



**LAÍS REIS CARVALHO**

**PROGESTERONA INJETÁVEL NA SINCRONIZAÇÃO DA  
OVULAÇÃO DE VACAS *Bos indicus***

**LAVRAS – MG**

**2022**

**LAÍS REIS CARVALHO**

**PROGESTERONA INJETÁVEL NA SINCRONIZAÇÃO DA  
OVULAÇÃO DE VACAS *Bos indicus***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Reprodução Animal, para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. José Nélio de Sousa Sales

Orientador

LAVRAS – MG

2022

**Ficha catalográfica elaborada pelo Setor de Repositório  
Institucional da Biblioteca Universitária da UFLA**

Carvalho, Laís Reis.

Progesterona injetável na sincronização da ovulação de vacas  
Bos indicus / Laís Reis Carvalho. - 2022.

58 p. : il.

Orientador(a): José Nélio de Sousa Sales.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de  
Lavras, 2022.

Bibliografia.

1. IATF. 2. Taxa de ovulação. 3. Fertilidade. I. Sales, José Nélio  
de Sousa. II. Título.

**LAÍS REIS CARVALHO**

**PROGESTERONA INJETÁVEL NA SINCRONIZAÇÃO DA  
OVULAÇÃO DE VACAS *Bos indicus***

**INJECTABLE PROGESTERONE ON SYNCHRONIZATION OF  
OVULATION IN *Bos indicus* COWS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Reprodução Animal, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 28 de janeiro de 2022

Dr. Marcilio Nichi – Universidade de São Paulo

Dr. Miller Pereira Palhão – Universidade Federal de Lavras

**Prof. Dr. José Nélio de Sousa Sales**

**Orientador**

*A Deus e a toda minha família, que é minha base,  
Dedico*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pelo dom da vida, por ser minha força e esperança ao longo desses anos. A Nossa Senhora agradeço por estar sempre a minha frente guiando meus passos.

Aos meus queridos pais, Augusto e Rosilane, por nunca medirem esforços para que eu pudesse ir em busca dos meus sonhos. Obrigada por todo apoio, por toda luta, compreensão, orações e principalmente por todo amor. Obrigada, Pai, pelo exemplo de luta, honestidade e simplicidade. Obrigada, minha mãe, pelo exemplo de fé, esperança e força. Ao meu irmão, Duty, obrigada por ser meu colo nos momentos de choro, por ser meu fiel companheiro e amigo, que sempre esteve ao meu lado me alegrando e incentivando. Não poderia deixar de lhe agradecer também, pelas inúmeras vezes que me acompanhou na estrada para realização de diversos experimentos.

Ao meu noivo, Luiz Fernando, meu fiel companheiro, que aprendeu a lidar com o “gado” para me ajudar na realização desse e de tantos outros estudos. Obrigada pela compreensão nos momentos de ausência e por sempre me apoiar.

A meus avós maternos, Joaquim e Ditinha, por serem meu exemplo de vida e superação e sempre me colocarem em suas orações diárias. E aos meus avós paternos Chico Batista e Terezinha (*in memorian*) pela educação, tradição e exemplo de simplicidade.

A todos meus familiares, que me ensinaram viver com honestidade, fé, simplicidade e dignidade. Aos meus fiéis amigos, da UFLA, de Lavras e Ibituruna, por todos os momentos de distração vividos e por sempre vibrarem com cada etapa concluída!

À Universidade Federal de Lavras por todo conhecimento transmitido por excelentes profissionais e técnicos. Em especial, ao meu Professor orientador José Nélio de Sousa Sales, pelo acolhimento, amizade, ensinamentos e oportunidades que me permitiram concluir esta etapa. Aos meus colegas de Pós-graduação, Luiz e Ana, e aos colegas estagiários do “projeto de extensão”, agradeço a amizade e todo apoio e ajuda na realização desse e tantos outros experimentos.

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudos, durante o mestrado. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

A fazenda Eldorado, ao Régis, José Renan e a fazenda experimental da Universidade Federal de Lavras, por gentilmente ceder seus animais para a execução das diversas etapas desse estudo e por todo suporte prestado. Ao Walter, pela disponibilidade em participar da realização do “experimento 5”.

E, por fim, agradeço a todos as vacas que foram utilizadas nesse estudo, sem elas seria impossível concluir essa etapa.

## RESUMO

Os protocolos de sincronização da ovulação estão bem consolidados, o que permitiu ser utilizados rotineiramente para induzir o retorno a ciclicidade em fêmeas bovinas de corte no pós-parto. Em tais protocolos, majoritariamente, os dispositivos intravaginais são utilizados como fonte exógena de P4. Outras fontes exógenas de P4 foram descritas na literatura, porém, com resultados inconclusivos e pouca utilização. Dessa maneira, considerando os benefícios práticos, ambientais e sanitários que a utilização de P4i pode acarretar substituindo o dispositivo intravaginal de P4, além de limitados estudos realizados sobre este assunto, o objetivo do estudo foi avaliar diferentes doses de progesterona injetável (P4i) e sua eficiência em um novo protocolo de sincronização da ovulação utilizando P4i em substituição ao implante intravaginal de P4 em vacas *Bos indicus*. Cinco experimentos, ao todo, foram realizados. Para determinar a curva de liberação de P4 (Experimento 1), 55 vacas Nelore foram utilizadas. As fêmeas foram distribuídas em 5 grupos experimentais para administração de diferentes doses de P4i no D0 (P4i60mg, n=11; P4i105mg, n=11; P4i150mg, n=11; P4i195mg, n=11 e P4i240mg, n=11) e foram submetidas ao protocolo de sincronização da ovulação (D0: P4i+BE; D8: PGF2 $\alpha$ +CE+eCG). Amostras diárias (D0 ao D12) de sangue foram coletadas para análise do perfil de P4 sérica por punção da veia jugular. Para avaliar a dinâmica folicular ovariana e o momento da ovulação, foram realizados três experimentos com diferentes doses de P4i no início protocolo de sincronização da ovulação (Experimento 2: 150mg e 105mg de P4i; Experimento 3: 75mg de P4i; Experimento 4: 60mg de P4i). Após a administração do indutor da ovulação, exames ultrassonográficos foram realizados a cada 24 horas até 96 horas depois ou até ocorrer ovulação nos animais. Para avaliar a taxa de prenhez (experimento 5), 132 vacas *Bos indicus* foram submetidas ao protocolo de sincronização da ovulação utilizando 75mg P4i (grupo P4i75) ou dispositivo intravaginal de P4 (grupo controle) no D0. O diagnóstico de gestação e a taxa de ciclicidade após o protocolo de sincronização da ovulação foi realizada 30 dias após a IATF (D40). Na curva de liberação de P4i, observou-se que o pico ocorreu um dia após os tratamentos (D1) para as diferentes doses de P4i administradas e, a partir do D3, todos os grupos permaneceram com as concentrações abaixo de 1ng/mL até o final do estudo (D12). Em relação a dinâmica ovariana folicular, a dose de 75mg apresentou taxa de ovulação ao final do protocolo de sincronização da ovulação semelhante ao grupo controle. No entanto, a taxa de prenhez foi maior nas vacas do grupo Controle. Portanto, a administração de P4i no início do protocolo de IATF em vacas *Bos indicus* apresenta resultados de fertilidade inferiores em relação ao dispositivo intravaginal de P4

**Palavras-chave:** IATF, taxa de ovulação, fertilidade



## ABSTRACT

Ovulation synchronization protocols are well established, which allowed them to be routinely used to induce a return to cyclicity in postpartum beef cattle females. In such protocols, mostly, intravaginal devices are used as an exogenous source of P4. Other exogenous sources of P4 have been described in the literature, however, with inconclusive results and little use. Thus, considering the practical, environmental and health benefits that the use of P4i can entail replacing the P4 intravaginal device, in addition to limited studies carried out on this subject, the objective of the study was to evaluate different doses of injectable progesterone (P4i) and its efficiency in a new ovulation synchronization protocol using P4i as a replacement for intravaginal implantation of P4 in *Bos indicus* cows. Five experiments were carried out in total. To determine the P4 release curve (Experiment 1), 55 Nellore cows were used. Females were divided into 5 experimental groups for administration of different doses of P4i on D0 (P4i60mg, n=11; P4i105mg, n=11; P4i150mg, n=11; P4i195mg, n=11 and P4i240mg, n=11) and were submitted to the ovulation synchronization protocol (D0: P4i+EB; D8: PGF2 $\alpha$ +EC+eCG). Daily blood samples (D0 to D12) were collected for analysis of the serum P4 profile by puncture of the jugular vein. To evaluate ovarian follicular dynamics and the timing of ovulation, three experiments were performed with different doses of P4i at the beginning of the ovulation synchronization protocol (Experiment 2: 150mg and 105mg of P4i; Experiment 3: 75mg of P4i; Experiment 4: 60mg of P4i). After administration of the ovulation inducer, ultrasound examinations were performed every 24 hours until 96 hours later or until ovulation occurred in the animals. To assess the pregnancy rate (Experiment 5), 132 *Bos indicus* cows were submitted to the ovulation synchronization protocol using 75mg P4i (P4i75 group) or P4 intravaginal device (control group) on D0. The pregnancy diagnosis and the cyclicity rate were performed 30 days after the FTAI (D40). In the P4i release curve, it was observed that the peak occurred one day after the treatments (D1) for the different doses of P4i administered and, from D3 onwards, all groups remained with concentrations below 1ng/mL until the end of the study (D12). Regarding ovarian follicular dynamics, the dose of 75mg showed an ovulation rate at the end of the ovulation synchronization protocol similar to the control group. However, the pregnancy rate was higher in cows in the Control group. Therefore, the administration of P4i at the beginning of the FTAI protocol in *Bos indicus* cows presents inferior fertility results compared to the P4 intravaginal device.

**Keywords:** FTAI, ovulation rate, fertility

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** Delineamento experimento 2, 3 e 4. Grupo Controle - P4 vaginal: dispositivo intravaginal de 1g de P4; Experimento 2 - P4i: 105mg e 150mg P4 injetável; Experimento 3 - P4i: 75mg P4 injetável; Experimento 4 - P4i: 60mg P4 injetável; BE: 2,0 mg benzoato de estradiol; CE: 1,0mg cipionato de estradiol; PGF: 500µg de Cloprostenol; eCG: 300 UI de eCG; US: exames ultrassonográficos..... 23
- Figura 2** Delineamento experimento 5. Grupo controle (n=66) e Grupo P4i75 (n=63). Dispositivo intravaginal: 1g de P4; BE: 2,0 mg benzoato de estradiol; P4i: 60mg P4 injetável; CE: 1,0mg cipionato de estradiol; PGF: 500µg de Cloprostenol; eCG: 300 UI; IATF realizada 48 horas após administração do indutor da ovulação..... 23
- Figura 3** Perfil plasmático de diferentes doses de P4i em vacas *Bos indicus* lactantes ..... 23
- Figura 4** Distribuição das ovulações em vacas Nelore sincronizadas com um dispositivo P4 intravaginal (controle) ou 60 mg de P4 injetável... 23
- Figura 5** Expressão de estro, taxa de ciclicidade no diagnóstico de gestação (D40) após a sincronização da ovulação e taxa de prenhez de vacas Nelore (*Bos indicus*) sincronizadas com dispositivo intravaginal de P4 ou 75 mg de P4 injetável..... 23

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** Diâmetro folicular, momento da ovulação e taxa de ovulação em vacas Nelore sincronizadas com um dispositivo P4 intravaginal (controle) ou diferentes doses de P4 injetável ..... 23
- Tabela 2** Diâmetro folicular, momento da ovulação, taxa de crescimento folicular e taxa de ovulação em vacas *Bos indicus* sincronizadas com um dispositivo P4 intravaginal (controle) ou 75mg de P4 injetável ..... 23
- Tabela 3** Diâmetro folicular, momento da ovulação e taxa de ovulação em vacas *Bos indicus* sincronizadas com um dispositivo P4 intravaginal (controle) ou 60mg de P4 injetável ..... 23

## LISTA DE SIGLAS

AGNE	Ácidos graxos não esterificados
BE	Benzoato de estradiol
CE	Cipionato de estradiol
CL	Corpo lúteo
CYP11A1	Enzima P450 de clivagem de colesterol em cadeia
CYP450	Citocromo P450
D	Dia
E <sub>2</sub>	Estrógeno
ECC	Escore de condição corporal
eCG	Gonadotrofina coriônica equina
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
EPM	Erro padrão da média
HSD3 $\beta$	3 $\beta$ -hidroxiesteroide desidrogenase
hCG	Gonadotrofina coriônica humana
FSH	Hormônio folículo estimulante
GnRH	Hormônio liberador de gonadotrofina
IA	Inseminação artificial
IATF	Inseminação artificial em tempo fixo
IGF-1	Fator de crescimento semelhante à insulina
i.m.	Intramuscular
LH	Hormônio luteinizante
mL	Microlitros
N	Número
ng	Nanogramas

P	Significância
P4	Progesterona
P4i	Progesterona injetável
PEV	Período de espera voluntário
PGF	Prostaglandina F
SAS	Statistical Analysis System
StAR	Proteína reguladora aguda esteroidogênica
UI	Unidades internacionais
vs	Versus

## SUMÁRIO

<b>PRIMEIRA PARTE .....</b>	<b>15</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>15</b>
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>16</b>
<b>2.1 ANESTRO PÓS-PARTO.....</b>	<b>16</b>
<b>2.1.1 Presença do bezerro.....</b>	<b>17</b>
<b>2.1.2 Nutrição .....</b>	<b>19</b>
<b>2.2 PROTOCOLOS DE SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO. 20</b>	
<b>2.3 PROGESTERONA.....</b>	<b>21</b>
<b>2.3.1 Dispositivo intravaginal de P4.....</b>	<b>23</b>
<b>2.3.2 Progesterona injetável.....</b>	<b>24</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>26</b>
<b>SEGUNDA PARTE – ARTIGO.....</b>	<b>32</b>
<b>Progesterona injetável (75mg) não é uma alternativa para dispositivos intravaginais de progesterona em vacas <i>Bos indicus</i> submetidas ao protocolo de sincronização da ovulação .....</b>	<b>32</b>
<b>Resumo .....</b>	<b>33</b>
<b>Abstract .....</b>	<b>35</b>
<b>1. Introdução .....</b>	<b>37</b>
<b>2. Material e métodos .....</b>	<b>38</b>
<b>3. Resultados .....</b>	<b>46</b>
<b>4. Discussão .....</b>	<b>52</b>
<b>REFERÊNCIA.....</b>	<b>55</b>

## PRIMEIRA PARTE

### 1. INTRODUÇÃO

A otimização e maior produtividade do sistema pecuário são consequências da alta eficiência reprodutiva do rebanho, que garante o retorno econômico satisfatório para os produtores, seja de carne ou leite. Dessa maneira, biotécnicas da reprodução são utilizadas e aprimoradas para melhorar os índices reprodutivos dos rebanhos. A inseminação artificial em tempo fixo (IATF) é uma dessas biotecnologias utilizadas. No Brasil, a IATF apresenta crescimento significativo nos últimos 15 anos, sendo utilizada, de maneira estimada, em 89,9% das inseminações realizadas em 2020 (BARUSELLI, 2021). Entre 2019 e 2020, verificou-se crescimento de 29,7% no mercado de IATF, demonstrando a consolidação dessa técnica no cenário nacional e maior investimento pelos produtores. Em relação especificamente a pecuária de corte, segundo a Associação Brasileira de Inseminação Artificial (ASBIA-CEPEA-ESALQ/USP), 20% das matrizes foram inseminadas no ano de 2020, apresentando aumento de 4% em relação ao ano anterior. No entanto, ainda existe um enorme potencial de crescimento (BARUSELLI, 2021). Atualmente, nos programas de IATF em vacas de corte verifica-se taxas de prenhez entre 40-60% (AYRES et al., 2008; BARREIROS et al., 2014; BARUSELLI et al., 2004; CARVALHO et al., 2008; MARQUES et al., 2015). Tal variação se deve à fatores como escore de condição corporal (ECC), dias pós-parto, categoria animal, qualidade do sêmen e protocolo hormonal utilizado.

Os protocolos hormonais empregados na IATF são rotineiramente utilizados para induzir o retorno a ciclicidade em fêmeas bovinas no pós-parto (BÓ; BARUSELLI, 2014). Em *Bos indicus*, a principal vantagem da IATF é antecipar a primeira ovulação em vacas em anestro, aumentando a eficiência reprodutiva do rebanho (BÓ; BARUSELLI; MARTÍNEZ, 2003). Em tais protocolos, o controle sincronizado da emergência de uma onda folicular, controle do crescimento folicular e a sincronização da ovulação são as principais premissas a serem atendidas para que as fêmeas bovinas sejam inseminadas em um momento pré-determinado (SALES et al., 2012). Para isso, ésteres de estradiol e progesterona (P4) são associados para sincronizar a emergência de uma nova onda no início do protocolo de sincronização da ovulação (SÁ FILHO et al., 2011). Na maioria dos protocolos de IATF, o tratamento com P4, consiste na inserção de um dispositivo

intravaginal de P4 por 5 a 10 dias, que possui na constituição concentração de P4 suficiente para promover a sincronização da ovulação em *Bos indicus* (BARUSELLI et al., 2004). Outras fontes de P4 são descritas na literatura, como os implantes auriculares, a suplementação via oral (BARUSELLI et al., 2004), adesivo transdérmico (KAJAYSRI et al., 2017) e a solução injetável (MOROTTI; CAMPOS; SENEDA, 2013).

Os dispositivos intravaginais de P4 são amplamente utilizados como fonte exógena de P4 nos protocolos de IATF, e sua eficiência foi comprovada em diversos estudos (SALES et al., 2015). Dentre as principais vantagens em sua utilização, se destaca a liberação controlada de P4 ao longo de sua permanência no organismo do animal. No entanto, dificuldades no manejo de inserção do dispositivo, possíveis perdas ao longo do protocolo, criteriosa higienização em sua reutilização para que não ocorra infecções no trato reprodutivo da fêmea, são alguns pontos negativos relacionados a sua utilização. Dessa maneira, o uso de uma fonte exógena de P4 em veículo biodegradável, de fácil manuseio e aplicação se torna uma alternativa em protocolos de sincronização da ovulação em bovinos.

A progesterona injetável (P4i) de longa ação se mostra como fonte promissora para substituir o dispositivo intravaginal, principalmente pela facilidade de administração (via intramuscular – i.m.). Além disso, a ausência do manejo de inserção e retirada do dispositivo, redução de resíduos sólidos gerados e a prevenção de infecções no trato reprodutivo da vaca causadas por má higienização e inserção dos dispositivos intravaginais, são possíveis vantagens inerentes a sua utilização em relação ao dispositivo. No entanto, resultados de concentração plasmática e de eficiência na sincronização da ovulação utilizando P4i no início do protocolo são escassos na literatura.

Nesse contexto, por questões práticas, econômicas e sanitárias, é importante o conhecimento do perfil plasmático de liberação de P4, da dose necessária para promover a sincronização da ovulação e da eficiência sobre a fertilidade de outra fonte de P4 que possa ser uma nova alternativa ao dispositivo intravaginal.

## **2. REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 ANESTRO PÓS-PARTO**



Em sistemas pecuários de criação de gado de corte, uma das formas de maximizar a produção e torná-la mais rentável é produzir um bezerro por vaca em um ano. Para alcançar tal feito, é necessário que as vacas retornem à ciclicidade e concebam até os 80 dias pós-parto, visto que o período gestacional, em média, dos bovinos, é de 285 dias (YAVAS; WALTON, 2000). Principal desafio para alcançar essa produtividade de um bezerro/vaca/ano é o retorno a ciclicidade após parto. Em vacas de corte, principalmente em *Bos indicus*, a primeira ovulação ocorre entre 35 e 80 dias. Em contraste, a retomada a ciclicidade em vacas de leite se estabelece mais precocemente, por volta de 2 a 3 semanas após o parto (YAVAS; WALTON, 2000). Esse período de transição entre o parto e a ciclicidade é definido como anestro. Nesse contexto, um período denominado como período de espera voluntário (PEV), que ocorre entre duas e três semanas após o parto, é necessário para que ocorra involução uterina.

Fisiologicamente, próximo ao parto, durante o final da gestação, a retroalimentação negativa dos esteróides placentários e ovarianos age no eixo hipotalâmico-hipofisário, fazendo supressão na liberação de FSH e depleção nos estoques de LH (YAVAS; WALTON, 2000). Imediatamente após o parto, ocorre a liberação de FSH, e, conseqüentemente, a emergência da primeira onda folicular (WILT BANK; GÜMEN; SARTORI, 2002). No entanto, devido a diminuição nos estoques de LH, os primeiros folículos dominantes não possuem capacidade ovulatória, resultando em padrão de crescimento de ondas foliculares subsequentes sem ovulação (MURPHY; BOLAND; ROCHE, 1990). Para que ocorra o crescimento final do folículo dominante, a frequência de pulsos de GnRH/LH necessita ser de 1 pulso por hora (CROWE; DISKIN; WILLIAMS, 2014). Em vacas de corte em lactação, o eixo hipotalâmico-hipofisário, geralmente recupera sua capacidade de sintetizar LH, em média, 30 dias após o parto (MACKEY et al., 2000). No entanto, alguns fatores, podem agir diretamente no hipotálamo influenciando a retomada da ciclicidade, principalmente a presença do bezerro e a nutrição

### **2.1.1 Presença do bezerro**

O período de anestro prolongado pós-parto representa uma das principais limitações para atingir a eficiência reprodutiva em vacas de corte, acarretando perdas econômicas dentro do sistema pecuário. A falha ao retorno a ciclicidade após o parto é consequência

da ausência de pulsos adequados de LH. Essa ausência é devido ao esgotamento dos estoques de LH na hipófise anterior, em resposta ao efeito inibitório do estradiol derivado da placenta (NETT, 1987). Dentre 2 a 3 semanas, os estoques de LH se reestabelecem e se assemelham as quantidades de vacas próximas ao estro (WILLIAMS et al., 1983). Após esse período, a condição de anestro por ausência da liberação de LH é devido a outros fatores, como a presença do bezerro e subnutrição.

Vários estudos foram realizados ao longo dos anos com o objetivo de entender o mecanismo no qual a amamentação e a presença do bezerro influenciam a secreção de LH e, conseqüentemente, a ovulação. Inicialmente, Waltens et al., (WALTENS et al., 1982) encontraram aumento na resposta da hipófise ao GnRH, concentração circulante de LH e FSH e maior número de receptores de LH no folículo em vacas que foram retiradas do estímulo da amamentação. Dessa maneira, os autores propuseram que a prolactina poderia ser um fator que regula os receptores para LH no folículo, devido maior concentração desse hormônio no fluido folicular de vacas em período de amamentação. No entanto, Yavas e Walton (YAVAS; WALTON, 2000) realizaram testes com bloqueador de prolactina (dopamina) em vacas de corte no pós-parto e observaram que a duração do anestro e a concentração de gonadotrofinas não foram alteradas. Posteriormente, Diskin et al., (DISKIN et al., 2003) observou que a restrição a uma única mamada do bezerro ao dia, pelo período de 30 minutos, reduziu em 17 dias o período de anestro. Além disso, esse autor verificou que a separação total do bezerro da mãe (sem contato visual, olfatório e auditivo), o período de redução ao anestro foi de 28 dias. Com esses resultados, foi possível propor que outros fatores além do estímulo inguinal da amamentação, influenciam a inibição do retorno a ciclicidade em vacas de corte no pós-parto. Corroborando com a hipótese anterior (STEVENSON et al., 1994), no qual alguns autores observaram que vacas mastectomizadas na presença de seus bezerros possuíam período de anestro pós-parto semelhante ao de vacas intactas com seus bezerros, concluindo que a presença física do bezerro é suficiente para suprimir a liberação de GnRH e LH.

O mecanismo exato pelo qual a presença física do bezerro interfere na reprodução ainda não está totalmente elucidado. O contato entre a mãe e a cria, seja por estímulos olfatórios, visuais ou auditivos foram relatados por Griffith e Williams (GRIFFITH; WILLIAMS, 1994) como inibidores da secreção de LH, durante a fase de amamentação. Essa interação gera sinais metabólicos e neurais que induzem a secreção de hormônios reguladores (opioides) que são capazes de inibir a liberação de GnRH e/ou LH ou

promover incapacidade da hipófise em responder ao estímulo do GnRH (PETER; VOS; AMBROSE, 2009). Adicionalmente, estudos avaliando a remoção dos sinais dos órgãos do sentido foram realizados para verificar a influência desses órgãos no retorno a ciclicidade pós-parto. Nesse contexto, vacas anosmáticas que reconheceram a cria visualmente e permitiram a mamada tiveram o padrão inibitório de secreção de LH (GRIFFITH; WILLIAMS, 1996). O mesmo aconteceu com vacas sem o sentido da visão, mas que estavam com o olfato intacto (WILLIAMS; GRIFFITH, 1995). Por fim, quando todos os sentidos foram removidos e as vacas não conseguiram identificar seus próprios bezerros, verificou-se aumento na secreção de LH. Dessa maneira, a capacidade da mãe em identificar a cria, mediada pela secreção de opioides endógenos, bloqueia a liberação de LH, e conseqüentemente o retorno a ciclicidade após o parto.

### **2.1.2 Nutrição**

A retomada a ciclicidade de vacas após o parto é de extrema importância para maior produtividade em sistemas pecuários. Um grande fator que impacta diretamente esse retorno, é a nutrição (LAFLAMMEL' et al., 2011). No Brasil, a grande maioria das fazendas de criação de gado de corte utilizam o sistema extensivo com estação de monta no período de maior disponibilidade e qualidade de forragem. Dessa maneira, o terço final da gestação e a estação de parição se concentram no período de baixa qualidade e disponibilidade de pastagens.

O ECC é um indicador prático para prever o estado energético de determinado animal (LAFLAMMEL' et al., 2011). Vacas com ECC ideal ao parto retornam à ciclicidade mais cedo (RICHARDS; SPITZER; WARNER, 1986) devido ao maior percentual de gordura subcutânea, que pode ser utilizada como fonte de energia no pós parto durante o período crítico de baixa disponibilidade de matéria seca na pastagem (AYRES et al., 2009). No início da lactação, o balanço energético negativo de nutrientes ocorre pelo déficit de energia consumida em relação a demanda para manutenção, produção de leite, e nas primíparas, para o crescimento corporal (AYRES et al., 2009). Nessa situação, ocorre redução da disponibilidade de glicose, principal substrato de fonte de energia para o sistema nervoso central (HESS et al., 2005). Em condições inadequadas de disponibilidade de glicose, ocorre a mobilização de reservas corporais do tecido adiposo, resultando na formação de ácidos graxos não esterificados (AGNE) no fígado e

corpos cetônicos, principalmente o beta-hidroxibutirato (GRIMARD et al., 1995) que irão realizar feedback negativo no hipotálamo para a produção de GnRH. Além disso, outros metabólitos como a insulina e o fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1) estão em menor nível na corrente sanguínea (DIAS et al., 2010). Tais alterações estão relacionadas a redução da pulsatilidade hipotalâmica de GnRH e, conseqüentemente de, FSH e LH na hipófise (HESS et al., 2005).

Outro sinalizador do status nutricional ao sistema nervoso central é a leptina. Esse hormônio secretado pelo tecido adiposo está associado ao controle do início da puberdade (WYLIE, 2011) e atua por receptores presentes nos neurônios da kisspeptina no hipotálamo. Estudos recentes demonstraram que a leptina também é capaz de regular receptores nas células gonadotrópicas na hipófise (ODLE et al., 2018). A grelina, hormônio secretado pelo trato gastrointestinal em condições restritas de ingestão de alimentos, também se caracteriza como sinalizador metabólico do estado nutricional (DELPORTE, 2013; FERRINI et al., 2009). Os mecanismos exatos nos quais esses metabólitos e hormônios regulam a secreção de GnRH não estão totalmente elucidados. No entanto, sabe-se que o IGF-1 e a leptina estimulam a secreção de GnRH, enquanto a grelina suprime essa liberação. Nesse contexto, estratégias nutricionais e hormonais são utilizadas para minimizar o impacto do baixo ECC no pós-parto na reprodução.

## **2.2 PROTOCOLOS DE SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO**

Com a finalidade de melhorar a eficiência reprodutiva em sistemas pecuários de criação de gado de corte e leite, os protocolos hormonais são rotineiramente utilizados, a fim de induzir o retorno a ciclicidade em fêmeas bovinas no pós-parto e aumentar a eficiência reprodutiva (BÓ; BARUSELLI, 2014). Em vacas em anestro, tratamentos com P4 são capazes de aumentar a pulsatilidade de LH (GARCIA-WINDER et al., 1987), promover a ovulação e a retomada da ciclicidade após o parto (SÁ FILHO; THATCHER; VASCONCELOS, 2009). Esse mecanismo de ação da P4 é mediado pela elevação das concentrações intrafoliculares/séricas de estradiol ( $E_2$ ) e pelo aumento de receptores de LH nas células da granulosa e da teca em folículos pré-ovulatórios (RHODES et al., 2003). Assim, a principal vantagem dos protocolos de sincronização da ovulação que utilizam  $E_2$ /P4 é antecipar a primeira ovulação em vacas em anestro, principalmente em *Bos indicus* (BÓ; BARUSELLI; MARTÍNEZ, 2003).

Em tais protocolos, uma sequência de tratamentos é empregada objetivando sincronizar a ovulação para a realização da IATF. Para isso, três premissas precisam ser atendidas durante a dinâmica folicular e luteínica. A primeira premissa é sincronizar a emergência de uma nova onda folicular, a segunda é controlar a P4 e terceira é sincronizar a ovulação para que as fêmeas bovinas sejam inseminadas em momento pré-determinado (SALES et al., 2012). Para atender essas premissas, os protocolos hormonais utilizados na IATF podem combinar a administração de GnRH e prostaglandina F2 $\alpha$  (PGF) (PURSLEY; MEE; WILTBANK, 1995) ou ter como base P4 e E<sub>2</sub> (SOUZA et al., 2009).

A associação de benzoato de estradiol (BE) e implantes de P4, administrados simultaneamente, promovem a emergência de uma nova onda folicular entre o terceiro e o quarto dia após a administração (BÓ; BARUSELLI; MARTÍNEZ, 2003) devido à atresia de folículos independentes de seu tamanho folicular. Essa atresia ocorre devido a elevação de P4 no plasma após a inserção do dispositivo intravaginal de P4, induzindo a supressão transitória de LH por aproximadamente 48h. A administração de BE potencializa o efeito da P4, prolongando o período de supressão de LH (BURKE; MACMILLAN; BOLAND, 1996). Após o início de uma nova onda, ocorre o crescimento folicular sem que haja ovulação, devido a fonte exógena (dispositivos intravaginais) e/ou fonte endógena de P4 (Corpo lúteo - CL). Dessa maneira, a segunda premissa se realiza a partir da remoção do dispositivo e a administração de PGF2 $\alpha$ . Por fim, para atender a terceira premissa, um indutor da ovulação é administrado para sincronizar a ovulação e determinar o momento da IATF (HANLON et al., 1997; MARTÍNEZ et al., 2005). Em adição, a gonadotrofina coriônica equina (eCG) é administrada no momento da remoção do dispositivo de P4 com objetivo de intensificar o crescimento final do folículo dominante (DUFFY et al., 2004). Essa glicoproteína possui atividade biológica similar ao FSH e LH, e seu efeito é evidenciado em vacas em anestro pós-parto, com baixo ECC, que apresentam pulsos deficientes de LH (BARUSELLI et al., 2004; BINELLI et al., 2001; ROCHE; CROWE; BOLAND, 1992).

### **2.3 PROGESTERONA**

A P4 é um progestágeno natural secretado pelas células luteínicas do CL, placenta e pelas glândulas adrenais. É considerada um esteroide, sendo transportada pela corrente circulatória por proteína de ligação e sua secreção é estimulada por ação do LH (HAFEZ;

HAFEZ, 2004). A P4 é responsável por modular várias funções reprodutivas, como o crescimento folicular e a nutrição inicial do embrião (MANN; LAMMING, 2001). Além disso, bloqueia a expressão de estro e a ovulação (COLAZO et al., 2007).

A produção de P4 em ruminantes ocorre durante o ciclo estral normal seguido ou não de gestação, pelo CL. Sua síntese é realizada a partir de duas enzimas, a CYP450 de clivagem da cadeia lateral do colesterol (CYP11A1), que é responsável pela conversão de colesterol em pregnenolona e a 3 $\beta$ -hidroxiesteroide desidrogenase (HSD3 $\beta$ ), que converte a pregnenolona em P4, além da participação de uma proteína reguladora aguda esteroidogênica (StAR) que realiza o transporte do colesterol para dentro da membrana mitocondrial (NASCIMENTO et al., 2013). A metabolização da P4 ocorre 100% no fígado e está diretamente relacionada com a nutrição e metabolismo do animal (GOMES; NEVES; MICHELINI, 2009; GOTTSCH; CLIFTON; STEINER, 2004; RODRIGUES et al., 2013). Dessa maneira, qualquer aumento no fluxo sanguíneo do trato digestivo, irá aumentar a taxa de metabolismo da P4 (SANGSRITAVONG et al., 2002). Animais em lactação, especialmente vacas de alta produção, que necessitam de alta ingestão de matéria seca possuem maior fluxo hepático e, conseqüentemente, maior metabolização dos hormônios esteroides (SARTORI et al., 2004).

Na reprodução de fêmeas bovinas, a P4 e os progestágenos são amplamente utilizados para aumentar a eficiência reprodutiva. A utilização de progesterona iniciou-se na década de 50 com surgimento de protocolos de sincronização de estro (CHRISTIAN; CASIDA, 1948). Inicialmente, o material de veículo do progestágeno era constituído por um implante hidrônico subcutâneo de norgestomet (Sycromate B®) (WILTBANK; GONZALEZ-PADILLA, 1975). Posteriormente, esse material foi aprimorado para silicone, o que resultava em liberação constante e padronizada do esteroide (KESLER; FAVERO; TROXEL, 1995). Atualmente, a forma mais utilizada em protocolos de IATF são os dispositivos intravaginais de liberação de P4 que contêm diferentes concentrações e resulta em imediato aumento da concentração circulante de P4 (BÓ; BARUSELLI; MARTÍNEZ, 2003). Outras fontes de P4 exógenas são descritas na literatura, como os implantes auriculares, a suplementação via oral (BARUSELLI et al., 2004), adesivo transdérmico (KAJAYSRI et al., 2017) e a solução injetável (MOROTTI; CAMPOS; SENEDA, 2013), sendo pouco utilizadas atualmente.

### 2.3.1 Dispositivo intravaginal de P4

A principal fonte exógena de P4 usada na atualidade em programas de sincronização da ovulação em bovinos é o dispositivo intravaginal. Sua disponibilidade de comercialização ocorre desde os anos 70, e sua utilização é relatada em vários estudos de forma eficiente, tanto para vacas de leite (MELO et al., 2018) quanto de corte (SALES et al., 2015). Em caráter comercial, existem diversos dispositivos intravaginais disponíveis no mercado [Sincrogest® [OuroFino Saúde Animal; (MINGOTI et al., 2016), CIDR® (WILTBANK; PURSLEY, 2014), FertilCare 1200® (BARBUIO et al., 2016), Primer® (ELLIFF et al., 2017) e DIB® (BRUNORO et al., 2018), entre outros], que podem ser apresentados como monodose (única utilização) ou multidose (reutilizáveis).

Dentre as principais vantagens do uso de dispositivos intravaginais na reprodução de bovinos se destacam a liberação controlada de P4 e a sua reutilização (multidose). A característica de reutilização permite redução nos custos dos protocolos hormonais e nos resíduos gerados quando comparado ao uso do dispositivo monodose (ALMEIDA et al., 2006). Nesse contexto, Sales et al., (SALES et al., 2015) relataram que dispositivos reutilizáveis apresentaram menores concentrações de P4 circulantes em fêmeas bovinas conforme sua utilização (Novo, usado 1x e usado 2x). Porém, ambos foram eficientes em controlar o crescimento folicular e não interferiram na taxa de prenhez final de vacas *Bos indicus*. Em *Bos taurus*, a baixa concentração de P4 provenientes de dispositivos reutilizados resultou em menores taxas de prenhez (COLAZO et al., 2004).

No entanto, existem alguns pontos negativos inerentes a utilização dos dispositivos intravaginais. O manejo de inserção do dispositivo na vagina da vaca precisa ser realizado com cautela para não causar ferimentos que podem acarretar infecções no trato reprodutivo, principalmente em novilhas. Após a inserção, para alcançar resultados satisfatórios, o dispositivo necessita ficar no organismo do animal por tempo pré-determinado. Dessa maneira, possíveis perdas ao longo do protocolo podem comprometer a eficiência na sincronização da ovulação.

Outro ponto negativo em relação a sua utilização, é a geração de resíduos sólidos de saúde, que são descartados na grande maioria das vezes de forma errônea no ambiente, devido ao fato do destino não ser bem estabelecido na legislação (PEIXOTO MACIEL et al., 2011). Além disso, a reutilização dos dispositivos requer alguns cuidados importantes, como a higienização em cada utilização para que não ocorra infecções no trato reprodutivo da fêmea. Ainda, exige-se organização criteriosa em relação ao número de

vezes em cada dispositivo foi usado. Dessa maneira, o uso de uma fonte exógena de P4 em veículo biodegradável, de fácil manuseio e aplicação se torna uma alternativa em protocolos de sincronização da ovulação em bovinos.

### **2.3.2 Progesterona injetável**

A P4i se destaca como uma fonte de P4 alternativa devido a praticidade em seu manuseio e a facilidade de administração nos animais. Sua ação em programas de sincronização do ciclo estral em bovinos tem sido relatada há muitos anos (CHRISTIAN; CASIDA, 1948; ULBERG; LINDLEY, 1960). Na década de 90, Blanchard et al., (BLANCHARD et al., 1992) relataram que uma única administração intramuscular de P4 veiculada em microesferas biodegradáveis, foi capaz de manter a concentração sérica desejada controlando a ovulação. Posteriormente, a administração, também em microesferas, de 625 mg de P4i, em novilhas Angus e Simental, resultou em pico de até 5 ng/mL e concentrações séricas de P4 elevadas por 12-13 dias (WHISNANT; BURNS, 2002). Nesse contexto, estudos mais recentes foram realizados objetivando encontrar a concentração sérica de P4i de longa ação. Utilizando doses elevadas (450 e 750mg de P4i), Lima et al., (LIMA et al., 2007) encontraram concentração média de 2,87 ng/mL em novilhas Nelore e mestiças. Adicionalmente, Simões et al., (SIMÕES et al., 2018) observaram concentrações máximas de P4 sérica de 3,8 ng/mL quando administrados 150mg de P4i em vacas Nelore primíparas. Nesse mesmo estudo, o pico da concentração foi observado 24h após o tratamento, com diminuição gradual até 168h, permanecendo acima de 1,5 ng/mL por sete dias.

Estudos práticos foram realizados para avaliar a influência da P4i em diferentes momentos do ciclo estral. A administração de 150mg de P4i previamente (D-10) ao protocolo de sincronização da ovulação aumentou a taxa de prenhez em vacas Nelore (SIMÕES et al., 2018). Também foi observado aumento na taxa de prenhez quando a administração de 150mg de P4i foi realizada quatro dias após a IATF (PUGLIESI et al., 2016). No entanto, Lara et al., (LARA et al., 2020), utilizando uma suplementação de P4i (300mg) no início do protocolo de sincronização da ovulação, relatou redução na fertilidade de vacas holandesas de alta produção.

Em relação a utilização de P4i em substituição ao dispositivo intravaginal de P4, que é a fonte majoritariamente utilizada em protocolos de sincronização da ovulação, são



escassos os estudos realizados. Morotti et al., (MOROTTI et al., 2018) utilizando dose de 350mg de P4i no D0, observou taxa de ovulação menor quando comparada ao grupo que foi inserido o dispositivo intravaginal de P4. Além disso, menor taxa de prenhez foi relatada em vacas de corte utilizando esta mesma dose no mesmo momento (MOROTTI; CAMPOS; SENEDA, 2013). No entanto, Campos et al., (CAMPOS et al., 2015) observaram taxas de prenhez semelhantes em protocolos iniciados com o dispositivo intravaginal ou 250mg de P4i.

## REFERÊNCIAS

- ASBIA - Associação Brasileira de Inseminação Artificial; CEPEA – ESALQ/USP <http://www.asbia.org.br/wp-content/uploads/2021/07/Index-ASBIA-2020-M%C3%ADdia-Revis%C3%A3o-1.pdf>. Acesso em 13/04/2021.
- ALMEIDA, A. B. et al. Avaliação da reutilização de implantes auriculares contendo norgestomet associados ao valerato ou ao benzoato de estradiol em vacas nelore inseminadas em tempo fixo. **Braz. j. vet. res. anim. sci**, p. 456–465, 2006.
- AYRES, H. et al. Effect of timing of estradiol benzoate administration upon synchronization of ovulation in suckling Nelore cows (*Bos indicus*) treated with a progesterone-releasing intravaginal device. **Animal reproduction science**, v. 109, n. 1–4, p. 77–87, dez. 2008.
- AYRES, H. et al. Validation of body condition score as a predictor of subcutaneous fat in Nelore (*Bos indicus*) cows. **LIVESTOCK SCIENCE**, v. 123, n. 2–3, p. 175, ago. 2009.
- BARBUIO, J. et al. **Pregnancy rate of lactating Nelore cows synchronized with progesterone devices or new progestogen implants or used for eight or nine days.** [s.l: s.n.].
- BARREIROS, T. R. R. et al. Dynamics of follicular growth and progesterone concentrations in cyclic and anestrus suckling Nelore cows (*Bos indicus*) treated with progesterone, equine chorionic gonadotropin, or temporary calf removal. **Theriogenology**, v. 81, n. 5, p. 651–656, 15 mar. 2014.
- BARUSELLI, P. . Mercado da IATF cresce 30 % em 2020 e supera 21 milhões de procedimentos. v. 5, p. 2, 2021.
- BARUSELLI, P. S. et al. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. **Animal Reproduction Science**, v. 82–83, p. 479–486, jul. 2004.
- BINELLI, M. et al. Antiluteolytic strategies to improve fertility in cattle. **Theriogenology**, v. 56, n. 9, p. 1451–1463, 1 dez. 2001.
- BLANCHARD, T. L. et al. Regulation of estrus and ovulation in mares with progesterone or progesterone and estradiol biodegradable microspheres with or without PGF2alpha. **Theriogenology**, v. 38, n. 6, p. 1091–1106, 1992.
- BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S. Synchronization of ovulation and fixed-time artificial insemination in beef cattle. **Animal : an international journal of animal bioscience**, v. 8 Suppl 1, n. SUPPL. 1, p. 144–150, 2014.
- BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S.; MARTÍNEZ, M. F. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. **Animal reproduction science**, v. 78, n. 3–4, p. 307–326, 15 out. 2003.
- BRUNORO, R. et al. Reutilização de implantes de progesterona em vacas Nelore de diferentes categorias submetidas a IATF. p. 716–722, 2018.
- BURKE, C. R.; MACMILLAN, K. L.; BOLAND, M. P. Oestradiol potentiates a prolonged progesterone-induced suppression of LH release in ovariectomised cows.

**Animal reproduction science**, v. 45, n. 1–2, p. 13–28, 2 dez. 1996.

CAMPOS, J. T. et al. Evaluation of pregnancy rates of *Bos indicus* cows subjected to different synchronization ovulation protocols using injectable progesterone or an intravaginal device. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, n. 6, p. 4149–4156, 1 nov. 2015.

CARVALHO, J. B. P. et al. Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus*, and *Bos taurus* heifers. **Theriogenology**, v. 69, n. 2, p. 167–175, 15 maio 2008.

CHRISTIAN, R. E.; CASIDA, L. E. **The effects of progesterone in altering the estrus cycle of the cow**. Journal of Animal science. **Anais...AMER SOC ANIMAL SCIENCE** 1111 NORTH DUNLAP AVE, SAVOY, IL 61874, 1948

COLAZO, M. G. et al. Fertility in beef cattle given a new or previously used CIDR insert and estradiol, with or without progesterone. **Animal Reproduction Science**, v. 81, n. 1–2, p. 25–34, 1 mar. 2004.

COLAZO, M. G. et al. Resynchronization of estrus in beef cattle: Ovarian function, estrus and fertility following progestin treatment and treatments to synchronize ovarian follicular development and estrus. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 48, n. 1, p. 49, jan. 2007.

CROWE, M. A.; DISKIN, M. G.; WILLIAMS, E. J. Parturition to resumption of ovarian cyclicity: comparative aspects of beef and dairy cows. **animal**, v. 8, n. s1, p. 40–53, 2014.

DELPORTE, C. Structure and physiological actions of ghrelin. **Scientifica**, v. 2013, p. 1–25, 2013.

DIAS, J. C. et al. Efeitos da suplementação lipídica no aumento da eficiência reprodutiva de fêmeas bovinas. p. 95–104, 2010.

DISKIN, M. G. et al. Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 78, n. 3–4, p. 345–370, 15 out. 2003.

DUFFY, P. et al. The effect of eCG or estradiol at or after norgestomet removal on follicular dynamics, estrus and ovulation in early post-partum beef cows nursing calves. **Theriogenology**, v. 61, n. 4, p. 725–734, 2004.

ELLIFF, F. M. et al. Effect of time of permanence (7 vs. 8) of different intravaginal progesterone devices (PRIMER® Multidose or Monodose) on conception rate of dairy cows. **Animal Reproduction**, v. 14, n. 3, p. 693, 2017.

FERRINI, F. et al. Ghrelin in Central Neurons. **Current Neuropharmacology**, v. 7, n. 1, p. 37, 6 mar. 2009.

GARCIA-WINDER, M. et al. Effects of norgestomet on follicular development in postpartum beef cows. **Journal of animal science**, v. 64, n. 4, p. 1099–1109, 1987.

GOMES, N.; NEVES, M.; MICHELINI, R. Nutrição e reprodução em vacas leiteiras Nutrition and reproduction in dairy cows. p. 118–124, 2009.

GOTTSCH, M. L.; CLIFTON, D. K.; STEINER, R. A. Galanin-like peptide as a link in the integration of metabolism and reproduction. **Trends in endocrinology and**

**metabolism: TEM**, v. 15, n. 5, p. 215–221, jul. 2004.

GRIFFITH, M. K.; WILLIAMS, G. L. Role of visual and olfactory cues during suckling in control of maternal behavior, lactation and suckling-mediated inhibition of LH secretion in beef cows. **Journal of Animal Science**, v. 72, n. Suppl 1, p. 366, 1994.

GRIFFITH, M. K.; WILLIAMS, G. L. Roles of Maternal Vision and Olfaction in Suckling-Mediated Inhibition of Luteinizing Hormone Secretion, Expression of Maternal Selectivity, and Lactational Performance of Beef Cows'. **BIOLOGY OF REPRODUCTION**, v. 54, p. 761–768, 1996.

GRIMARD, B. et al. Influence of postpartum energy restriction on energy status, plasma LH and oestradiol secretion and follicular development in suckled beef cows. **Journal of reproduction and fertility**, v. 104, n. 1, p. 173–179, 1995.

HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. **Reprodução animal** São Paulo: Manole, , 2004.

HANLON, D. W. et al. Ovulatory responses and plasma luteinizing hormone concentrations in dairy heifers after treatment with exogenous progesterone and estradiol benzoate. **Theriogenology**, v. 47, n. 5, p. 963–975, 1 abr. 1997.

HESS, B. W. et al. Nutritional controls of beef cow reproduction. **Journal of Animal Science**, v. 83, n. suppl\_13, p. E90–E106, 2005.

KAJAYSRI, J. et al. Comparison of estrus synchronization by controlled internal drug release device (CIDR) and adhesive transdermal progestin patch in postpartum beef cows. **Theriogenology**, v. 100, p. 66–71, 15 set. 2017.

KESLER, D. J.; FAVERO, R. J.; TROXEL, T. R. A comparison of hydron and silicone implants in the bovine norgestomet and estradiol valerate estrus synchronization procedure. **Drug development and industrial pharmacy**, v. 21, n. 4, p. 475–485, 1995.

LARA, R.R. et al. Supplementation of injectable progesterone on the beginning of timed artificial insemination protocol in high-producing lactating Holstein dairy cows. **ABSTRACTS: 34TH ANNUAL MEETING OF THE BRAZILIAN EMBRYO TECHNOLOGY SOCIETY (SBTE)**, 2020.

LAFLAMMEL', L. F. et al. Effect of postpartum nutrition and cow body condition at parturition on subsequent performance of beef cattle. <https://doi.org/10.4141/cjas92-096>, v. 72, n. 4, p. 843–851, 1 dez. 2011.

LIMA, F. P. C. et al. Concentração sérica de progesterona em bezerras da raça nelore e mestiças tratadas com progesterona em veículo de liberação lenta. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 3, p. 600–604, 2007.

MACKAY, D. R. et al. The effect of acute nutritional change on follicle wave turnover, gonadotropin, and steroid concentration in beef heifers. **Journal of animal science**, v. 78, n. 2, p. 429–442, 2000.

MANN, G. E.; LAMMING, G. E. Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. **REPRODUCTION-CAMBRIDGE-**, v. 121, n. 1, p. 175–180, 2001.

MARQUES, M. DE O. et al. Influence of category-heifers, primiparous and multiparous lactating cows-in a large-scale resynchronization fixed-time artificial

- insemination program. **Journal of Veterinary Science**, v. 16, n. 3, p. 367, 2015.
- MARTÍNEZ, M. F. et al. Effects of oestradiol and some of its esters on gonadotrophin release and ovarian follicular dynamics in CIDR-treated beef cattle. **Animal reproduction science**, v. 86, n. 1–2, p. 37–52, 2005.
- MELO, L. F. et al. Follicular dynamics, circulating progesterone, and fertility in Holstein cows synchronized with reused intravaginal progesterone implants that were sanitized by autoclave or chemical disinfection. **Journal of dairy science**, v. 101, n. 4, p. 3554–3567, 1 abr. 2018.
- MINGOTI, R. D. et al. **Pregnancy rate to TAI Nelore (Bos indicus) protocol submitted to 3 or 4 managements using Sincrogest® or CIDR® new and reused Annual Meeting of the Brazilian Embryo Technology Society - SBTE** Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, , 2016.
- MOROTTI, F. et al. Injectable progesterone in timed artificial insemination programs in beef cows. **Animal Reproduction**, v. 15, n. 1, p. 17–22, 16 ago. 2018.
- MOROTTI, F.; CAMPOS, J. T.; SENEDA, M. M. Fixed-time artificial insemination using injectable progesterone: Ovarian follicular dynamics and pregnancy rates of nelore cows (bos indicus) with and without a corpus luteum. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 6 SUPPL. 2, p. 3867–3876, 2013.
- MURPHY, M. G.; BOLAND, M. P.; ROCHE, J. F. Pattern of follicular growth and resumption of ovarian activity in post-partum beef suckler cows. **Journal of reproduction and fertility**, v. 90, n. 2, p. 523–533, 1990.
- NASCIMENTO, A. B. DO et al. Produção e metabolismo da progesterona e seu papel antes, durante e depois da inseminação artificial influenciando a fertilidade de vacas leiteiras de alta produção. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 41, n. 1, p. 1–14, 2013.
- NETT, T. M. Function of the hypothalamic-hypophysial axis during the post-partum period in ewes and cows. **J. Reprod. Fertil. Suppl**, v. 34, p. 201–213, 1987.
- ODLE, A. K. et al. Leptin Regulation of Gonadotrope Gonadotropin-Releasing Hormone Receptors As a Metabolic Checkpoint and Gateway to Reproductive Competence. **Frontiers in endocrinology**, v. 8, n. JAN, 5 jan. 2018.
- PEIXOTO MACIEL, C. et al. Gestão de resíduos domésticos em uma propriedade rural no Município de Varre-Sai, RJ. **Boletim do Observatório Ambiental Alberto Ribeiro Lamego**, v. 5, n. 2, p. 109–123, 2011.
- PETER, A. T.; VOS, P.; AMBROSE, D. J. Postpartum anestrus in dairy cattle. **Theriogenology**, v. 71, n. 9, p. 1333–1342, 2009.
- PUGLIESI, G. et al. Improved fertility in suckled beef cows ovulating large follicles or supplemented with long-acting progesterone after timed-AI. **Theriogenology**, v. 85, n. 7, p. 1239–1248, 15 abr. 2016.
- PURSLEY, J. R.; MEE, M. O.; WILTBANK, M. C. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF $2\alpha$  and GnRH. **Theriogenology**, v. 44, n. 7, p. 915–923, 1 nov. 1995.
- RHODES, F. M. et al. Invited Review: Treatment of Cows with an Extended Postpartum Anestrus Interval. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 6, p. 1876–1894, 1

jun. 2003.

RICHARDS, M. W.; SPITZER, J. C.; WARNER, M. B. Effect of varying levels of postpartum nutrition and body condition at calving on subsequent reproductive performance in beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 62, n. 2, p. 300–306, 1986.

ROCHE, J. F.; CROWE, M. A.; BOLAND, M. P. Postpartum anoestrus in dairy and beef cows. **Animal Reproduction Science**, v. 28, n. 1–4, p. 371–378, 1 jul. 1992.

RODRIGUES, A. D. P. et al. Progesterone-based strategies to induce ovulation in prepubertal Nelore heifers. **Theriogenology**, v. 79, n. 1, p. 135–141, 1 jan. 2013.

SÁ FILHO, M. F. et al. Induction of ovarian follicular wave emergence and ovulation in progestin-based timed artificial insemination protocols for *Bos indicus* cattle. **Animal reproduction science**, v. 129, n. 3–4, p. 132–139, dez. 2011.

SÁ FILHO, O. G.; THATCHER, W. W.; VASCONCELOS, J. L. M. Effect of progesterone and/or estradiol treatments prior to induction of ovulation on subsequent luteal lifespan in anestrous Nelore cows. **Animal reproduction science**, v. 112, n. 1–2, p. 95–106, maio 2009.

SALES, J. N. S. et al. Effects of two estradiol esters (benzoate and cypionate) on the induction of synchronized ovulations in *Bos indicus* cows submitted to a timed artificial insemination protocol. **Theriogenology**, v. 78, n. 3, p. 510–516, ago. 2012.

SALES, J. N. S. et al. Effect of circulating progesterone concentration during synchronization for fixed-time artificial insemination on ovulation and fertility in *Bos indicus* (Nelore) beef cows. **Theriogenology**, v. 83, n. 6, p. 1093–1100, 1 abr. 2015.

SANGSRITAVONG, S. et al. High feed intake increases liver blood flow and metabolism of progesterone and estradiol-17 $\beta$  in dairy cattle. **Journal of dairy science**, v. 85, n. 11, p. 2831–2842, 2002.

SARTORI, R. et al. Comparison of ovarian function and circulating steroids in estrous cycles of Holstein heifers and lactating cows. **Journal of dairy science**, v. 87, n. 4, p. 905–920, 2004.

SIMÕES, L. M. S. et al. Exposure to progesterone previous to the protocol of ovulation synchronization increases the follicular diameter and the fertility of suckled *Bos indicus* cows. **Theriogenology**, v. 116, p. 28–33, 1 ago. 2018.

SOUZA, A. H. et al. Effects of equine chorionic gonadotropin and type of ovulatory stimulus in a timed-AI protocol on reproductive responses in dairy cows. **Theriogenology**, v. 72, n. 1, p. 10–21, 1 jul. 2009.

STEVENSON, J. S. et al. Estrus, ovulation, luteinizing hormone, and suckling-induced hormones in mastectomized cows with and without unrestricted presence of the calf. **Journal of animal science**, v. 72, n. 3, p. 690–699, 1994.

ULBERG, L. C.; LINDLEY, C. E. Use of progesterone and estrogen in the control of reproductive activities in beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 19, n. 4, p. 1132–1142, 1960.

WALTENS, D. L. et al. Effect of steroids and/or 48 HR calf removal on serum luteinizing hormone concentrations in anestrous beef cows. **Theriogenology**, v. 18, n. 3, p. 349–356, 1982.

- WHISNANT, C. S.; BURNS, P. J. Evaluation of steroid microspheres for control of estrus in cows and induction of puberty in heifers. **Theriogenology**, v. 58, n. 6, p. 1229–1235, 1 out. 2002.
- WILLIAMS, G. L. et al. Coincident secretion of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone in early postpartum beef cows: effects of suckling and low-level increases of systemic progesterone. **Biology of reproduction**, v. 29, n. 2, p. 362–373, 1983.
- WILLIAMS, G. L.; GRIFFITH, M. K. Sensory and behavioural control of gonadotrophin secretion during suckling-mediated anovulation in. **Journal of Reproduction and Fertility Supplement**, v. 49, p. 463–475, 1995.
- WILTBANK, J. N.; GONZALEZ-PADILLA, E. **Synchronization and induction of estrus in heifers with a progestagen and estrogen**. Annales de Biologie Animale Biochimie Biophysique. **Anais...EDP Sciences**, 1975
- WILTBANK, M. C.; GÜMEN, A.; SARTORI, R. Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. **Theriogenology**, v. 57, n. 1, p. 21–52, 1 jan. 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, 1 jan. 2014.
- WYLIE, A. R. G. Leptin in farm animals: where are we and where can we go? **Animal**, v. 5, n. 2, p. 246–267, 1 jan. 2011.
- YAVAS, Y.; WALTON, J. S. Postpartum acyclicity in suckled beef cows: a review. **Theriogenology**, v. 54, n. 1, p. 25–55, 1 jul. 2000.

## SEGUNDA PARTE – ARTIGO

**Progesterona injetável (75mg) não é uma alternativa para dispositivos intravaginais de progesterona em vacas *Bos indicus* submetidas ao protocolo de sincronização da ovulação**

Artigo formatado segundo as normas da *Theriogenology*



## Resumo

Com o objetivo de avaliar a progesterona injetável (P4i) como fonte exógena alternativa de P4 em protocolos de sincronização da ovulação, cinco experimentos foram realizados para determinar o perfil de liberação plasmática de diferentes doses de P4i e sua eficiência na sincronização do crescimento folicular e na fertilidade de vacas *Bos indicus* lactantes. No experimento 1, vacas multíparas lactantes (n=55) foram distribuídas aleatoriamente em cinco grupos experimentais para receberem diferentes doses de P4i (Grupo P4i60mg, P4i105mg, P4i150mg, P4i195mg e P4i240mg). Amostras diárias de sangue (D0 ao D12) foram colhidas por punção da veia jugular para avaliar a concentração plasmática de P4. No experimento 2, vacas *Bos indicus* (n=48) foram distribuídas em três grupos experimentais para receberem um dispositivo intravaginal de P4 (Grupo Controle) ou duas doses diferentes de P4i, conforme perfil observado no experimento 1 [105 mg de P4i (Grupo P4i105) 150 mg de P4i (P4i150)] e 2mg de BE no D0. No experimento 3, as vacas (n=26) foram distribuídas em dois grupos experimentais para receberem um dispositivo intravaginal de P4 (Grupo Controle) ou 75 mg de P4i (Grupo P4i75) no D0 juntamente com 2 mg de BE. No experimento 4, vacas (n=28) *Bos indicus* receberam no D0: 2mg de BE e dispositivo intravaginal de P4 (Grupo controle) ou 60mg de P4i (Grupo P4i60). As doses escolhidas nos experimentos anteriores foram determinadas de acordo com a reposta na dinâmica folicular realizada em cada experimento. Oito dias após (D8), nos experimentos 2,3 e 4, as vacas receberam i.m. 1mg de CE, 300UI de eCG, 500µg de Cloprostenol e os dispositivos intravaginais de P4 foram removidos das vacas do Grupo Controle. Além disso, exames ultrassonográficos foram realizados a cada 24 horas por 96 horas ou até a ovulação. No experimento 5, vacas (n=132) *Bos indicus* foram submetidas ao protocolo de IATF utilizando P4i (Grupo P4i75) ou dispositivo intravaginal de P4 (Grupo Controle) e administração i.m. de 2mg de BE no D0. No D8, o dispositivo intravaginal foi removido nas vacas do Grupo Controle e foram administrados i.m. 1mg de CE, 500µg de Cloprostenol e 300UI de eCG em todas as vacas. Após os tratamentos, todas as vacas foram submetidas à inseminação artificial 48 horas após a administração do indutor de ovulação. O diagnóstico de gestação e taxa de ciclicidade foram realizados 30 dias após a IATF (D40). A análise estatística foi realizada com o auxílio do SAS. O pico da concentração plasmática de P4 ocorreu 24 horas após os tratamentos para as diferentes doses de P4i administradas e permaneceu abaixo de 1ng/mL 48 horas após a administração de 105mg P4i (Grupo P4i105) e 72 horas após a administração de P4i nos

demais grupos (P4i150, P4i105 e P4i240). Após esses momentos, as concentrações permaneceram abaixo de 1ng/mL até 288 horas. No experimento 2, a taxa de ovulação das vacas do grupo P4i150 foi menor ( $P=0,05$ ) que nas vacas do Grupo Controle e não houve diferença entre o grupo P4i105 e os demais grupos. No experimento 3, as vacas dos grupos Controle e P4i75 apresentaram taxa de ovulação semelhante ao Grupo Controle ( $P=0,24$ ). No experimento 4, não houve diferença na taxa de ovulação entre os grupos experimentais (Controle e P4i60;  $P=0,18$ ). No entanto, verificou-se maior dispersão das ovulações no grupo P4i60 ( $P=0,001$ ). Por fim, no experimento 5, as taxas de expressão de estro ( $P=0,49$ ) e ciclicidade no momento do DG ( $P=0,44$ ) foram similares entre os grupos Controle e P4i75, porém, a taxa de prenhez foi maior nas vacas que receberam o dispositivo intravaginal de P4 no início do protocolo de IATF (Grupo Controle;  $P=0,0001$ ). Conclui-se que a utilização de diferentes doses de P4i de longa ação no início do protocolo de IATF não é uma alternativa para substituir o dispositivo intravaginal de P4 em protocolos de sincronização da ovulação em vacas *Bos indicus*.

Palavras-chave: Taxa de ovulação, sincronização da ovulação, dispositivo intravaginal

## Abstract

In order to evaluate injectable progesterone (P4i) as an alternative exogenous source of P4 in ovulation synchronization protocols, five experiments were carried out to determine the plasma release profile of different doses of P4i and its efficiency in synchronizing follicular growth and fertility of lactating *Bos indicus* cows. In experiment 1, lactating multiparous cows (n=55) were randomly assigned to five experimental groups to receive different doses of P4i (P4i60mg, P4i105mg, P4i150mg, P4i195mg and P4i240mg groups). Daily blood samples (D0 to D12) were collected by puncture of the jugular vein to assess the plasma concentration of progesterone. In experiment 2, *Bos indicus* cows (n=48) were divided into three experimental groups to receive an intravaginal device of P4 (Control group) or two different doses of P4i, according to the profile observed in experiment 1 [105 mg of P4i (P4i105 group) 150 mg of P4i (P4i150 group)] and 2mg of EB on D0. In experiment 3, cows (n=26) were assigned to two experimental groups to receive an intravaginal device of P4 (Control group) or 75 mg of P4i (P4i75 group) on D0 along with 2 mg of EB. In experiment 4, *Bos indicus* cows (n=28) received on D0: 2mg of EB and intravaginal device of P4 (Control group) or 60mg of P4i (P4i60 group). The doses chosen in the previous experiments were determined according to the response in the follicular dynamics performed in each experiment. Eight days later (D8), in experiments 2, 3 and 4, cows received 1mg of EC, 300IU of eCG, 500µg of Cloprostenol i.m. and P4 intravaginal devices were removed from cows in the Control group. In addition, ultrasound examinations were performed every 24 hours for 96 hours or until ovulation. In experiment 5, *Bos indicus* cows (n=132) were submitted to the TAI protocol using P4i (P4i75 group) or intravaginal device of P4 (Control group) and i.m. administration of 2mg of EB on D0. On D8, the intravaginal device was removed from the cows in the Control group and 1mg of EC, 500µg of Cloprostenol and 300IU of eCG were i.m. administered to all cows. After treatments, all cows were submitted to artificial insemination 48 hours after ovulation inducer administration. Pregnancy diagnosis and cyclicity rate were performed 30 days after TAI (D40). Statistical analysis was performed through SAS. The peak plasma concentration of P4 occurred 24 hours after the treatments for the different doses of P4i administered and remained below 1ng/mL 48 hours after the administration of 105mg P4i (P4i105 group) and 72 hours after the administration of P4i in the other groups (P4i150, P4i105 and P4i240). After these moments, concentrations remained below 1ng/mL for up to 288 hours. In experiment 2, the ovulation rate of cows

in the P4i150 group was lower ( $P=0.05$ ) than in the cows in the Control group and there was no difference between the P4i105 group and the other groups. In experiment 3, the cows in the Control and P4i75 groups had an ovulation rate similar to the Control group ( $P=0.24$ ). In experiment 4, there was no difference in ovulation rate between the experimental groups (Control and P4i60;  $P=0.18$ ). However, there was greater dispersion of ovulations in the P4i60 group ( $P=0.001$ ). Finally, in experiment 5, the rates of estrus expression ( $P=0.49$ ) and cyclicity at the time of PD ( $P=0.44$ ) were similar between the Control and P4i75 groups, however, the pregnancy rate was higher in cows that received the P4 intravaginal device at the beginning of the TAI protocol (Control group;  $P=0.0001$ ). It can be concluded that the use of different doses of long-acting P4i at the beginning of the TAI protocol is not an alternative to replace the intravaginal device of P4 in ovulation synchronization protocols in *Bos indicus* cows.

Keywords: Ovulation rate, ovulation synchronization, intravaginal device

## 1. Introdução

A maior produtividade em sistemas pecuários de corte está diretamente relacionada a eficiência reprodutiva do rebanho. Entretanto, o grande desafio em se obter máxima produtividade nesse sistema é antecipar a primeira ovulação após o parto [1]. O anestro pós-parto em vacas *Bos indicus* de corte se caracteriza por crescimento folicular normal sem subsequente ovulação devido à redução da pulsatilidade de LH após divergência folicular [2]. Alguns fatores inerentes a nutrição [3], a presença do bezerro [4] e categoria animal [5] prolongam o período de anestro após o parto reduzindo a eficiência reprodutiva do rebanho.

Estratégias hormonais, como os protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF), estão bem estabelecidas e são utilizadas a fim de induzir o retorno a ciclicidade em fêmeas bovinas no pós-parto [6]. Tratamentos com progesterona (P4) são capazes de aumentar a pulsatilidade de LH e promover a ovulação [7]. O mecanismo de ação da P4 é mediado pelo aumento de receptores de LH nas células da granulosa e da teca em folículos pré-ovulatórios com consequente elevação nas concentrações intrafoliculares/séricas de estradiol (E<sub>2</sub>) e pela redução na sensibilidade de receptores de estrógeno no hipotálamo [8,9]. Assim, a principal vantagem dos protocolos de sincronização da ovulação que utilizam E<sub>2</sub>/P4 é antecipar a primeira ovulação em vacas em anestro, principalmente em fêmeas *Bos indicus* [10].

Diversas fontes exógenas de P4 são utilizadas em fêmeas bovinas [11–13]. No entanto, os dispositivos intravaginais de P4 estão bem consolidados [14,15] e são utilizados majoritariamente em protocolos de IATF. A principal vantagem em sua utilização está relacionada a liberação controlada de P4 por tempo determinado em que permanece no organismo do animal [16]. Entretanto, fatores referentes a sua higienização e criteriosa organização em sua reutilização podem ser considerados pontos negativos. Além disso, o descarte adequado dos resíduos hormonais gerados não é bem estabelecido na legislação, sendo realizado na grande maioria das vezes de forma errônea no ambiente [17].

A progesterona injetável (P4i) pode ser utilizada como fonte alternativa de P4 devido a praticidade em seu manuseio e a facilidade de administração nos animais. Porém, alguns estudos demonstraram taxas menores de ovulação e prenhez em vacas de corte

submetidas ao protocolo de IATF utilizando 350mg de P4i em substituição ao dispositivo intravaginal de P4 [18,19]. No entanto, taxas de prenhez semelhantes foram observadas em protocolos iniciados com o dispositivo intravaginal de P4 ou 250mg de P4i [20]. Em função do número de estudos sobre a utilização de P4i em vacas *Bos indicus* serem escassos e inconclusivos e considerando os benefícios práticos, ambientais e sanitários que a utilização de P4i pode acarretar substituindo o dispositivo intravaginal de P4, o objetivo desse estudo foi avaliar diferentes doses de P4i e sua eficiência em protocolo de sincronização da ovulação utilizando P4i em substituição ao dispositivo intravaginal de P4 em vacas *Bos indicus*. A hipótese desse estudo é que a P4i possui eficiência semelhante ao dispositivo intravaginal de P4 em protocolos de sincronização da ovulação em vacas *Bos indicus*.

## **2. Material e métodos**

### *2.1. Experimento 1 - Determinação da concentração sérica de P4i em vacas Bos indicus*

Todos os procedimentos utilizados nesse experimento foram desenvolvidos de acordo com os princípios éticos da experimentação animal, protocolo 062/19 - CEUA, determinadas pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, Brasil.

#### *2.1.1. Animais e local de realização do estudo*

O experimento foi conduzido em fazenda comercial no sudeste do estado de Minas Gerais, Brasil, no período de primavera/verão. No estudo foram utilizadas 55 vacas *Bos indicus* (Nelore), com escore de condição corporal (ECC) médio de  $2,75 \pm 0,2$  (escala de 1-5;[21]) e pós-parto entre 40 e 90 dias. As fêmeas foram mantidas em pastejo contínuo (*Brachiaria brizantha*) e tiveram acesso *ad libitum* a água e suplementação mineral.

#### *2.1.2. Desenho experimental*

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em cinco grupos experimentais para administração de diferentes doses de P4i (P4i60mg, P4i105mg, P4i150mg, P4i195mg e P4i240mg). Todas as vacas receberam 500µg de Cloprostenol i.m. (Sincrocio®, Ouro Fino, Brasil) dois dias antes da administração dos tratamentos (D-2). No dia 0 (D0), as vacas foram distribuídas aleatoriamente entre as diferentes doses de P4i i.m. (60mg, 105mg, 150mg, 195mg e 240mg; Sincrogest Injetável®, Ouro Fino, Brasil). A ausência de corpo lúteo (CL) foi confirmada por ultrassonografia (Mindray 4900, probe linear de 5MHz) no D0 e no D7. Somente as vacas sem CL nas duas avaliações foram selecionadas para o experimento.

### *2.1.3. Coleta de sangue e dosagem hormonal de progesterona*

Amostras diárias de sangue (D0 ao D12) foram colhidas por punção da veia jugular utilizando agulha estéril e tubos com vácuo contendo EDTA de 4 mL (Vacutainer, Becton-Dickinson e Company, EUA) para analisar a concentração sérica de P4. Após as coletas, o sangue foi mantido em isopor com gelo e conduzido ao laboratório. O plasma foi separado por centrifugação a 1500G (Centrífuga Excelsa Baby, Fanem, Brasil) durante 20 minutos e acondicionado em tubos esterilizados (Tubos Eppendorf 3810X standard, Eppendorf, Alemanha) identificados e armazenados em freezer a - 21°C até posterior análise. A análise da concentração de P4 no plasma foi realizada pela técnica de radioimunoensaio em fase sólida utilizando-se kits comerciais para determinação de P4 com I125 (MP Bio Diagnostics Progesterone RIA kit, MP Biomedicals) conforme descrito na literatura [22]. As análises foram realizadas no laboratório de análises hormonais do Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal- F.O.A. - UNESP, Araçatuba/SP. O coeficiente de variação intra-ensaio e inter-ensaio foi de 1,71% e 8,53%, respectivamente.

## 2.2. Experimento 2 - Dinâmica ovariana folicular em vacas *Bos indicus* (105mg e 150mg P4i)

Todos os procedimentos utilizados nesse experimento foram desenvolvidos de acordo com os princípios éticos da experimentação animal, protocolo 035/2020 - CEUA, determinadas pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora-MG, Brasil.

### 2.2.1. Animais e local de realização do estudo

O experimento foi conduzido em fazenda comercial no sudeste do estado de Minas Gerais, Brasil, no período de primavera. No estudo foram utilizadas 48 vacas *Bos indicus* (Nelore), com ECC médio de  $2,58 \pm 0,15$  (escala de 1-5;[21]) e pós-parto entre 40 e 90 dias. As fêmeas foram mantidas em pastejo contínuo (*Brachiaria brizantha*) e tiveram acesso *ad libitum* a água e suplementação mineral.

### 2.2.2. Desenho experimental

Em dia aleatório do ciclo estral (D0), as vacas receberam 2mg de BE i.m. (Sincrodiol®, Ouro Fino, Brasil) e foram distribuídas aleatoriamente em três grupos experimentais - grupo Controle, grupo P4i105 e grupo P4i150. Nas vacas do grupo Controle foi inserido um dispositivo intravaginal de P4 de 1g (Sincrogest®, Ouro Fino, Brasil). Nas vacas dos grupos P4i105 e P4i150 foram administrados i.m. 105mg e 150mg de P4i (Sincrogest Injetável®, Ouro Fino, Brasil), respectivamente. Oito dias depois (D8), o dispositivo intravaginal de P4 das vacas do grupo Controle foi removido e todas as vacas (grupo Controle, grupo P4i105 e grupo P4i150) receberam i.m. 1mg de CE (SincroCP®, Ouro Fino, Brasil), 300UI de eCG (SincroeCG®, Ouro Fino, Brasil) e 500µg de Cloprostenol (Sincrocio®, Ouro Fino, Brasil; Figura 1).

## 2.3. Experimento 3 - Dinâmica ovariana folicular em vacas *Bos indicus* (75mg P4i)

Todos os procedimentos utilizados nesse experimento foram desenvolvidos de acordo com os princípios éticos da experimentação animal, protocolo 014/2021 - CEUA,



determinadas pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora-MG, Brasil.

### *2.3.1. Animais e local de realização do estudo*

O experimento foi conduzido em fazenda experimental de criação de gado de corte da Universidade Federal de Lavras, no sudeste do estado de Minas Gerais, Brasil, no período de primavera/verão. No estudo foram utilizadas 26 vacas *Bos indicus*, com ECC médio de  $3,10 \pm 0,52$  (escala de 1-5;[21]). As fêmeas foram mantidas em pastejo contínuo (*Brachiaria brizantha*) e tiveram acesso *ad libitum* a água e suplementação mineral.

### *2.3.2. Desenho experimental*

Em dia aleatório do ciclo estral (D0), as vacas receberam 2mg de BE i.m. (Sincrodiol®, Ouro Fino, Brasil) e foram distribuídas em dois grupos experimentais - grupo Controle e grupo P4i75. Nas vacas do grupo Controle foi inserido um dispositivo intravaginal de P4 de 1g (Sincrogest®, Ouro Fino, Brasil). Nas vacas do grupo P4i75 foi administrado i.m. 75mg de P4i (Sincrogest Injetável®, Ouro Fino, Brasil). Oito dias depois (D8), o dispositivo intravaginal de progesterona das vacas do grupo Controle foi removido e todas as vacas (grupo Controle e grupo P4i75) receberam i.m. 1mg de CE (SincroCP®, Ouro Fino, Brasil), 300UI de eCG (SincroeCG®, Ouro Fino, Brasil) e 500µg de Cloprostenol (Sincrocio®, Ouro Fino, Brasil; Figura 1).

## *2.4. Experimento 4 - Dinâmica ovariana folicular em vacas *Bos indicus* (60mg P4i)*

Todos os procedimentos utilizados nesse experimento foram desenvolvidos de acordo com os princípios éticos da experimentação animal, protocolo 014/2021 - CEUA, determinadas pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora-MG, Brasil.

### *2.4.1. Animais e local de realização do estudo*

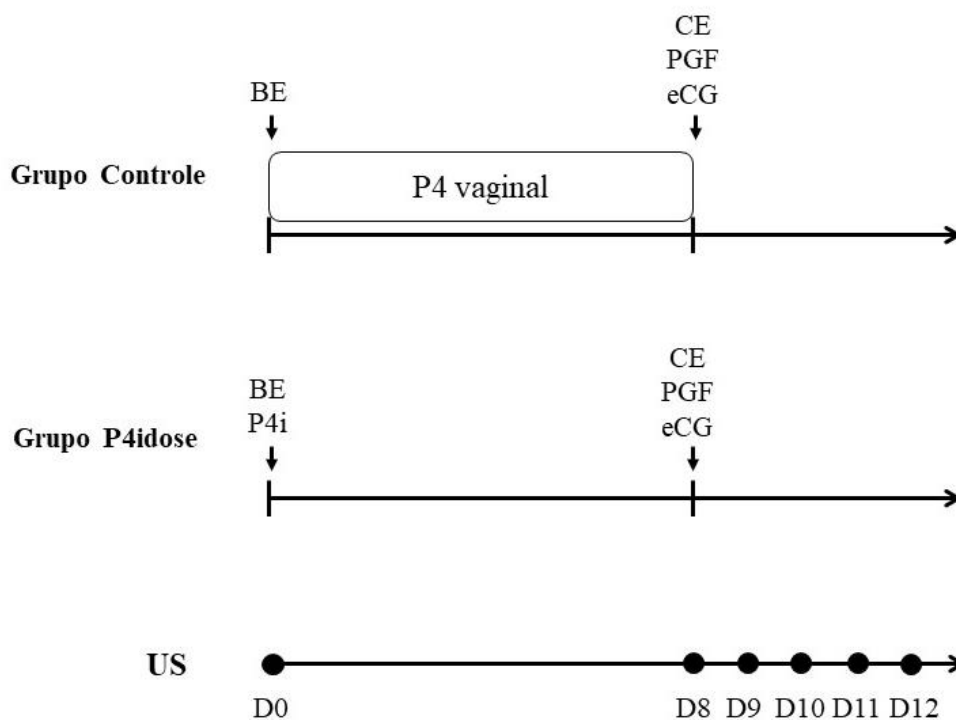
O experimento foi conduzido em fazenda comercial no sudeste do estado de Minas Gerais, Brasil, no período de verão. No estudo foram utilizadas 28 vacas *Bos indicus* com ECC médio de  $2,60 \pm 0,17$  (escala de 1-5;[21]). As fêmeas foram mantidas em pastejo contínuo (*Brachiaria brizantha*) e tiveram acesso *ad libitum* a água e suplementação mineral.

#### 2.4.2. Desenho experimental

Em dia aleatório do ciclo estral (D0), as vacas receberam 2mg de BE i.m. (Sincrodiol®, Ouro Fino, Brasil) e foram distribuídas em dois grupos experimentais - grupo Controle e grupo P4i60. Nas vacas do grupo Controle foi inserido um dispositivo intravaginal de P4 de 1g (Sincrogest®, Ouro Fino, Brasil). Nas vacas do grupo P4i60 foi administrado i.m. 60mg de P4i (Sincrogest Injetável®, Ouro Fino, Brasil). Oito dias após (D8), o dispositivo intravaginal de P4 das vacas do grupo Controle foi removido e todas as vacas (grupo Controle e grupo P4i60) receberam i.m. 1mg de CE (SincroCP®, Ouro Fino, Brasil), 300UI de eCG (SincroeCG®, Ouro Fino, Brasil) e 500µg de Cloprostenol (Sincrocio®, Ouro Fino, Brasil; Figura 1).

#### 2.5. Avaliações ultrassonográficas

Em todos os experimentos de dinâmica folicular (Experimentos 2, 3 e 4), exames ultrassonográficos (Mindray 4900, probe linear de 5MHz) foram realizados no D0 e D8 para verificar a ausência de corpo lúteo. A partir da administração do indutor de ovulação (D8), os exames ultrassonográficos para avaliação do diâmetro folicular foram realizados a cada 24 horas até 96 horas depois ou até ocorrer ovulação nos animais (Figura 1). O momento da ovulação foi determinado pela ausência de folículo dominante em uma avaliação subsequente a sua visualização. Avaliou-se, o diâmetro máximo do folículo dominante (maior diâmetro atingido durante todas as avaliações ultrassonográficas), diâmetro máximo do folículo ovulatório (diâmetro do folículo na avaliação anterior a seu desaparecimento), crescimento folicular final (D8 a ovulação) e taxa de ovulação.



**Figura 1** – Delineamento experimento 2, 3 e 4. Grupo Controle - P4 vaginal: dispositivo intravaginal de 1g de P4; Experimento 2 - P4i: 105mg e 150mg P4 injetável; Experimento 3 - P4i: 75mg P4 injetável; Experimento 4 - P4i: 60mg P4 injetável; BE: 2,0 mg benzoato de estradiol; CE: 1,0mg cipionato de estradiol; PGF: 500µg de Cloprostenol; eCG: 300 UI de eCG; US: exames ultrassonográficos.

## 2.6. Experimento 5 - Taxa de prenhez em vacas *Bos indicus* (75mg P4i)

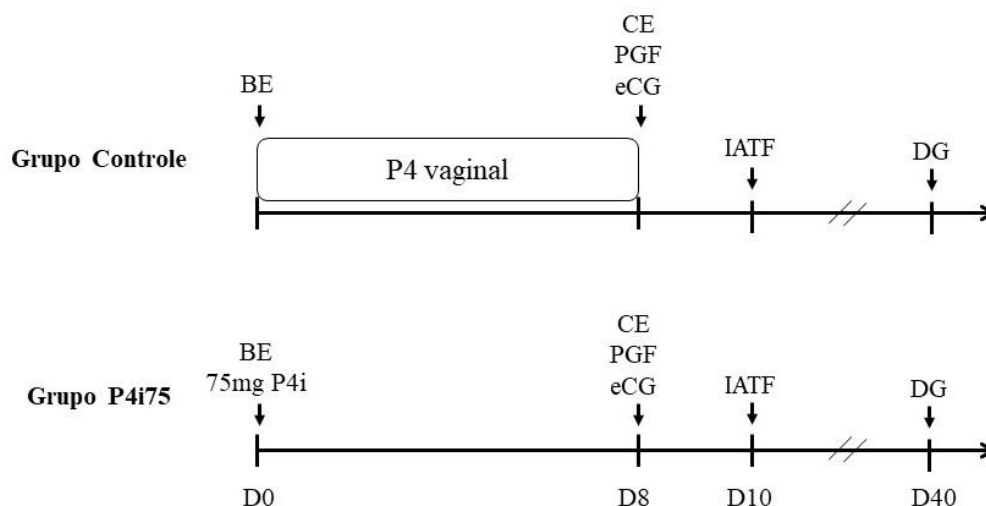
Todos os procedimentos utilizados nesse experimento foram desenvolvidos de acordo com os princípios éticos da experimentação animal, protocolo 035/2020 - CEUA, determinadas pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora-MG, Brasil.

### 2.6.1. Animais e local de realização do estudo

O experimento foi conduzido em fazenda comercial na região nordeste do Paraguai. No estudo foram utilizadas 132 vacas *Bos indicus* (Nelore), com ECC médio de  $3,04 \pm 0,06$  (escala de 1-5;[21]). As fêmeas foram mantidas em pastejo contínuo (*Brachiaria brizantha*) e tiveram acesso *ad libitum* a água e suplementação mineral.

### 2.6.2. *Desenho experimental*

Nesse estudo, utilizou-se a dose de 75mg de P4i devido ser a dose com melhor resposta na dinâmica folicular. Em dia aleatório do ciclo estral (D0), as vacas receberam 2mg de BE i.m. (Sincrodiol®, Ouro Fino, Brasil) e foram distribuídas em dois grupos experimentais - grupo Controle e grupo P4i75. Nas vacas do grupo Controle foi inserido um dispositivo intravaginal de P4 de 1g (Sincrogest®, Ouro Fino, Brasil). Nas vacas do grupo P4i75 foi administrado i.m. 75mg de P4i (Sincrogest Injetável®, Ouro Fino, Brasil). Oito dias depois (D8), o dispositivo intravaginal de P4 das vacas do grupo Controle foi removido e todas as vacas (grupo Controle e grupo P4i75) receberam i.m. 1mg de CE (SincroCP®, Ouro Fino, Brasil), 300UI de eCG (SincroeCG®, Ouro Fino, Brasil) e 500µg de Cloprostenol (Sincrocio®, Ouro Fino, Brasil). Todas as vacas foram submetidas a inseminação artificial 48 horas após a administração do indutor da ovulação (D10; Figura 2). O procedimento de inseminação artificial (IA) foi realizado por um único técnico, não ciente do grupo de tratamento de cada animal. Utilizou-se sêmen comercial congelado de 1 touro com fertilidade comprovada. Simultaneamente à remoção do dispositivo intravaginal (D8), a cauda foi marcada com giz (Raidl-Maxi, RAIDEX GmbH, Dettingen / Erms, Alemanha) para identificação do estro. As vacas foram consideradas em estro quando mais de 90% da marca de giz na base da cauda foi removida no momento da IATF. Exames ultrassonográficos (Mindray 2200, probe linear de 5MHz) foram realizados no dia 0 (D0) para verificar a presença de CL e diâmetro folicular. O diagnóstico de gestação e a taxa de ciclicidade após o protocolo de sincronização da ovulação foi realizada 30 dias após a IATF (D40).



**Figura 2** – Delineamento experimento 5. Grupo controle (n=66) e Grupo P4i75 (n=63). Dispositivo intravaginal: 1g de P4; BE: 2,0 mg benzoato de estradiol; P4i: 60mg P4 injetável; CE: 1,0mg cipionato de estradiol; PGF: 500 $\mu$ g de Cloprostenol; eCG: 300 UI; IATF realizada 48 horas após administração do indutor da ovulação.

## 2.7. Análise estatística

A análise estatística foi realizada com auxílio do software *Statistical Analysis System for Windows SAS* [23]. No experimento 1, foi realizada somente a análise descritiva da curva de concentração plasmática de P4. No experimento 2, 3 e 4 as variáveis avaliadas foram diâmetro folicular no D8, diâmetro máximo do folículo dominante, crescimento folicular até a ovulação, diâmetro do folículo ovulatório, momento entre a retirada do dispositivo e a ovulação e taxa de ovulação. Os dados contínuos foram testados quanto à normalidade dos resíduos e analisados pelo procedimento UNIVARIATE (transformados quando necessário) e submetidos ao teste de Bartlett para avaliar a homogeneidade das variâncias. O procedimento GLIMMIX foi utilizado para determinar diferenças significativas entre os grupos. A taxa de ovulação (distribuição binomial) foi analisada utilizando o procedimento GLIMMIX. No experimento 5, as variáveis incluídas no modelo inicial para avaliação da expressão de estro e taxa de prenhez foram tratamentos (Controle e P4i75), ECC, CL no D0 e folículo maior que 8 mm e interações. Essas variáveis binomiais foram analisadas por regressão logística multivariada utilizando o procedimento LOGISTIC do SAS. As variáveis foram

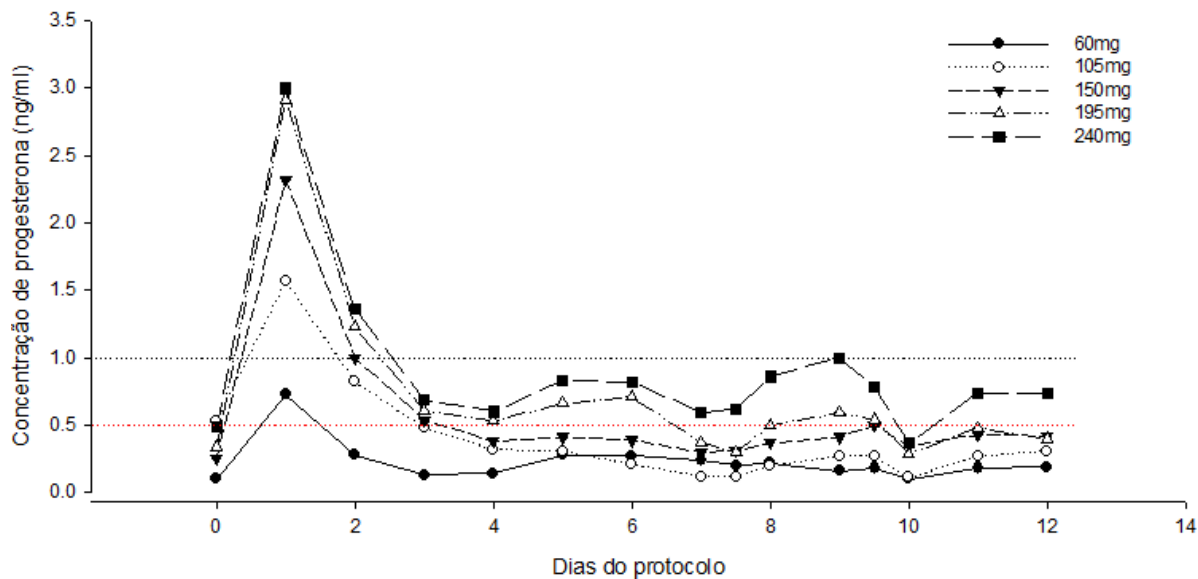
removidas por eliminação backward, com base no critério estatístico de Wald quando  $P > 0,20$ . No modelo final para expressão de estro e taxa de prenhez foram incluídos os efeitos de tratamento, ECC no D0 e interação. Essas variáveis foram analisadas pelo procedimento GLIMMIX do SAS. As variáveis contínuas foram expressas em média e erro padrão da média (média  $\pm$  EPM) e as binomiais em porcentagem (%). Considerou-se como diferença significativa entre as variáveis testadas o  $P < 0,05$ .

### 3. Resultados

Nos experimentos alguns animais foram removidos devido a presença de corpo lúteo após início do estudo (Exp. 1: P4i60 n=1, P4i105 n=1; Exp. 2: P4i105 n=2; Exp. 3: P4i75 n=1; Exp. 4: P4i60 n=1), doenças (Exp. 1: P4i60 n=1; Exp. 3: P4i75 n=1; Exp. 5: P4i75 n=1) ou perda do dispositivo intravaginal de progesterona. Exp. 2: Controle n=3).

#### 3.1. Experimento 1 - Determinação da concentração sérica de P4i em vacas *Bos indicus*

O pico da concentração de P4 ocorreu 24 horas após os tratamentos (D1) para as diferentes doses de P4i administradas (P4i60mg =  $0,7 \pm 0,2$  ng/mL, P4i105mg =  $1,6 \pm 0,2$  ng/mL, P4i150mg =  $2,5 \pm 0,4$  ng/mL, P4i195mg =  $2,9 \pm 0,4$  ng/mL e P4i240mg =  $3,0 \pm 0,4$  ng/mL). Após 48 horas da administração de P4i, o grupo P4i105mg apresentou concentração de P4 abaixo de 1 ng/mL ( $0,8 \pm 0,2$  ng/mL), o mesmo ocorreu em 72 horas para os demais grupos (P4i150mg =  $0,5 \pm 0,1$  ng/mL; P4i195mg =  $0,6 \pm 0,1$  ng/mL e P4i240mg =  $0,7 \pm 0,1$  ng/mL). Após esses momentos, as concentrações permaneceram abaixo de 1ng/mL até 288 horas (D12; Figura 3).



**Figura 3** - Perfil plasmático de diferentes doses de P4i em vacas *Bos indicus* lactantes

### 3.2. Experimento 2 – Dinâmica ovariana folicular em vacas *Bos indicus* (105mg e 150mg P4i)

Na dinâmica folicular ovariana, não houve diferença entre os grupos Controle, P4i105 e P4i150 no diâmetro do folículo no D8 ( $P=0,07$ ), no diâmetro máximo do folículo dominante ( $P=0,40$ ), no diâmetro do folículo ovulatório ( $P=0,29$ ) e no momento de ovulação ( $P=0,42$ ). A taxa de ovulação das vacas do grupo P4i150 foi menor que a do grupo Controle e não houve diferença entre o grupo P4i105 e os demais grupos ( $P=0,05$ ; Tabela 1).

**Tabela 1** - Diâmetro folicular, momento da ovulação e taxa de ovulação em vacas Nelore sincronizadas com um dispositivo P4 intravaginal (controle) ou diferentes doses de P4 injetável.

	Controle	P4i105	P4i150	P
Número de animais	13	14	16	
Diâmetro (mm)				
FD no dia 8	8,8 ± 0,8	7,6 ± 0,8	9,9 ± 0,5	0,07
Máximo do FD	12,1 ± 0,7	13,4 ± 0,8	14,4 ± 1,1	0,40
Máximo do FO	13,0 ± 0,6	14,0 ± 1,1	10,6 ± 0,0	0,29
Intervalo indutor/ovulação (h)	70,0 ± 3,7	75,0 ± 5,7	60,0	0,42
Taxa de ovulação (%)	46,0 (6/13) <sup>a</sup>	28,0 (4/14) <sup>ab</sup>	6,0 (1/16) <sup>b</sup>	0,05

FD: folículo dominante; FO: Folículo ovulatório.

<sup>a,b</sup> Valores com letras diferentes diferem estatisticamente ( $P \leq 0,05$ ).

### 3.3. Experimento 3 – Dinâmica ovariana folicular em vacas *Bos indicus* (75mg P4i)

Na dinâmica folicular ovariana, não houve diferença entre os grupos Controle e P4i75 no diâmetro do folículo no D8 ( $P=0,77$ ), no crescimento folicular da retirada até a ovulação ( $P=0,88$ ), no diâmetro máximo do folículo dominante ( $P=0,98$ ), no diâmetro do folículo ovulatório ( $P=0,73$ ), no momento de ovulação ( $P=0,42$ ) e na taxa de ovulação ( $P=0,24$ ; Tabela 2).



**Tabela 2** - Diâmetro folicular, momento da ovulação, taxa de crescimento folicular e taxa de ovulação em vacas *Bos indicus* sincronizadas com um dispositivo P4 intravaginal (controle) ou 75mg de progesterona injetável.

	Controle	P4i75	P
Número de animais	13	11	
Diâmetro (mm)			
FD no dia 8	9,4 ± 0,6	9,4 ± 0,8	0,77
Máximo do FD	13,6 ± 0,7	13,6 ± 1,1	0,98
Máximo do FO	13,9 ± 0,7	13,3 ± 1,3	0,73
Crescimento folicular entre indutor e ovulação (mm/dia)	1,9 ± 0,3	1,6 ± 0,4	0,08
Intervalo indutor/ovulação (h)	80,0 ± 3,4	75,0 ± 3,0	0,58
Taxa de ovulação (%)	92,3 (12/13)	72,7 (8/11)	0,24

DF: Folículo dominante; FO: Folículo ovulatório;

<sup>ab</sup> Valores com letras diferentes diferem estatisticamente ( $P \leq 0,05$ ). Média ± Erro Padrão.

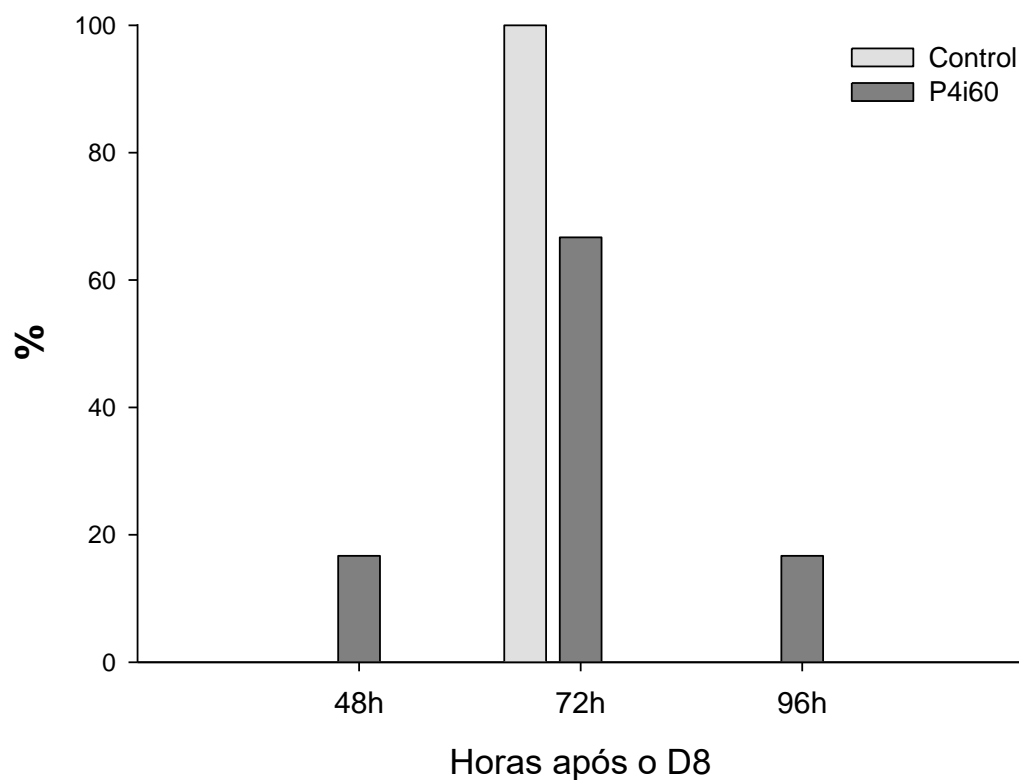
#### 3.4. Experimento 4 – Dinâmica ovariana folicular em vacas *Bos indicus* (60mg P4i)

Na dinâmica folicular ovariana, não houve diferença entre os grupos Controle e P4i60 no diâmetro do folículo no D8 ( $P=0,31$ ), no diâmetro máximo do folículo dominante ( $P=0,35$ ), no diâmetro do folículo ovulatório ( $P=0,44$ ), no momento de ovulação ( $P=0,78$ ) e na taxa de ovulação ( $P=0,18$ ; Tabela 3). No entanto, verificou-se maior dispersão das ovulações no grupo P4i60 ( $P=0,001$ ; Figura 4). Além disso, verificou-se que 46,2 % (6/13) das vacas do grupo P4i60 e 21,4 % (3/14) das vacas do grupo controle possuíam folículos menores do que 8mm no D8, demonstrando possível falha na sincronização da emergência de onda ou estímulo a pulsatilidade do LH no grupo de P4i.

**Tabela 3** - Diâmetro folicular, momento da ovulação e taxa de ovulação em vacas *Bos indicus* sincronizadas com um dispositivo P4 intravaginal (controle) ou 60mg de progesterona injetável.

	Controle	P4i60	P
Número de animais	14	13	
Diâmetro (mm)			
FD no dia 8	9,8 ± 0,7	8,8 ± 0,8	0,31
Máximo do FD	12,0 ± 0,9	10,8 ± 0,8	0,35
Máximo do FO	13,7 ± 0,5	12,8 ± 1,3	0,44
Intervalo indutor/ovulação (h)	72,0 ± 0,0	72,0 ± 6,2	0,78
Taxa de ovulação (%)	71,4 (10/14)	46,2 (6/13)	0,18

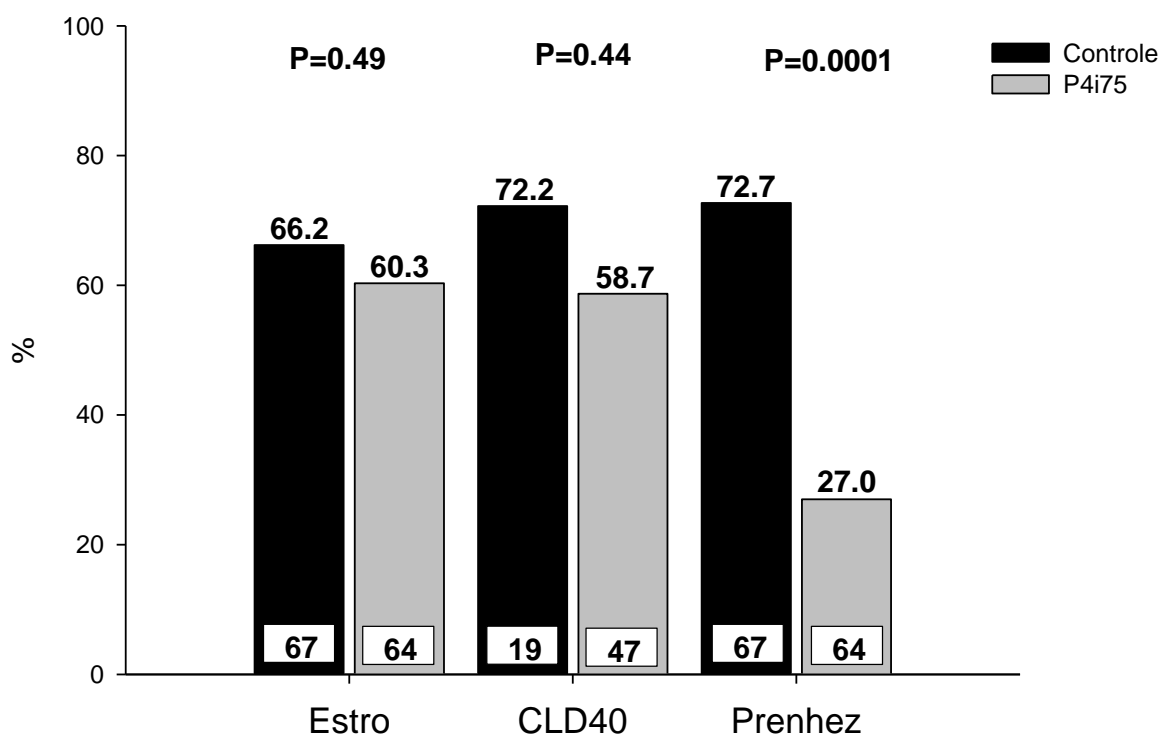
DF: Folículo dominante; FO: Folículo ovulatório; <sup>a,b</sup> Valores com letras diferentes diferem estatisticamente ( $P \leq 0,05$ ). Média ± Erro Padrão.



**Figura 4** - Distribuição das ovulações em vacas Nelore sincronizadas com um dispositivo P4 intravaginal (controle) ou 60 mg de P4 injetável.

### 3.5. Experimento 5 – Taxa de prenhez (75mg P4i)

Não houve diferença entre os grupos Controle e P4i75 em relação ao ECC [ $3,0 \pm 0,1$ ;  $3,1 \pm 0,1$  ( $P=0,83$ )], porcentagem de vacas com presença de corpo lúteo no D0 [Controle: 19,7 (13/60); P4i: 22,2 (14/63);  $P=0,72$ ] e porcentagem de vacas com folículo maior que 8mm [Controle: 95,5 (63/66); P4i75: 95,24 (60/63);  $P=0,95$ ]. Na análise de expressão de estro e taxa de prenhez não foi verificado interação entre tratamento e o ECC no D0. Além disso, a expressão de estro ( $P=0,49$ ) e a ciclicidade no momento do diagnóstico de gestação (D40 foram similares entre o grupo Controle e P4i75 ( $P=0,44$ ). No entanto, a taxa de prenhez foi maior nas vacas do grupo Controle ( $P=0,0001$ ; Figura 5)



**Figura 5:** Expressão de estro, taxa de ciclicidade no diagnóstico de gestação (CLD40) após a sincronização da ovulação e taxa de prenhez de vacas Nelore (*Bos indicus*) sincronizadas com dispositivo intravaginal de P4 ou 75 mg de P4 injetável.

#### 4. Discussão

O presente estudo avaliou a substituição do dispositivo intravaginal de P4 pela injetável no protocolo de sincronização da ovulação a base E<sub>2</sub>/P4. Para o nosso conhecimento, esse é o primeiro estudo que avaliou a taxa de prenhez em vacas *Bos indicus* após avaliação da curva de liberação de progesterona injetável para determinar a melhor dose de P4i como fonte exógena de P4 a ser utilizada em protocolos de IATF em vacas *Bos indicus*. Além disso, nesse estudo utilizou-se dose de P4i bem menor (75mg) ao avaliado anteriormente na literatura [24,25]. Após avaliação da dinâmica folicular utilizando diferentes doses de P4i no início do protocolo de sincronização da ovulação, observou-se semelhança na dispersão e na taxa de ovulação de fêmeas que receberam um dispositivo intravaginal de P4 ou 75mg de P4i. No entanto, a taxa de prenhez foi menor em vacas que receberam P4i como fonte exógena de P4 no início do protocolo de sincronização da ovulação. Assim, a hipótese de que a P4i substituiria a dispositivo intravaginal de P4 em protocolos de sincronização da ovulação em vacas *Bos indicus* foi rejeitada.

A concentração sérica de P4 é representada pela relação entre a produção, principalmente pelo corpo lúteo, e sua metabolização pelo fígado. Dessa maneira, o metabolismo hepático dos hormônios esteroides está relacionado com a ingestão de matéria seca [26,27]. No presente estudo, em vacas multíparas lactantes, verificou-se aumento nas concentrações séricas de P4 nas primeiras 24 horas após a administração de diferentes doses de P4i (60mg; 105mg; 150mg; 190mg e 250mg), e decréscimo gradual após este momento, permanecendo abaixo de 1ng/mL após 72 horas até o final do experimento (288 horas). Em estudo anterior do nosso grupo de pesquisa, após a administração de 150mg de P4i previamente ao protocolo de IATF em vacas *Bos indicus* primíparas não lactantes, verificou-se a permanência da concentração plasmática de P4 acima de 1ng/mL por 7 dias [28]. A diferença da concentração sérica de P4 após a administração de 150mg de P4i entre os estudos possivelmente está relacionada com a maior ingestão de matéria seca e, conseqüentemente, maior metabolização de P4 em vacas lactantes devido a produção de leite, conforme foi observado em vacas *Bos taurus* produtoras de leite [26].

No estudo, as vacas que receberam 105mg ou 150mg de P4i apresentaram curva de liberação mais próxima ao observado em vacas com disposto intravaginal de P4 [14], principalmente em relação as concentrações de P4 no final do protocolo, sendo essas doses eleitas para serem avaliadas na dinâmica folicular. Apesar de apresentar crescimento folicular semelhante ao dispositivo intravaginal, a taxa de ovulação foi menor. Dessa forma, realizou-se outros estudos de dinâmica folicular com doses menores, observando -se maior semelhança com o dispositivo intravaginal de P4 quando se utilizou a dose de 75mg de P4i. A P4 é capaz de aumentar a frequência de pulsos de LH em vacas, influenciando o crescimento folicular após divergência folicular [29,30]. No entanto, estudos demonstraram que, maiores concentrações circulantes de P4 reduzem a frequência de pulsos de LH, impactando em menor crescimento do folículo dominante [16,31]. Dessa mesma maneira, menor concentração circulante de P4 em vacas *Bos indicus* promovem maior crescimento do folículo dominante e, conseqüentemente, aumenta a expressão de estro e ovulação nessas fêmeas [32]. No presente estudo, o diâmetro do folículo ovulatório foi semelhante entre as vacas que receberam a P4 por dispositivo intravaginal ou injetável (75mg), demonstrando ter sido eficiente em promover a sincronização da emergência de onda quando associado ao estrógeno e controlar o crescimento folicular final, sendo esses pré-requisitos para promover adequada sincronização da ovulação [10,11].

No presente estudo, apesar dos resultados positivos da dinâmica folicular, as vacas que receberam 75mg de P4i apresentaram menor taxa de prenhez a IATF. Três fatores podem explicar a baixa P/IA nas vacas que receberam a P4i: falha na sincronização da emergência de onda, concentração insuficiente de P4 para estimular pulsatilidade de GnRH e, conseqüentemente, de LH em vacas em anestro ou concentração residual de P4 durante o período de proestro. Em protocolos de IATF para ocorrer a sincronização a emergência de onda é necessário a administração de progesterona e estradiol em concentrações adequadas para promover feedback negativo no hipotálamo e reduzir a liberação de GnRH e, conseqüentemente, de FSH e LH na hipófise [10,11]. É possível que a administração de 75mg de P4i não tenha sido suficiente para promover essa ação no hipotálamo em alguns animais, resultando em falhas na sincronização da ovulação. Essa possibilidade pode ser reforçada com os achados do estudo de dinâmica folicular da dose de 60mg, no qual observou-se diâmetro máximo do folículo dominante 1,20mm menor que o grupo Controle com presença de 46% das vacas com folículos pequenos

(<8mm) no D8. Além disso, a exposição a P4 em concentrações subluteais aumenta a pulsatilidade de LH que permite o crescimento folicular após a divergência, evitando atresia desses folículos em vacas em anestro [33,34]. No presente estudo, a dose de 75mg de P4i pode ter sido insuficiente para aumentar a pulsatilidade de LH devido à baixa concentração e curto período de exposição a P4 em níveis subluteais, mantendo as vacas em anestro após o protocolo. Por fim, porém menos provável, o possível efeito residual de P4 durante o proestro das vacas do grupo P4i. Durante os protocolos de sincronização da ovulação, é necessário reduzir substancialmente as concentrações de P4 devido ao feedback negativo que esse esteroide exerce sobre a secreção de GnRH/LH. A queda da P4 é necessária para o folículo dominante obter capacidade ovulatória após pico de estrógeno [35–38]. Além disso, é necessário haver um período de proestro com baixa concentração de P4 para permitir adequada preparação uterina para o deslocamento dos espermatozoides até o local da fecundação e a desenvolvimento inicial do embrião [39]. Em vacas produtoras de leite verificou que maior concentração de P4 no proestro devido a luteólise incompleta resultou em menor taxa de concepção. Nesse estudo, as vacas submetidas ao protocolo *Ovsynch* apresentaram menor taxa de concepção quando a concentração de P4 circulante estava acima de 0,4ng/mL no momento da administração do segundo GnRH [40]. Porém, com adição de uma segunda dose de prostaglandina 24 horas após a primeira no protocolo *Ovsynch*, verificou-se menor concentração de P4 no proestro e maior taxa de concepção [41]. Dessa forma, a P4 residual interfere negativamente na fertilidade de fêmeas bovinas. Porém, em estudo recente em vacas *Bos indicus* utilizando 75mg de P4i em protocolo de ressincronização precoce, verificou-se taxa de prenhez semelhante entre vacas ressincronizadas com um dispositivo de P4 novo ou 75mg de P4i associado a um dispositivo intravaginal de P4 [42]. Dessa forma, o efeito residual parece não ser a causa da menor taxa de prenhez nas vacas que receberam P4i.

Diante dos resultados apresentados, conclui-se que a utilização de 75mg de P4i de longa ação no início do protocolo de IATF não é uma alternativa para substituir o dispositivo intravaginal de P4 em protocolos de sincronização da ovulação em vacas *Bos indicus*.

**REFERÊNCIAS**

- [1] Montiel F, Ahuja C. Body condition and suckling as factors influencing the duration of postpartum anestrus in cattle: A review. *Anim Reprod Sci* 2005;85:1–26. <https://doi.org/10.1016/J.ANIREPROSCI.2003.11.001>.
- [2] Crowe MA, Diskin MG, Williams EJ. Parturition to resumption of ovarian cyclicity: comparative aspects of beef and dairy cows. *Animal* 2014;8:40–53. <https://doi.org/10.1017/S1751731114000251>.
- [3] Diskin MG, Mackey DR, Roche JF, Sreenan JM. Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. *Anim Reprod Sci* 2003;78:345–70. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(03\)00099-X](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(03)00099-X).
- [4] Williams GL, Talavera F, Petersen BJ, Kirsch JD, Tilton JE. Coincident Secretion of Follicle-Stimulating Hormone and Luteinizing Hormone in Early Postpartum Beef Cows: Effects of Suckling and Low-Level Increases of Systemic Progesterone n.d.
- [5] Grimard B, Humblot P, Ponter AA, Mialot JP, Sauvant D, Thibier M. Influence of postpartum energy restriction on energy status, plasma LH and oestradiol secretion and follicular development in suckled beef cows. *Reproduction* 1995;104:173–9. <https://doi.org/10.1530/JRF.0.1040173>.
- [6] Bó GA, Baruselli PS. Synchronization of ovulation and fixed-time artificial insemination in beef cattle. *Animal* 2014;8 Suppl 1:144–50. <https://doi.org/10.1017/S1751731114000822>.
- [7] Filho OGS, Meneghetti M, Peres RFG, Lamb GC, Vasconcelos JLM. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows II: Strategies and factors affecting fertility. *Theriogenology* 2009;72:210–8. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2009.02.008>.
- [8] Rhodes FM, Burke CR, Clark BA, Day ML, Macmillan KL. Effect of treatment with progesterone and oestradiol benzoate on ovarian follicular turnover in postpartum anoestrous cows and cows which have resumed oestrous cycles. *Anim Reprod Sci* 2002;69:139–50. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(01\)00141-5](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(01)00141-5).
- [9] Gü A, Wiltbank MC. An Alteration in the Hypothalamic Action of Estradiol Due to Lack of Progesterone Exposure Can Cause Follicular Cysts in Cattle 1. vol. 66. 2002.
- [10] Bó GA, Baruselli PS, Martínez MF. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. *Anim Reprod Sci* 2003;78:307–26. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(03\)00097-6](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(03)00097-6).
- [11] Baruselli PS, Reis EL, Marques MO, Nasser LF, Bó GA. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. *Anim Reprod Sci* 2004;82–83:479–86. <https://doi.org/10.1016/J.ANIREPROSCI.2004.04.025>.
- [12] Kajaysri J, Chumchoung C, Wutthiwitthayaphong S, Suthikrai W, Sangkamanee

- P. Comparison of estrus synchronization by controlled internal drug release device (CIDR) and adhesive transdermal progestin patch in postpartum beef cows. *Theriogenology* 2017;100:66–71.  
<https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2017.06.006>.
- [13] Morotti F, Campos JT, Oliveira ER, Seneda MM. Dinâmica folicular ovariana de vacas Nelore (*Bos indicus*) submetidas a um protocolo de inseminação artificial em tempo fixo com progesterona injetável. *Semin Agrar* 2013;34:3859–66.  
<https://doi.org/10.5433/1679-0359.2013V34N6SUPL2P3859>.
- [14] Sales JNS, Carvalho JBP, Crepaldi GA, Soares JG, Giroto RW, Maio JRG, et al. Effect of circulating progesterone concentration during synchronization for fixed-time artificial insemination on ovulation and fertility in *Bos indicus* (Nelore) beef cows. *Theriogenology* 2015;83:1093–100.  
<https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2014.12.009>.
- [15] Melo LF, Monteiro PLJ, Nascimento AB, Drum JN, Spies C, Prata AB, et al. Follicular dynamics, circulating progesterone, and fertility in Holstein cows synchronized with reused intravaginal progesterone implants that were sanitized by autoclave or chemical disinfection. *J Dairy Sci* 2018;101:3554–67.  
<https://doi.org/10.3168/JDS.2017-13570>.
- [16] Silva LO e., Valenza A, Alves RLOR, Silva MA da, Silva TJB da, Motta JCL, et al. Progesterone release profile and follicular development in Holstein cows receiving intravaginal progesterone devices. *Theriogenology* 2021;172:207–15.  
<https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2021.07.001>.
- [17] Peixoto Maciel C, De Pinedo L, Junior Q, De V, Santos De Oliveira P. Gestão de resíduos domésticos em uma propriedade rural no Município de Varre-Sai, RJ. *Bol Do Obs Ambient Alberto Ribeiro Lamego* 2011;5:109–23.
- [18] Morotti F, Tadeu de Campos J, Alvares Lunardelli P, Bortoliero Costa C, Zamparone Bergamo L, Ricardo Rigo Barreiros T, et al. Injectable progesterone in timed artificial insemination programs in beef cows. *Anim Reprod*, V n.d.;15:17–22. <https://doi.org/10.21451/1984-3143-2017-AR928>.
- [19] Morotti F, Tadeu Campos J, Marcondes Seneda M. Fixed-time artificial insemination using injectable progesterone: ovarian follicular dynamics and pregnancy rates of Nelore cows (*Bos indicus*) with and without a corpus luteum. *Semin Ciências Agrárias* 2013;34:3867–76.
- [20] Campos JT, Morotti F, Costa CB, Bergamo LZ, Seneda MM. Evaluation of pregnancy rates of *Bos indicus* cows subjected to different synchronization ovulation protocols using injectable progesterone or an intravaginal device. *Semin Agrar* 2016;37:4149–56. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2016V37N6P4149>.
- [21] Ayres H, Ferreira RM, de Souza Torres-Júnior JR, Demétrio CGB, de Lima CG, Baruselli PS. Validation of body condition score as a predictor of subcutaneous fat in Nelore (*Bos indicus*) cows. *Livest Sci* 2009;123:175.  
<https://doi.org/10.1016/J.LIVSCI.2008.11.004>.
- [22] Colazo MG, Ambrose DJ, Kastelic JP, Small JA. Comparison of 2 enzyme immunoassays and a radioimmunoassay for measurement of progesterone



- concentrations in bovine plasma, skim milk, and whole milk. *Can J Vet Res* 2008;72:32–6. <https://doi.org/10.7939/R3NV99Q6T>.
- [23] SAS - STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM 2000.
- [24] Morotti F, Campos JT, Seneda MM. Fixed-time artificial insemination using injectable progesterone: Ovarian follicular dynamics and pregnancy rates of nelore cows (*Bos indicus*) with and without a corpus luteum. *Semin Agrar* 2013;34:3867–76. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2013V34N6SUPL2P3867>.
- [25] Campos JT, Morotti F, Costa CB, Bergamo LZ, Seneda MM. Evaluation of pregnancy rates of *Bos indicus* cows subjected to different synchronization ovulation protocols using injectable progesterone or an intravaginal device. *Semin Ciências Agrárias* 2015;37:4149–56. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2016V37N6P4149>.
- [26] Sangsritavong S, Combs DK, Sartori R, Armentano LE, Wiltbank MC, Wiltbank MC. High Feed Intake Increases Liver Blood Flow and Metabolism of Progesterone and Estradiol-17 $\beta$  in Dairy Cattle. *J Dairy Sci* n.d.;85:2831–42. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74370-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74370-1).
- [27] Vasconcelos JLM, Sangsritavong S, Tsai SJ, Wiltbank MC. Acute reduction in serum progesterone concentrations after feed intake in dairy cows. *Theriogenology* 2003;60:795–807. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(03\)00102-X](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(03)00102-X).
- [28] Simões LMS, Orlandi RE, Massoneto JPM, Scandiuzzi LA, Freitas BG, Bastos MR, et al. Exposure to progesterone previous to the protocol of ovulation synchronization increases the follicular diameter and the fertility of suckled *Bos indicus* cows. *Theriogenology* 2018;116:28–33. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.04.031>.
- [29] Abreu FM, Coutinho Da Silva MA, Cruppe LH, Mussard ML, Bridges GA, Harstine BR, et al. Role of progesterone concentrations during early follicular development in beef cattle: I. Characteristics of LH secretion and oocyte quality 2018. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.06.020>.
- [30] Monteiro PLJ, Borsato M, Silva FLM, Prata AB, Wiltbank MC, Sartori R. Increasing estradiol benzoate, pretreatment with gonadotropin-releasing hormone, and impediments for successful estradiol-based fixed-time artificial insemination protocols in dairy cattle. *J Dairy Sci* 2015;98:3826–39. <https://doi.org/10.3168/JDS.2014-9040>.
- [31] Prata AB, Madureira G, Robl AJ, Ribeiro HS, Sagae M, Elias MCV, et al. Progesterone-based timed AI protocols for *Bos indicus* cattle III: Comparison of protocol lengths. *Theriogenology* 2020;152:29–35. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2020.04.020>.
- [32] e Silva LO, Valenza A, Alves RLOR, Silvestri M, Contini MC, Motta JCL, et al. Progesterone release profile and follicular development in Nelore cows receiving intravaginal progesterone devices. *Theriogenology* 2022;178:77–84. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2021.11.005>.
- [33] Savio JD, Thatcher WW, Badinga L, De la Sota RL, Wolfenson D. Regulation of dominant follicle turnover during the oestrous cycle in cows. *J Reprod Fertil*

- 1993;97:197–203. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0970197>.
- [34] Stock AE, Fortune JE. Ovarian follicular dominance in cattle: Relationship between prolonged growth of the ovulatory follicle and endocrine parameters. *Endocrinology* 1993;132:1108–14. <https://doi.org/10.1210/endo.132.3.8440173>.
- [35] Edwards SAA, Phillips NJ, Boe-Hansen GB, Bo GA, Burns BM, Dawson K, et al. Follicle stimulating hormone secretion and dominant follicle growth during treatment of *Bos indicus* heifers with intra-vaginal progesterone releasing devices, oestradiol benzoate, equine chorionic gonadotrophin and prostaglandin F(2 $\alpha$ ). *Anim Reprod Sci* 2013;137:129–36. <https://doi.org/10.1016/J.ANIREPROSCI.2012.12.013>.
- [36] Ireland JJ, Roche JF. Effect of progesterone on basal LH and episodic LH and FSH secretion in heifers. *J Reprod Fertil* 1982;64:295–302. <https://doi.org/10.1530/JRF.0.0640295>.
- [37] Baruselli PS, Reis EL, Marques MO, Nasser LF, Bó GA. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. *Anim Reprod Sci* 2004;82–83:479–86. <https://doi.org/10.1016/J.ANIREPROSCI.2004.04.025>.
- [38] Alves RLOR, Silva MA, Consentini CEC, e Silva LO, Folchini NP, Oliva AL, et al. Hormonal combinations aiming to improve reproductive outcomes of *Bos indicus* cows submitted to estradiol/progesterone-based timed AI protocols. *Theriogenology* 2021;169:89–99. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2021.04.007>.
- [39] Binelli M, Pugliesi G, Hoeck V V., Sponchiado M, Ramos RS, Oliveira ML, et al. The role of proestrus on fertility and postovulatory uterine function in the cow. *Anim Reprod* 2014;11:246–53.
- [40] Carvalho PD, Santos VG, Giordano JO, Wiltbank MC, Fricke PM. Development of fertility programs to achieve high 21-day pregnancy rates in high-producing dairy cows. *Theriogenology* 2018;114:165–72. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2018.03.037>.
- [41] Pereira MHC, Sanches CP, Guida TG, Rodrigues ADP, Aragon FL, Veras MB, et al. Timing of prostaglandin F2 $\alpha$  treatment in an estrogen-based protocol for timed artificial insemination or timed embryo transfer in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 2013;96:2837–46. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5840>.
- [42] Pugliesi G, Bisinotto DZ, Mello BP, Lahr FC, Ferreira CA, Melo GD, et al. A novel strategy for resynchronization of ovulation in Nelore cows using injectable progesterone (P4) and P4 releasing devices to perform two timed inseminations within 22 days. *Reprod Domest Anim* 2019;54:1149–54. <https://doi.org/10.1111/RDA.13475>.