

U. PORTO



INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS ABEL SALAZAR
UNIVERSIDADE DO PORTO

Relatório Final de Estágio
Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

**Avaliação da taxa de conceção de diferentes protocolos de
inseminação artificial em explorações no Entre-Douro-e-Minho**

Pedro José Nogueira Carvalho

Orientador:
Prof. Doutor Luís André de Oliveira Pinho

Co-Orientador:
Prof. Doutor António José Mira da Fonseca

Porto 2016

U. PORTO



INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS ABEL SALAZAR
UNIVERSIDADE DO PORTO

Relatório Final de Estágio
Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

**Avaliação da taxa de conceção de diferentes protocolos de
inseminação artificial em explorações no Entre-Douro-e-Minho**

Pedro José Nogueira Carvalho

Orientador:
Prof. Doutor Luís André de Oliveira Pinho

Co-Orientador:
Prof. Doutor António José Mira da Fonseca

Porto 2016

Resumo

A eficiência reprodutiva representa um ponto chave na rentabilidade e viabilidade da maioria das explorações leiteiras, pelo forte impacto que provoca sobre a economia das mesmas. Por forma a otimizar a performance reprodutiva, têm que ser avaliados múltiplos fatores, como o manejo, instalações, nutrição e deteção de cios, sendo que este último exerce maior preponderância na prossecução dos objetivos reprodutivos propostos.

No presente trabalho, foram realizados inquéritos às 20 explorações estudadas assim como registados e comparados alguns dos seus índices reprodutivos de forma a poder caracterizá-las e assim ter uma percepção de como estes são influenciados por possíveis diferenças existentes ao nível do manejo.

Tendo em conta a baixa deteção de cios na região, constatada em trabalhos anteriores e igualmente observável nos registos técnicos de algumas explorações acompanhadas, compararam-se as taxas de conceção (TC) de inseminações artificiais a tempo fixo (IATF) recorrendo ao uso do protocolo OvSynch (OS), e inseminações precedidas de deteção de cio, quer estes sejam naturais ou induzidos pela administração de prostaglandina $PGF_{2\alpha}$, representando este o objetivo final do trabalho. As médias das taxas de conceção foram de $35,0 \pm 1,7\%$ para os cios naturais (**TCN**) com 1357 inseminações, $29,4 \pm 2,1\%$ com a aplicação de prostaglandina (**TCP**) com 492 inseminações e $42,8 \pm 3,4\%$ para o programa OS (**TCOS**) com 431 inseminações, sugerindo que existem ligeiras diferenças entre a eficácia dos vários protocolos nas explorações estudadas apesar de estas não serem estatisticamente significativas ($p=0,0536$). Ainda assim, quando comparadas unicamente as TCP e a TCOS, foram encontradas diferenças significativas ($p=0,0156$).

Desta forma parece-nos razoável inferir que a administração de prostaglandinas como método de sincronização de cios para posterior inseminação não favorece a melhoria da eficiência reprodutiva e, como tal, a rentabilidade da maioria das explorações analisadas e, provavelmente, de tantas outras na região.

Agradecimentos

Quero deixar um agradecimento especial aos meus orientadores, Prof. Doutor Luís Pinho e ao Prof. Doutor António Mira da Fonseca por terem proporcionado experiências e conhecimentos além dos objetivos do meu estágio curricular, bem como por toda a orientação, disponibilidade, ensinamentos e apoio dedicados.

Gostaria de agradecer a toda a equipa da SVA, em particular ao Dr. Carlos Cabral, por toda a motivação e apoio que disponibilizou sempre ao longo de todo o estágio.

A todos os produtores, pela sua disponibilidade, paciência e compreensão, muito obrigado.

Aos meus amigos, familiares e em especial à mulher dos meus sonhos, espero poder retribuir-vos o mais cedo possível.

À minha mãe, não tenho como agradecer...

Neste momento, reitera um sentimento de satisfação e realização pessoal relativamente ao estágio curricular mas acima de tudo uma enorme ânsia de iniciar o meu percurso profissional e aplicar os conhecimentos adquiridos aos longo dos últimos anos de forma a poder retribuir finalmente, a vários níveis, tudo quanto estiver ao meu alcance.

Lista de Abreviaturas

BEN – Balanço energético negativo

CC – Condição Corporal

CL – Corpo lúteo

DAE – Deslocamento de abomaso à esquerda

DAC – Intervalo entre o parto e a primeira inseminação fecundante ou número de dias à concepção

DC – Detecção de cios

DC 60 – Detecção de cios aos 60 dias pós parto

DEL – Dias em lactação

EIA – Intervalo interestros

et al. - et alii

FA- Frequência absoluta

FR- Frequência relativa

GnRH – Hormona libertadora de gonadotrofina

IA – Inseminação artificial

IATF – Inseminação artificial a tempo fixo

IP – Intervalo entre partos

LH – Hormona luteinizante

NºI/C – Número de inseminações por concepção

OS – Protocolo OvSynch

PGF2 α – Prostaglandina F2 α

PVE – Período voluntário de espera

P1IA – Intervalo entre o parto e a primeira inseminação artificial

P4 – Progesterona

SEM – Erro padrão da média

SVA – Serviços Veterinários Associados (SVAExplite,Lda)

TC – Taxa de Concepção

TCN – Taxa de Concepção de cios naturais

TCOS – Taxa de Concepção com o protocolo OvSynch

TCP – Taxa de Concepção com Prostaglandinas PGF2- α

TC1º - Taxa de Concepção ao primeiro serviço

TMR – Ração totalmente misturada

Índice

Resumo.....	iii
Agradecimentos	iv
Lista de Abreviaturas	v
Índice	vi
Índice de Figuras e Tabelas	vii
Índice de Figuras.....	vii
Índice de Tabelas	vii
Introdução geral.....	1
Capítulo I – Casuística.....	3
Capítulo II - Inquérito de manejo geral e reprodutivo	6
Introdução.....	6
Materiais e Métodos.....	8
Resultados.....	8
Discussão e Conclusão.....	9
Capítulo III - Índices Reprodutivos	11
Introdução.....	11
Materiais e Métodos.....	11
Resultados.....	14
Discussão e Conclusão.....	15
Capítulo IV - Avaliação e comparação das taxas de concepção entre diferentes tipos de protocolos de IA	17
Introdução.....	17
Materiais e Métodos.....	19
Resultados.....	20
Discussão e Conclusão.....	21
Conclusão geral.....	23
Bibliografia	25
Anexos I – Inquérito realizado às explorações	31
Anexos II – Índices das explorações analisadas	32

Índice de Figuras e Tabelas

Índice de Figuras

FIGURA 1 – QUANTIDADE RELATIVA DE CASOS CLÍNICOS RELATIVOS A CADA GRUPO DE PATOLOGIAS.....	4
FIGURA 2 – QUANTIDADE RELATIVA DAS PRINCIPAIS ATIVIDADES REALIZADAS NO PERÍODO DE ESTÁGIO.	5
FIGURA 3 - FLUXOGRAMA QUE DELINEIA A ABORDAGEM SISTEMÁTICA PARA A AVALIAÇÃO DA PERFORMANCE REPRODUTIVA ATRAVÉS DOS VÁRIOS ÍNDICES COLHIDOS (ADAPTADO DE: HARDIN, 1993).....	13
FIGURA 4 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO PROTOCOLO OS (ADAPTADO DE: AZEVEDO <i>ET AL.</i> , 2014).....	20
FIGURA 5 - MÉDIA DAS TAXAS DE CONCEÇÃO DOS 3 PROTOCOLOS; MÉDIAS COM DIFERENTES LETRAS DIFEREM SIGNIFICATIVAMENTE ($P<0,05$)......	20

Índice de Tabelas

TABELA 1 – NÚMERO ABSOLUTO E RELATIVO DE PATOLOGIAS E INTERVENÇÕES ACOMPANHADAS AO LONGO DO ESTÁGIO.....	3
TABELA 2 – RESTANTES PATOLOGIAS E INTERVENÇÕES REALIZADAS NO ESTÁGIO.....	4
TABELA 3 – NÚMERO ABSOLUTO E RELATIVO DAS PRINCIPAIS ATIVIDADES REALIZADAS DURANTE O ESTÁGIO.	5
TABELA 4 - MÉDIAS E RESPECTIVOS ERROS PADRÃO PARA OS VÁRIOS ÍNDICES REPRODUTIVOS ANALISADOS.	15

Introdução geral

O estágio realizado integralmente em Medicina de Produção, com enfoque claro nas explorações de bovinos leiteiros, teve o objetivo de agregar as diferentes áreas da produção de leite de forma a desenvolver valências que permitam avaliar uma exploração como um todo. O mesmo decorreu ao longo de 16 semanas na SVAExplente, Lda, empresa que presta apoio sobretudo a explorações leiteiras na região do Entre Douro e Minho e Beira Litoral proporcionando aos produtores a possibilidade de usufruírem duma panóplia de serviços especializados, que vão muito para além do serviço clássico de Clínica e Cirurgia, incluindo a área da Qualidade de leite, Nutrição, Gestão Reprodutiva, Técnica e Económica. A equipa é formada por 6 Médicos Veterinários possuidores de avenças com a grande maioria das explorações onde intervêm. Houve ainda oportunidade, dentro deste período de complementar o estágio com uma residência de uma semana numa exploração com cerca de 200 animais em ordenha, permitindo enquadrar a realidade do Médico Veterinário ao maneio e necessidades dos produtores. Para além do supracitado foi ainda integrado uma semana de serviço de podologia que tem por base o mesmo regime de avenças com as explorações.

O encabeçamento médio das explorações rondava os 70 animais em ordenha, variando entre os 30 e os 400 animais em lactação, caracterizando-se na sua maioria pelo baixo nível de organização e gestão, resultando em geral numa rentabilidade económica reduzida.

O autor acompanhou a equipa de médicos veterinários da SVAExpLeite, Lda que presta apoio a explorações leiteiras sobretudo na zona do Entre Douro e Minho, tendo sido parte integrante nas seguintes áreas:

- Clínica ambulatória: foram colocadas em prática abordagens clínicas aos vários casos que assistiu que compreenderam consultas médicas, cirurgias, emergências e serviços obstétricos. De realçar a estimulação promovida tanto para a componente prática como para a capacidade de raciocínio de forma a conseguir realizar um exame físico completo e metódico, apresentando ou discutindo de seguida diagnósticos diferenciais, opções de tratamento e mesmo técnicas médico-cirúrgicas.

- Qualidade do Leite: foram realizadas provas de estábulo, assistências a ordenhas, recolha e processamento de amostras para microbiologia e assessoria consultiva de boas práticas de maneio e rotinas de ordenha.

- Reprodução e Fertilidade: a este nível o serviço passava pela avaliação da condição uterina no pós-parto, exames de diagnóstico e acompanhamento da gestação principalmente nos seus períodos mais críticos, para além da avaliação da performance reprodutiva global da

exploração. A oportunidade de realizar o exame reprodutivo e de seguida discutir eventuais ações a aplicar, foi uma constante.

- Gestão Técnica: cada exploração visitada era avaliada como um todo, isto é, instalações, manejo e indicadores de performance eram tidos em conta de forma a poder tomar decisões, programar o trabalho e formar os produtores. Após a entrada neste programa de gestão, a exploração é acompanhada periodicamente e vão sendo propostas alterações consideradas de interesse, tendo em conta o panorama atual da mesma, bem como o mercado do leite e os contratos anuais que possuem com as entidades recolhedoras.

Na realidade, esta zona do país apresenta, regra geral, uma produção intensiva com estabulação permanente dos animais, existindo explorações pequenas, com pouca mão-de-obra, poucos registos e onde é complicado de implementar novas medidas de manejo, havendo, no entanto, um número crescente de explorações com objetivos bem definidos, com registos atualizados relativos à situação produtiva e patológica, económico-financeira e terapêutica aplicada. A SVAExpLeite, Lda proporciona aos seus clientes um vasto número de serviços focando-se principalmente nas medidas de prevenção médica, acompanhamento e gestão produtiva e dos recursos da exploração. Pensa-se que esta será a única forma de ultrapassar as dificuldades que o setor atravessa, prevenindo a componente clínica e cirúrgica, que tem diminuído notoriamente, devido às ações corretivas do manejo, quer a nível alimentar ou da própria exploração no seu todo.

O presente trabalho carrega, tendo em conta a baixa deteção de cios na região, o propósito de comparar a TC de inseminações a tempo fixo (IATF) com o protocolo hormonal OvSynch (OS) e inseminações artificiais (IA) precedidas pela deteção de cio (DC) natural ou induzido através da utilização de protocolos económicos e práticos para sincronizar o cio.

Através da realização de um inquérito e da avaliação dos índices reprodutivos procurou-se caracterizar as explorações numa tentativa de encontrar relações entre a TC e os vários factores que poderiam influir sobre a mesma.

Capítulo I – Casuística

Tabela 1 – Número absoluto e relativo de patologias e intervenções acompanhadas ao longo do estágio.

	Patologias / intervenções	F.A.	F.R.
Sistema Reprodutivo	Parto distócico	5	3,68%
	Laceração do teto	2	1,47%
	Metrite séptica	17	12,50%
	Mastite	6	4,41%
	Mastite tóxica	1	0,74%
	Retenção placentária	2	1,47%
	Cesariana	1	0,74%
	Edema da vulva	1	0,74%
	Lesão do obturador (após parto distócico)	1	0,74%
	Prolapso uterino	2	1,47%
	Torção uterina esquerda	2	1,47%
	Total Reprodutivo		29,41%
Sistema Digestivo	Indigestão simples	5	3,68%
	Indigestão láctea	2	1,47%
	Clostridiose	1	0,74%
	DAE (Omento-piloropectomia paralombar esquerda)	46	33,82%
	DAE (não resolvidos cirurgicamente)	2	1,47%
	Enterite	1	0,74%
	Úlcera gástrica (abomaso)	1	0,74%
	Diarreia vírica	1	0,74%
	Indigestão vagal	1	0,74%
	Melena	2	1,47%
	Total Digestivo		44,85%
Sistema Cardiovascular	Síndrome da veia cava	1	0,74%
	Retículo peritonite	4	2,94%
	Total Cardiovascular		3,68%
Sistema Respiratório	Pneumonia	16	11,76%
	Pneumonia por aspiração	1	0,74%
	Total Respiratório		12,50%
Patologias Metabólicas	Cetose clínica	7	5,15%
	Hipocalcémia	5	3,68%
	Acidose ruminal	1	0,74%
	Total Metabólico		9,56%
Total		136	100,00%

Patologias

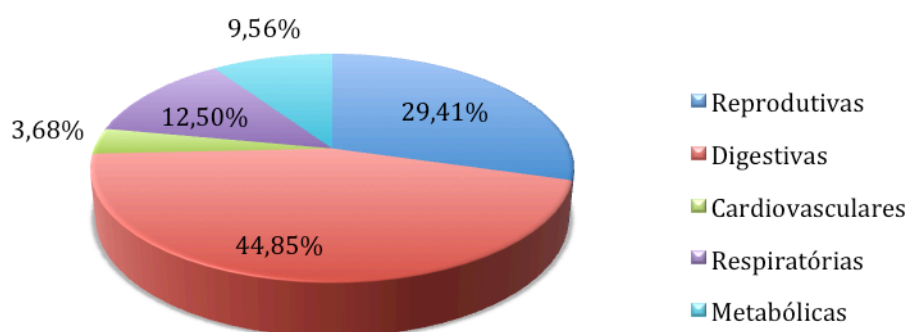


Figura 1 – Quantidade relativa de casos clínicos relativos a cada grupo de patologias.

Tabela 2 – Restantes patologias e intervenções realizadas no estágio.

	Patologias / intervenções	F.A.
Sistema Músculo-esquelético	Aparagem corretiva de cascos	610
	Úlceras	55
	Abcesso da sola	46
	Dermatite digital	145
	Sobre crescimento da úngula	192
	Ligaduras de dígitos	75
	Aplicação de tacos	32
Outros	Drenagem de abscessos	2
	Peritonite	2
	Descornas	40
	Ordenhas	4
	Hérnia umbilical	1
	Diagnóstico de gestação (palpação rectal)	640
	Parto eutócicos	2
	Visualização e interpretação de imagens ecográficas durante controlo reprodutivo	20
	Colheita de sangue	2
Gestão	Económica	8
	Reprodutiva	28
	Medicina da produção	1
	Qualidade de leite	1
Qualidade do leite	Prova de estábulo (115 animais)	1
Maneio	Uma semana	1

Tabela 3 – Número absoluto e relativo das principais atividades realizadas durante o estágio.

	Lista de atividades	F.A.	F.R.
Atividades clínicas	Números de consultas	118	59,90%
	Número de cirurgias	51	25,89%
	Número de visitas reprodutivas	28	14,21%
Total		197	100,00%

Atividades Clínicas

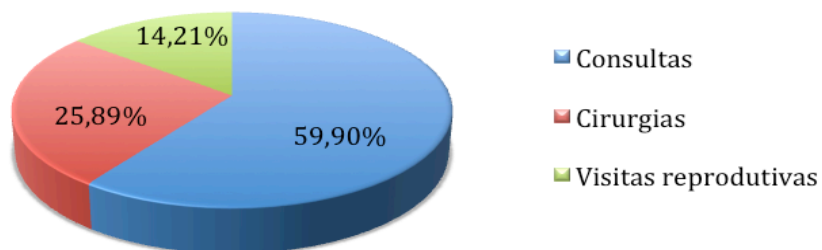


Figura 2 – Quantidade relativa das principais atividades realizadas no período de estágio.

Capítulo II - Inquérito de manejo geral e reprodutivo

Introdução

A eficiência reprodutiva medida pela taxa de concepção (TC), taxa de detecção de cios e intervalo parto – 1ª inseminação fecundante (DAC) tem diminuído ao longo dos anos, o que tem sido associado a um aumento progressivo na produção média de leite por vaca por ano (Lucy, 2001). Simultaneamente este aumento foi acompanhado por uma maior incidência de desordens do pós-parto e por isso prejudicial para a fertilidade (Gröhn & Rajala-Schultz, 2000). Muitos factores influenciam a TC: entre eles a ciclicidade, balanço energético (BEN), paridade produção de leite, dieta e certas doenças (Hansen & Arechiga, 1999; Gröhn & Rajala-Schultz, 2000; Cartmill *et al.*, 2001; Lucy, 2001; Moreira *et al.*, 2001 e Santos *et al.*, 2004).

A fraca capacidade de detecção de cios é sem dúvida uma das causas que contribui para o decréscimo da taxa de concepção, quando usados protocolos de sincronização do cio, apesar de existirem outras como o atraso no retorno à atividade cíclica no pós-parto e um prolongamento da fase lútea no mesmo período. O aumento no metabolismo das hormonas esteroides em vacas de alta produção que, conseqüentemente, leva à diminuição da concentração de progesterona (P4), o stress térmico e o aumento no intervalo entre a primeira inseminação artificial (IA) e a fecundação podem ser outros factores a influenciar a TC (López *et al.*, 2004; Thatcher *et al.*, 2006).

O retorno atrasado à atividade cíclica no pós-parto pode estar associado ao BEN, decorrente do início da lactação, e ainda ser consequência de doenças puerperais, sobretudo aquelas que surgem no primeiro mês após o parto (Beam & Butler, 1998; Opsomer *et al.*, 1996). As vacas em lactação não obtêm a energia suficiente para as demandas do organismo através da sua alimentação estando geralmente em BEN durante o período inicial do pós-parto. Este balanço e a perda de peso associado exercem um efeito inibitório no crescimento e desenvolvimento folicular. O balanço energético negativo está fortemente associado com a duração do período anovulatório pós-parto pela atenuação da frequência dos pulsos de hormona luteinizante (LH), baixos níveis de glucose plasmática, insulina e somatomedina C que colectivamente limitam a produção de estrogénio pelos folículos dominantes (Butler, 2003). O folículo dominante nos animais em BEN requer mais tempo e uma maior dimensão para que se estabeleçam as concentrações de estradiol necessárias para desencadear a sua própria ovulação (Lucy, 2001). Devido às exigências da alta produção, o metabolismo fisiológico das hormonas esteroides encontra-se aumentado (Lopez *et al.*, 2004; Wiltbank *et al.*, 2006). Em

consequência, o folículo pré-ovulatório e o oócito ficam expostos a um prolongamento nos pulsos de LH levando à ovulação de um oócito sobre estimulado ou prematuramente ativado e assim promover a diminuição da fertilidade (Wiltbank *et al.*, 2006).

O prolongamento da fase lútea é outra das causas que contribui para a diminuição da taxa de concepção, segundo Opsomer *et al.* (1998) ocorreu um aumento de fases lúteas anormais no pós-parto em vacas de leite de alta produção, sendo que cerca de 20% das vacas no estudo apresentavam um aumento da concentração da progesterona por mais de 20 dias sem que tivessem sido submetidas a uma IA. A alteração na fase lútea das vacas de leite dificulta o seu manejo reprodutivo, uma vez que fases lúteas prolongadas atrasam a inseminação dos animais que não estão em protocolos de inseminação e torna mais complicado prever quando é que um animal cíclico retorna ao cio (Opsomer *et al.*, 2007). Estudos recentes demonstraram que a nutrição, e como tal o BEN, os distúrbios e as doenças pós-parto são factores de risco para o atraso na ciclicidade e prolongamento da fase lútea (Opsomer *et al.*, 2006).

Outros factores que podem contribuir para a diminuição da TC e o conseqüente aumento do DAC são a falha na fecundação, podendo esta estar associada à má qualidade do sémen ou a uma técnica de inseminação incorreta, ou ainda devido a um oócito envelhecido; um aumento da mortalidade embrionária ou fetal, que comprometa o sucesso da gestação e também problemas na exibição do cio (Opsomer *et al.*, 2006).

A diminuição da concentração de P4 nas vacas de leite de alta produção pode ainda ser uma das razões para a diminuição da taxa de concepção (Lucy, 2001), uma vez que apresentam uma metabolização mais rápida da mesma conduzindo a uma diminuição da sua concentração (Wiltbank *et al.*, 2006). Ainda assim desconhece-se a concentração mínima absoluta de progesterona necessária para manter uma gestação numa vaca (Lucy, 2001).

O stress térmico pode influir sobre a TC na medida em que reduz o nível de dominância do folículo seleccionado o que é reconhecível pela capacidade estrogénica reduzida das suas células da teca e da granulosa assim como uma diminuição das concentrações plasmáticas de estradiol (Rensis & Scaramuzzi, 2003), um componente crítico da cascata luteolítica (Stevenson, 2007), atrasando desta forma a luteólise em vacas em lactação alongando por isso a fase lútea das mesmas (Lucy, 2001). Tudo isto influi sobre a qualidade do oócito, desenvolvimento embrionário, crescimento e desenvolvimento fetal e como tal a fertilidade em geral (Hansen 2009; Rensis & Scaramuzzi, 2003).

Materiais e Métodos

Explorações

Foram seleccionadas numa amostra de conveniência 20 explorações localizadas na região do Entre Douro e Minho cuja assistência veterinária é realizada pela SVA. Os dados foram compilados numa base de dados em folha de Excel (Microsoft, USA) para posterior análise.

Inquéritos

Foi desenvolvido um inquérito que incluía questões relacionadas com quatro grandes grupos, nomeadamente detecção de cios e IA, alimentação, estabulação e patologias reprodutivas seguindo o que a literatura aponta como sendo dos principais factores a influir sobre a TC. O intuito seria encontrar, através da entrevista pessoal (realizada pelo próprio), relações entre as respostas dadas pelos produtores e a performance de cada um ou mesmo de grupos de explorações, para além de ajudar a enquadrar os resultados obtidos à realidade das explorações e ao seu maneio.

O questionário maioritariamente composto por perguntas de resposta dicotómica (sim e não) tem a vantagem de facilitar o tratamento estatístico e permitir uma maior comparabilidade entre as respostas dadas pelos diferentes sujeitos da amostra. Este tipo de respostas levanta, no entanto, algumas questões, sendo o principal risco poder limitar demasiado a capacidade dos inquiridos expressarem exactamente aquilo que pretendem e, dessa forma, não permitir que o investigador se aperceba de variações e *nuances* importantes para compreender o tema em estudo (SEO, 2012).

Foram avaliadas todas as 20 explorações através de entrevista, com a ajuda do inquérito desenvolvido (anexo 1).

Resultados

As 20 explorações estudadas encontram-se na zona do Entre Douro e Minho e têm uma média de 63 animais lactantes, sendo que a maioria estão estabulados durante todo o ano, são ordenhadas duas vezes ao dia, alimentadas com ração totalmente misturada (TMR), com uma produção média por vaca presente em 365 dias de 9009 Litros. A reprodução é feita exclusivamente através de IA com sémen congelado. O período voluntário de espera (PVE)

varia entre 45 e 60 dias. O diagnóstico de gestação é realizado duas vezes entre os 30 e os 70 dias através de ecografia trans-rectal. Todo o manejo é assegurado sobretudo pelos proprietários e seus familiares, sendo que a falta de mão de obra é uma queixa comum dos produtores. A assistência é providenciada pelos veterinários da SVAExpLeite, Lda.

Os inquiridos foram unânimes dizendo que realizam detecção de cio, sendo que a maioria os procura duas ou mais vezes por dia, no entanto admitem investir menos de 30 minutos em cada uma das observações e desenvolverem outras tarefas em simultâneo, o que nos parece natural e previsível. Em relação aos protocolos de sincronização, aplicados apenas pelos proprietários das explorações, são pouco utilizados de forma rotineira, sendo aplicados apenas quando aconselhados pelos veterinários que os acompanham e não em dias fixos.

A maioria das explorações admite controlar a condição corporal nos períodos mais críticos, pré e pós-parto, apesar de quase metade (45%) reportar que mais de 15% dos animais chega ao parto com CC inadequada e metade da amostra afirmar que os animais perdem mais de 1 ponto de CC no pós parto.

As explorações apresentam parque de vacas secas em 95% dos casos e apenas metade dispõe de pré-parto ou maternidade, verificando-se que a dieta de transição é implementada por 70% dos produtores.

Além disto, 85% dos produtores inserem os seus animais em lote único de produção e 80% afirma utilizar unicamente *free-stall* como método de estabulação.

Quanto aos cubículos e corredores das vacarias, respectivamente 55% e 60% afirmam que estes apresentam dimensões adequadas para os seus animais. Em relação ao número de cubículos e lugares à manjedoura, 65% e 60% respectivamente acham ter os mesmos em quantidade suficiente.

Cerca de 35% das explorações utilizam cimento e vigas, 45% apenas vigas e 10% apenas cimento como piso das suas instalações sendo que as restantes apresentam lona a cobrir os corredores em cimento. Mais de metade dos produtores reportam a ocorrência de patologias podais com consequente claudicação em valores superiores a 5% nos seus efetivos.

Por último, patologias puerperais como retenção placentária, metrite e quistos ováricos afectam mais de 10% dos animais, respectivamente em 20%, 45% e 55% das explorações estudadas.

Discussão e Conclusão

De uma forma geral, podemos inferir que a detecção de cios, nas explorações é negligenciada muito provavelmente pela falta de tempo e capacidade de gestão dos produtores e mão-de-obra das explorações, evidências previstas na planificação do corrente trabalho.

Apesar de controlarem a CC dos seus animais na grande maioria dos casos, ainda há uma percentagem apreciável de vacas com variações da mesma, o que deve influir sobre a fertilidade direta ou indiretamente.

Em relação às instalações, as explorações em geral apresentam parque de vacas secas e pré-parto. A maioria das explorações, trabalha em regime de *free-stall*, com quantidade suficiente de cubículos e lugares à manjedoura, e dimensões dos primeiros adequadas tal como dos corredores implementando ainda dieta de transição nos últimos dias do período pré-parto

As patologias podais relacionadas naturalmente com o piso das explorações são reportadas sobretudo em vacarias em cimento, podendo estas influir, sobre a taxa de deteção de cios através da menor atividade de monta e assim na fertilidade das inseminações precedidas de deteção dos mesmos.

A ocorrência de metrites e quistos ováricos pode ser uma problemática a considerar para o alcançar das metas de cada uma das explorações na medida em que este tipo de patologias pode interferir diretamente com a taxa de conceção e com os DAC. Em relação a este ponto, as explorações que apresentaram melhores resultados, relativamente à TC em geral, estão entre aquelas que reportam uma maior ocorrência de patologias puerperais como metrites e quistos ováricos muito provavelmente por serem mais conscientes e preocupados quanto a este assunto.

Para além disto não foram encontradas relações entre os vários factores avaliados no inquérito e as taxas de conceção dos protocolos em estudo muito provavelmente devido ao enviesamento inerente ao tipo de resposta possível, uma vez que esta deve ter limitado a capacidade dos inquiridos expressarem aquilo que realmente pretendiam.

Desta forma a realização do inquérito serviu sobretudo para a caracterização das explorações, mais do que para encontrar razões que justifiquem a diminuição da TC.

Com uma meta de um vitelo por ano (Jainudeen & Hafez, 2000; Stevenson, 2007) o DAC limita-se a cerca de 85 dias (Opsomer *et al.*, 1998; Lyimo *et al.*, 2000), durante os quais deve ocorrer a involução uterina, o retorno à atividade ovárica e uma adequada deteção de cios, pelo que se torna fácil de entender a importância crescente da implementação de protocolos de sincronização do estro, ou ainda melhor da ovulação, para submeter os animais à IA no tempo apropriado, como forma de aumentar as taxas de conceção.

Capítulo III - Índices Reprodutivos

Introdução

Com a análise dos registos reprodutivos, os problemas detetados durante a visita à exploração podem ser caracterizados quanto à extensão e gravidade das várias ineficiências. Estes são também muito úteis para estabelecer os níveis de desempenho base, estabelecendo segundo estes, objetivos para melhorar e monitorizar as mudanças ao longo do tempo. A análise pode ainda ser usada para detetar e iniciar uma procura por potenciais problemas sanitários da manada ou do seu manejo, no entanto quaisquer problemas levantados, terão que ser posteriormente confirmados com a observação realizada durante a visita (Meadows, 2005).

A eficiência reprodutiva de qualquer exploração depende da relação entre vários factores, pelo que não é adequada a utilização de um único índice, mas sim de um conjunto de indicadores que possam traduzir o desempenho de um determinado efetivo. A utilidade de um índice varia conforme as particularidades de cada sistema de produção, sendo que, no entanto, há vários que se consideram como tendo valor universal, e como tal são os mais frequentemente utilizados (Rocha *et al.*, 2001).

Materiais e Métodos

Foram avaliados os seguintes índices de eficiência reprodutiva:

- **Intervalo parto - 1ª IA (P1IA):** número médio de dias entre o parto e a primeira inseminação da lactação para todas as vacas durante o período de análise. Trata-se de um índice muito útil, por refletir a eficiência da deteção de cios e o período de anestro pós-parto. Quanto maior for o PVE, menor o valor deste índice como indicador de anestro pós-parto. Uma vez que este parâmetro pode ser calculado em intervalos de tempo curtos, é útil com um indicador permanente da evolução da eficiência reprodutiva, apesar de não englobar nenhum factor de fertilidade (Rocha *et al.*, 2001). Com um PVE de 60 dias, o objetivo para este intervalo será de 75 a 80 dias (Meadows, 2005).

- **Intervalo interestros (EIA):** número médio de dias para a repetição da inseminação; para os animais não gestantes à primeira inseminação, este valor deve encontrar-se entre 18 e 24 dias (intervalo curto regular), sendo que este intervalo sugere que o último estro foi detetado corretamente, mas não resultou numa gestação; ainda assim o

produtor detetou um novo estro no menor tempo possível. Desta forma, este intervalo ajuda a monitorizar a eficiência da deteção de cios em explorações que usem o protocolo OS, e é de extrema importância que os produtores compreendam que devem atentar a sinais de cio até em vacas inseminadas, uma vez que pelo menos metade retornará ao estro (Meadows, 2005).

- **Número de inseminações por concepção (N^o/C):** é calculado pela divisão do número de serviços totais pelas concepções que ocorreram para todas as vacas inseminadas; é um bom indicador da fertilidade à inseminação, sendo que avalia indiretamente a qualidade fertilizante do sémen utilizado e da técnica de inseminação, assim como a fertilidade intrínseca e o estado sanitário das fêmeas (Rocha *et al.*, 2001); este valor deverá ser menor que 2,25 (Gaines, 1989).

- **Deteção de cios aos 60 dias (DC60):** percentagem de animais que chegam aos 60 dias depois do parto com pelo menos um cio detetado; este valor deveria ser maior que 90% (Keown & Kononoff, 2006).

- **Intervalo parto – 1^a IA fecundante (DAC):** média de dias entre o parto e a primeira IA que dá origem a uma gestação; tal como P1IA reflete a eficiência da deteção de cios e é menos específico como indicador de anestro lactacional; apesar disso tem um valor acrescido em relação ao último na medida em que engloba de forma indireta uma avaliação da fertilidade, uma vez que, em geral quantas mais inseminações forem necessárias, maior será este índice. Este valor deverá ser, idealmente, menor que 100 dias (Keown & Kononoff, 2006).

- **Intervalo entre partos projetado (IP):** registado em meses, este intervalo prevê o intervalo médio entre partos, sendo muito mais útil para a monitorização do desempenho reprodutivo de uma exploração que o intervalo entre partos real ou histórico, por não apresentar um desfaseamento temporal intrínseco, na medida em que alterações neste intervalo só serão notórias, muito tempo depois de terem ocorrido; ainda assim e por serem necessários dois partos para o seu cálculo, exclui as vacas primíparas; consideramos que este deveria ser menor que 13 meses (Holman *et al.*, 1984; Schmidt 1989).

- **Dias em Lactação (DEL):** número médio de dias em lactação, de todos os animais adultos, relacionando-se com a extensão do período seco e representando um bom indicador da eficiência reprodutiva e manejo do efetivo, devendo ser menor que 150 dias, já que o seu aumento implicará diretamente uma diminuição média diária da produção de leite (Grusenmeyer, *et al.*, 1983)

- **Taxa de concepção ao 1^o serviço (TC1^o):** trata-se da proporção de animais que ficam gestantes à primeira IA, e tem sido sugerido que a taxa considerada normal ronda os 45%, apesar de 60% ser alcançável (Gaines, 1989). Embora exista uma associação entre uma baixa taxa de concepção ao 1^o serviço com um número reduzido de dias ao primeiro serviço, as explorações devem ser capazes de alcançar uma taxa de 50% por volta dos 80 dias (Williamson, 1987). Uma vez que o diagnóstico de gestação ocorre por volta das 5 semanas,

este índice (assim como a TC) representa uma fertilização bem-sucedida do óocito, assim como uma implantação e manutenção do concepto até este momento. Em animais saudáveis uma fertilização bem-sucedida ocorre em pelo menos 90% das inseminações (Lucy 2001), no entanto 20% dos embriões não sobrevivem para além dos 18 dias de gestação, por volta da altura do reconhecimento materno da prenhez (Dunne *et al.* 2000).

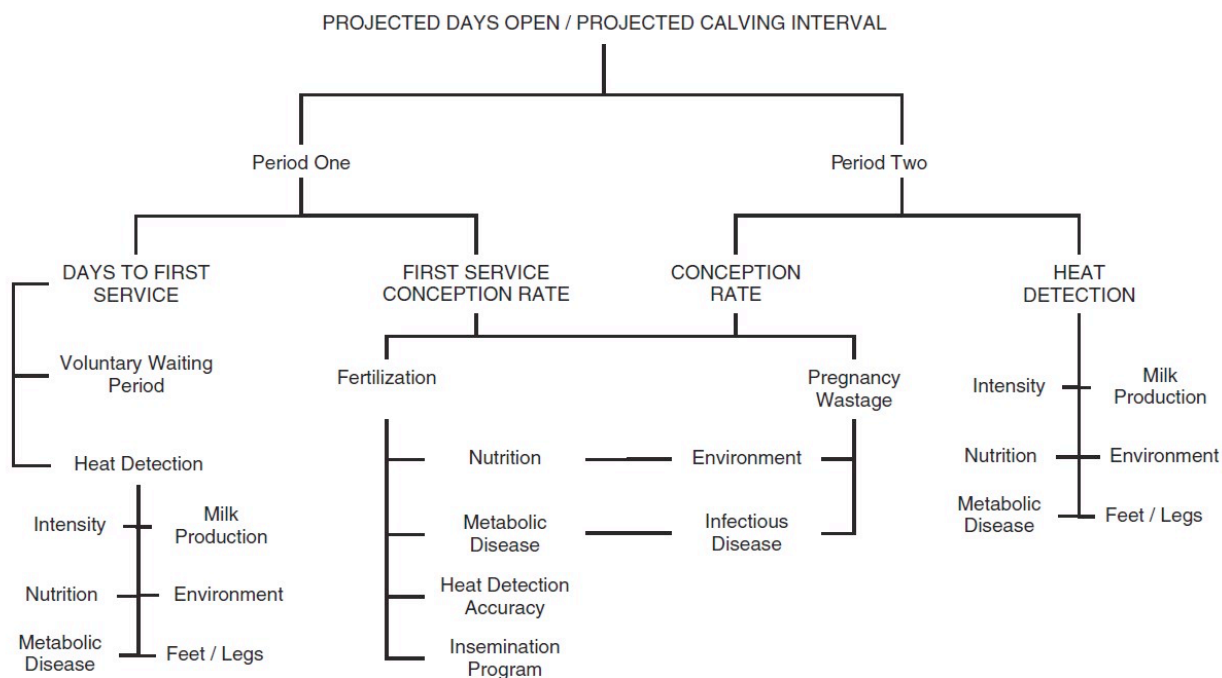


Figura 3 - Fluxograma que delinea a abordagem sistemática para a avaliação da performance reprodutiva através dos vários índices colhidos (Adaptado de: Hardin, 1993)

É importante referir que estes índices, apesar de não serem o objetivo do estudo, servem para caracterizar as explorações e foram acima de tudo escolhidos pela sua facilidade de obtenção, uma vez que são os apresentados pelo software Dairyflex (ProfitSource, Merrill, WI). No entanto, consideramos que estes serão os mais úteis, para entender e comparar a performance reprodutiva geral dos efetivos estudados. O IP e o número de dias à concepção (DAC) estando intimamente relacionados, têm sido vastamente utilizados para sumarizar esta performance nas explorações leiteiras (Meadows, 2005). Animais que estejam em vacarias com estes intervalos baixos produzem mais leite por unidade de tempo (Louca & Legates, 1968) e criam mais animais de substituição, assim sendo valores baixos destes índices são preferíveis em termos de rentabilidade. Os dois índices mais influentes para o DAC são a taxa de deteção de cio e a taxa de concepção e como tal dizem respeito a este intervalo (Kinsel & Etherington, 1998). Se ainda assim dividirmos o DAC em dois períodos, antes e depois do primeiro serviço, temos que até ao serviço os índices mais influentes serão P1IA e TC1°, e após o primeiro serviço serão as taxas de deteção de cios e o N°/C ou a TC dos vários protocolos a considerar (Meadows, 2005).

Resultados

Através do processamento dos dados obtidos (anexo 2) calculou-se que a média do **P1IA** foi de $82,43 \pm 2,63$ dias [51,9;98,8], valor este que se encontra ligeiramente acima do pretendido. O primeiro quartil apresentou valores de 51,9 a 77,9 dias, valores estes que ditam que cerca de 25 % das explorações consegue colocar-se dentro do intervalo teórico considerado como objetivo (75 a 80 dias). Metade da amostra situava-se no intervalo entre 78,2 a 89,4 dias.

O **EIA** situava-se nos $43,31 \pm 2,17$ dias [29,2;69,0], com o primeiro quartil apresentando valores de 29,2 a 36,3 dias e metade da amostra com valores entre 36,3 a 47,7 dias, isto é, a maioria das explorações apresenta intervalos longos regulares, os mais próximos dos intervalos curtos regulares que consideramos objetivos, e representam dois cios detetados corretamente separados por um cio falhado (ineficácia). Apesar de sugerir alguma eficiência na deteção (uma vez que em geral só falham um ciclo), o cio não detetado é indesejável, devendo este tipo de intervalos representar apenas 10% de todos os intervalos (Gaines, 1989).

O **NºI/C** foi de $2,89 \pm 0,11$ [2,0;4,3] e o primeiro quartil incluía valores de 2,02 a 2,75, sugerindo que mais de 75% das explorações não consegue aproximar-se dos valores de referência para este parâmetro.

A **DC60** tinha um valor médio de $44,62 \pm 2,62\%$ [0,27;0,71], contrastante com um valor idealmente superior a 90%. O quartil mais próximo do objetivo apresentou resultados entre 48,9% e 71,4%, e metade da amostra obteve valores entre 37,1% e 48,9%, aproximadamente metade do pretendido.

O valor médio do **DAC** era de $143,4 \pm 4,73$ dias [106,1;182,5], aproximadamente 43 dias acima do objetivo recomendável, valor este que nenhuma das explorações conseguiu atingir. O quartil superior incluía valores de 106,1 a 127,9 dias e os valores correspondentes a metade da amostra variaram entre 129,5 e 153,1 dias.

O **IP** rondou os $13,9 \pm 0,15$ meses [12,8;15,3], cerca de mais um mês do que é considerado aceitável, sendo que apenas 8,33% das explorações se enquadram no intervalo de 13 meses considerado objetivo. O primeiro quartil apresentou valores entre os 12,8 e 13,4 meses.

Em relação aos **DEL**, o valor médio rondou os $194,1 \pm 4,94$ dias [155,8;244,9], sendo que apenas um dos efetivos (N=155,8 dias) se aproximou do limite proposto de 150 dias. Metade da amostra apresentava valores entre 182,5 e 201,6 dias.

Quanto à **TC1º**, a média encontrava-se nos $30,43 \pm 1,87\%$ [0,15;0,41] apesar dos valores

de referência apontarem para 45%, no entanto 25% das explorações conseguiram obter valores acima dos 38% mais próximas da referência e concordantes com o decréscimo considerado expectável por Rocha *et al.* 2010.

Tabela 4 - Médias e respectivos erros padrão para os vários índices reprodutivos analisados.

Parâmetro	Média	+/-	SEM
Intervalo parto – 1ª IA (P1IA – dias)	82,43	+/-	2,63
Intervalo interestros (EIA - dias)	43,31	+/-	2,17
Inseminações/conceção (NºI/C)	2,89	+/-	0,11
Deteção de cios aos 60 dias (DC60 - %)	44,62	+/-	2,62
Intervalo parto – 1ª inseminação fecundante (DAC – dias)	143,35	+/-	4,73
Intervalo entre partos (IP – meses)	13,93	+/-	0,15
Dias em Lactação (DEL- dias)	194,08	+/-	4,94
Taxa de conceção ao 1º serviço (TC1º - %)	30,46	+/-	1,87

Legenda: P1IA – Intervalo entre parto e a 1ª IA, EIA – Intervalo interestros, NºI/C – número inseminações por conceção, DC60 – Deteção de cios aos 60 dias pós parto, DAC - Intervalo parto – 1ª inseminação fecundante, IP – Intervalo entre partos, TC1º - Taxa de Conceção ao primeiro serviço

Discussão e Conclusão

Todos os parâmetros relacionados diretamente com a deteção de cio, nomeadamente P1IA, EIA, DC60 e DAC apresentam as suas médias acima dos valores considerados desejáveis, sendo que apenas o primeiro se aproxima do objetivo teórico considerado; podemos então inferir que a eficiência da deteção de cios continua baixa como previsto por Rocha *et al.* (2010), sendo irrealista esperar que esta melhore num futuro próximo; isto se a percepção dos produtores não se alterar e estes continuarem a não recorrer a meios auxiliares avançados de deteção do estro como podómetros, Heatwatch® (Cowchips, Manalapan, NJ), Kamar® (Immucell, Portland, OR), entre outros.

Os índices relacionados com a fertilidade à inseminação como o NºI/C, TC1º e a taxa de conceção dos vários protocolos ficaram também aquém do que seria desejável, sendo que, por exemplo, a média do NºI/C na região era cerca de 1,8 em 2002 (Rocha *et al.*, 2010), parece-

nos razoável dizer que a fertilidade em geral se continua a deteriorar, principalmente nos protocolos que necessitam da detecção de cios, uma vez que a TCOS conseguiu aproximar-se do valor objetivo de 45%.

Na realidade, os animais são apenas observados cerca de duas vezes ao dia, pelo que se torna difícil determinar com exatidão o fim do estro, e como tal, a altura ideal para a inseminação. Uma vez que a ovulação ocorre 10 a 12 horas após o estro (Jainudeen & Hafez, 2000), o momento ótimo para a inseminação encontrar-se-ia perto do fim deste. Considerando o período de vida limitado tanto do oócito como do espermatozoide, existem cerca de 12 horas durante as quais se obtêm as melhores taxas de concepção, daí que nos pareça aconselhável deixar de depender unicamente da detecção de cios para atingir uma gestação.

Mais uma vez estes índices serviram acima de tudo para caracterizarmos as explorações em geral para melhor enquadrar os resultados obtidos em relação às taxas de concepção dos três protocolos comparados no próximo capítulo.

Capítulo IV - Avaliação e comparação das taxas de concepção entre diferentes tipos de protocolos de IA

Introdução

A eficiência reprodutiva em vacas leiteiras de alta produção representa na atualidade, um dos maiores desafios para a viabilidade das explorações (Azevedo *et al.*, 2014). Muitos estudos reportaram um decréscimo generalizado na fertilidade das vacas leiteiras (Butler & Smith, 1989; Beam & Butler, 1999; Royal *et al.*, 2000; Lucy, 2001; Lopez-Gatiús, 2003; Rocha *et al.*, 2010) enquanto outros defendem que esta permanece inalterada (Garmo *et al.*, 2007). Este declínio na fertilidade das explorações leiteiras é concomitante com o aumento do consumo de matéria seca e produção de leite por vaca que ocorreu de uma forma acentuada nas últimas décadas (Kawashima *et al.*, 2012). O consumo de matéria seca, por si só, origina um aumento do metabolismo das hormonas do ciclo éstrico devido a um fluxo sanguíneo hepático muito elevado (Lopez *et al.*, 2004) observando-se assim uma relação negativa entre a concentração circulante de P4 e o consumo de matéria seca (Rabbiee *et al.*, 2002). Este reflexo tem-se expressado por um período de maior inatividade ovulatória sendo que Moreira *et al.* (2001) observaram que 23% das vacas de alta produção tinham níveis desta hormona inferiores a 1,0 ng/ml (em anestro) por volta dos 2 meses pós-parto, o que por si só não é desejável uma vez que por esta altura já deviam estar em estro. Desta forma a manipulação da P4 desempenha um papel central na fertilidade das explorações leiteiras onde se pretende usar IATF, precedida de protocolos hormonais de indução e sincronização da ovulação (Wiltbank *et al.*, 2011).

Para além destes protocolos de sincronização da ovulação existem outros que se caracterizam por sincronizar o estro, sendo que estes, apesar de apresentarem uma maior concentração de animais que evidenciam comportamento de cio, apresentam também uma janela temporal variável em relação à altura da inseminação, pouco controlo sobre a altura ideal para a mesma, sendo que o momento da inseminação está totalmente dependente da capacidade de deteção de cios da exploração (Santos *et al.*, 2003).

Para que o tratamento com PGF2 α tenha sucesso, ou seja, se obtenham os efeitos luteolíticos, as vacas devem estar em diestro. O corpo lúteo é geralmente responsivo à PGF2 α após o quinto ou sexto dia do ciclo éstrico (Wenkoff, 1975; Cavalieri *et al.*, 2006), até ao dia 17, após o qual a luteólise endógena é desencadeada (Ball & Peters, 2004; Choudhary, 2005). A aplicação única de uma dose luteolítica de prostaglandinas obriga à identificação das vacas que apresentam um corpo lúteo (CL) responsivo no ovário, para rentabilizar a aplicação do fármaco, acarretando conseqüentemente custos adicionais (Ball & Peters, 2004; Cavalieri *et*

al., 2006).

Os animais inseridos num protocolo deste tipo entram em cio em dias diferentes depois da administração de prostaglandinas, devido ao facto desta não ter efeito sobre os folículos em desenvolvimento, e também não ter controlo sobre a onda de folículos emergente, sendo que por isso o momento da ovulação é muito difícil de prever (Diskin *et al.*, 2002; Santos *et al.*, 2003; Cavalieri *et al.*, 2006).

Outro factor de extrema importância para a fertilidade é a deteção de cios sendo esta muitas vezes baixa (<50%) (Radostits *et al.*, 1994), mesmo quando a observação é precedida de luteólise induzida por uma prostaglandina F2 α (PGF2 α), e para além disso, nos efetivos leiteiros de alta produção e manejo intensivo observa-se uma associação negativa entre a alta produção e a expressão comportamental do estro (Cutullic *et al.*, 2009).

Tudo isto, associado à moderna produção de leite de vacas altas produtoras evidenciam a importância da utilização de protocolos hormonais eficazes na sincronização da ovulação associados à IATF como parte fulcral das estratégias envolvidas nos programas de controlo reprodutivo (Azevedo *et al.*, 2014).

Uma nova geração de ferramentas de manejo reprodutivo sofreu desenvolvimentos recentes de forma a eliminar a DC e aumentar a eficiência da manipulação animal, concentrando-se assim no controlo do CL, em animais cíclicos, e da dinâmica folicular (Lamb *et al.*, 2010). O controlo desta dinâmica e da função lútea pode ser obtido pela administração combinada de PGF2 α e hormona libertadora de gonadotrofina (GnRH), sendo que foram os estudos compreensivos de Pursley *et al.* (1997) que permitiram o desenvolvimentos do protocolo OS, estando este na base da maioria dos programas de sincronização para IATF que surgiram desde então (Azevedo *et al.*, 2014, Witlbank & Pursley, 2014).

Não foram encontradas diferenças com significado estatístico na taxa de gestação entre as vacas tratadas com OS e as vacas inseminadas após deteção de cio natural (38,9% e 37,8% respectivamente), primeiro por Pursley *et al.* (1997), e depois por Rabiee *et al.* (2005), tendo recorrido estes a uma meta-análise de 53 artigos publicados. Ambos os estudos reforçam a possibilidade da realização de IATF sem ser necessária a deteção de cios recorrendo ao protocolo OS (Azevedo *et al.*, 2014).

Materiais e Métodos

Explorações

Foram seleccionadas numa amostra de conveniência 20 explorações localizadas na região do Entre Douro e Minho com a assistência veterinária a ser providenciada pela SVA, para a recolha de índices reprodutivos obtidos através do programa Dairyflex (ProfitSource, Merrill, WI). Os dados foram compilados numa base de dados em folha de Excel (Microsoft, USA) para posterior análise.

Protocolos

Através do software Dairyflex (ProfitSource, Merrill, WI) obteve-se o número de inseminações e concepções dos 3 protocolos que pretendíamos analisar:

- Cios naturais, cujas inseminações eram precedidas de deteção de cios;
- Com recurso à administração única ou múltipla de prostaglandinas, separadas 11 a 14 dias seguidas de inseminação posterior à deteção de cio (segundo a regra manhã-tarde) que deverá ocorrer a seguir a cada administração;
- Segundo o protocolo OvSynch;

O programa OvSynch (Figura 4) consiste em três administrações hormonais programadas e com objetivos pré-definidos: a primeira administração procura, pela aplicação de GnRH (GnRH-1), provocar a ovulação do folículo dominante, estando este presente em cerca de 70% dos casos, gerando consecutivamente a emergência de uma nova onda folicular 36 a 48 horas depois (se a primeira administração coincidir com os primeiros três dias de uma onda folicular espontânea, a ovulação não ocorre e a onda prossegue o seu desenvolvimento normal com seleção de um folículo dominante nos 7 dias seguintes); a aplicação de PGF2 α , 7 dias depois, tem o objetivo de induzir luteólise, permitindo o crescimento e maturação do folículo dominante; a segunda administração de GnRH (GnRH-2) efectuada 48 horas depois permite alcançar o terceiro objetivo: induzir um pico de hormona luteinizante (LH) que provocará a ovulação do folículo dominante (pré-ovulatório) cerca de 28 horas após GnRH-2. Por último a IATF é recomendada 16 a 20 horas após a última aplicação de GnRH (Pursley *et al.*, 1995).

Em bovinos de aptidão leiteira este protocolo sincroniza o desenvolvimento folicular, a regressão do CL e o momento da ovulação, permitindo a IATF sem detecção de cios (Pursley *et al.*, 1995, 1997).

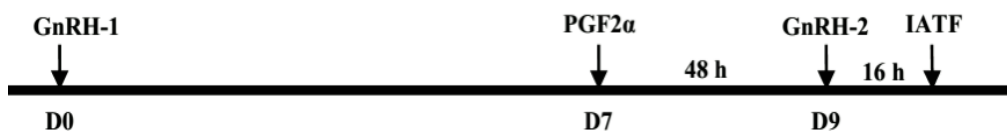


Figura 4 - Representação esquemática do protocolo OS (Adaptado de: Azevedo *et al.*, 2014)

Através dos dados colhidos, calculamos numa folha de Excel (Microsoft, USA) as taxas de concepção para os cios naturais (**TCN**), com recurso a prostaglandinas (**TCP**) e com o protocolo OS (**TCOS**), sendo que estas refletem a proporção de animais gestantes que foram inseminados num determinado ciclo éstrico, através de um dos protocolos. Alguns sugerem que a TC deverá ser de 50% (Domecq, 1991) enquanto outros advogam que deverá ser maior que 40% (Gaines, 1989).

Resultados

Em relação às taxas de concepção dos protocolos que pretendemos comparar, as médias foram de $34,49 \pm 1,6\%$ [0,23;0,48] para os cios naturais (**TCN**) com 1357 inseminações, $29,47 \pm 2,0\%$ [0,21;0,49] para a aplicação de prostaglandinas (**TCP**) com 492 inseminações e $40,37 \pm 3,4\%$ [0,16;0,75] para o programa OS (**TCOS**) com 431 inseminações, sugerindo que existem ligeiras diferenças entre a eficácia dos vários protocolos nas explorações estudadas.

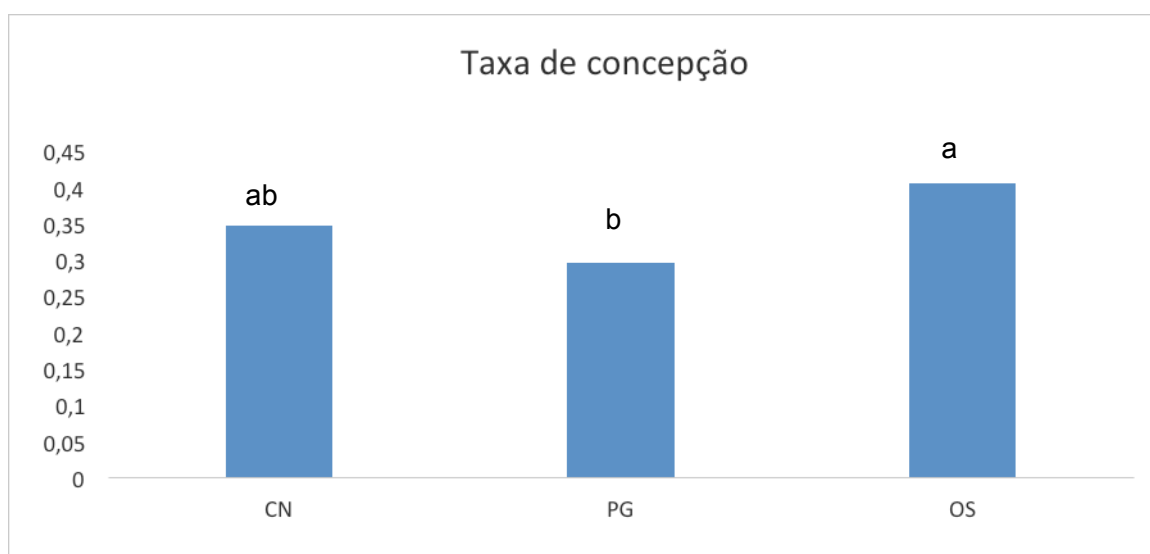


Figura 5 - Média das taxas de concepção dos 3 protocolos; médias com diferentes letras diferem significativamente ($p < 0,05$).

Discussão e Conclusão

A diferença estatística entre os três métodos ficou muito próxima da significância ($p=0,054$), sendo que apenas foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre a TCP vs TCOS ($p=0,016$).

Foram 45% as explorações que apresentaram um padrão diferente da média em relação às taxas de concepção dos vários protocolos ($TCP < TCN < TCOS$) e isso fez com que não se encontrassem diferenças significativas quando comparados.

Em específico, duas das explorações (A e D) apresentaram um padrão completamente contrário à média, podendo este facto ser explicado por uma possível taxa de incumprimento, na aplicação do protocolo OS, mais alta que nos outros métodos. A taxa de incumprimento é naturalmente maior no protocolo OS, devido à maior complexidade e extensão deste protocolo e ao maior número de administrações hormonais e rigor temporal que requer.

Para além destas explorações, duas outras (P e R), apresentaram a pior TC em relação ao protocolo OS, porém nestas observaram-se melhores resultados na TCN, sendo que uma delas (R) tem uma deteção de cios muito próxima da considerada objectiva quando analisada a DC60 e o EIA, fazendo com que possamos inferir que em específico esta exploração tem uma deteção de cios aceitável e possivelmente uma taxa de incumprimento relativamente alta.

A taxa de concepção dos cios naturais e prostaglandinas é influenciada pela deteção de cios, no entanto apresentam uma possível taxa de incumprimento menor que o protocolo OS o que explica que em algumas explorações apresentem melhores resultados (A, D, P e R).

Em específico, três explorações apresentaram uma TCN maior que 45% (J, N e R) sendo que duas delas apresentam um N^oI/C dentro dos objetivos teóricos (estabelecidos no capítulo anterior), mostrando estas que ainda é possível de atingir taxas de concepção aceitáveis quando o cio é detetado de forma mais eficiente.

Duas explorações não conseguiram atingir o objetivo proposto de 40% para a taxa de concepção em nenhum dos protocolos (D e O) sendo que aparentemente, pela análise dos seus índices, uma delas tem uma taxa de deteção de cios aceitável com um EIA de 29,2 dias apresentando, no entanto, o maior N^oI/C do estudo.

A TCOS foi superior a 60 % em três das explorações analisadas sendo que as três estão entre as cinco com maior TC1^o serviço, isto porque muito provavelmente podem utilizar o método OS como primeira opção para determinados animais.

As explorações B e N apresentam o menor DAC apresentando ambas TCOS superiores a 60% o que é natural, uma vez que quanto maior for a probabilidade de conceber menor será o tempo que estas permanecem vazias.

Ainda assim, todos os métodos são influenciados pela fertilidade específica da

exploração diretamente relacionada com o manejo, nutrição, instalações, sanidade, pelo que serão necessários mais estudos que incluam estas variáveis para encontrar correlações que expliquem os resultados apresentados.

Outros factores que podem contribuir para a diminuição da taxa de concepção e para o aumento do intervalo entre a primeira IA e a concepção são a falha na fecundação, que pode estar associada a má qualidade do sémen ou do seu armazenamento, à técnica de inseminação, ou ainda a um oócito envelhecido; um aumento da mortalidade embrionária ou fetal, que comprometa o sucesso da gestação; e também problemas na exibição do cio decorrentes do tipo de estabulação, da superfície da instalações, problemas podais, densidade animal, etc (Opsomer *et al.*, 2000).

Esta tendência da diminuição da fertilidade em geral (na qual o aumento da produção média de leite terá tido um papel importante) é necessária de reconhecer para que sejam aplicadas medidas que promovam a sua reversão. Atualmente, aparenta ser uma das melhores alternativas a difusão do uso de protocolos com indução da ovulação e IATF como é o caso do protocolo OS, de forma a diminuir o DAC e em última análise o intervalo entre partos.

Outras medidas que poderiam ser aplicadas para melhorar a eficiência reprodutiva a longo prazo seria a implementação de cross-breeding, evitando o inbreeding ou aumentar a duração da lactação (Dobson *et al.*, 2007), não sendo expectável, tendo os produtores de hoje de acompanhar uma indústria tão desafiante e exigente, que tais medidas venham a ser implementadas nos próximos anos (Rocha, 2010).

Conclusão geral

Com este trabalho foi possível constatar que existem diferenças estatisticamente significativas entre TCP e a TCOS, e apesar de tudo ligeiras diferenças, ainda que não significativas, entre os três protocolos analisados. Quer-nos parecer que o uso de prostaglandinas, não é adequado ou pode não ser rentável para inseminação posterior à deteção de cios, mas sim como forma dos animais integrarem mais rapidamente um protocolo de sincronização da ovulação como é o caso do OvSynch.

Para além disto não foram encontradas relações entre a maioria dos factores avaliados nos inquérito e índices e as taxas de concepção pelo que estes serviram acima de tudo para caracterizarmos as explorações em geral para melhor enquadrar os resultados obtidos.

Através da compilação de dados podemos caracterizar a maioria das explorações como tendo uma baixa deteção de cios, uma fertilidade subótima com demasiadas inseminações por concepção e uma rentabilidade possivelmente afetada por estas razões, apesar desta ser muito dependente dos custos da alimentação, factor que não constitui o foco desta dissertação.

Parece-nos razoável dizer que a fertilidade em geral se continua a deteriorar, principalmente nos protocolos que necessitam da deteção de cios, uma vez que a TCOS conseguiu aproximar-se do valor objetivo de 45%.

Para contrariar isto, uma das melhores alternativas parece ser a difusão do uso de protocolos com indução da ovulação e IATF como é o caso do protocolo OS, apesar da taxa de incumprimento ser maior nestes, devido à maior complexidade e extensão deste tipo de protocolos.

Em específico, três explorações apresentaram uma TCN maior que 45% (J, N e R) sendo que duas delas apresentam um N^o/C dentro dos objetivos teóricos, mostrando estas que ainda é possível de atingir taxas de concepção aceitáveis quando o cio é detetado de forma mais eficiente.

É importante referir que todas as explorações dispõem de acompanhamento especializado, o que abre portas para inferir que outras da região, que não recebam este tipo de serviços possam ou devam ter piores resultados pelo que mais estudos, acima de tudo mais bem padronizados possam ser benéficos para o clarificar desta problemática.

Com esta experiência, mais que a questão médica, foi consolidada a visão empresarial, onde é necessário avaliar custos, ponderar tratamentos e em conjunto com o produtor, tomar decisões que sejam do interesse da exploração em causa e que atentem à realidade individual da mesma. Foi de extrema importância compreender as várias formas de trabalho, de pensar, os vários métodos de produção sendo essa a maneira ideal para que haja a oportunidade de

refletir e escolher para nós a forma de atuar no futuro. Por conseguinte, enriquece conhecer uma pluralidade de médicos-veterinários e produtores, cuja vontade de trabalhar e ensinar, são sem dúvida um estímulo para ir mais além e perseguir o sonho.

Bibliografia

Azevedo C, Canada N, Simões J (2014) “O protocolo hormonal Ovsynch e suas modificações em vacas leiteiras de alta produção: Uma revisão” **Archivos Zootecnia** 63, 173-187

Ball PJH, Peters AR (2004) “The ovarian cycle”, “Oestrous Behaviour and Its Detection”, “Artificial Control of the Oestrous Cycle” **Reproduction in cattle**. 3ªEd, Blackwell Publishing, 44-54, 92-108, 110-122

Beam SW, Butler WR (1998) “Energy Balance, Metabolic Hormones, and Early Postpartum Follicular Development in Dairy Cows Fed Prilled Lipid” **Journal of Dairy Science** 81, 121- 131

Butler WR, Smith RD (1989) “Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle” **Journal of Dairy Science** 72, 767–783

Butler WR (2003) “Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows” **Livestock production science** 83, 211-218

Cartmill JA, El Zarkouny SZ, Hensley BA, Lamb GC, Stevenson JS (2001) “Stage of cycle, incidence, and timing of ovulation, and pregnancy rates in dairy cattle after three timed breeding protocols” **Journal of Dairy Science** 84, 1051–1059

Cavalieri J, Hepworth G, Fitzpatrick LA, Shephard RW, Macmillan KL (2006) “Manipulation and control of the estrous cycle in pasture-based dairy cows” **Theriogenology** 65, 45-64.

Chebel RC, Santos JEP, Reynolds JP, Cerri RLA, Juchem SO, Overton M (2004) “Factors affecting conception rate after artificial insemination and pregnancy loss in lactating dairy cows” **Animal Reproduction Science** 84, 239–255

Choudhary E, Aritro S, Inskeep EK, Flores JA (2005) “Developmental Sensivity of the Bovine Corpus Luteum to Prostaglandin F_{2α} (PF_{2α}) and Endothelium-1 (ET-1): Is ET-1 a Mediator of the Luteolytic Actions of PGF_{2α} or a Tonic Inhibitor of Progesterone Secretion?” **Biology of Reproduction** 72, 633-642

Cutullic E, Delaby L, Causeur D, Michael G, Disenhaus C (2009) “Hierarchy of factors affecting

behavioural signs used for oestrus detection of Holsteins and Normande dairy cows in a seasonal calving system” **Animal Reproduction Science** 113, 22-37

Diskin MG, Austin EJ, Roche JF (2002) “Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle” **Domestic Animal Endocrinology** 23, 211-228

Dobson H, Smith RF, Royal MD, knight CH, Sheldon IM (2007) “The high producing dairy cow and its reproductive performance” **Reproduction of Domestic Animals** 42, 17-23

Domecq JJ, Nebel RL, McGilliard ML (1991) “Expert system for evaluation of reproductive performance and management” **Journal of Dairy Science** 74, 3446–3453

Dunne LD, Diskin MG, Sreenan JM (2000) “Embryo and foetal loss in beef heifers between day 14 of gestation and full term” **Animal Reproduction Science** 58, 39–44

Gaines JD (1989) “The role of record analysis in evaluating sub fertile dairy herds” **Veterinary Medicine - Prague** 84, 532–543

Garmo RT, Refsdal AO, Kalberg K, Ropstad E, Waldmann A, Beckers JF, Reksen O (2008) “Pregnancy incidence in Norwegian Red Cows using nonreturn to estrus, rectal palpation, pregnancy associated glycoproteins and progesterone” **Journal of Dairy Science** 91, 3025-3033

Gröhn YT, Rajala-Schultz PJ (2000) “Epidemiology of reproductive performance in dairy cows” **Animal Reproduction Science** 60-61, 605–614

Grusenmeyer D *et al.*, (1983) “Evaluating Dairy Herd Reproductive Status Using DHI” **Records. Western Regional Ext** Pub 0067, Washington State University Coop. Extension. 1983.

Hansen PJ, Arechiga CF (1999) “Strategies for managing reproduction in the heat-stressed dairy cow” **Journal of Dairy Science** 77, 37–50

Hansen PJ (2009) “Effects of heat stress on mammalian reproduction” **Philosophical Transactions of the Royal Society B** 3341–3350

Hardin DK (1993) “Fertility and infertility assessment by review of records” **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice** 9(2), 389–403

Holmann FJ, Shumway CR, Blake RW 1984 “Economic value of days open for Holstein cows of alternative milk yields with varying calving intervals” **Journal of Dairy Science** 67, 636–643

Jainudeen MR, Hafez ESE (2000) “Cattle and Buffalo” *in* Hafez ESE & Hafez B (Ed.) **Reproduction in Farm Animals**, 7^oEd, Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore MD

Kawashima C, Matsui M, Shimizu T, Kida K, Miyamoto A (2012) “Nutritional factors that regulate ovulation of the dominant follicle during the first follicular wave postpartum in high-producing dairy cows” **Journal of Dairy Science** 58, 10–16

Keown JF, Kononoff PJ (2006) “How to set goals for your breeding program” **University of Nebraska-Lincoln Extension**

Kinsel ML, Etherington WG (1998) “Factors affecting reproductive performance in Ontario dairy herds” **Theriogenology** 50(8), 1221–1238

Lamb GC, Dahlen CR, Larson JE, Marquezini G, Stevenson JS (2010) “Control of the estrous cycle to improve fertility for fixed-time artificial insemination in beef cattle: a review” **Journal of Animal Science** 88, 181-192

Lyimo ZC, Nielen M, Ouweltjes W, Kruip TAM, van Eerdenburg FJCM (2000) “Relationship among estradiol, cortisol and intensity of estrous behavior in dairy cattle” **Theriogenology** 53, 1783-1795

López H, Satter LD, Wiltbank MC (2004) “Relationship between level of milk production and estrous behavior of lactating dairy cows” **Animal Reproduction Science** 81, 209–223.

López-Gatius F (2003) “Is fertility declining in dairy cattle? A retrospective study in northeastern Spain” **Theriogenology** 60, 89–99

Louca A, Legates JE (1968) “Production losses in dairy cattle due to days open” **Journal of Dairy Science** 51(4), 573–583

Lucy MC (2000) “Regulation of ovarian follicular growth by somatotropin and insulin-like growth factors in cattle” **Journal of Dairy Science** 83, 1635-1647

Lucy MC (2001) "Reproductive Loss in High-Producing Dairy Cattle: Where Will it End?" **Journal of Dairy Science** 84, 1277-1293

Meadows C (2005) "Reproductive Record Analysis" **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice** 21 305-323

Moreira F, Orlandi C, Risco CA, Mattos R, Lopes F, Thatcher WW (2001) "Effects of presynchronization and bovine somatotropin on pregnancy rates to a time artificial insemination protocol in lactating dairy cows" **Journal of Dairy Science** 84, 1646-1659

Opsomer G, Mijten P, Coryn M, de Kruif A (1996) "Post-partum anoestrus in dairy cows: a review" **Veterinary Quarterly** 18, 68–75

Opsomer G, Coryn M, Deluyker H, de Kruif A (1998) "An Analysis of Ovarian Dysfunction in High Yielding Dairy Cows After Calving Based on Progesterone Profiles" **Reproduction of Domestic Animals** 33, 193-204

Opsomer G, Gröhn Y, Hertl J, Coryn M, Deluyker H, de Kruif A (2000) "Risk factors for postpartum ovarian dysfunction in high producing dairy cows in Belgium: a field study" **Theriogenology** 53, 841-857

Opsomer G, Leroy J, Vanholder T, Bossaert P, de Kruif A (2006) "Subfertility in High Yielding Dairy Cows: How to Bring Science into Practice?" **Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift** 75, 113–119

Opsomer G, Bossaert P, Cools S, de Kruif A (2007) "Reduced Fertility in Modern High Yielding Dairy Cows: Etiology and Prevention" **Proceedings of the 13th international conference on production diseases in farm animals** 13, 391–401

Pursley JR, Mee MO, Wiltbank MC (1995) "Synchronization of ovulation in dairy cows using pgf2alpha and gnrh" **Theriogenology** 44, 915-923

Pursley JR, Kosorok MR, Wiltbank MC (1997) "Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation" **Journal of Dairy Science** 80, 301-306

Rabiee AR, Macmillan KI, Schwarzenberger F, Wright PJ (2002) "Effects of level of feeding and progesterone dose on plasma and faecal progesterone in ovariectomised cows." **Animal**

Reproduction Science 73, 185-195

Rabiee AR, Lean IJ, Stevenson JS (2005) "Efficacy of Ovsynch program on reproductive performance in dairy cattle: A meta-analysis" **Journal of Dairy Science** 88, 2754–2770

Radostits OM, Leslie KE, Fetrow J (1994) "Record Systems and Herd Health" *in* **Herd Health: food animal production medicine**, 2^oEd, W B Saunders Company, 49-71

Rensis F, Scaramuzzi RJ (2003) "Heat stress and seasonal effects on reproduction in dairy cow - a review" **Theriogenology** 60, 1139-1151

Rocha A, Rocha S, Carvalheira J (2001) "Reproductive parameters and efficiency of inseminators in dairy farms in Portugal" **Reproduction in Domestic Animals** 36, 319-324

Rocha A, Martins A, Carvalheira J (2010) "Fertility time trends in dairy herds in northern Portugal" **Reproduction in Domestic Animals** 45, 896-899

Royal MD, Dawash AO, Flint APE, Webb R, Woolliams JA, Lamming GE (2000) "Declining fertility in dairy cattle: changes in traditional and endocrine parameters of fertility" **Animal Science** 70, 487–501

Santos JEP, Galvão KN, Ronaldo LA, Cerri RC, Juchem SO (2003) "Controlled breeding programs for reproductive management" **Advances in Dairy Techonology** 15, 49-68

Santos JEP, Juchem SO, Cerri RLA, Galvão KN, Chebel RC, Thatcher, WW, Dei C, Bilby C, (2004) "Effect of bST and reproductive management on reproductive and lactational performance of Holstein dairy cows" **Journal of Dairy Science** 87, 868–881

Schmidt GH (1989) "Effect of length of calving interval on income over feed and variable costs" **Journal of Dairy Science** 72, 1605–1611

Sondagens e Estudos de Opinião (5 de 5 de 2016) SEO Obtido de SEO: <https://www.sondagenseestudosdeopinioao.wordpress.com>

Stevenson J (2007) "To make pregnancies, cool those cows" **Hoard's Dairyman**, 500

Thacher WW, Bilby TR, Bartolome JA, Silvestre F, Staples CR, Santos JEP (2006) "Strategies for improving fertility in the modern dairy cow" **Theriogenology** 65, 30–44

Wenkoff MS (1975) "The use of prostaglandins in reproduction" **The Canadian Veterinary Journal** 16, 97-101

Williamson NB (1987) "The interpretation of herd records and clinical findings for identifying and solving problems of infertility" **Compendium Food Animal** 9, 12-24

Wiltbank MC (2000) "Troubleshooting and improving reproductive management of lactating dairy cattle" **Dairy Comp 305 Reference Manual**, Department of Dairy Science, University of Wisconsin Valley Ag Software, Madison (WI)

Wiltbank MC, Lopez H, Sartori R, Sangsritavong S, Gümen A (2006) "Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism" **Theriogenology** 65, 17-29

Wiltbank MC, Souza AH, Carvalho PD, Bender RW, Nascimento AB (2011) "Improving fertility to timed artificial insemination by manipulation of circulating progesterone concentrations in lactating dairy cattle" **Reproduction Fertility and Development** 24, 238-243

Wiltbank MC, Souza AH, Carvalho PD, Bender RW, Nascimento AB (2012) "Improving fertility to timed artificial insemination by manipulation of circulating progesterone concentrations in lactating dairy cattle" **Reproduction Fertility and Development** 24, 238-243

Wiltbank MC, Pursley JR (2014) "The cow as an induced ovulator: timed ai after synchronization of ovulation" **Theriogenology** 81, 170-185

Anexos I – Inquérito realizado às explorações

Deteção de cios e IA	Sim	Não
Faz deteção de cios?		
Realiza duas ou mais observações diárias?		
Investe 30 ou mais minutos em cada observação?		
Usa protocolos de sincronização por rotina?		
São implementados a dias fixos?		
Quem é responsável pela realização dos protocolos?		
Alimentação		
Controla a CC no pré e pós-parto?		
Mais de 15% dos animais chega ao parto muito magros ou com CC excessiva?		
Ocorre uma perda de CC superior a um ponto no pós-parto?		
Implementa dieta de transição?		
Tem lote único para vacas em produção?		
Número suficiente de lugares à manjedoura?		
Estabulação		
Existe parque de vacas secas?		
Tem parque de pré-parto?		
Utiliza unicamente <i>free-stall</i> ?		
Dimensões cubículos adequadas?		
Número suficiente de cubículos?		
Dimensões corredores adequadas?		
Piso das instalações?		
Acha que há mais de 5% de animais com problemas podais?		
Patologias reprodutivas		
Acha que ocorre retenção placentária em mais de 10% dos animais?		
Acha que ocorre infecção uterina em mais de 10% dos animais?		
Acha que mais de 10% dos animais desenvolve quistos ovários?		

Anexos II – Índices das explorações analisadas

Ordem Exploração	Sigla	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	MÉDIA	SOMA
Nº médio de animais lactação		33	47	56	86	58	57	30	67	89	74	97	98	78	77	39	66	77	46	49	39	63,15	1263,000
Produtividade vaca presente 365		7651	8388	10832	10768	10244	7547	5632	9688	9003	8103	9665	9520	9238	8887	9151	9243	7111	10011	8577	8818	9009,15	
IP1º - Intervalo Parto 1º Inseminação	PIIA	96,8	86,4	84,9	81,3	90,3	90,0	81,6	77,2	68,6	89,3	86,1	78,2	85,0	80,6	86,9	90,5	82,6	51,9	71,5	90,9	82,43	
EIA - Intervalo interestros	EIA	47,4	37,5	45,3	29,2	39,6	35,9	69,0	32,8	35,5	36,4	48,4	36,0	43,3	37,0	55,6	53,6	45,5	36,5	45,6	56,1	43,31	
NºIC - Número de Inseminações/Conceção	NºIC	3,0	2,6	3,0	4,3	3,4	2,8	2,4	2,8	3,1	2,1	3,1	2,8	2,8	2,0	2,9	3,0	2,9	2,3	3,0	3,4	2,89	
DC60 - Percentagem Detecção de Cios aos 60 dias	DC60	45,5	48,9	45,1	68,5	37,5	40,0	51,7	31,4	48,9	46,5	49,0	31,3	30,1	40,6	36,1	27,0	45,5	71,4	56,9	40,5	44,52	
DAC - Dias à Conceção	DAC	145,8	127,0	144,9	127,9	165,4	143,1	157,0	116,6	135,7	129,5	156,2	124,5	153,1	115,2	177,5	172,3	144,5	106,1	142,1	182,6	143,35	
IP - Intervalo entre partos projectado	IP	13,8	13,4	14,0	13,4	14,4	13,8	14,4	13,1	13,7	13,5	14,4	13,4	14,3	13,0	15,1	14,9	14,0	12,8	13,9	15,3	13,93	
DEL - Dias em Lactação	DEL	194,5	196,3	182,5	171,6	167,1	244,9	211,8	176,9	201,6	199,7	199,5	169,9	193,3	155,8	223,6	213,9	196,8	174,8	184,8	222,3	194,68	
Inseminações		25,0	36,0	35,0	77,0	44,0	48,0	22,0	57,0	80,0	62,0	74,0	76,0	66,0	83,0	28,0	48,0	59,0	34,0	40,0	34,0	50,55	1011,000
Conceções		6,0	16,0	9,0	14,0	9,0	18,0	9,0	23,0	24,0	25,0	19,0	26,0	18,0	26,0	8,0	13,0	18,0	13,0	9,0	5,0	15,40	308,000
TC1* - Taxa de Conceção 1º Serviço	TC1*	24%	41%	26%	18%	20%	38%	41%	40%	30%	40%	26%	34%	27%	41%	29%	27%	31%	38%	23%	15%	0,30	0,305
Inseminações		27	63	60	177	58	73	11	86	159	107	62	79	76	69	23	39	70	33	48	25	67,85	1357,000
Conceções		10	23	21	41	15	23	3	36	48	49	19	27	27	33	9	17	24	16	17	10	23,40	468,000
TCN	TCN	37%	37%	35%	23%	26%	32%	27%	37%	30%	46%	31%	34%	36%	46%	39%	44%	34%	48%	35%	40%	0,36	0,345
Inseminações		9	11	12	34	24	17	3	16	39	17	45	51	37	35	15	27	27	30	29	14	24,60	492,000
Conceções		4	5	3	8	6	5	1	4	10	7	10	16	9	17	4	8	7	12	6	3	7,25	145,000
TCP	TCP	44%	45%	25%	24%	25%	28%	33%	25%	26%	41%	22%	31%	24%	49%	27%	30%	26%	40%	21%	21%	0,30	0,295
Inseminações		17	3	2	19	24	26	25	8	23	4	34	35	30	13	22	43	28	8	22	45	21,55	431,000
Conceções		4	2	1	3	10	13	12	3	10	3	15	18	14	9	8	11	13	3	10	12	8,70	174,000
TCOS	TCOS	24%	67%	50%	16%	42%	50%	48%	38%	43%	75%	44%	51%	47%	66%	38%	26%	46%	38%	45%	27%	0,44	0,404