



MARIA LUIZA QUEIROZ BETI

**RELATÓRIO DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO,
REALIZADO NA MICHIGAN STATE UNIVERSITY (MSU),
NA ÁREA DE REPRODUÇÃO ANIMAL EM GADO LEITEIRO**

**LAVRAS – MG
2019**

MARIA LUIZA QUEIROZ BETI

**RELATÓRIO DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO, REALIZADO NA MICHIGAN
STATE UNIVERSITY (MSU), NA ÁREA DE REPRODUÇÃO ANIMAL EM GADO
LEITEIRO**

Relatório de estágio supervisionado apresentado à
Universidade Federal de Lavras, como parte das
exigências do Curso de Graduação em Medicina
Veterinária, para obtenção do título de Bacharel.

Prof. Henrique Ribeiro Alves de Resende
Orientador

**LAVRAS – MG
2019**

MARIA LUIZA QUEIROZ BETI

**RELATÓRIO DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO, REALIZADO NA MICHIGAN
STATE UNIVERSITY (MSU), NA ÁREA DE REPRODUÇÃO ANIMAL EM GADO
LEITEIRO**

Relatório de estágio supervisionado apresentado à
Universidade Federal de Lavras, como parte das
exigências do Curso de Graduação em Medicina
Veterinária, para obtenção do título de Bacharel.

APROVADA em

Prof. Dr. José Nélio Sousa Sales – UFLA

Médico Veterinário Msc. Miguel Pizzolante Bottino – UFLA

Médico Veterinário Msc. Luiz Manoel Souza Simões – UFLA

Prof. Henrique Ribeiro Alves de Resende
Orientador

**LAVRAS – MG
2019**

AGRADECIMENTOS

Primeiramente eu agradeço a Deus, Nossa Senhora e ao Divino Pai Eterno pelo dom da vida, e por todas as bênçãos e milagres que realizaram e realizam todos os dias em minha vida.

Depois desse trio, eu agradeço eternamente ao quarteto mais importante da minha vida, minha família, Sergio, Simone, Leonardo e Maria Clara. Vocês são a base do que eu sou hoje, motivo das minhas alegrias e preocupações e, o mais importante, o amor incondicional que me dá forças todos os dias.

Ao meu namorado, Guilherme, apenas um muito obrigada não é suficiente. Para ele que todos os dias está ao meu lado, me apoiando, acalmando e me acompanhando nessa jornada maravilhosa, todo meu amor e gratidão.

À Universidade Federal de Lavras, agradeço por todos esses anos que me acolheu e proporcionou todo apoio para que eu seja Médica Veterinária, além dos melhores momentos de aprendizado e amizade que, nem em meu maior sonho, eu imaginaria.

Agradeço ao meu orientador, Henrique Resende, por me apoiar em todas as decisões que tomei durante o período de Estágio Supervisionado, e por acreditar em meu potencial. A todos os meus queridos professores doutores da UFLA, muita gratidão sem fim por estarem lá, todos os dias, com disposição para passar o que têm de mais valioso a nós, conhecimento.

Agradeço ao Professor James Richard Pursley, por todo aprendizado e conhecimento passados a mim com tanta dedicação e carisma; e à Thainá, à Robbyn, ao Alisson, à Emmy, à Emily, ao Dr. Bob e à toda equipe de estagiários (as) pela parceria diária no laboratório, no *office*, nas aulas e no Nobis Dairy Farm, vocês, com certeza, fizeram a diferença nos meus dias na MSU. Agradeço também à Michigan State University por ter me recebido de braços abertos.

À DG Torres Assistência Veterinária, minha gratidão por todos os estágios, durante os quais aprendi muito além da sala de aula. Ao Denilson Torres, Caio (Leiteiro) e Raynner, meu muito obrigada. Tenho muito orgulho dessa equipe!

Por fim, mas não menos importante, à minha família de Lavras, chamada de amigos e amigas...

Aos amigos da Biologia, da Veterinária, da Fogão à Lenha, enfim a todos aqueles e aquelas que tornaram essa jornada, de oito anos de faculdade os mais maravilhosos e intensos oito anos da minha vida, MUITO OBRIGADA!

*O segredo é não correr atrás das borboletas...
É cuidar do jardim para que elas venham até você.*
(Mario Quintana)

RESUMO

Este trabalho de conclusão de curso atende às exigências previstas na disciplina PRG-107 (Estágio Supervisionado), necessárias para a finalização do Curso de graduação em Medicina Veterinária, modalidade bacharelado, e relata as atividades desenvolvidas na Michigan State University (East Lansing – EUA). O estágio foi realizado na área de reprodução animal em bovinocultura leiteira, no período de sete de setembro a oito de dezembro de 2018, totalizando 512 horas práticas. As atividades incluíram acompanhamento de ultrassonografia transretal, palpação retal, coleta e processamento de amostras de sangue em laboratório, participação em aula prática de reprodução e atuação em condução de experimento, o qual mostrou ser possível a ressincronização de vacas até 130 dias em lactação, a partir da utilização de teste de diagnóstico precoce e acurado de gestação, por meio da identificação da proteína B no sague de vacas prenhas. A participação em aulas teóricas, e a prática diária de palpação retal proporcionaram aperfeiçoamento técnico na área de reprodução animal. A escolha de uma universidade estrangeira possibilitou observações a respeito dos diferentes sistemas de ensino vivenciados (brasileiro e americano) levando a estudante a considerar que a Michigan State University proporciona oportunidades mais abrangentes de atividades, durante a vida acadêmica de seus estudantes, e depois da formatura, quando comparada a UFLA.

Palavras-chave: Bovinocultura leiteira, Protocolos hormonais, Estágio no exterior.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AM – Antes do meio-dia
ANS 490 – Reproductive Technologies in Cattle
BRSV – Vírus sincicial bovino
CCS – Contagem de células somáticas
CIDR – Controlled Internal Drug Release
CL – Corpo lúteo
CS – Coleta de sangue
CSREES – Cooperative State Research, Education, and Extension Service
DEL – Dias em lactação
DO – Densidade óptica
DTRC – Dairy Teaching & Research Center
EUA – Estados Unidos da América
FD – Folículo dominante
FS – Fluxo sanguíneo
GnRH – Hormônio liberador de gonadotrofina
IA – Inseminação artificial
IATF – Inseminação artificial em tempo fixo
IBR – Rinotraqueíte infecciosa bovina
IM – Intramuscular
MAEAP - Michigan Agriculture Environmental Assurance Program
MHz – Mega Hertz
MMPA – Michigan Milk Producers Association
MSU – Michigan State University
OD – Ovário direito
OE – Ovário esquerdo
ONU – Organização das Nações Unidas
P/IA – Porcentagem de vacas prenhas por inseminação artificial
P₄ – Progesterona
PAG – Proteína associada à prenhez
PCDart® – Dairy Records Management Systems
PGF_{2α} – Prostaglandina F_{2α}

PI3 – Parainfluenza

PM – Após o meio – dia

PSPB – Pregnancy specific protein-B

RPM – Rotações por minuto

TE – Transferência de embriões

TMB – Tetrametilbenzidina

TMR – Total mixed ration

UFLA – Universidade Federal de Lavras

US – Ultrassom

VPN – Valor preditivo negativo

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	10
2.	DESCRIÇÃO DO LOCAL DE ESTÁGIO	11
2.1	Laboratório de Fisiologia da Reprodução e Manejo Reprodutivo de Vacas Leiteiras	11
2.2.	Fazenda onde se realizam os experimentos: Nobis Dairy Farm	12
2.2.1.	Instalações e funcionários da Nobis Dairy Farm	12
2.2.2.	Produtividade e manejo do rebanho da Nobis Dairy Farm	13
2.2.3.	Manejo reprodutivo da Nobis Dairy Farm	14
2.2.4.	Manejo de bezerras da Nobis Dairy Farm	14
2.2.5.	Alimentação do rebanho da Nobis Dairy Farm	16
2.2.6.	Sanidade do rebanho da Nobis Dairy Farm	16
2.3.	Fazenda de gado leiteiro da MSU: Dairy Teaching & Research Center	17
2.3.1.	Instalações, produção e qualidade do leite da Dairy Teaching & Research Center	18
2.3.2.	Manejo reprodutivo da Dairy Teaching & Research Center	18
2.3.3.	Alimentação do rebanho da Dairy Teaching & Research Center	18
3.	ATIVIDADES DESENVOLVIDAS DURANTE O PERÍODO DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO	19
3.1.	Teste para diagnóstico precoce de gestação, a partir da identificação da proteína B específica de prenhez (PSPB), realizado na fazenda Nobis Dairy Farm	20
3.2.	Acompanhamento de experimento realizado na fazenda Nobis Dairy Farm	22
3.2.1.	Elaboração de protocolo mais rápido para ressincronização do cio de vacas em lactação, utilizando teste de PSPB como método para diagnóstico de gestação	22
4.	ATIVIDADES ACADÊMICAS REALIZADAS NA DAIRY TEACHING & RESEARCH CENTER	31
5.	CONCLUSÃO	32
	REFERÊNCIAS	33
	APÊNDICE A – Questionário aplicado na Nobis Dairy Farm (Informações gerais)	35
	APÊNDICE B – Questionário aplicado na Nobis Dairy Farm (Manejo de bezerras)	36

1. INTRODUÇÃO

A população mundial cresce dia a dia, e segundo a Organização das Nações Unidas (ONU, 2017) atualmente somos 7,6 bilhões de seres humanos. Fornecer comida de qualidade a tantas pessoas é um desafio constante para a agropecuária mundial. Nesse contexto, o leite se destaca por ser um alimento completo, bastante utilizado nas refeições humanas, contendo nutrientes vitais para a saúde, incluindo gordura e proteína animal, além de poder ser comercializado de diferentes formas como pó, condensado, e derivados.

No Brasil, de 1974 a 2014 a produção leiteira cresceu de 7,1 bilhões para 35,1 bilhões de litros. Porém, em 2016, devido à redução do consumo interno, maior competitividade do produto importado e alta no preço dos grãos, houve queda para 34,23 milhões de toneladas. A partir de 2017, devido principalmente à redução no custo da produção, verificou-se crescimento de 4% no setor (ROCHA; CARVALHO, 2018). O aumento do consumo de leite por habitante/ano foi quadrático, diferentemente do linear, observado para a expansão da produção. Essa maior demanda *per capita* por leite depende de fatores internos como mudanças nos hábitos de consumo, maior poder aquisitivo, e melhor condição de vida das pessoas (VILELA et al., 2017). Paralelamente, nos Estados Unidos da América (EUA), a produção foi de 92,28 milhões de toneladas, o que faz dele o maior produtor de leite de vaca do mundo, e o primeiro em produtividade com 9.9 toneladas/vaca/ano (ZOCCAL, 2018).

Formas de aumentar a produção de leite para a alimentação humana são motivos de vários estudos nas áreas de genética, nutrição, sanidade e reprodução, principalmente de vacas, uma vez que respondem pela maior parte do leite consumido pelo homem. Durante o processo de domesticação e melhoramento desses animais, houve seleção para aumentar a produção leiteira. Associado a isto, observa-se redução na eficiência reprodutiva, com estros cada vez mais curtos e difíceis de serem detectados visualmente (WASHBURN et al., 2002).

A fim de tornar a reprodução mais eficiente e facilitar o gerenciamento de fazendas leiteiras, métodos de sincronização de estro foram desenvolvidos e testados em diversos rebanhos. O Ovsynch é o protocolo de inseminação artificial (IA) mais utilizado atualmente nos EUA, para sincronização de vacas em lactação. A partir da utilização de análogos sintéticos de prostaglandina ($PGF_{2\alpha}$), e hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH), esta técnica elimina a aleatoriedade do ciclo estral de vacas, sendo possível obter maior controle sobre a ovulação, e, assim, aumentar a eficiência da IA.

Este método apresenta taxas de concepção e de prenhez por IA de 50% e 43,4% respectivamente (PURSLEY et al., 1997; PURSLEY; MEE; WILTBANK, 1995). Com

objetivo de aumentar a eficiência da primeira dose de GnRH neste protocolo, e reduzir o tempo entre inseminações, diversos estudos vêm sendo conduzidos para elaboração de protocolos de pré-sincronização e ressincronização. Além disso, métodos sorológicos estão sendo utilizados para identificar variações nas concentrações séricas de proteínas associadas à prenhez (PAGs), a fim de obter diagnósticos de gestação em tempo inferior ao permitido pela ultrassonografia convencional (em modo B) e palpação retal.

Nesse contexto, durante o período de estágio priorizou-se o acompanhamento do manejo reprodutivo adotado por uma grande fazenda produtora de leite nos EUA, a qual utiliza o protocolo Ovsynch para sincronização da ovulação de seus animais. Paralelamente, foram realizadas atividades para implantação de novo protocolo de ressincronização de vacas não gestantes pós IA. Tais oportunidades proporcionaram aprendizado sobre a importância de diagnóstico de gestação preciso, por meio de amostras de sangue de vacas gestantes a partir do 24º dia após inseminação.

2. DESCRIÇÃO DO LOCAL DE ESTÁGIO

2.1 Laboratório de Fisiologia da Reprodução e Manejo Reprodutivo de Vacas Leiteiras

O estágio foi realizado no Laboratório de Fisiologia da Reprodução e Manejo Reprodutivo de Vacas Leiteiras, localizado na Michigan State University (MSU), na cidade de East Lansing, estado de Michigan – EUA. O laboratório é coordenado pelo professor James Richard Pursley, que em parceria com o professor Milo Wiltbank (UW-Madison) desenvolveram o protocolo de sincronização da ovulação mais utilizado nos EUA atualmente, o Ovsynch, sendo considerado pela Hoard's Dairyman o de melhor custo benefício para a indústria leiteira (STEVENSON, 2012).

Neste laboratório tradicionalmente realizam-se pesquisas objetivando-se o desenvolvimento de estratégias para sincronização da ovulação, utilizando análogos de PGF_{2α} e GnRH. Para tanto, frequentemente são conduzidos experimentos abrangendo diferentes manejos para o referido protocolo, a fim de aumentar a porcentagem de fertilidade de vacas em lactação, bem como a taxa de prenhez por inseminação. Neste local também são realizados estudos sobre protocolos de pré-sincronização, com intuito de se aumentar a eficiência do Ovsynch; dentre eles destacam-se o G6G (no qual a pré-sincronização é realizada com aplicação de uma dose de GnRH seis dias antes do primeiro GnRH empregado no Ovsynch),

Double-Ovsynch (que consiste em dois protocolos Ovsynch seguidos), e Pré-sincronização 10 ou 11 (no qual uma dose de $PGF_{2\alpha}$ é administrada 10 ou 11 dias antes do primeiro GnRH do Ovsynch). Além disso, formas de diagnóstico precoce de gestação por meio do teste de proteína B específica de prenhez (pregnancy specific protein-B, PSPB) complementam os estudos realizados pela equipe do laboratório, assim como trabalhos utilizando a ultrassonografia Doppler para avaliação da dinâmica do fluxo sanguíneo no corpo lúteo, em resposta a diferentes doses de prostaglandina.

A fim de testar os modelos experimentais desenvolvidos no referido laboratório, esse mantém parceria com a Nobis Dairy Farm (FIGURA 1), propriedade produtora de leite localizada na cidade de St. Johns – Michigan, onde foi realizada a maior parte das atividades do estágio. Para a coleta de informações sobre a fazenda, dois questionários foram respondidos pelo proprietário, os quais estão reproduzidos nos apêndices A e B.

Figura 1 - Vista dos três Free Stall da fazenda Nobis Dairy Farm.



Fonte: Arquivo pessoal.

2.2. Fazenda Nobis Dairy Farm

2.2.1. Instalações e funcionários

A Nobis possui rebanho de 1.950 animais, incluindo vacas em lactação, novilhas, vacas secas e bezerras, todas da raça Holandesa. Com exceção dessas últimas, as quais são mantidas em casinhas individuais, todas as outras categorias permanecem em instalações do tipo “free stall”, com cama de areia. Nesses locais, os resíduos de fezes, urina e areia são coletados e tratados em local específico, diariamente, enquanto os animais são ordenhados. A areia é separada da parte orgânica e reutilizada por até três vezes nas camas. Os dejetos são

decantados em lagoas, e posteriormente utilizados para adubação da plantação de alguns componentes da ração dos animais, como alfafa e milho. A fazenda possui, também, certificação ambiental, e toda água utilizada é reciclada.

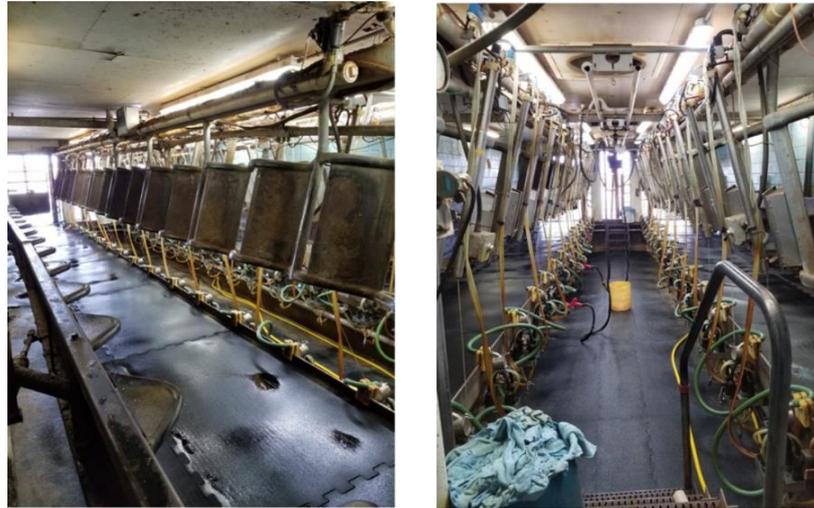
Trabalham atualmente nesta propriedade 20 funcionários, de diversas nacionalidades, os quais atuam em período integral em forma de rodízio, com seis pessoas por turno (manhã, tarde e noite), e nove contratadas por período parcial. O monitoramento de todo o rebanho é feito por meio do software PCDart®, Dairy Records Management Systems, específico para fazendas produtoras de leite.

2.2.2. Produtividade e manejo de ordenha do rebanho

Nesta fazenda, a média anual de vacas em lactação é de 953,1 animais, com produção média individual de 40,04 kg/animal/dia. Os animais são divididos em dois lotes de recém-paridas, dois de primíparas, quatro de alta produção e dois de produção inferior, sendo um destes composto por vacas próximas à secagem. Já aquelas que estão em pré-parto são confinadas em “compost barn”, e as secas separadas em dois lotes mantidos também em “free stall”. Além desses, há ainda grupos de animais no bezerreiro, novilhas em crescimento, bem como aquelas que serão inseminadas pela primeira vez.

A ordenha é mecânica, modelo “espinha de peixe”, com capacidade para 30 animais (15 de cada lado), como pode ser observado na Figura 2, e realizada três vezes ao dia. A produção média diária é de 38.163,31kg, e as porcentagens de proteína, gordura e CCS, de 2,9%, 3,6% e 233×10^3 cel/ml, respectivamente. Todo o leite é vendido para a Michigan Milk Producers Association (MMPA), cooperativa responsável pelo processamento do produto.

Figura 2 - Ordenha mecanizada da fazenda Nobis Dairy Farm.



Fonte: Arquivo pessoal.

2.2.3. Manejo reprodutivo

Os estudantes que participam da rotina do laboratório são responsáveis pelo controle reprodutivo de todo rebanho. Neste contexto, e aproximadamente no 58º dia pós-parto, as vacas são sincronizadas com G6G-Ovsynch. Novilhas com 12 meses recebem a primeira inseminação, e o cio é monitorado utilizando-se o sistema Heatime® Pro System, SCR Dairy, por meio de colares, instalados nos animais. Este detecta e monitora o cio com base na atividade das vacas, curva de ruminação, duração do cio e intervalo desde o ciclo anterior.

A média de serviços por concepção bem como o intervalo entre partos e a taxa de concepção do rebanho até o término do estágio foi de 2,7; 13,2 meses e 36% respectivamente. A taxa de descarte, por sua vez, é de aproximadamente 41%, sendo a redução dos índices reprodutivos a principal razão para se retirar o animal do rebanho.

2.2.4. Manejo de bezerras

Para os animais dessa categoria, a fazenda adota vários protocolos, incluindo os vacinais, de forma a atender às exigências nutricionais e sanitárias desde o nascimento até o desmame, os quais incluem transição alimentar e mudança de instalações, realizados conforme o crescimento dos animais. O sistema de criação inicial é em abrigos individuais, cercados com telas (FIGURA 3), para onde as bezerras são levadas cinco horas após o

nascimento, permanecendo aí até o 63º dia de vida. Nesse local também é realizada a cura de umbigo.

A colostragem é feita utilizando-se quatro litros de leite, administrados entre 15min à 1h após o nascimento, e, em seguida, mais dois litros, quatro e oito horas após a primeira ingestão. Os grãos ficam disponíveis a partir da 1ª semana de vida, e o consumo monitorado diariamente. A desmama ocorre aos 56 dias.

Figura 3 - Sistema de criação de bezerras com abrigos individuais.



Fonte: Arquivo pessoal.

A taxa de mortalidade de bezerras nesta fase é de aproximadamente 4,5%, sendo os problemas respiratórios a principal causa. A prevenção se dá com manutenção de camas secas, tanto no local de nascimento quanto nos abrigos assim como, colostragem e alimentação correta, além da administração da vacina INFORCE™3 (Zoetis) por via intranasal, ao nascimento e na 8ª semana de vida. Este medicamento previne contra doenças causadas pelo vírus sincicial bovino (BRSV), rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR) e parainfluenza (PI3). A fazenda mantém apenas as fêmeas; os machos são vendidos a produtores que os criam para abate.

2.2.5. Alimentação do rebanho

A dieta empregada utiliza feno de alfafa, silagem de milho, milho seco/canjica, canola, caroço de algodão e mistura mineral. Todos os ingredientes são pesados, colocados em vagão misturador e fornecidos como ração mista total (total mixed ration – TMR), uma vez ao dia, na parte da manhã, para todos os grupos de animais, em quantidades que atendam às necessidades e estágios de produção de cada lote.

2.2.6. Sanidade do rebanho

Na fazenda observa-se reduzida ocorrência de problemas metabólicos, como pode ser observado na Tabela 1. Esse resultado é consequência de um manejo bastante eficiente, que envolve manutenção da dieta e consistência no fornecimento de ração, utilização de colares de ruminação Heatime® Pro System, SCR Dairy, e contínua observação do rebanho.

Tabela 1 - Índices representando a sanidade do rebanho.

Casos	Porcentagem
Cetose	<1%
Hipocalcemia	<1%
Deslocamento de abomaso	4%
Mastite (clínica e subclínica)	5% (durante o período de estágio)
Problemas de casco	3% identificadas por claudicação; 31% diagnosticadas com algum problema no casco (sola fina, úlcera de sola, etc.)

Para se evitar a ocorrência de mastite, são realizados procedimentos de pré e pós *dipping*, utilização de luvas no momento da ordenha, bem como tratamento de vacas secas com ORBESEAL® (Zoetis), e administração da vacina ROTATEC® J-5 na fase de pré-parto (70 e 21 dias antes do parto). Além disso, faz-se manutenção e monitoramento das camas, dos equipamentos de ordenha, e vacas com manifestação clínica são tratadas individualmente. Para o controle de laminite é realizado o casqueamento continuamente.

A fazenda conta, ainda, com “free stall” que funciona como “hospital”, onde são mantidas vacas que estão recebendo algum tipo de tratamento à base antibiótico ou anti-inflamatório.

2.3. Fazenda de gado leiteiro da MSU: Dairy Teaching & Research Center

No laboratório são ministradas disciplinas, dentre elas a ANS 490 – Reproductive Technologies in Cattle, cujas aulas foram na Dairy Teaching & Research Center (DTRC), fazenda de rebanho leiteiro da MSU, registrada no Michigan Agriculture Environmental Assurance Program – MAEAP (FIGURA 4). A fazenda proporciona aos alunos de graduação e pós-graduação, local para realização de pesquisas nas áreas de nutrição, fisiologia mamária e reprodutiva, melhoramento e seleção animal e manejo de laticínios. Programas de extensão, assim como aulas de diversas disciplinas dos cursos de Zootecnia e Medicina Veterinária, também ocorrem naquele estabelecimento.

Figura 4 - Foto ilustrativa da estrutura da fazenda de gado leiteiro da universidade.



Fonte: https://www.canr.msu.edu/ans/farms-facilities/dairy_teaching_research_center.

2.3.1. Instalações, produção e qualidade do leite

Por ser uma fazenda onde são realizados diversos experimentos, as instalações do tipo “tie stall” abrigam a maioria dos animais, e são as mais indicadas pois estes permanecem contidos por correntes no pescoço, facilitando assim o manejo e controle do consumo de ração, o que permite maior acurácia na coleta de dados. Já as vacas que não participam de pesquisas são alojadas em “free stalls”, com camas de areia ou serragem, e o bezerreiro é também sob a forma de abrigos individuais.

A ordenha, do tipo espinha dupla, com 14 baias (sete de cada lado), possui registro automático que identifica o animal e o peso do leite por ele produzido. Ela é realizada duas vezes por dia, em 230 vacas em lactação, com produção diária média de 39 kg/vaca, e índices de proteína e gordura de 3,1% e 4,1% respectivamente. Todo o leite é recolhido e vendido para mesma cooperativa que processa o produto fornecido pela Nobis Dairy Farm, o rebanho está registrado na Holstein Association, e é monitorado pelo programa Dairy Comp 305®. Atualmente a DTRC possui cinco funcionários em tempo integral, e cerca de 44 a 50 estudantes que realizam estágio durante os intervalos das aulas.

2.3.2. Manejo reprodutivo

Todas as fêmeas são inseminadas artificialmente com sêmen de touros selecionados, objetivando-se aumentar a produção de leite, gordura e proteína, além de manter a conformação física e o desempenho reprodutivo dos animais. As novilhas recebem a primeira inseminação após 11 meses de idade, e a primeira inseminação pós-parto é feita aos 80 dias.

A taxa de concepção do rebanho, desde o início de 2018 até o término do estágio foi de 50%, com intervalo entre partos de 13 meses e taxa de serviço por concepção de dois, com nascimentos durante todo o ano. Os machos, quando não utilizados em experimentos, são vendidos nos primeiros dias de vida. A taxa de descarte é de aproximadamente 16%, e para reposição utiliza-se cerca de 225 fêmeas nascidas e criadas na fazenda.

2.3.3. Alimentação do rebanho

A maioria dos animais recebe ração mista total (TMR), formulada com base em suas necessidades nutricionais para crescimento, produção de leite e diferentes estágios de

lactação. Aqueles que participam de experimentos são alimentados de acordo com o objetivo do estudo.

Os principais componentes utilizados para confecção da mistura incluem farelo de alfafa, silagem de milho, alfafa, sorgo-sudão, milho com casca de alta umidade, semente de algodão, milho com casca seca e farelo de soja, todos armazenados em silos verticais, do tipo *bunker* e *bags*, localizados próximos à área onde as misturas são preparadas. Utiliza-se também fontes de vitaminas e minerais.

3. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS DURANTE O PERÍODO DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO

No período de sete de setembro a oito de dezembro de 2018 a rotina diária de estágio tinha início às 6h da manhã, quando as estudantes de mestrado e os estagiários chegavam à Nobis Dairy Farm. O horário de retorno variava de acordo com as atividades realizadas no dia, assim como a quantidade de pessoas trabalhando, visto que nem todos os estagiários e mestrandas estavam presentes todos os dias, em virtude das aulas. Após o término do expediente na fazenda, o trabalho continuava no escritório, sob a forma de leitura de artigos e estudos sobre protocolos de sincronização e resincronização de vacas em lactação, e testes de diagnóstico precoce de gestação; e, no laboratório, com a identificação e processamento de amostras de sangue. As atividades do dia se encerravam às 17h.

Durante todo o período de estágio foi possível acompanhar um dos projetos em andamento no laboratório, sobre protocolo de resincronização, além das aulas da disciplina ANS 490 - Reproductive Technologies in Cattle, como pode ser observado na Tabela 2.

Tabela 2 - Atividades executadas durante o período de 07/07 a 08/12/2018.

Atividades	Horas/semana
Coleta e processamento de amostras de sangue para avaliação de PSPB	7h
Coleta de sangue para avaliação de P4	6h
Introdução e retirada de dispositivo intravaginal de P ₄	3h
Aplicação de injeção IM de PGF _{2α} e	4h

GnRH para o protocolo G6G realizado para sincronização dos animais da fazenda	
Aplicação de injeção IM de PGF _{2α} e GnRH para os protocolos em teste	3h
Palpação retal (treinamento para avaliação de estruturas sistema genital feminino)	9h
Realização de ultrassonografia para avaliação de estruturas ovarianas (folículos e corpo lúteo quando presente)	2h
Acompanhamento de ultrassonografia realizada pelas estudantes de mestrado do laboratório	12h
Processamento de amostras para avaliação de P ₄ no sangue	2h
Acompanhamento das aulas da disciplina ANS 490	4h

3.1. Teste para diagnóstico precoce de gestação, a partir da identificação da proteína B específica de prenhez (PSPB), realizado na Fazenda Nobis Dairy Farm

Sabe-se que palpação transretal e ultrassonografia são os dois métodos utilizados para diagnóstico de gestação em várias espécies, inclusive bovinos. A primeira possibilita 100% de acurácia quando realizada após o 42º dia de gestação, enquanto que a ultrassonografia fornece 97.7% de confiabilidade, e valor preditivo negativo (VPN) igual a 97.2% entre o 26º e 33º dia de gestação (PIETERSE et al., 1990). Por volta do 28º dia a ultrassonografia apresenta 100% de acurácia no diagnóstico (GRADELA et al., 2009).

Já o teste de glicoproteína associada à prenhez (teste de PAG), identificada no soro sanguíneo ou no leite de vacas em lactação, apresenta respectivamente 92% e 89% de acurácia quando realizado aos 32 dias após inseminação, e quando comparado à palpação e ultrassonografia, apresenta confiabilidade e VPN de 100% (RICCI et al., 2015). Portanto, a utilização das concentrações de PAG no soro sanguíneo ou no leite, como indicativo de gestação, é considerada bastante confiável.

As glicoproteínas associadas à prenhez (PAG) fazem parte de um grupo de enzimas proteolíticas conhecidas como proteinases aspárticas (BECKERS et al., 1999), e apresentam concentrações sanguíneas aumentados em vacas prenhas (GREEN et al., 2005; HAUGEJORDEN et al., 2006). Se originam no momento da implantação embrionária, quando as células binucleadas do trofoblasto do embrião se fundem ao endométrio uterino para formação do sincício materno-fetal e dos placentomas, formando assim a placenta. Durante esta fase estas células liberam grânulos de secreção que se direcionam para o estroma materno e sua rede capilar. Tais partículas são conhecidas como glicoproteínas associadas à prenhez, e podem ser utilizadas para confirmação desta em fêmeas bovinas, caprinas, ovinas e bubalinas (GREEN et al., 2005; MARTINS et al., 2018).

Diversas pesquisas têm sido conduzidas para estimar as concentrações de PAG na circulação sanguínea de vacas em lactação, objetivando, assim, diagnóstico precoce de gestação. Há relatos de que as concentrações aumentam entre o 25º e o 32º dia após IATF, e apresentam queda entre 60 a 67 dias, voltando a subirem dos 74 aos 102 dias (RICCI et al., 2015). Alguns autores mostraram ser improvável a presença de PAG relacionada ao conceito aos 15 dias de gestação, pois nesse momento o trofoblasto apenas se alonga e a implantação propriamente dita ainda não ocorreu (GREEN et al., 2005). Dados deste mesmo estudo indicam aumento das concentrações séricas de PAG entre os dias 22 e 28 pós IA, alcançando valores de até 8,75 ng/ml.

No caso de perdas gestacionais, as concentrações de PAG no soro sanguíneo e no leite decrescem entre sete a 14 dias após a ocorrência (RICCI et al., 2015). Objetivando identificar possível associação entre as concentrações circulantes de PAG e mortalidade embrionária em estágio tardio da gestação (31 a 59 dias), POHLER et al. (2016) descobriram que à medida que as concentrações de PAG diminuem aos 31 dias de gestação, a probabilidade de confirmação de morte embrionária por volta dos 59 dias aumenta. Os autores também afirmaram que concentração circulante de PAG inferior a 1,4 ng/ml tem acurácia de 95% na previsão de morte embrionária entre 31 e 59 dias de gestação. O ideal para um primeiro diagnóstico precoce de gestação, utilizando-se como parâmetros as concentrações plasmáticas e no leite da proteína associada à gestação, é 32 dias após IATF (RICCI et al., 2015). Porém, anticorpos monoclonais utilizados em teste de ELISA são capazes de detectar prenhez aos 28 dias pós IA (GREEN et al., 2005).

SASSER et al. (1986) propuseram teste de radioimunoensaio para diagnóstico de gestação, conhecido como PSPB (pregnancy specific protein-B, PSPB), capaz de identificar a proteína B – uma PAG específica de fêmeas biunguladas gestantes. Com o objetivo de

mensurar apenas esta proteína, tal teste foi o primeiro a detectar prenhez utilizando método sorológico.

Comercialmente, o teste de PSPB é identificado como bioPRYN® - *Bovine and Small Ruminant Prenancy* ELISA, sendo utilizado para diagnóstico de prenhez em vacas e novilhas com 28 e 25 dias ou mais de IA, respectivamente. A ligação do anticorpo conjugado à PSPB a um anticorpo marcado é detectada pela adição da 3,3,5,5-tetrametilbenzidina (TMB), e quantificada pela intensidade da cor. Quando intensa indica prenhez, e se fraca significa ausência de PSPB no soro sanguíneo e, portanto prenhez negativa. Padrões de concentrações pré-estabelecidas de PSPB são utilizados nos ensaios realizados em laboratório e, a partir desses, determinam-se os valores de densidade óptica (DO), tornando possível atribuir intervalos que incluam animais gestantes ou não (TABELA 3).

Tabela 3 - Intervalos para interpretação dos resultados do teste de PSPB utilizando o bioPRYN®.

Classificação de prenhez	Densidade óptica
Não gestante	DO<0,135
Baixa Confiança	DO=0,135 até 0,15
Alta Confiança	DO=0,15 até 0,21
Gestante	DO>0,21

Baixo Limiar: 0,135; Ponto de corte: 0,15; Alto Limiar: 0,21; OD = densidade óptica. Fonte: Bovine and Small Ruminant Pregnancy ELISA: Assay Protocol.

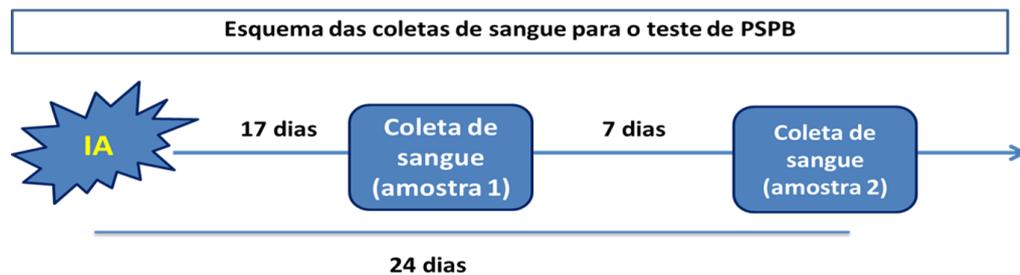
Se a DO da amostra indicar o intervalo para fêmeas não gestantes, a possibilidade desse diagnóstico se confirmar no teste por ultrassonografia é de 99,9%. Por outro lado, se a DO indicar prenhez, a chance dos animais estarem realmente gestantes no momento da confirmação é de 93 a 95% (BIOTRACKING LLC, 2012). Dessa forma é possível maximizar o manejo reprodutivo quando vacas não gestantes são assim identificadas precocemente, e logo inseridas em protocolo de ressincronização, o que resulta em elevados índices de fertilidade (SILVA et al., 2009).

3.2. Acompanhamento de experimento realizado na Fazenda Nobis Dairy Farm

3.2.1. Elaboração de um protocolo mais rápido para ressincronização do cio de vacas em lactação, utilizando teste de PSPB como método para diagnóstico de gestação

O objetivo geral deste experimento foi testar protocolo mais rápido para vacas em lactação, a ser utilizado a campo, e que permite serem ressincronizadas até o 130º dia de lactação (DEL), com intervalo de 35 dias entre inseminações, sem aplicação de GnRH antes do diagnóstico de gestação por ultrassonografia. Neste experimento priorizou-se o teste de PSPB para o diagnóstico precoce de gestação, o qual identifica aumento do nível sérico da proteína B no sangue de vacas prenhas. Para tanto, duas amostras de sangue de 10ml foram coletadas de vaso coccígeo no dia 17 e 24 após a inseminação artificial (FIGURA 5), utilizando-se agulhas e tubos Vacutainer® descartáveis, sem anticoagulante e com gel separador, para maximizar a eficiência da separação entre hemácias e soro. Todos os tubos eram identificados com o número do brinco do animal e data da coleta, e os resultados obtidos 26 dias após IA.

Figura 5 - Esquema representando as coletas de sangue realizadas para o teste de PSPB.



Posteriormente o médico veterinário realizava o exame ultrassonográfico no 34º dia pós IA para diagnóstico de prenhez, e apenas as vacas não gestantes permaneciam no experimento para serem ressincronizadas. Essa confirmação de gestação por ultrassonografia é muito importante na bovinocultura leiteira, pois perdas gestacionais precoces, entre o 27º e 50º dia de gestação podem chegar a 13% (RICCI et al., 2015; SANTOS et al., 2004), influenciando negativamente tanto a produção de leite quanto a taxa de reposição do rebanho.

De posse dessas informações, a diferença entre as concentrações de PSPB dos dias 17 e 24 foi utilizada como critério para confirmação da prenhez, de acordo com a seguinte fórmula:
$$\frac{[\text{concentração de PSPB (ng/ml) 24d} - \text{concentração de PSPB (ng/ml) 17d}]}{\text{concentração de PSPB (ng/ml) 17d}}$$
. Se a diferença fosse $\geq 10\%$, a fêmea possivelmente estaria prenha, sendo a confirmação realizada pelo médico veterinário 34 dias após; caso contrário, ou se o animal não apresentasse nenhum aumento nas concentrações de PSPB entre

os dias 17 e 24 pós IA, era possível afirmar que o animal não estava prenha, sendo então apto a receber nova inseminação.

Além do teste de PSPB, que nesse experimento foi empregado para permitir diagnóstico precoce e acurado de gestação com objetivo de detectar vacas não gestantes, o CIDR (Controlled Internal Drug Release) também foi utilizado. Esse dispositivo para liberação controlada de drogas, também conhecido como implante de liberação lenta de progesterona, evita ovulação precoce e mantém concentrações sub-luteais de P_4 , os quais não impedem o desenvolvimento folicular (SANTOS et al., 2003). Sabe-se que, particularmente no caso de vacas anovulares, que estão próximas ao período do estro ou que se encontram em fase lútea precoce ou tardia, as concentrações de P_4 na circulação sanguínea podem ser insuficientes para proporcionar fertilidade ideal. Nesses casos, a suplementação com dispositivos de progesterona melhora significativamente a fertilidade (WILT BANK; PURSLEY, 2014).

Considerando a influência das diferentes concentrações sanguíneas de P_4 nas fases do ciclo estral de vacas, no presente experimento foi testado também o melhor momento para retirada do implante de P_4 : concomitantemente, ou 24h após aplicação de $PGF_{2\alpha}$, e o(s) respectivo(s) efeito(s) nas taxas de concepção.

Para isso foram utilizadas 836 vacas taurinas da raça holandesa, preta e branca, em lactação por 80 dias. Para o controle das taxas de prenhez e concepção, e possível descarte dos animais, era realizado monitoramento a cada sete dias, com auxílio do programa computacional PCDart® (Dairy Records Management Systems), além das informações prestadas pelo médico veterinário da fazenda.

Semanalmente as fêmeas que estivessem saudáveis e com 58 dias pós-parto (período voluntário de espera, necessário para a involução uterina) eram pré-sincronizadas utilizando-se o protocolo G6G-Ovsynch perfazendo, assim, 18 dias de tratamento hormonal (TABELA 4). O uso desse protocolo implica na administração IM de análogo do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) conhecido como acetato de gonadorelina (GONAbreed®, Parnell – 100µg/ml), associado ao cloprostenol sódico (estroPLAN®, Parnell – 250µg/ml) – agente luteolítico sintético análogo à prostaglandina ($PGF_{2\alpha}$). As vacas eram então inseminadas todas as sextas-feiras pelo médico veterinário da fazenda, e quando não ficavam gestantes eram distribuídas aleatoriamente nos quatro protocolos de ressincronização.

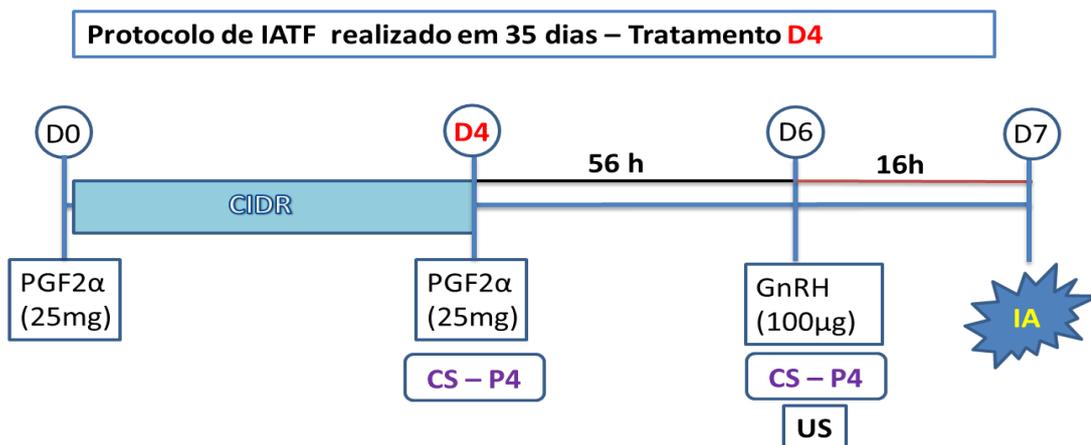
Tabela 4 - Esquema do protocolo hormonal G6G® realizado para a sincronização das vacas do rebanho do Nobis Dairy Farm para a primeira IA.

Domingo	2ª feira	3ª Feira	4ª Feira	5ª Feira	6ª Feira	Sábado
		GnRH				
		GnRH				
		PGF _{2α}	PGF _{2α}	GnRH	IA (AM)	
		(AM)	(AM)	(PM)		

Fonte: Adaptado de <https://dairyrepro.files.wordpress.com/2014/02/calendars-for-1st-ai.pdf>.

O tratamento D4 preconizou que as animais deveriam receber 25mg de PGF_{2α} no dia zero (D0), e implante intravaginal de liberação lenta de progesterona (CIDR); na sequência, 25mg de PGF_{2α} eram administrados quatro dias depois (D4), quando se retirava o CIDR e eram coletadas amostras de sangue em tubos de 10ml sem anticoagulante, para análise das concentrações séricas de P₄. Cinquenta e seis horas depois da aplicação da PGF_{2α}, feita no 4º dia do protocolo, eram administrados 100µg de GnRH (D6), e amostras de sangue eram coletadas novamente para a mesma finalidade. Exame ultrassonográfico era realizado com finalidade de identificar presença de folículo dominante, (10 a 15 mm). Por fim, 16 horas depois os animais eram inseminados pelo médico veterinário da fazenda (FIGURA 7).

Figura 7 - Representação do tratamento D4, que inclui retirada do CIDR no mesmo dia de aplicação da PGF_{2α}.

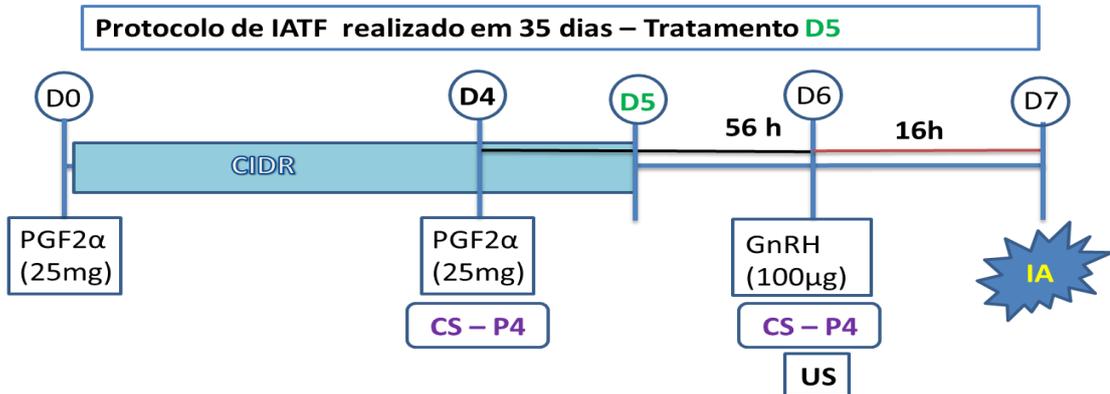


CS = coleta de sangue; IA = inseminação artificial; D0 = dia zero; D4 = dia 4; D6 = dia 6; D7 = dia sete; US = ultrassom para verificar presença de FD.

O tratamento D5 diferia do primeiro no que se refere ao dia da remoção do CIDR, a qual era realizada no dia cinco do protocolo, 24 horas após aplicação da última dosagem de

prostaglandina (FIGURA 8). Esse protocolo era realizado em um período de sete dias e o intervalo entre inseminações, nos tratamentos D4 e D5, era de 35 dias.

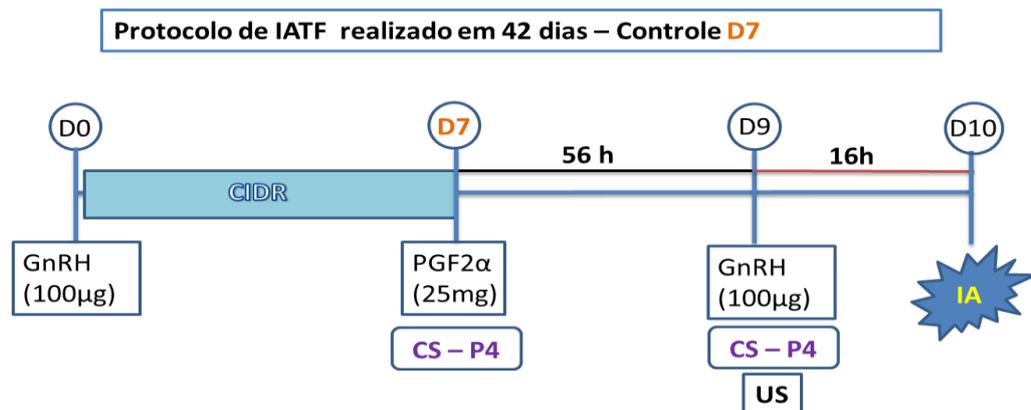
Figura 8 - Representação do tratamento D5, que inclui retirada do CIDR 24 horas após a aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$.



CS = coleta de sangue; IA = inseminação artificial; D0 = dia zero; D4 = dia 4; D5 = dia 5; D6 = dia 6; D7 = dia sete; US = ultrassom para verificar presença de FD.

Nas vacas do grupo controle D7, cujo CIDR era retirado no mesmo dia da aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$, os animais recebiam o primeiro GnRH no dia zero (D0), acrescido do implante de progesterona. Sete dias depois administrava-se $\text{PGF}_{2\alpha}$, o implante era retirado e o sangue coletado. No D9 aplicava-se a segunda dose de GnRH, e o exame ultrassonográfico realizado com objetivo de se verificar presença de folículo dominante. A inseminação ocorria 16 horas da 2ª dose de GnRH (FIGURA 9).

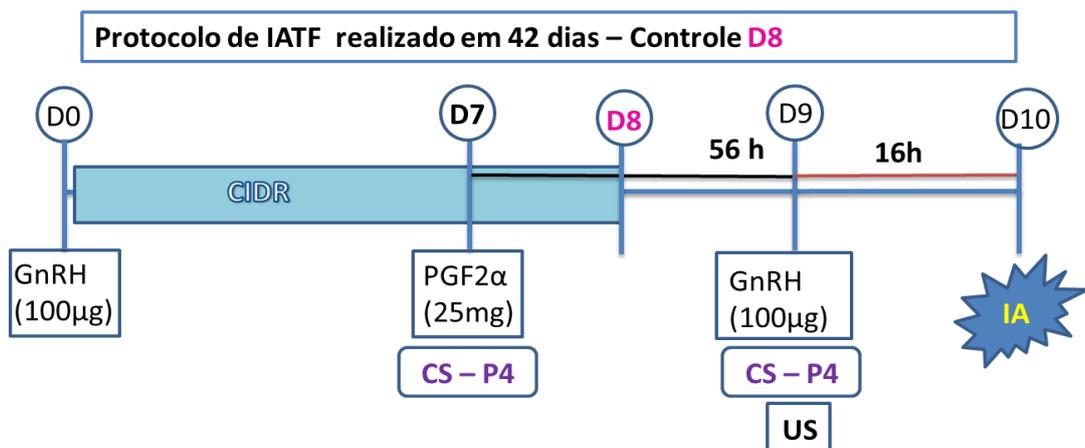
Figura 9 - Esquema representando o grupo controle D7, que inclui retirada do CIDR no mesmo dia da aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$.



CS = coleta de sangue; **IA** = inseminação artificial; **D0** = dia zero; **D7** = dia sete; **D9** = dia nove; **D10** = dia 10; **US** = ultrassom para verificar presença de FD.

No protocolo realizado para o grupo controle D8, o CIDR era retirado 24h após a aplicação da prostaglandina (FIGURA 10). O Ovsynch, em ambos grupos controle, era realizado em 10 dias, como já estabelecido e, dessa forma, o intervalo entre as inseminações era de 42 dias.

Figura 10 - Esquema representando o grupo controle D8, que inclui retirada do CIDR 24 horas após a aplicação de PGF2 α .



CS = coleta de sangue; **IA** = inseminação artificial; **D0** = dia zero; **D7** = dia sete; **D9** = dia nove; **D10** = dia 10; **US** = ultrassom para verificar presença de FD.

Todas as injeções hormonais foram realizadas com utilização de seringas para dose única e agulhas de 3,5cm, ambas individuais e descartáveis, utilizando-se os músculos semimembranoso ou semitendíneo. Para tanto, a equipe do laboratório realizou treinamento com os estagiários novatos, mostrando-lhes como as vacas deveriam ser manejadas no momento das aplicações, com objetivo de se evitar acidentes e estresse aos animais.

A introdução do dispositivo CIDR intravaginal ocorria às terças-feiras à tarde para os grupos controles (D7 e D8), e às sextas-feiras de manhã para os tratamentos (D4 e D5). Todos os implantes eram previamente desinfetados, assim como também a vulva, com solução de cloreto de alquil dimetil benzil amônio, diluindo-se 10ml em um balde com aproximadamente 10l de água. Introduzia-se o dispositivo na vulva, com manobras verticais, em ângulo de 45°, e em seguida realizavam-se delicados movimentos paralelos ao assoalho da vagina, a fim de depositar o implante o mais cranialmente possível, de forma a não apresentar risco de perda. Para que não houvesse irritação na parte externa da vagina, cortava-se a ponta externa do

dispositivo. Procedia-se à retirada destes às terças e quartas-feiras, e todos os implantes eram lavados com sabão, desinfetados novamente com alquil dimetil benzil amônio e, depois de secos, devidamente armazenados.

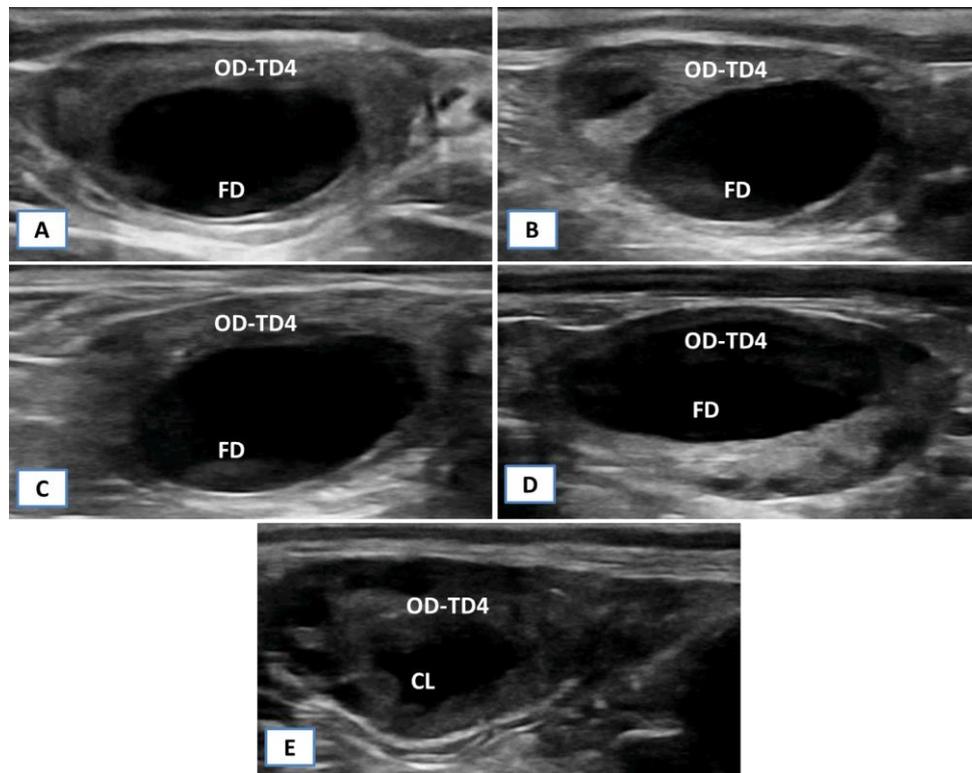
As amostras de sangue para dosagem dos concentrações séricas de progesterona circulante eram encaminhadas ao laboratório, no qual permaneciam sob refrigeração (0 a 4°C) por 24 horas. Posteriormente eram centrifugadas por 20 minutos, a 3000 rpm (rotações por minuto), em centrífuga refrigerada a 7°C, para separação do hemácias e soro. Na sequência, este último era transferido para tubos eppendorf® os quais, em seguida eram armazenados em freezer sob temperatura negativa (18 a 20°C).

A justificativa para a coleta de amostras de sangue e posterior avaliação das concentrações séricas de P₄ baseia-se na importância da concentração desse esteróide em diferentes etapas do desenvolvimento folicular, assim como sua relação com as taxas de prenhez por IA (P/IA) e perdas gestacionais. No estudo conduzido por MARTINS et al. (2018), os autores observaram que vacas cujas concentrações de P₄ eram mais baixas durante a fase de pré-dominância e dominância folicular devido ao emprego de CIDR já utilizado uma vez, apresentaram maior incidência de dupla ovulação como consequência da segunda dose de GnRH do protocolo Ovsynch. Tal condição acarretou taxas elevadas de P/IA aos 23 dias após IA, diagnosticadas por meio do teste de PSPB. Porém eles relataram que esses animais, apesar de apresentarem maiores taxas de prenhez em estágios precoces da gestação, revelaram-se com elevados índices de perdas gestacionais aos 35 e 56 dias após IA, quando comparados àqueles com concentrações mais altas de progesterona na circulação, no início do desenvolvimento folicular; nesses, as taxas de perdas gestacionais, na mesma época (35 e 56 dias), foram inferiores.

O exame ultrassonográfico transretal por sua vez foi realizado diariamente utilizando-se transdutor de matriz linear de 10 – 5 MHz, com 50mm (MyLab™ DeltaVET Mobile, Esaote SpA ©2018, Gênova, Itália). Tal exame tinha como objetivo permitir a mensuração do diâmetro do folículo dominante (10 a 15 mm), e do CL e respectiva cavidade, caso houvesse. A utilização do modo Doppler visava avaliar o fluxo sanguíneo (FS) no CL, a fim de determinar seu estágio de regressão. A classificação era feita utilizando-se a seguinte escala: - 1 = sem FS, -1= traços de FS, +2= FS intermediário e ++2 = FS intenso.

As Figuras 11 e 12 mostram imagens de ultrassonografia, respectivamente dos ovários direito e esquerdo de vacas, acompanhadas durante uma semana para avaliação da ocorrência de ovulação do folículo dominante, e intensidade do fluxo sanguíneo no CL, permitindo assim, avaliar a resposta desses animais aos protocolos de ressincronização testados.

Figura 11 – Imagens diárias de ultrassonografia convencional do ovário direito (OD) de vacas do tratamento D4 (TD4).



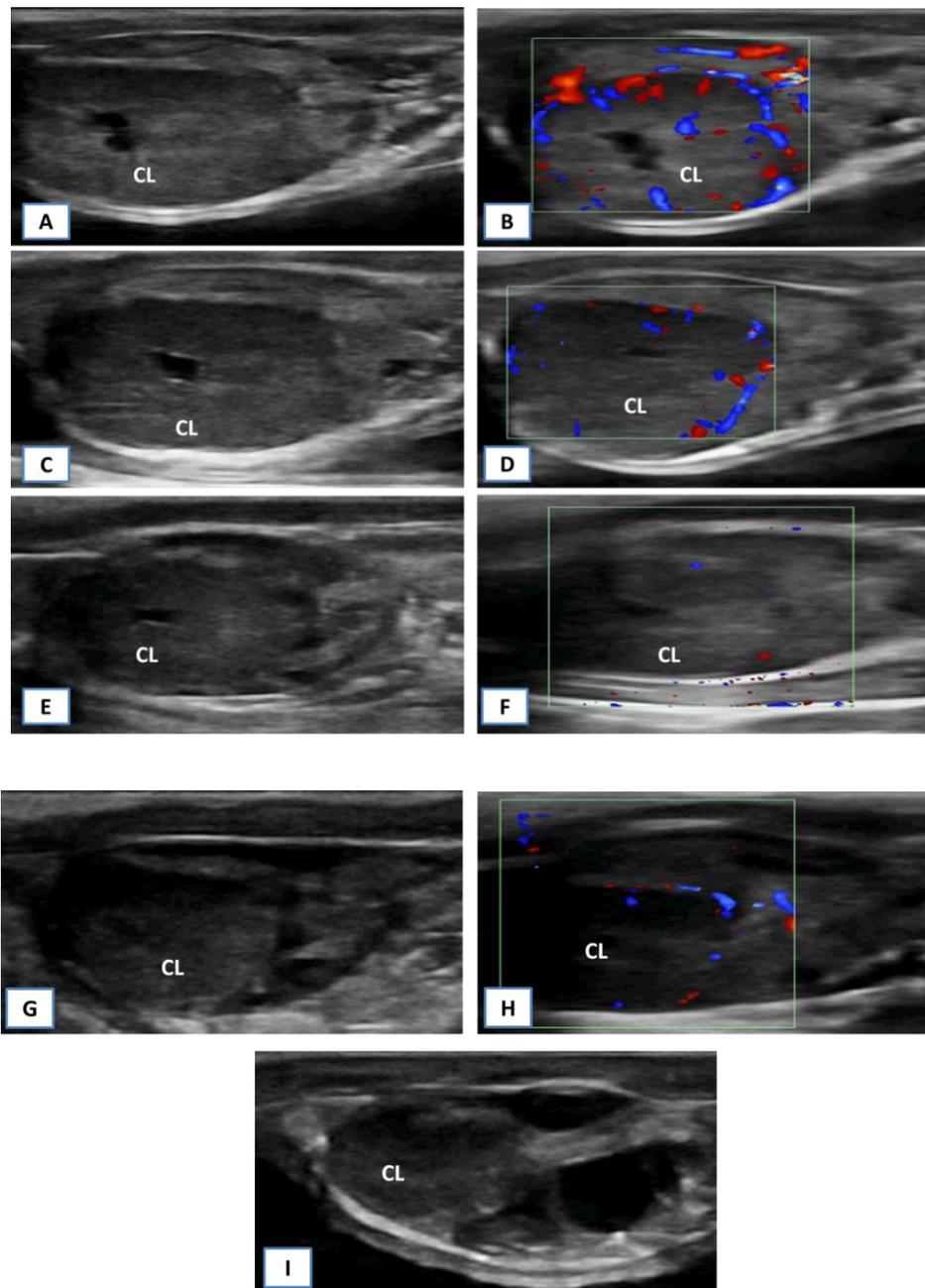
A: D4=dia zero; **B:** D5=dia cinco; **C:** D6=dia seis; **D:** D7=dia sete; **E:** D10=dia 10, indicando que houve ovulação do folículo dominante após aplicação do GnRH (D6). **FD** = folículo dominante; **CL**= corpo lúteo; **TD4** = tratamento dia 4.

Pode-se concluir que houve ovulação do folículo dominante entre o D6 e o D10 (FIGURA 11 – E). Isso ocorreu devido à presença, no ovário em questão, de um folículo pré-ovulatório com mais de 10 mm de diâmetro, originado de uma onda folicular anterior. Tal estrutura não ovulou no D0 do protocolo, pois não houve administração de GnRH, e a PGF_{2α} administrada induz luteólise, caso seja observada presença de CL. Esse folículo permaneceu tempo suficiente no ovário para sofrer diferenciação, tornando-se o folículo dominante observado na Figura 11. Nesse momento do desenvolvimento folicular, o FD já possui tamanho entre 10 a 15mm e número suficiente de receptores de LH nas células da granulosa, sendo responsivo a esse hormônio. Portanto, quando ocorre o pico de LH, entre 30 a 36 horas depois da aplicação do GnRH, conduzida no D6, verifica-se a ovulação nas 24 a 32 horas seguintes (WILTBANK; PURSLEY, 2014).

Observou-se no grupo controle D7 a regressão do fluxo sanguíneo no CL, em consequência do processo luteolítico desencadeado pela prostaglandina administrada no D7 (FIGURA 12). A luteólise é bastante evidenciada principalmente entre as Figuras 12 – B (dia

da aplicação de prostaglandina) e 12 – F (dois dias depois da administração daquele hormônio). Segundo PURSLEY et. al, 1995, espera-se que ocorra ovulação após a administração de uma dose de GnRH no D0 do protocolo Ovsynch e, sete dias depois, que um CL esteja presente no ovário em questão, sendo nesse momento responsivo à $\text{PGF}_{2\alpha}$, sofrendo luteólise.

Figura 12 – Imagens diárias de ultrassonografia convencional (A,C,E,G e I) e ultrassonografia Doppler (B,D,F, e H) do ovário esquerdo de vacas do grupo controle D7.



A: D7=dia sete, CL cavitário; B: D7, FS no CL = +2; C: D8=dia oito, CL cavitário; D: D8 com FS no CL = -1; E: D9=dia nove, CL cavitário; F: D9 com FS no CL = --1; G: D10=dia 10, CL reduzido e

com cavidade quase imperceptível; **H**: D10 com FS no CL = --1; **I**: D13= dia 13 com CL regredido.
CL = corpo lúteo; FS = fluxo sanguíneo.

4. ATIVIDADES ACADÊMICAS REALIZADAS NA DAIRY TEACHING & RESEARCH CENTER

Durante o período de estágio foi possível assistir as aulas da Disciplina ANS 490 – Reproductive Technologies in Cattle, ministradas duas vezes por semana, com conteúdo teórico (0,5h) e prático (1,5h).

Os tópicos abordados foram anatomia do sistema genital de fêmeas bovinas; fisiologia da gestação e ciclo estral; diagnóstico de gestação por meio da palpação retal (estruturas evidenciadas a cada mês do desenvolvimento do feto); técnica de inseminação artificial; fisiologia dos programas de fertilidade para vacas leiteiras (Ovsynch®, Double-Ovsynch®, G6G®, Presynch – com uma dose de PGF_{2α} administrada 10 ou 11 dias antes da primeira dose de GnRH prevista no Ovsynch), e diferentes métodos para diagnóstico de gestação (palpação retal, ultrassonografia, e teste de identificação de proteínas específicas de prenhez, utilizando-se sangue ou leite das vacas).

Além desses temas, houve também aula sobre transferência de embriões. Nesta oportunidade, pode-se conhecer os equipamentos necessários para realização de aspiração folicular e transferência de embriões, assim como as principais diferenças entre as técnicas IVF (*In vitro* Fertilization/Fertilização *in vitro*/PIV – Produção *in vitro* de embriões) e Convencional Flushing (Lavagem convencional/Transferência de embriões – TE).

Na primeira, as vacas doadoras são superovuladas com FSH, e em seguida têm seus oócitos aspirados sendo qualificada a viabilidade destes. Os considerados aptos são fertilizados *in vitro* e os embriões implantados em receptoras, sete dias depois, tempo necessários para que apresentem ambiente uterino compatível com a idade do embrião a ser recebido, condição alcançada após tratamento específico.

Já em protocolo de transferência de embrião (TE), as doadoras são superovuladas e, depois de inseminadas, os embriões são coletados e avaliados de acordo com sua viabilidade. Aqueles considerados viáveis são transferidos para fêmeas, chamadas receptoras, após sete dias e nesse caso, a fecundação acontece no útero da doadora. É importante que as receptoras apresentem-se em período reprodutivo adequado para receber esse embrião de sete dias, por isso também recebem protocolos específicos para sincronização da ovulação.

As aulas práticas, por sua vez, permitiram atividades como exame ginecológico completo por palpação retal, técnica de inseminação artificial, diagnóstico de gestação via US, coleta de sangue da veia ou artéria coccígeas, além da confecção de trabalhos em grupo, apresentados ao término da disciplina, abordando os seguintes temas: Ciclo estral e desenvolvimento folicular; Estruturas ovarianas e hormônios; Sincronização e programas de fertilidade, e Gestação e diagnóstico de gestação.

Para avaliação final da disciplina, vacas descartes foram sincronizadas com G6G-Ovsynch® para que os alunos pudessem realizar a inseminação artificial completa, desde o descongelamento do sêmen e montagem do aplicador, até a deposição daquele no corpo do útero. Cada aluno teve mais de uma oportunidade de realizar essa tarefa, consolidando os conhecimentos adquiridos.

5. CONCLUSÃO

O estágio supervisionado é a oportunidade de colocar em prática o que foi captado em sala de aula durante a faculdade, sendo portanto de extrema importância para a formação do Médico Veterinário. As diversas situações vivenciadas durante o estágio aqui relatado potencializam minha capacitação para atuar como profissional da área, visto que a experiência adquirida na Michigan State University e no Nobis Dairy Farm foi muito importante para tomada de decisões sobre a maneira que irei conduzir minha carreira como profissional na área de reprodução animal.

O contato diário com a pesquisa e execução de experimentos evidenciou o quão é essencial a atualização constante dos profissionais, diante das novas descobertas científicas. O mercado de trabalho exigirá, cada vez mais, a capacidade de adaptação dos profissionais frente às mudanças que ocorrerão com o surgimento de novas tecnologias.

A escolha por uma universidade estrangeira para realização das atividades permitiu o desenvolvimento de um senso crítico sobre os dois sistemas educacionais vivenciados (brasileiro e americano), além da experiência de uma cultura diferente e a prática da língua inglesa, que agregaram maior valor às atividades do estágio supervisionado.

Como acompanhei aulas teóricas na MSU, é possível dizer que a Universidade Federal de Lavras (UFLA) prepara seus estudantes com bastante competência em termos de conteúdo, uma vez que apresenta carga horária de aulas teóricas, superior à da universidade. Esse é um aspecto bastante positivo, pois não encontrei dificuldades em entender os temas abordados

durante o estágio supervisionado. Entretanto, o tempo destinado às aulas práticas na UFLA foi escasso, quando comparado à MSU.

Esta possui um dos maiores campus universitários dos EUA, e seu tamanho permite que tenha infraestrutura adequada e bem explorada, para potencializar o aprendizado dos alunos, como o Dairy Teaching & Research Center. Paralelamente, apesar da UFLA também apresentar um campus bastante grande e organizado, muitas vezes as instalações são subutilizadas por falta de investimentos adequados.

Diante do exposto, o período de estágio curricular supervisionado foi fundamental para o crescimento pessoal e profissional, além de ampliar os horizontes com relação ao mercado de trabalho e à importância de se atualizar, visando a excelência profissional.

REFERÊNCIAS

BECKERS, J. F. et al. Pregnancy associated glycoproteins in ruminants: inactive members of the aspartic proteinase family. **Acta Veterinaria Hungarica**, v. 47, n. 4, p. 461–469, 1999.

BIOTRACKING LLC. **BioPRYN - Training Manual**. [s.l: s.n.], 2012.

DAIRY CATTLE TEACHING & RESEARCH CENTER – MICHIGAN STATE UNIVERSITY. **Self-Guided Walking Tour**. Disponível em: <https://www.canr.msu.edu/ans/farms-facilities/dairy_teaching_research_center>. Acesso em: 5 dez. 2018.

GRADELA, A. et al. Exatidão da ultra-sonografia para diagnóstico de gestação aos 28 dias após inseminação e sua contribuição na eficiência reprodutiva em fêmeas Nelore e cruzadas. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 104, p. 31–35, 2009.

GREEN, J. A. et al. The establishment of an ELISA for the detection of pregnancy-associated glycoproteins (PAGs) in the serum of pregnant cows and heifers. **Theriogenology**, v. 63, n. 5, p. 1481–1503, 2005.

HAUGEJORDEN, G. et al. Pregnancy associated glycoproteins (PAG) in postpartum cows, ewes, goats and their offspring. **Theriogenology**, v. 66, n. 8, p. 1976–1984, 2006.

MARTINS, J. P. N. et al. Level of circulating concentrations of progesterone during ovulatory follicle development affects timing of pregnancy loss in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 11, p. 10505–10525, nov. 2018.

ONU. **População mundial atingiu 7,6 bilhões de habitantes**. Disponível em: <<https://news.un.org/pt/story/2017/06/1589091-populacao-mundial-atingiu-76-bilhoes-de-habitantes>>. Acesso em: 5 dez. 2018.

PIETERSE, M. C. et al. Early pregnancy diagnosis in cattle by means of linear-array real-time ultrasound scanning of the uterus and a qualitative and quantitative milk progesterone test. **Theriogenology**, v. 33, n. 3, p. 697–707, 1990.

POHLER, K. G. et al. Circulating concentrations of bovine pregnancy-associated glycoproteins and late embryonic mortality in lactating dairy herds. **Journal of Dairy**

Science, v. 99, n. 2, p. 1584–1594, 2016.

PURSLEY, J. R. et al. Pregnancy Rates Per Artificial Insemination for Cows and Heifers Inseminated at a Synchronized Ovulation or Synchronized Estrus. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 2, p. 295–300, 1997.

PURSLEY, J. R. **Program calendars for 1st AI**. Disponível em: <<https://dairyrepro.files.wordpress.com/2014/02/calendars-for-1st-ai.pdf>>. Acesso em: 5 dez. 2018.

PURSLEY, J. R.; MEE, M. O.; WILTBANK, M. C. Synchronization of Ovulation in Dairy Cows Using PGF_{2α}, and GnRH. **Theriogenology**, v. 44, p. 915–923, 1995.

RICCI, A. et al. Factors associated with pregnancy-associated glycoprotein (PAG) levels in plasma and milk of Holstein cows during early pregnancy and their effect on the accuracy of pregnancy diagnosis. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 4, p. 2502–2514, 2015.

ROCHA, D. T. DA; CARVALHO, G. R. Produção brasileira de leite: uma análise conjuntural. **Anuário Leite 2018 - Embrapa Gado de Leite**, p. 116, 2018.

SANTOS, J. E. P. et al. Breeding Programs Reproductive Management for. **Advances in Dairy Technology**, v. 15, p. 49–68, 2003.

SANTOS, J. E. P. et al. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. **Animal Reproduction Science**, v. 82–83, p. 513–535, 2004.

SASSER, R. G. et al. Detection of pregnancy by radioimmunoassay of a novel pregnancy-specific protein in serum of cows and a profile of serum concentrations during gestation. **Biology of Reproduction**, v. 35, n. 4, p. 936–942, 1986.

SILVA, E. et al. Effect of interval to resynchronization of ovulation on fertility of lactating Holstein cows when using transrectal ultrasonography or a pregnancy-associated glycoprotein enzyme-linked immunosorbent assay to diagnose pregnancy status. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 8, p. 3643–3650, 2009.

STEVENSON, J. **What's the best timed A.I. program?** Disponível em: <<https://hoards.com/article-4877-whats-the-best-timed-ai-program.html>>. Acesso em: 5 dez. 2018.

WASHBURN, S. P. et al. Trends in Reproductive Performance in Southeastern Holstein and Jersey DHI Herds. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 1, p. 244–251, 2002.

WILTBANK, M. C.; PURSLEY, J. R. The cow as an induced ovulator: Timed AI after synchronization of ovulation. **Theriogenology**, v. 81, n. 1, p. 170–185, 2014.

VILELA, D.; RESENDE, J. C.; LEITE J. B.; ALVES, E. A evolução do leite no Brasil em cinco décadas. **Revista de Política Agrícola**, v. 26, n.1, p. 5–24, 2017

ZOCCAL, R. Indicadores da produção mundial de leite. **Anuário Leite 2018 - Embrapa Gado de Leite**, p. 116, 2018.

APÊNDICE A – Questionário aplicado na Nobis Dairy Farm (Informações gerais)

MICHIGAN STATE UNIVERSITY
Department of Animal Science
Dr. Richard Pursley, Reproduction Management Laboratory Group

Questionnaire to gather relevant information about Nobis Dairy Farms. This information will be included in my internship report.

1. What is the size of the herd? Including lactating cows, dry cows, heifers and calves.
2. Average of lactating cows/year?
3. Average milk production/cow/day?
4. Average DIM lactating cows?
5. TMR ingredients:
6. What is the total area of the farm used for planting the ingredients for the cows feed?

7. Percentage of major diseases:
 - a. Metabolic disease (ketosis, milk fever and displaced abomasum in transitions cows):
 - b. Mastitis (clinical and subclinical):
 - c. Reproduction:
 - d. Lameness:
 - e. Infectious-contagious diseases:
8. What are the methods that the farm uses to avoid the occurrence of metabolic disease? And to control mastitis, lameness and infectious-contagious diseases?
9. How many employees work on the farm today?
10. Average milk quality 2018 till present date:
 - a. % protein:
 - b. % fat:
 - c. % SCC (somatic cell count):
 - d. % TBC (total bacterial count):
11. Which company is processing the milk? What price is the farm getting paid?
12. What is the period after birth that heifers receive their first insemination?
13. What is the method used to identify estrus in heifers before their first insemination?
14. What is the average number of services/conceptions?
15. What is the calving interval?
16. What is the herd conception rate 2018 till present date?
17. What is the mortality rate for:
 - a. Calves:
 - b. Heifers:
 - c. Cows:
18. What is the culling rate (average cows/month)? What is the main reason?
19. What is the annual herd replacement rate?

APÊNDICE B – Questionário aplicado na Nobis Dairy Farm (Manejo de bezerras)

MICHIGAN STATE UNIVERSITY
 Department of Animal Science
 Dr. Richard Pursley, Reproduction Management Laboratory Group

Questionnaire to gather relevant information about Nobis Dairy Farms. This information will be included in my internship report.

Calves management

1. How does the farm usually provide colostrum to newborn calves? How long it takes? (Eg: how many hours after the calf is born, how many times/days?)
2. How old are the calves when they are weaned?
3. How the weaning process is carried out? (Transition between milk to grain / feed)

4. Do calves receive any kind of supplementation during the transition period or after this?
5. How many times a day are the calves fed?
6. Do you dip navels? And if so, what is the protocol?
7. How many days after birth do the calves go to the hutches? How long they stay in there?
8. After the hutches, what management is carried out? (feed and facilities)
9. What is done with the male calves?
10. What do the farm does to prevent diarrhea and pneumonia? And how do you treat it?
11. What is the main cause of death for calves? What has been done to prevent it?
12. What kind of vaccines is administered for the calves? (How old are they at the time?)
13. How is dehorn performed?