF é conhecer os custos do trabalho para avaliar a viabilidade econômica de sua implementação. O custo por terneiro nascido vivo de IATF vai de acordo com a taxa de prenhez de cada experimento, sendo neste caso o custo para IATF do Experimento I, sem observação de estro, de R\$ 137,29, e para o Experimento II, com observação de estro seguida da IA, sendo de R\$ 101,95, lembrando que as taxas de prenhez e de terneiros nascidos vivos após a IATF ou IATF+TETF foi maior no Experimento II do que no Experimento I. O mesmo ocorreu com respeito ao custo do terneiro nascido vivo nos grupos IATF+TETF, que foi de R\$ 209,44 no Experimento I e de R\$ 157,73 no Experimento II. Também observamos neste estudo que houve um menor potencial de lucro nas fêmeas com terneiros simples vivos aos 110 dias de idade (R\$ 532,02) do que nas fêmeas com terneiros gemelares (R\$ 1.151,48) no Experimento I. No Experimento II também ocorreu um menor potencial de lucro nas fêmeas com terneiros simples vivos aos 110 dias de idade (R\$ 678,3) do que nas fêmeas com terneiros gemelares (R\$ 1.123,2), lembrando que considerou-se o peso dos terneiros aos 110 dias de idade, a um custo por kg de terneiro de R\$ 6,00. Ainda será avaliada a viabilidade econômica aos 205 dias de idade, ao desmame.

7. CONCLUSÕES

Os resultados deste estudo permitiram que estabelecêssemos as seguintes conclusões:

- a) A IATF + TETF sem a detecção de estro aumentou as taxas de prenhes e as taxas de prenhez gemelar em comparação à IATF.
- b) A IATF com detecção do estro aumentou as taxas de prenhez após a IATF e as taxas de prenhez gemelar após a IATF+TETF.
- c) Os terneiros gêmeos nasceram mais precocemente, foram mais leves ao nascimento e sofreram uma maior mortalidade neonatal do que os terneiros simples, mas os ganhos de peso corporal diários até o Dia 110 após o nascimento foram semelhantes entre os grupos.
- d) Após a sincronização do estro, mais terneiros foram produzidos usando o esquema IATF+TETF do que o IATF sozinho.
- e) A associação IATF+TETF pode ser aconselhável para esquemas reprodutivos sem controle de estro, enquanto que a IATF+TETF com detecção de estro pode aumentar a prolificidade e o desempenho reprodutivo.
- f) A utilização combinada da IATF com a TETF de blastocistos bovinos produzidos *in vitro* aumentou a eficiência reprodutiva de rebanhos de fêmeas bovinas de corte, aumentando as taxas de prenhez e nascimento nos grupos que receberam embriões, com custo operacional compatível com a IATF.
- g) A adoção de práticas de manejo diferenciadas para as fêmeas bovinas submetidas à IATF+TETF com gêmeos remediou, evitou ou compensou os problemas de perdas inerentes à gemelaridade, em especial no período periparto.

8. PERSPECTIVAS

A utilização da IATF associada à TETF com embriões de PIV de baixo custo pode ser implementada em fêmeas de várias propriedades de produção de bovinos de corte no Estado do RS como uma alternativa viável para melhorar as taxas de prenhez e a prolificidade. Com o uso associado destas duas biotecnologias, pode-se melhorar a qualidade genética dos produtos obtidos nos rebanhos, com um maior número de fêmeas estabelecendo prenhez mais precocemente na estação reprodutiva, produzindo um maior número de terneiros *do cedo* e de potencial melhor qualidade genética, obtendo-se desta forma grupos mais uniformes de animais para a comercialização ao desmame. Vislumbramos que a implementação desta estratégia reprodutiva pelos pecuaristas pode ser favorável economicamente, gerando um maior lucro potencial na atividade. Não obstante, preconizamos que esta associação IATF+TETF seja implementada em propriedades com manejos nutricional, sanitário e geral adequados, também considerando a importância dos recursos humanos, da estrutura e instalações e de áreas de manejo adequadas para lograr alcançar uma produtividade e rentabilidade que sejam significativamente vantajosos à atividade pecuária.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSON, G.B., BONDURANT, R.H. & CUPPS, P.T. Induction of twins in different breeds of cattle. *Journal of Animal Science*, v. 54, n. 3, p. 485-490, 1982.
- ASBIA. INDEX ASBIA, Mercado de sêmen, 2014. <http://asbia.org.br/novo/upload/mercado/index2014.pdf>.
- BARROS, B. J.; VISITIN, J. A. Controle ultrassonográfico de gestações, de mortalidades embrionárias e fetais e do sexo de fetos bovinos zebuínos. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 38, n. 2, p. 74-79, 2001.
- BARUSELLI, P.S., MARQUES, M.O., CARVALHO, N.A.T., MADUREIRA, E.H. & CAMPOS, F.E.P. Efeito de diferentes protocolos de inseminação artificial em tempo fixo na eficiência reprodutiva de vacas de corte lactantes. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 26, n. 3, p. 218-221, 2002.
- BELLOWS, R.A., SHORT, R.E., ANDERSON, D.C., KNAPP, B.W. & PAHNISH, O.F. Cause and effect relationships associated with calving difficulty and calf birth weight. *Journal of Animal Science*, v. 33, n. 2, p. 407-415, 1971.
- BELLOWS, R.A., SHORT, R.E., URICK, J.J., & PAHNISH, O.F. Effects of early weaning on postpartum reproduction of the dam and growth of calves born as multiples or singles. *Journal of Animal Science*, v. 39, n. 3, p. 589-600, 1974.
- BERTOLINI, M. & BERTOLINI, L.R. Advances in reproductive technologies in cattle: from artificial insemination to cloning:[review]. *Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e de Zootecnia*, v. 56, n. 3, p. 184-194, 2009.
- DAHLEN, C.R., DICOSTANZO, A., SPELL, A.R. & LAMB, G.C. Use of embryo transfer seven days after artificial insemination or transferring identical demi-embryos to increase twinning in beef cattle. *Journal of Animal Science*, v. 90, n. 13, p. 4823-4832, 2012.
- DAVIS, M.E., HARVEY, W.R., BISHOP, M.D. & GEARHEART, W.W. Use of embryo transfer to induce twinning in beef cattle: embryo survival rate, gestation length, birth weight and weaning weight of calves. *Journal of Animal Science*, v. 67, n. 2, p. 301-310. 1989.

- DAVIS, M.E., RUTLEDGE, J.J., CUNDIFF, L.V. & HAUSER, E.R. Life cycle efficiency of beef production: I. Cow efficiency ratios for progeny weaned. *Journal of Animal Science*, v. 57, n. 4, p. 832-851, 1983.
- ECHTERNKAMP, S.E. Fetal development in cattle with multiple ovulations. *Journal of Animal Science*, v. 70, n. 8, p. 2309-2321, 1992.
- ECHTERNKAMP, S.E. & GREGORY, K.E. Effects of twinning on gestation length, retained placenta, and dystocia. *Journal of Animal Science*, v. 77, n 1, p. 39-47, 1999.
- ECHTERNKAMP, S.E. & GREGORY, K.E. Reproductive, growth, feedlot, and carcass traits of twin vs single births in cattle. *Journal of Animal Science*, v. 80, n. 2, p. 1-10, 2002.
- ECHTERNKAMP, S.E., HAYS, W.G. & KVASNICKA, W.G. Synchronization of parturition in beef cattle with prostaglandin and dexamethasone. *Theriogenology*, v. 28, n. 3, p. 337-347, 1987.
- FELMER, R.N., ARIAS, M.E., MUÑOZ, G.A. & RIO, E.J.H. Effect of different sequential and two-step culture systems on the development, quality, and RNA expression profile of bovine blastocysts produced *in vitro*. *Molecular Reproduction and Development*, v. 78, p. 403-414. 2011.
- GALLI, C., CROTTI, G., NOTARI, C., TURINI, P., DUCHI, R. & LAZARI, G. Embryo production by ovum pick up from live donors. *Theriogenology*, v. 55, p. 1341-1357, 2001.
- GALLI, C., DUCHI, R., CROTTI, G., TURINI, P., PONDERATO, N., COLLEONI, S. & LAZZARI, G. Bovine embryo technologies. *Theriogenology*, v. 59, n 2, p. 599-616, 2003.
- GARCIA, J.M., AVELINO, K.B. & VANTINI, R. Estado da arte da fertilização *in vitro* em bovinos. In: Simpósio Internacional de Reprodução Animal aplicada. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 1, p. 201, 2005.
- GORDON, I. Laboratory Production of Cattle Embryos (Biotechnology in Agriculture No. 27). Cambridge, UK: CAB International, 1994.
- GREGORY, K. E., ECHTERNKAMP, S. E.; CUNDIFF, L. V. Effects of twinning on dystocia, calf survival, calf growth, carcass traits, and cow productivity. *Journal of Animal Science*, v. 74, n. 6, p. 1223-1233, 1996.

- GUERRA-MARTINEZ, P., DICKERSON, G.E., ANDERSON, G.B. & GREEN, R.D. Embryo-transfer twinning and performance efficiency in beef production. *Journal of Animal Science*, v. 68, n. 12, p. 4039-4050, 1990.
- HASLER, J.F., HENDERSON, W.B., HURTGEN, P.J., JIN, Z.Q., MCCAULEY, A.D., MOWER, S.A. & TRIMMER, S.A. Production, freezing and transfer of bovine IVF embryos and subsequent calving results. *Theriogenology*, v. 43, n. 1, p. 141-152, 1995.
- IBGE. Produção agrícola municipal 2008. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 15 jun. 2016.
- ICA. Censo populacional de bovinos da Colômbia em 2016. Disponível em: <<https://www.ica.gov.co>>. Acesso em: 15 junio. 2016.
- PERRY, G. IETS: Statistics of embryo collection and transfer in domestic farm animals. *Embryo Technology Newsletter*, v. 35, n. 4, p. 8-18, 2017.
- KUES, W.A., & NIEMANN, H. The contribution of farm animals to human health. *Trends in Biotechnology*, v. 22, n. 6, p. 286-294, 2004.
- LOHUIS, M.M. Potential benefits of bovine embryo-manipulation technologies to genetic improvement programs. *Theriogenology*, v. 43, n. 1, p. 51-60, 1995.
- LONERGAN, P. State-of-the-art of embryo technologies in cattle. *Society of Reproduction and Fertility*, Supplement, v. 64, p. 315-325, 2007.
- MAPLETOFT, R.J. & HASLER, J.F. Assisted reproductive technologies in cattle: a review. *Revue Scientifique et Technique-Office International des Epizooties*, v. 24, n. 1, p. 393, 2005.
- MINGOTI, G.Z., CASTRO, V.S.D.C., MÉO, S.C., BARRETO, L.S.S. & GARCIA, J.M. The effects of macromolecular and serum supplements and oxygen tension during bovine *in vitro* procedures on kinetics of oocyte maturation and embryo development. *Cell Biology Animal*, v. 47 n. 3, p. 361-367, 2011.
- MOORE, K. & THATCHER, W.W. Major advances associated with reproduction in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, v. 89, n. 4, p. 1254-1266, 2006.
- NUMABE, T., OIKAWA, T., KIKUCHI, T. & HORIUCHI, T. Production efficiency of Japanese black calves by transfer of bovine embryos produced *in vitro*. *Theriogenology*, v. 54, n. 9, p. 1409-1420, 2000.

- OLSON, K.M., CASSELL, B.G., MCALLISTER, A.J., & WASHBURN, S. P. Dystocia, stillbirth, gestation length, and birth weight in Holstein, Jersey, and reciprocal crosses from a planned experiment. *Journal of Dairy Science*, v. 92, n. 12, p. 6167–6175, 2009.
- PADULA, A.M. The freemartin syndrome: an update. *Animal Reproduction Science*, v.87, p.93-109, 2005.
- PENNY, C.D., LOWMAN, B.G., SCOTT, N.A., SCOTT, P.R., VOELKEL, S & DAVIES, D. A. Management aspects of induced twinning in beef suckler cows using *in vitro* fertilized embryos. *The Veterinary Record*, v. 136, n. 20, p. 506-510, 1995.
- PESSOA, G.A., MARTINI, A.P., CARLOTO, G.W., RODRIGUES, M.C., JÚNIOR I.C., BARUSELLI, P.S., BRAUNER C.C., RUBIN M.I.B., CORRÊA M.N., LEIVAS F.G. & SÁ FILHO M.F. Different doses of equine chorionic gonadotropin on ovarian follicular growth and pregnancy rate of suckled *Bos taurus* beef cows subjected to timed artificial insemination protocol. *Theriogenology*, v. 85, p. 792-799, 2016.
- PEREIRA, M.H.C., WILTBANK, M.C. & VASCONCELOS, J.L.M. Expression of estrus improves fertility and decreases pregnancy losses in lactating dairy cows that receive artificial insemination or embryo transfer. *Journal Dairy Science*, v. 99, n.3, p. 2237-2247, 2016.
- PONTES, J.H.F., NONATO-JUNIOR, I., SANCHES, B.V., ERENO-JUNIOR, J.C., UVO, S., BARREIROS, T.R.R. & SENEDA, M.M. Comparison of embryo yield and pregnancy rate between *in vivo* and *in vitro* methods in the same Nelore (*Bos indicus*) donor cows. *Theriogenology*, v. 71, n 4, p. 690-697, 2009.
- QUINTELA, L.A., BECERRA, J.J., PÉREZ-MARÍN, C.C., BARRIO, M., CAINZOS, J., PRIETO, A., DÍAZ, C. & HERRADÓN, P.G. Fetal gender determination by first-trimester ultrasound in dairy cows under routine herd management in Northwest Spain. *Animal Reproduction Science*, v. 125, n. 4, p. 13-19, 2011.
- SAKAGUCHI, M., GESHI, M., HAMANO, S., YONAI, M. & NAGAI, T. Embryonic and calving losses in bovine mixed-breed twins induced by transfer of *in vitro*-produced embryos to bred recipients. *Animal Reproduction Science*, v. 72, n. 3, p. 209–221, 2002.
- SÁ FILHO, M.F., PENTEADO, L., REIS, E.L., REIS, T.A., GALVÃO, K.N. & BARUSELLI, P.S. Timed artificial insemination early in the breeding season

- improves the reproductive performance of suckled beef cows. *Theriogenology*, v. 79, n 4, p. 625-632, 2012.
- SÁ FILHO, O.G., MENEGHETTI, M., PERES, R.F.G., LAMB, G.C. & VASCONCELOS, J.L.M. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows II: Strategies and factors affecting fertility. *Theriogenology*, v. 72, n. 2, p. 210-218, 2009.
- SEVERO, C.N. História da inseminação artificial no Brasil. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 39, n 1, p. 17-21, 2015.
- SPELL, A.R., BEAL, W.E., CORAH, L.R. & LAMB, G.C. Evaluating recipient and embryo factors that affect pregnancy rates of embryo transfer in beef cattle. *Theriogenology*, v. 56, n. 2, p. 287-297, 2001.
- SREENAN, J.M. & DISKIN, M.G. Effect of a unilateral or bilateral twin embryo distribution on twinning and embryo survival rate in the cow. *Journal of Reproduction and Fertility*, v. 87, n. 2, p. 657-664, 1989.
- STEWART, B.M., BLOCK, J., MORELLI, P., NAVARETTE, A.E., AMSTALDEN, M., BONILLA, L., HANSEN, P.J., BILBY, T.R. Efficacy of embryo transfer in lactating dairy cows during summer using fresh or vitrified embryos produced in vitro with sex-sorted sêmen. American Dairy Science Association. V. 94, n. 7, p. 3437–3445, 2011.
- THIBIER, M. Transfers of both *in vivo*-derived and in vitro produced embryos in cattle still on the rise and contrasted trends in other species in 2005. *IETS Embryo Transfer Newsletter*, v. 24, p. 11-9, 2006.
- TURMAN, E.J., LASTER, D.B., RENBARGER, R. E. & STEPHENS, D.F. Multiple births in beef cows treated with equine gonadotropin (PMS) and chorionic gonadotropin (HCG). *Journal of Animal Science*, v. 32, n. 5, p. 962-967, 1971.
- UNITED STATE DEPARTMENT OF AGRICULTURE - USDA. Livestock and poultry: world markets and trade. Foreign Agricultural Service, 2016.
- WECKER, F., THEDY, D.X., GONSIOROSKI, A.V. & BORGES, J.B.S. Effect of administration of eCG or hCG 7 days after FTAI on the development of ovarian structures and pregnancy rates in beef cows. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 40, n. 4, p. 1-8, 2012.

YOUNG, L.E., SINCLAIR, K.D. & WILMUT, I. Large offspring syndrome in cattle and sheep. *Reviews of Reproduction*, v.3, p.155-163, 1998.

ZOETIS. Relatório IATF Geral 2017. São Paulo; 2017.