



UDESC

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC
CENTRO DE EDUCAÇÃO SUPERIOR DO OESTE – CEO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**PROGESTERONA INJETÁVEL NA
SINCRONIZAÇÃO DO ESTRO EM
BOVINOS**

HENRIQUE RODRIGUES DA FONSECA

CHAPECÓ, 2020

HENRIQUE RODRIGUES DA FONSECA

**PROGESTERONA INJETÁVEL NA SINCRONIZAÇÃO DO ESTRO
EM BOVINOS**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Área de Concentração Ciência e Produção Animal, da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), como requisito parcial para obtenção de grau de **Mestre em Zootecnia**
Orientador (a): Rogério Ferreira

Chapecó, SC, Brasil

2020

Programa de Pós-Graduação em Zootecnia

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**PROGESTERONA INJETÁVEL NA SINCRONIZAÇÃO DO ESTRO
EM BOVINOS**

Elaborada por
HENRIQUE RODRIGUES DA FONSECA
como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Zootecnia

Comissão Examinadora:

Dr. Rogério Ferreira (UDESC)

Dr. Luis Fabiano Santos Costa (UNIPAMPA)

Dr. Paulo Roberto Antunes da Rosa (IFFar)

Chapecó, 27 de fevereiro de 2020.

AGRADECIMENTOS

Agradeço:

Primeiramente a Deus pelo dom da vida e pela perseverança junto a mim.

Aos meus pais pelos ensinamentos que me tornaram hoje nessa pessoa abençoada;

Agradeço com muito amor pois sei que vocês fizeram o melhor que puderam.

A minha querida irmã Iana, meu cunhado e minha sobrinha que mesmo longe sempre me apoiara em todos os meus projetos.

A minha amada esposa Emanuele, pelo seu amor e paciência, te amo.

Ao meu sogro e minha sogra por terem me acolhido as suas famílias de maneira tão carinhosa.

De maneira muito especial agradecer ao meu Orientador Dr. Rogério Ferreira, por seus ensinamentos, pelo exemplo de pessoa e pela serenidade.

A todos os professores que tive a oportunidade de conhecer durante toda a vida, pois cada um teve uma contribuição para minha formação.

Em especial aos professores e funcionários do departamento de Zootecnia da UDESC.

Aos colegas e amigos que tive a oportunidade de conhecer no mestrado, em especial aos amigos do GERA.

As propriedades que cederam os animais para que esse experimento pudesse se realizar.

E a todas as pessoas amigas que me ajudaram neste importante momento.

Meu muito obrigado a todos que de alguma forma contrubuíram para minha formação!

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia
Universidade do Estado de Santa Catarina

PROGESTERONA INJETÁVEL NA SINCRONIZAÇÃO DO ESTRO EM BOVINOS

AUTOR: HENRIQUE RODRIGUES DA FONSECA

ORIENTADOR: ROGÉRIO FERREIRA

Chapecó, 27 de fevereiro de 2020

A suplementação com progesterona (P4) é amplamente utilizada de maneira estratégica dentro de programas de sincronização de ovulação para aumentar o sucesso gestacional, principalmente em vacas de alta produção. Vários são os protocolos existentes para auxiliar na modificação da dinâmica folicular e a grande maioria deles utiliza a P4 na forma de dispositivos intravaginais de liberação lenta. Este trabalho teve por objetivo desenvolver um protocolo de sincronização de estro em bovinos utilizando progesterona (P4) injetável ao invés de dispositivos de liberação lenta. Para isso, na primeira fase do estudo foram avaliadas duas doses de P4 injetável para definir a melhor concentração para realizar a sincronização de uma nova onda folicular e sincronia da ovulação em vacas leiteiras. No primeiro estudo, foram utilizadas 11 vacas da raça Holandesa submetidas a protocolo de sincronização de estro utilizando P4 injetável e benzoato de estradiol (BE; i.m.) no D0, gonadotrofina coriônica equina (eCG; i.m.) e análogo de prostaglandina (PG; i.m.) no D7 e indução da ovulação com hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH; i.m.) no D9. As vacas foram alocadas aleatoriamente em dois grupos para receber 300 ou 500mg de P4 por via subcutânea. Foram realizadas coletas de sangue para avaliação da concentração sérica de P4 nos dias 0, 4 e 8 em relação à administração de P4. Nesta mesma fase do experimento os animais ainda foram submetidos a avaliação do tamanho do folículo pré-ovulatório e ovulação. A dose de P4 (300 ou 500mg) não afetou a curva sérica de P4, o tamanho do folículo ovulatório e a taxa de ovulação. No segundo experimento, 28 vacas com $32,45 \pm 1,91$ dias pós-parto foram submetidos a protocolo de sincronização similar ao experimento anterior, no entanto os animais foram alocados para receber 300mg de P4 injetável ou dispositivo vaginal de liberação lenta de P4 de 1,25g por 8 dias. Não houve diferença na taxa de prenhez entre os animais que receberam P4 injetável ou implante de progesterona. É possível concluir que protocolos de sincronização utilizando 300mg de P4 por via subcutânea associado ao uso de eCG e indução da ovulação com GnRH permitem uma sincronização do crescimento folicular e ainda determina uma alta taxa de ovulação. Mais estudos são necessários para investigar a eficiência de adoção de protocolos com P4 injetável, ao invés da utilização de dispositivos, na eficiência reprodutiva de bovinos leiteiros.

Palavras chaves: Sincronização, Progesterona Injetável, GnRh, Ovulação.

ABSTRACT

Master's Dissertation
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia
Universidade do Estado de Santa Catarina

**INJECTABLE PROGESTERONE IN ESTRUS
SYNCHRONIZATION IN CATTLE**

AUTHOR: HENRIQUE RODRIGUES DA FONSECA

ADVISER: ROGÉRIO FERREIRA

Chapecó, February 27, 2020

Progesterone (P4) supplementation is widely used strategically in ovulation synchronization programs to increase gestational success, especially in high milk production cows. There are several protocols to synchronize follicular growth and the vast majority of them use P4 as slow-release intravaginal devices. This work aimed to develop an estrus synchronization protocol in cattle using injectable progesterone (P4) instead of slow release devices. For this, in the first phase of the study, two doses of injectable P4 were evaluated to define the best concentration to synchronize a new follicular wave and synchronize ovulation in dairy cows. In the first study, 11 Holstein cows subjected to estrus synchronization protocol using injectable P4 and estradiol benzoate (BE; im) at D0, equine chorionic gonadotropin (eCG; im) and prostaglandin analog (PG; im) were used on D7 and ovulation induction with gonadotropin-releasing hormone (GnRH; im) on D9. The cows were randomly assigned to two groups to receive 300 or 500mg of P4 subcutaneously. Blood samples were taken to assess serum P4 concentration on days 0, 4 and 8 in relation to P4 administration. In this same phase of the experiment, the animals were still submitted to an evaluation of the size of the preovulatory follicle and ovulation. The P4 dose (300 or 500mg) did not affect the P4 serum curve, the size of the ovulatory follicle nor ovulation rate. In the second experiment, 28 cows with $32,45 \pm 1,91$ days postpartum were submitted to a synchronization protocol similar to the previous experiment, however the animals were allocated to receive 300mg of injectable P4 or 1.25g P4 slow-release vaginal device per 8 days. There was no difference in the pregnancy rate between animals that received an injectable P4 or progesterone implant. It is possible to conclude that synchronization protocols using 300mg of P4 subcutaneously associated with the use of eCG and induction of ovulation with GnRH allow a synchronization of follicular growth and also determines a high rate of ovulation. More studies are needed to investigate the efficiency of adopting protocols with injectable P4, instead of using devices, on the reproductive efficiency of dairy cattle.

Keywords: Synchronization, Injectable Progesterone, GnRH, Ovulation.

SUMÁRIO

1	CAPÍTULO	8
	REVISÃO DE LITERATURA	8
1.1	FISIOLOGIA REPRODUTIVA DOS BOVINOS	8
1.1.1	Dinâmica folicular ovariana	8
1.1.2	Sincronização das ondas foliculares	8
1.1.3	Progesterona (P4)	9
1.1.4	Hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH)	10
1.1.5	Gonadotrofina coriônica equina (eCG)	11
1.2	DIMINUIÇÃO DA FERTILIDADE	11
2	CAPÍTULO	13
2.1	MANUSCRITO	14
3	CONSIDERAÇÕES FINAIS	31
4	REFERÊNCIAS	32

1 CAPÍTULO

REVISÃO DE LITERATURA

1.1 FISIOLOGIA REPRODUTIVA DOS BOVINOS

1.1.1 Dinâmica folicular ovariana

O ciclo estral é caracterizado como o período entre duas ovulações. Em 1960 foi proposto um conceito de que grupos de folículos antrais se desenvolviam em duas ondas durante o ciclo estral nos bovinos (GINTHER, 2016). Mas os estudos sobre dinâmica folicular em bovinos foram possíveis através da monitoração das ondas foliculares com o início da utilização da ultrassonografia transretal (PIERSON; GINTHER, 1984). A partir de 1988 vários estudos foram realizados para a evolução da reprodução dos ruminantes, e chegaram a conclusão que há entre 2 e 3 ondas foliculares durante cada ciclo estral (GINTHER, 2016). Folículos antrais têm seu crescimento e desenvolvimento classificado em três fases, sendo: recrutamento, seleção e dominância folicular (DRIANCOURT, 2001).

Com base na presença de diferentes estruturas no ovário, o ciclo estral também é dividido em duas fases: lútea (período de desenvolvimento e manutenção do corpo lúteo); e fase folicular (período da luteólise à ovulação do folículo dominante). Endocrinologicamente, o ciclo estral ocorre pela ação dos hormônios: GnRH (hormônio liberador das gonadotrofinas), FSH (hormônio folículo estimulante), LH (hormônio luteinizante), estradiol (E2) e progesterona (P4; ADAMS, et al., 2008).

1.1.2 Sincronização das ondas foliculares

Os protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) tem por objetivo permitir a inseminação durante um intervalo pré-planejado, eliminando assim, a necessidade de detecção de estro e minimizando os custos de tempo e mão-de-obra. Sabe-se que o uso da inseminação artificial (IA) é uma das principais técnicas utilizadas para disseminar genética desejável entre rebanhos de bovinos. Entretanto, a

implementação generalizada desta técnica é muito recente e deve-se principalmente ao uso de protocolos que permitem a IA de grandes grupos de animais em um determinado momento, comumente chamado de IATF. Basicamente, estes protocolos envolvem a sincronização da emergência de uma nova onda folicular e sua ovulação em período pré-determinado (MARTINEZ, et al., 2000). Entretanto, mesmo estando em programas de sincronização, os animais que não apresentem sinal de estro possuem menor fertilidade, e conseqüentemente menor taxa de prenhez, portanto, a avaliação de cio é muito importante nos índices de prenhez do rebanho (PEREIRA, et al., 2016).

1.1.3 Progesterona (P4)

A presença da P4 e sua suplementação como auxiliar na reprodução de bovinos é muito estudada nos dias de hoje (BISINOTTO, et al., 2015; STEVENSON; LAMB, et al., 2016). Os papéis da P4 incluem: modulação do crescimento folicular e nutrição inicial do embrião, preparação do endométrio para nova gestação e manutenção do mesmo. As concentrações circulantes de P4 representam um equilíbrio entre a produção desse hormônio e seu próprio metabolismo (DADARWAL, et al., 2013; SIMÕES et al., 2018). Couto e colaboradores (2018) testaram o uso da P4 após a inseminação para verificar sua eficiência no auxílio da manutenção da progesterona alta e conseqüente melhora na taxa de prenhez, e obtiveram sucesso nos resultados. Sendo que durante a fase de crescimento do folículo ovulatório, quando menor for a concentração de P4 circulante, mais o folículo cresce e conseqüentemente maior será o CL posterior a ovulação (DIAS, et al., 2012; PFEIFER, et al., 2009). Esta afirmação está em desacordo com Denicol e colaboradores (2012), os quais provaram em seu trabalho que a concentração de P4 durante a sincronização da ovulação apresenta uma correlação com a taxa de prenhez na inseminação artificial.

A criação e o uso de implantes intravaginais foi uma das ferramentas que permitiu a suplementação com progesterona (P4) por tempo definido, possibilitando a retirada do dispositivo e queda da progesterona em momentos estratégicos (MACMILLAN; PETERSON, 1993). Desta forma, é possível induzir a ovulação com esteroides após a retirada dos implantes (COLAZO, et al., 2003). Além da indução com esteroides, é possível induzir a ovulação com análogos do GnRH, pois diferentemente

do estradiol, a indução da ovulação com GnRH independe dos níveis de progesterona no momento da sua aplicação (GIORDANO, et al., 2012). No entanto, concentrações de P4 abaixo de 0,4 ng/ml no dia da inseminação podem apresentar melhores resultados na taxa de prenhez (SANTOS et al., 2010).

1.1.4 Hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH)

O GnRH é responsável pela síntese FSH e a síntese e secreção do LH. O FSH atua sobre os ovários através da estimulação do desenvolvimento folicular ovariano. A sua produção é regulada pela ação do estradiol e a inibina, hormônios que atuam diretamente na hipófise. Em programas reprodutivos, pode ser empregado na sincronização da ovulação em protocolos de inseminação em tempo fixo (IATF), ou indução de estro (GIORDANO, et al., 2012). Também como forma de tratamento de cistos foliculares ovarianos (PROBO et al., 2011).

Pensando em melhorar resultados de ovulação com sincronização padronizada, o uso do GnRH como indutor de ovulação pode acarretar em melhores resultados na IATF. Sua utilização como indutor de ovulação é conhecida a muitos anos pois é um indutor que independe dos níveis de progesterona para expressar sua função de maturação e ovulação (PURSLEY, et al., 1995).

Conhecendo sobre a eficiência do uso do GnRH foi criado o protocolo denominado de Ovsynch que utiliza duas aplicações de GnRh e uma dose de PGF para sincronizar e induzir uma ovulação, e desde 1995 até os dias atuais sua evolução é constante e as modificações ocorrem sempre que se descobre algo novo (WILTBANK & PURSLEY, 2014). Nos dias atuais, também se estuda o uso do GnRH no início de um protocolo que tem como base estradiol e progesterona, pois o mesmo apresenta efeitos positivos durante os períodos mais frios do ano. Esses efeitos estão associados ao aumento da fertilidade e na taxa de ovulação em animais que possuem baixa P4 no início do protocolo; e por consequência estes animais apresentam maior número de CL responsivos no momentos da aplicação da PGf2 α (PEREIRA, et al., 2015). O mesmo foi apresentado por Melo e colaboradores (2016), quando os autores mostraram que protocolos que inicia com GnRH apresentam índices de prenhes superiores aos

iniciados com BE, entretanto, as melhores taxas de fertilidade estão presentes em vacas que apresentam CL no início do protocolo e no momento da aplicação da PGf2 α .

1.1.5 Gonadotrofina coriônica equina (eCG)

O uso do eCG na reprodução de bovinos leiteiros é de longa data, onde vários estudos já foram realizados para mostrar sua eficácia fazendo sua aplicação no dia da retirada do implante, o que apresenta resultados positivos na melhora da taxa de prenhez através da estimulação do crescimento do folículo dominante e subsequente aumento na taxa de ovulação (BARUSELLI, et al., 2004; BILBÃO, et al., 2016; OLIVERA, et al., 2014; PITALUGA, et al., 2013; SALES, et al., 2011; SÁ FILHO, et al., 2010; SOUZA, et al., 2009). Resultados que não apresentaram melhoria nas taxas de prenhez associados ao uso do eCG no dia da retirada do implante também estão apresentados na literatura (PULLEY, et al., 2013; SAMPAIO, et al., 2015). Entretanto, Tortorella e colaboradores (2013), em um trabalho realizado em animais mestiços, concluíram que tamanho do folículo, o volume do corpo lúteo, concentrações séricas de P4 e as taxas de gestação foram maiores quando o eCG foi administrada 48 horas antes da retirada do dispositivo de P4 (D6).

Em outro trabalho com uso do eCG, foi demonstrado que sua eficiência foi dependente do tempo em que estes animais estavam paridos, sendo que seu uso foi efetivo em aumentar o número de prenhez por inseminação nos animais que estavam com período pós-parto menor ou igual a 70 dias, porém, não foi eficiente nos animais que estavam paridos a mais de 70 dias (PRATA, et al., 2017). Da mesma forma, o eCG apresentou maior desempenho em vacas com baixo escore de condição corporal (ECC) (SALES, et al., 2011; SOUZA, et al., 2009).

1.2 DIMINUIÇÃO DA FERTILIDADE

São inúmeros os fatores que podem causar uma queda nos índices de fertilidade das vacas leiteiras (WALSH, et al., 2011; LÓPEZ-GATIUS, 2012). Vacas em balanço energético negativo (BUTLER, 2000) que apresentam ECC baixo do 2,5 nas primeiras semanas pós-parto são exemplos de animais com baixa taxa de fertilidade quando

comparados aos animais com melhor condição corporal (CARVALHO, et al., 2014). Mas especialmente durante o verão, os fatores de infertilidade aumentam. As causas podem ser desde estresse térmico que acarreta em queda no consumo de matéria seca, aumento de luminosidade pelo fotoperíodo até alterações metabólicas e neuroendócrinas (DE RESIS, et al, 2008).

2 CAPÍTULO

MANUSCRITO

Os resultados desta dissertação são apresentados na forma de um manuscrito, com sua formatação de acordo com as orientações da revista ao qual será submetido.

2.1 MANUSCRITO

Progesterona injetável para substituir dispositivos intravaginais em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo.

Henrique Rodrigues da Fonseca, Bernardo Garziera Gasperin, Bento Martins de

Menezes Bisneto, Paulo Bayard Gonçalves, Rogério Ferreira

De acordo com normas para publicação em:

Ciência Rural

1 **Progesterona injetável para substituir dispositivos intravaginais em protocolos de**
2 **inseminação artificial em tempo fixo.**

3 **Injectable progesterone to replace intravaginal devices on timed artificial**
4 **insemination protocols.**

5
6 Henrique Rodrigues da Fonseca^I, Bernardo Garziera Gasperin^{II}, Bento Martins de
7 Menezes Bisneto^{III}, Paulo Bayard Gonçalves^{III}, Rogério Ferreira^{I*}

8
9 **RESUMO**

10 O objetivo foi desenvolver um protocolo de inseminação artificial em tempo fixo
11 (IATF) em bovinos utilizando progesterona (P4) injetável ao invés de dispositivos de
12 liberação lenta. Para isso, na primeira fase do estudo foram avaliadas duas doses de P4
13 injetável para definir a melhor concentração para IATF em vacas leiteiras. Foram
14 utilizadas 11 vacas Holandesas submetidas a protocolo de IATF utilizando P4 injetável
15 (300 ou 500mg de P4) e benzoato de estradiol no D0, gonadotrofina coriônica equina
16 (eCG) e análogo de prostaglandina no D7 e indução da ovulação com hormônio liberador
17 de gonadotrofinas (GnRH) no D9. A concentração sérica de P4 foi avaliada nos dias 0, 4
18 e 8. Os animais ainda foram submetidos a avaliação do tamanho do folículo pré-
19 ovulatório e ovulação. A dose de P4 (300 ou 500mg) não afetou a curva sérica de P4, o
20 tamanho do folículo ovulatório e a taxa de ovulação. No segundo experimento, 28 vacas
21 foram submetidas a protocolo de IATF similar ao experimento anterior, no entanto os

^I Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), Chapecó, SC, Brazil.

^{II} Universidade Federal de Pelotas (UFPel).

^{III} Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA).

* Autor para correspondência. Tel.: +55(49) 2049-9556; Fax: +55(49) 2049-9553. E-mail: rogerio.ferreira@udesc.br.

1 animais foram alocados para receber 300mg de P4 injetável ou dispositivo vaginal de
2 liberação lenta de P4 de 1,25g por 8 dias. Não houve diferença no tamanho folicular, taxa
3 de ovulação e taxa de prenhez entre os animais que receberam P4 injetável ou implante
4 de progesterona ($P>0,05$). É possível concluir que protocolos de sincronização utilizando
5 300mg de P4 por via subcutânea associado à indução da ovulação com GnRH permitem
6 uma sincronização do crescimento folicular e ainda determina uma alta taxa de ovulação.

7 **Palavras chaves:** Sincronização, Progesterona Injetável, GnRH, Ovulação.

8 **ABSTRACT**

9 This work aimed to develop a fixed-time artificial insemination (FTAI) protocol
10 in cattle using injectable progesterone (P4) instead of slow-release devices. For this, in
11 the first phase of the study, two doses of injectable P4 were evaluated to define the best
12 concentration to synchronize a new follicular wave and synchronize ovulation in dairy
13 cows. In the first study, 11 Holstein cows subjected to FTAI protocol using injectable P4
14 (300 ou 500mg of P4; s.c.) and estradiol benzoate (BE; im) at D0, equine chorionic
15 gonadotropin (eCG; im) and prostaglandin analog (PG; im) were used on D7, and
16 ovulation induction with gonadotropin-releasing hormone (GnRH; im) on D9. Blood
17 samples were taken to assess serum P4 concentration on days 0, 4, and 8 related to P4
18 administration. In this same phase of the experiment, the animals were still submitted to
19 an evaluation of the size of the preovulatory follicle and ovulation. The P4 dose (300 or
20 500mg) did not affect the P4 serum curve, the size of the ovulatory follicle nor ovulation
21 rate. In the second experiment, 28 cows with $32,45\pm 1,91$ days postpartum were submitted
22 to a FTAI protocol similar to the previous experiment, however the animals were
23 allocated to receive 300mg of injectable P4 or 1.25g P4 slow-release vaginal device per
24 8 days. There was no difference in the pregnancy rate between animals that received an
25 injectable P4 or progesterone implant. It is possible to conclude that synchronization

1 protocols using 300mg of P4 subcutaneously associated with the use of eCG and
2 induction of ovulation with GnRH allow synchronization of follicular growth and also
3 determines a high rate of ovulation.

4 **Keywords:** Synchronization, Injectable Progesterone, GnRH, Ovulation.

5

6 **INTRODUÇÃO**

7 Os protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) são alternativas de
8 manejo reprodutivo, com objetivo de, entre outras indicações, contornar a ineficiência na
9 detecção de cio observada em vacas leiteiras de elevada produção, por permitir um
10 controle do crescimento folicular, indução da ovulação e com isso inseminação em tempo
11 pré-determinado (BÓ et al., 2016). Atualmente, para implementação dos protocolos de
12 IATF são utilizados dispositivos intravaginais de liberação controlada de progesterona
13 (P4). Esses dispositivos de P4 podem causar desconforto, vaginite, ou até mesmo é
14 observado a perda desses implantes. Esses fatores podem comprometer a eficiência dos
15 protocolos de IATF. Além da progesterona disponível em dispositivos vaginais, existem
16 soluções comerciais de progesterona injetável, muito utilizada em protocolos de indução
17 da lactação. Deste modo, a progesterona injetável pode ser uma ferramenta para substituir
18 os dispositivos intravaginais, sem causar irritação aos animais e reduzir a contaminação
19 ambiental decorrente da P4 residual presente nos implantes no momento do seu descarte,
20 além do próprio dispositivo que é produzido a base de plásticos e silicone (MOROTTI et
21 al., 2017; DE GRAAFF e GRIMARD, 2018). No entanto, poucos trabalhos avaliaram a
22 utilização da P4 injetável na sincronização de estro de bovinos.

23 A utilização de implantes intravaginais permite a suplementação com
24 progesterona (P4) por tempo definido, possibilitando a retirada do dispositivo e queda da
25 progesterona em momentos estratégicos (MACMILLAN e PETERSON, 1993). Desta

1 forma, é possível induzir a ovulação com estrógenos após a retirada dos implantes e
2 redução sérica de P4 (COLAZO et al., 2003). Portanto, a grande limitação da utilização
3 de P4 injetável em protocolos de sincronização é a dificuldade de controlar a redução da
4 concentração sérica de P4. Moroti et al. (2017) observaram que a utilização de P4
5 injetável em protocolo de sincronização não prejudica o crescimento do folículo
6 dominante. No entanto, no mesmo estudo os autores observaram que ocorreu uma
7 redução superior a 50% na taxa de ovulação. Esse resultado pode ser justificado pela
8 indução da ovulação com estrógenos em animais ainda com concentrações elevadas de
9 P4 sérica.

10 Além da indução com esteroides, é possível induzir a ovulação com análogos do
11 GnRH. Diferentemente do estradiol, a indução da ovulação com GnRH independe da
12 concentração sérica de progesterona (GIORDANO et al., 2012). Desta forma, a hipótese
13 do presente estudo foi que é possível sincronizar o crescimento folicular e ovulação
14 utilizando P4 injetável associada ao estímulo do crescimento folicular com eCG e indução
15 da ovulação com GnRH. Portanto, o objetivo do presente estudo foi desenvolver um
16 protocolo de sincronização de estro em bovinos utilizando progesterona (P4) injetável ao
17 invés de dispositivos de liberação lenta. Para isso foram investigadas duas concentrações
18 de P4 injetável sobre o tamanho folicular, ovulação e concentração de P4 sérica; e
19 avaliada a eficiência de um protocolo com progesterona injetável, utilizando um
20 protocolo com dispositivo como controle, sobre a taxa de ovulação e prenhez.

21 **MATERIAL E MÉTODOS**

22 **Experimento 1**

23 Foram utilizadas 11 vacas mantidas em sistema de compost barn, entre 3 e 7 anos,
24 escore de condição corporal (ECC) entre 2,5 e 3,0 (dentro de uma escala de 0- 5) e
25 submetidas a três ordenhas diárias. Os animais estavam com uma média de dias em leite

1 (DEL) de 32 dias (variando entre 30 e 35 dias), e produção média 35 litros de
2 leite/vaca/dia (variando de 28,8 a 41,2 litros). Os animais receberam uma aplicação com
3 0,500 mg de cloprostenol sódico (PGf2 α ; Estron – Agener União) 12 dias antes do início
4 protocolo (D-12). Após 12 dias (D0), os animais receberam uma segunda aplicação de
5 0,500 mg de cloprostenol sódico (PGf2 α). Após 12 horas, ou seja, ainda no dia zero (D0)
6 do protocolo, houve aplicação de 2 mg de Benzoato de Estradiol (BE; RIC-B – Agener
7 União) por via intramuscular. Os animais foram distribuídos aleatoriamente para receber
8 300 (N=6) ou 500mg (N=5) de P4 (Sincrogest – Ouro Fino) por via subcutânea. Nos dias
9 D0, D4 e D8 foi realizada coleta de sangue da veia coccígea, para posterior mensuração
10 da concentração sérica de P4. No D7 receberam 300 U.I. de eCG (Folligon- MSD). No
11 D8, os animais receberam 0,500 mg de cloprostenol sódico (PGf2 α ; Estron – Agener
12 União) e no D9,5 foram submetidos a uma avaliação ultrassonográfica dos ovários para
13 mensuração do tamanho do folículo dominante por ultrassonografia transretal (aparelho
14 Mindray 5200, com transdutor linear retal). Imediatamente após, todos os animais
15 receberam uma dose de 2,5 mg de licerelina (GnRH; TEC- Relin – Agener União) por
16 via intramuscular. No D12, os animais foram submetidos a ultrassonografia transretal
17 para determinar se houve ovulação.

18 Experimento 2

19 Com os resultados do primeiro experimento, foi possível observar que não houve
20 diferença significativa entre os animais que receberam 300 ou 500 mg de P4 subcutânea.
21 Desta forma, o segundo experimento teve como objetivo avaliar prenhez comparando um
22 protocolo de IATF utilizando 300 mg de P4 injetável com um protocolo convencional
23 com implante intravaginal.

24 Os animais foram distribuídos aleatoriamente para receber no dia zero (D0) um
25 dispositivo intravaginal de liberação lenta contendo 1,25g de P4 (Biprogest – Bimeda;

1 Grupo Controle; N=15) ou 300 mg de P4 por via subcutânea (Grupo P4 injetável; N=13).
2 Ainda no D0, todos os animais receberam 2 mg de Benzoato de Estradiol (BE; IM; RIC-
3 B – Agener União). No D7, os animais receberam uma aplicação com 300 U.I. de eCG
4 (Folligon - MSD) e uma aplicação com 0,500 mg de cloprostenol sódico (PGf2 α ; Estron
5 – Agener União). No D9,5 foi administrado uma dose de 2,5 mg de licerelina (GnRH;
6 IM; TEC- Relin – Agener União) e 12 horas após os animais foram inseminados. No D12
7 os animais foram reavaliados para verificar se houve ovulação do folículo dominante e
8 no D40 foi realizado o diagnóstico de gestação por ultrassonografia transretal.

9 O Experimento 2 foi realizado em 3 blocos (3 propriedades distintas). Foram
10 utilizadas 28 vacas, com idade entre 3 e 7 anos, escore de condição corporal (ECC) entre
11 2,5 e 3,0 (dentro de uma escala de 0- 5) e submetidas a três (propriedade 1) ou duas
12 (propriedades 2 e 3) ordenhas diárias. Os animais apresentavam DEL médio de 75,7 dias
13 e produção média de 29,7litros/dia.

14 Dosagem de Progesterona

15 As concentrações plasmáticas de progesterona foram realizadas por imunoensaio
16 competitivo, utilizando a tecnologia de quimiluminescência direta. Foi utilizado kit
17 comercial (ADVIA Centaur PRGE), segundo as orientações do fabricante.

18 Análise estatística

19 Todas as variáveis contínuas foram testadas para normalidade utilizando o teste
20 de *Shapiro Wilk* e transformadas quando necessário de acordo com a distribuição dos
21 dados. O efeito dos tratamentos nas diferentes variáveis contínuas foram determinadas
22 por análise de variância (*one-way* ANOVA). Os dados de progesterona (Experimento 1)
23 foram analisados utilizando modelos mistos para dados repetidos. As taxas de ovulação
24 e prenhez foram avaliadas por qui-quadrado. Todas as análises foram realizadas com o

1 pacote estatístico SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC) e foi adotado como nível de
2 significância $P \leq 0,05$.

3

4 **RESULTADOS**

5 No experimento 1, não foi observada diferença na concentração sérica de P4 entre os
6 tratamentos (300 e 500 mg) nos dias 0, 4 e 8 do experimento (Figura 1A). Também foi
7 verificado que o tamanho médio dos folículos (Figura 1B) e a taxa de ovulação (Figura
8 1C) não diferiu entre os grupos experimentais ($P > 0,05$).

9 As taxas de prenhez e ovulação do Experimento 2 estão representadas na Figura
10 2. Não houve diferença estatística entre os tratamentos sobre a taxa de ovulação e prenhez
11 ($P > 0,05$).

12

13 **DISCUSSÃO**

14 A utilização dos hormônios para realizar a manipulação do ciclo estral das fêmeas
15 bovinas é muito comum nos dias de hoje (BARUSELLI et al., 2004; DAY, 2004). Pelo
16 conhecimento dos proponentes, até o momento não há na literatura trabalhos
17 demonstrando qual a melhor dose de P4 injetável para sincronização de ovulação e IATF.
18 Além disso, não há registros da eficiência de protocolos à base de P4 injetável para IATF
19 em bovinos leiteiros, tendo como indutor da ovulação um análogo de GnRH. Este é o
20 primeiro estudo realizado para comparar diferentes doses de P4 injetável e avaliar sua
21 eficiência na sincronização de estro em vacas holandesas de alta produção. As vantagens
22 do uso da P4 injetável quando comparado com implantes tradicionais ocorre devido a
23 facilidade de manejo e aplicação, não ocorrem riscos de perda do dispositivo e não há
24 resíduos no ambiente pelo descarte do mesmo.

1 A P4 é um hormônio que controla o ambiente uterino e tem papel essencial para
2 o desenvolvimento embrionário e manutenção da gestação (BO et al., 1994). As
3 formulações com progesterona injetável são pouco utilizadas para a sincronização do
4 estro porque não se tem um controle eficiente da queda dos níveis de progesterona, o que
5 acaba por dificultar a indução da ovulação. Este fato foi demonstrado por STEVENSON
6 e PULLEY (2016), que evidenciaram que em animais com concentrações de progesterona
7 entre 0,53 e 2,41 ng/ml já ocorre a inibição da liberação do LH em comparação com
8 concentração de P4 menor que 0,45 ng/ml. Esses autores ainda afirmam que animais que
9 apresentam concentrações de P4 superior a 2,66ng/ml possuem ovulação comprometida
10 mesmo com o uso de GnRH como indutor.

11 Em estudo anterior, MOROTTI e colaboradores (2017) testaram o uso de
12 protocolo a base de progesterona injetável na sincronização de vacas de corte utilizando
13 o benzoato de estradiol como indutor da ovulação. Esses autores verificaram uma
14 diminuição da taxa de ovulação nas fêmeas sincronizadas com protocolo utilizando
15 progesterona injetável, em comparação com protocolo convencional utilizando
16 dispositivos de progesterona. Este resultado pode ser explicado devido a indução da
17 ovulação ter sido realizada com o benzoato de estradiol o qual depende de baixos níveis
18 de progesterona para induzir um pico de LH (DAY, 2004; WILTBANK et al., 2011).

19 No presente estudo, mesmo com níveis de P4 superiores a 4 ng/ml, foi possível
20 induzir a ovulação em todos os animais, o que corrobora com o trabalho que demonstrou
21 que o pico de LH é alcançado independentemente dos níveis de P4 quando a indução é
22 feita com uma dose de 200 µg de GnRH (GIORDANO et al., 2012).

23 A ovulação também foi possível devido ao tamanho atingido pelos folículos
24 dominantes no momento da aplicação do indutor de ovulação, onde a média do tamanho
25 dos folículos foi superior a 14 mm. Quando a ovulação é induzida por GnRH o tamanho

1 do folículo dominante apresenta pouca interferência na produção de LH, porém, folículos
2 maiores que 13,5 mm apresentam melhores respostas ovulatória (STEVENSON e
3 PULLEY, 2016). O tamanho do folículo pré-ovulatório deve ter ocorrido devido ao uso
4 eCG no sétimo dia do protocolo, uma vez que a aplicação momento da retirada do
5 implante de P4 (geralmente dia 8 do protocolo) vem sendo muito utilizado para melhorar
6 os índices de fertilidade, por meio de mudanças no padrão de crescimento folicular e na
7 função do corpo lúteo (BILBAO et al., 2016; PEREIRA et al., 2017).

8 Com relação aos índices de prenhez, os resultados não foram satisfatórios. Nada
9 pode ser concluído devido aos baixos índices, inclusive nos grupos controle. Os
10 resultados observados podem ter ocorrido devido ao estresse térmico, já que os protocolos
11 foram realizados no mês de dezembro (RONCHI et al., 2001; DE RENSIS et al., 2015,
12 DE RENSIS et al., 2017), ou simplesmente a baixa fertilidade pode estar associada a um
13 grupo de fatores paralelos a isto (WALSH et al., 2011; LÓPEZ-GATIUS, 2012).

14 Como impacto da presente proposta, espera-se gerar um ganho positivo para o
15 sistema produtivo de bovinos leiteiros de alta produção, melhorando índices reprodutivos
16 e diminuindo custos. Desta forma o presente estudo mostrou a viabilidade de se utilizar
17 300 mg de P4 injetável como ferramenta na sincronização de estro em fêmeas bovinas
18 lactantes de alta produção, pois provou manter níveis de P4 e atingir tamanhos de
19 folículos dominantes acima de 12mm e elevada taxa de ovulação satisfatoriamente, no
20 entanto, mais estudos são necessários para avaliar as taxas de prenhez e realização de
21 possíveis ajustes no protocolo antes da aplicação em rebanhos comerciais. Enfatizamos
22 que o uso da P4 injetável apresenta inúmeras vantagens sobre o uso do dispositivo, entre
23 eles a facilidade de manejo, maior controle sanitário e diminuição na geração de resíduos
24 ao meio ambiente após o uso dos dispositivos.

25

1 **CONCLUSÃO**

2 É possível concluir que protocolos de sincronização utilizando P4 injetável por
3 via subcutânea associado ao uso de eCG e indução da ovulação com GnRH permitem
4 uma sincronização do crescimento folicular e ainda determina uma alta taxa de ovulação.
5 Definimos a dose de 300 mg de P4 injetável por via subcutânea como sendo suficiente
6 para manter níveis séricos satisfatórios e auxiliar na sincronização da ovulação, sem
7 causar danos ao tamanho do folículo pré- ovulatório e na ovulação. Mais estudos são
8 necessários para investigar a eficiência de adoção de protocolos com P4 injetável, ao
9 invés da utilização de dispositivos, na eficiência reprodutiva de bovinos leiteiros.

10

11 **AGRADECIMENTOS**

12 Os autores agradecem as propriedades onde foram realizados os experimentos por
13 cederem os animais, Fazenda Arsego, Cabanha Vô Ernesto e Cabanha Pasin & Pasin.

14

15 **DECLARAÇÃO DE CONFLITO DE INTERESSE**

16 Os autores declaram que não há conflito de interesse.

17

18 **CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES**

19 Todos os autores participaram da proposta e do desenho experimental. HRF
20 executou os experimentos e redigiu o manuscrito. RF analisou os dados e revisou o
21 manuscrito. Todos os autores revisaram e concordam com o manuscrito.

22

23 **REFERÊNCIAS**

24 BARUSELLI, P. S. et al. The use of hormonal treatments to improve reproductive
25 performance of anestrous beef cattle in tropical climates. **Animal Reproduction**

- 1 **Science**, v. 82–83, p. 479–486, 2004. Disponível em:
2 <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15271474/>>. Acesso em: 12 abr. 2020.
- 3 BILBAO, M. G. et al. Extending the duration of treatment with progesterone and equine
4 chorionic gonadotropin improves fertility in suckled beef cows with low body condition
5 score subjected to timed artificial insemination. **Theriogenology**, v. 86, n. 2, p. 536–
6 544, 2016. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26944539/>>. Acesso em:
7 10 dez. 2020.
- 8 BO, G. A. et al. Follicular wave dynamics after estradiol-17 β treatment of heifers with
9 or without a progestogen implant. **Theriogenology**, v. 41, n. 8, p. 1555–1569, 1994.
10 Disponível em:
11 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0093691X9490821Y>>. Acesso em:
12 21 ago. 2017.
- 13 BÓ, G. A. et al. Alternative programs for synchronizing and resynchronizing ovulation
14 in beef cattle. **Theriogenology**, v. 86, n. 1, p. 388–396, 2016. Disponível em:
15 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X16300929>>. Acesso em:
16 10 dez. 2020.
- 17 COLAZO, M. G. et al. Effects of estradiol cypionate (ECP) on ovarian follicular
18 dynamics, synchrony of ovulation, and fertility in CIDR-based, fixed-time AI programs
19 in beef heifers. **Theriogenology**, v. 60, n. 5, p. 855–865, 2003. Disponível em:
20 <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12935863/>>. Acesso em: 10 dez. 2020.
- 21 DAY, M. . Hormonal induction of estrous cycles in anestrous *Bos taurus* beef cows.
22 **Animal Reproduction Science**, v. 82–83, p. 487–494, 2004. Disponível em:
23 <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15271475/>>. Acesso em: 10 dez. 2020.
- 24 DE GRAAFF, W.; GRIMARD, B. Progesterone-releasing devices for cattle estrus
25 induction and synchronization: Device optimization to anticipate shorter treatment

- 1 durations and new device developments. **Theriogenology**, v. 112, p. 34–43, 2018.
- 2 Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29033104/>>. Acesso em: 10 dez.
- 3 2020.
- 4 DE RENSIS, F. et al. Seasonal heat stress: Clinical implications and hormone
- 5 treatments for the fertility of dairy cows. **Theriogenology**, v. 84, n. 5, p. 659–666, 2015.
- 6 Disponível em:
- 7 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X15002058>>. Acesso em:
- 8 10 dez. 2020.
- 9 DE RENSIS, F. et al. Causes of declining fertility in dairy cows during the warm
- 10 season. **Theriogenology**, v. 91, p. 145–153, 2017. Disponível em:
- 11 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X16306008>>. Acesso em:
- 12 10 dez. 2020.
- 13 GIORDANO, J. O. J. et al. Effect of progesterone on magnitude of the luteinizing
- 14 hormone surge induced by two different doses of gonadotropin-releasing hormone in
- 15 lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 7, p. 3781–3793, 2012.
- 16 Disponível em:
- 17 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030212003578>>. Acesso em:
- 18 10 dez. 2020.
- 19 LÓPEZ-GATIUS, F. Factors of a noninfectious nature affecting fertility after artificial
- 20 insemination in lactating dairy cows. A review. **Theriogenology**, v. 77, n. 6, p. 1029–
- 21 1041, 2012. Disponível em:
- 22 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X11005292>>. Acesso em:
- 23 10 dez. 2020.
- 24 MACMILLAN, K. L.; PETERSON, A. J. A new intravaginal progesterone releasing
- 25 device for cattle (CIDR-B) for oestrous synchronisation, increasing pregnancy rates and

- 1 the treatment of post-partum anoestrus. **Animal Reproduction Science**, v. 33, n. 1–4, p.
2 1–25, 1993. Disponível em:
3 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/037843209390104Y>>. Acesso em:
4 10 dez. 2020.
- 5 MOROTTI, F. et al. Injectable progesterone in timed artificial insemination programs in
6 beef cows. **Animal Reproduction**, v. 15, n. 1, p. 17–22, 2017. Disponível em:
7 <<http://dx.doi.org/10.21451/1984-3143-2017-AR928>>. Acesso em: 16 out. 2018.
- 8 PEREIRA, M. H. C. et al. Comparison of fertility following use of one versus two
9 intravaginal progesterone inserts in dairy cows without a CL during a synchronization
10 protocol before timed AI or timed embryo transfer. **Theriogenology**, v. 89, p. 72–78,
11 2017. Disponível em:
12 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X16304952>>. Acesso em:
13 10 dez. 2020.
- 14 RONCHI, B. et al. Influence of heat stress or feed restriction on plasma progesterone,
15 oestradiol-17 β , LH, FSH, prolactin and cortisol in Holstein heifers. **Livestock**
16 **Production Science**, v. 68, n. 2–3, p. 231–241, 2001. Disponível em:
17 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301622600002323>>. Acesso em:
18 10 dez. 2020.
- 19 STEVENSON, J. S.; PULLEY, S. L. Feedback effects of estradiol and progesterone on
20 ovulation and fertility of dairy cows after gonadotropin-releasing hormone-induced
21 release of luteinizing hormone. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 4, p. 3003–3015,
22 2016. Disponível em:
23 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030216001557>>. Acesso em:
24 10 dez. 2020.
- 25 WALSH, S. W. W. et al. A review of the causes of poor fertility in high milk producing

- 1 dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v. 123, n. 3–4, p. 127–138, 2011.
- 2 Disponível em:
- 3 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S037843201000480X>>. Acesso em:
- 4 10 dez. 2020.
- 5 WILTBANK, M. C. et al. Managing the dominant follicle in lactating dairy cows.
- 6 **Theriogenology**, v. 76, n. 9, p. 1568–1582, 2011. Disponível em:
- 7 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X1100416X>>. Acesso em:
- 8 10 dez. 2020.

9

10 **LEGENDA DE FIGURAS**

11 Figura 1. Vacas submetidas a protocolo de inseminação artificial em tempo fixo
12 utilizando 300 ou 500mg de progesterona (P4) injetável. (A) Concentração de P4 nos dias
13 0, 4 e 8 em relação ao início do protocolo. (B) Tamanho do folículo pré ovulatório no dia
14 da aplicação do indutor de ovulação. (C) Taxa de ovulação. Não houve diferença entre
15 grupo em nenhuma das variáveis avaliadas ($P>0,05$).

16 Figura 2. Taxa de ovulação (A) e prenhez (B) em vacas submetidas a protocolo de
17 inseminação artificial em tempo fixo utilizando dispositivo de liberação lenta de
18 progesterona (P4) ou 300mg de P4 injetável. Não houve diferença entre grupo em
19 nenhuma das variáveis avaliadas ($P>0,05$).

FIGURAS

Figura 1

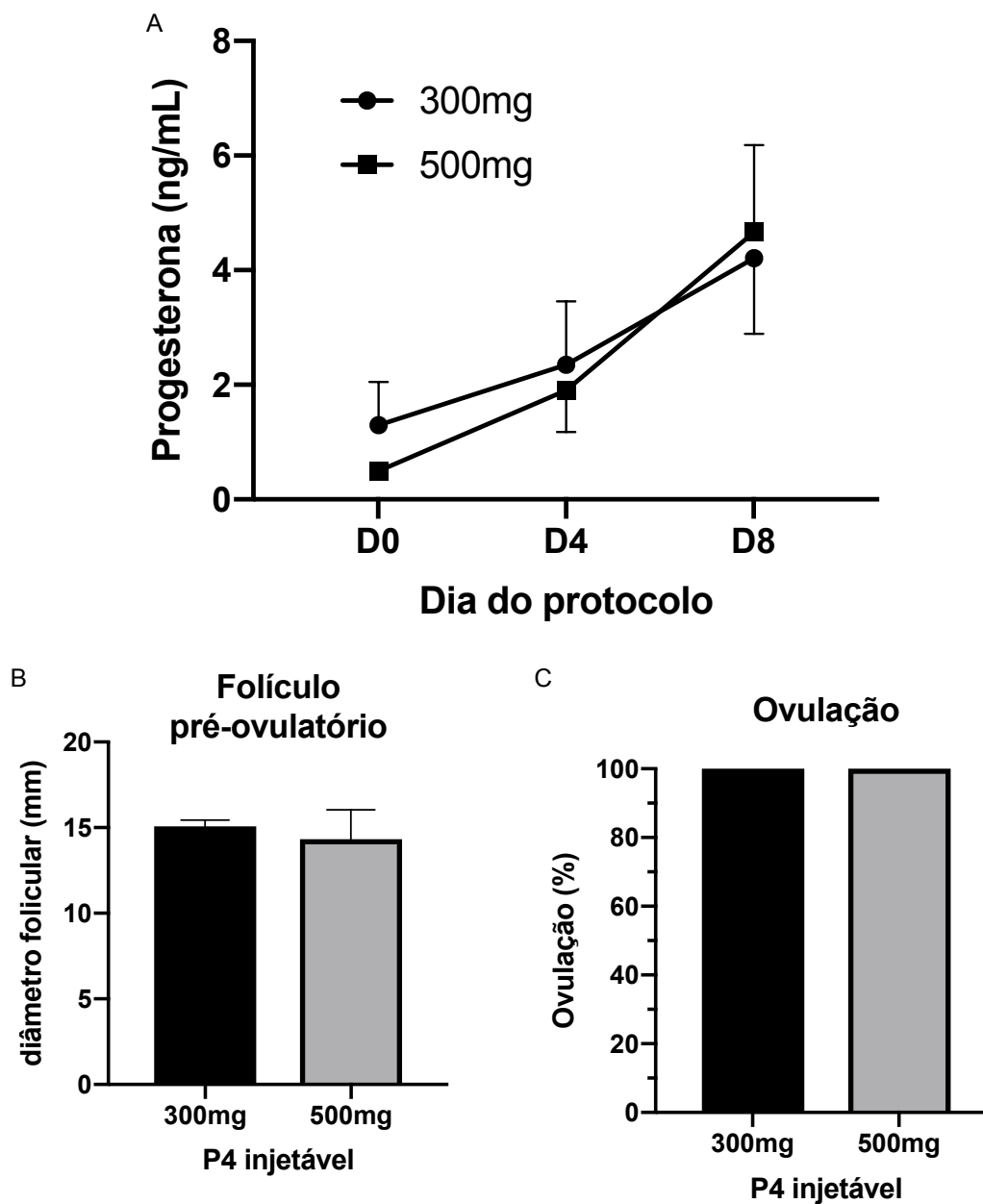


Figura 1. Vacas submetidas a protocolo de inseminação artificial em tempo fixo utilizando 300 ou 500mg de progesterona (P4) injetável. (A) Concentração de P4 nos dias 0, 4 e 8 em relação ao início do protocolo. (B) Tamanho do folículo pré ovulatório no dia da aplicação do indutor de ovulação. (C) Taxa de ovulação. Não houve diferença entre grupo em nenhuma das variáveis avaliadas ($P > 0,05$).

Figura 2

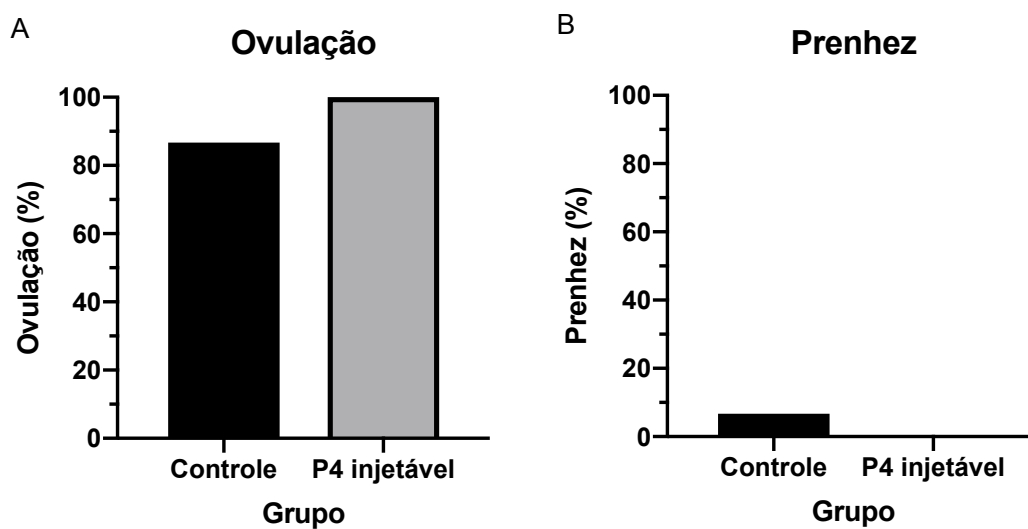


Figura 2. Taxa de ovulação (A) e prenhez (B) em vacas submetidas a protocolo de inseminação artificial em tempo fixo utilizando dispositivo de liberação lenta de progesterona (P4) ou 300mg de P4 injetável. Não houve diferença entre grupo em nenhuma das variáveis avaliadas ($P>0,05$).

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Tecnologias para melhorar os índices de prenhez são amplamente utilizadas nos dias de hoje. Existem vários protocolos que auxiliam na dinâmica folicular sendo que a grande maioria deles utilizam dispositivos de liberação lenta contendo P4. Estes dispositivos apesar de serem disseminados pelo mundo todo, apresentam limitações quanto ao seu uso, principalmente quando se trata do seu descarte por trazer resíduos para o meio ambiente. Contudo, através deste trabalho demonstramos que é possível sincronizar o crescimento de uma nova onda folicular de vacas leiteiras de alta produção, com a utilização de um protocolo utilizando progesterona injetável como substituto aos implantes intravaginais. A utilização de P4 injetável, como alternativa aos implantes de P4, apresenta ainda como vantagem o fácil manejo e seu baixo custo. Definimos, no presente estudo, a dose de 300 mg de P4 como sendo suficiente para manter níveis séricos satisfatórios para realizar a sincronização da ovulação. Ainda, a utilização da referida dose determinou o mesmo tamanho ovulatório e taxa de ovulação que os implantes comerciais de P4. Mais estudos são necessários para investigar a eficiência na adoção de protocolos com P4 injetável em larga escala ao invés da utilização de dispositivos intravaginais.

4 REFERÊNCIAS

ADAMS, G.P et al. Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle. **Theriogenology**, v. 69, p. 72-80, 2008.

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, 2004.

BILBÃO, M. G et al. Extending the duration of treatment with progesterone and equine chorionic gonadotropin improves fertility in suckled beef cows with low body condition score subjected to timed artificial insemination. **Theriogenology**, v. 86, p. 536- 544, 2016.

BISINOTTO, R.F; et al. Progesterone supplementation to lactating dairy cows without a corpus luteum at initiation of the Ovsynch protocol. **Journal of Dairy Science**. v. 98, p. 2515-2528, 2015.

BO, G, A et al. Follicular wave dynamics after estradiol-17 β treatment of heifers with or without a progestogen implant. **Theriogenology**, v. 41, p. 1555- 1569, 1994.

BO, G, A et al. Alternative programs for synchronizing and resynchronizing ovulation in beef cattle. **Theriogenology**, v. 86, v. 388- 396, 2016.

CARVALHO, P.D et al. Relationships between fertility and postpartum changes in body condition and body weight in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.97, p. 3666-3683, 2014.

COLAZO, M.G et al. Effects of estradiol cypionate (ECP) on ovarian follicular dynamics, synchrony of ovulation, and fertility in CIDR-based, fixed-time AI programs in beef heifers. **Theriogenology**, v. 60, p. 855-865, 2003.

COUTO, S. R. B et al. Impact of supplementation with long-acting progesterone on gestational loss in Nelore females submitted to TAI. **Theriogenology**, v. 125, p. 168-172, 2018.

DADARWAL, D et al. Effect of progesterone concentration and duration of proestrus on fertility in beef cattle after fixed-time artificial insemination. **Theriogenology**, v. 79, p. 859- 866, 2013.

DAY, M, L. Hormonal induction of estrous cycles in anestrus Bos taurus beef cows. **Animal Reproduction Science**, v. 82- 83, p. 487- 494, 2004.

DE RESIS, F et al. Inducing ovulation with hCG improves the fertility of dairy cows during the warm season. **Theriogenology**, v.69, p. 1077-1082, 2008.

DE RENSIS, F et al. Seasonal heat stress: Clinical implications and hormone treatments for the fertility of dairy cows. **Theriogenology**, v. 84, p. 659-666, 2015.

DE RENSIS, F et al. Causes of declining fertility in dairy cows during the warm season. **Theriogenology**, v. 91, p. 145-153, 2017.

DENICOL, A.C et al. Low progesterone concentration during the development of the first follicular wave reduces pregnancy per insemination of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.95 p. 1794-1806, 2012.

DIAS, F.C.F et al. Effect of length of progesterone exposure during ovulatory wave development on pregnancy rate. **Theriogenology**, v. 77, p. 437-444, 2012.

DRIANCOURT, M. A. Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. **Theriogenology**, v. 55, p. 1211-1239, 2001.

GINTHER, O, J. The theory of follicle selection in cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 57, p. 85- 99, 2016.

GIORDANO, J.O et al. Effect of progesterone on magnitude of the luteinizing hormone surge induced by two different doses of gonadotropin-releasing hormone in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 95, p. 3781-3793, 2012.

GRAAFF, W; GRIMARD, B. Progesterone-releasing devices for cattle estrus induction and synchronization: Device optimization to anticipate shorter treatment durations and new device developments. **Theriogenology**, v. 112, p. 34- 43, 2018.

LOPEZ, H et al. Relationship between level of milk production and estrous behavior of lactating dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v. 81, p. 209- 223, 2004.

LÓPEZ-GATIUS, F. Factors of a noninfectious nature affecting fertility after artificial insemination in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v. 77, p. 1029-1041, 2012.

MACMILLAN, K.L; PETERSON, A.J. A new intravaginal progesterone releasing device for cattle (CIDR-B) for oestrous synchronisation, increasing pregnancy rates and the treatment of post-partum anoestrus. **Animal Reproduction Science**, v. 33, p. 1-25, 1993.

MARTINEZ, M. F et al. Induction of follicular wave emergence for estrus synchronization and artificial insemination in heifers. **Theriogenology**, v. 54, p. 757-769, 2000.

MELO, L.F et al. Progesterone-based fixed-time artificial insemination protocols for dairy cows: Gonadotropin-releasing hormone versus estradiol benzoate at initiation and estradiol cypionate versus estradiol benzoate at the end. **Journal of Dairy Science**, v. 99, p. 9227-9237, 2016.

MOROTTI, F et al. Injectable progesterone in timed artificial insemination programs in beef cows. **Animal Reproduction**, v. 15, p. 17– 22, 2017.

OLIVERA, R. N et al. Ovulatory response and luteal function after eCG administration at the end of a progesterone and estradiol' based treatment in postpartum anestrous beef cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 146, p. 111- 116, 2014.

PEREIRA, M.H.C et al. Effect of adding a gonadotropin-releasing-hormone treatment at the beginning and a second prostaglandin F_{2α} treatment at the end of an estradiol-based protocol for timed artificial insemination in lactating dairy cows during cool or hot seasons of the year. **Journal of Dairy Science**, v.98, p. 947-959, 2015.

PEREIRA, M.H.C et al. Expression of estrus improves fertility and decreases pregnancy losses in lactating dairy cows that receive artificial insemination or embryo transfer. **Journal of Dairy Science**. v. 99, p. 2237-2247, 2016.

PEREIRA, M. H. C et al. Comparison of fertility following use of one versus two intravaginal progesterone inserts in dairy cows without a CL during a synchronization protocol before timed AI or timed embryo transfer. **Theriogenology**, v. 89, p. 72- 78, 2017.

PFEIFER, L.F.M et al. Effects of low versus physiologic plasma progesterone concentrations on ovarian follicular development and fertility in beef cattle. **Theriogenology**, v. 72, p. 1237-1250, 2009.

PIERSON, R. A; GINTHER, O.J. Ultrasonography of the bovine ovary. **Theriogenology**, v. 21, p. 495-504, 1984.

PITALUGA, P. C. S. F et al. Manipulation of the proestrous by exogenous gonadotropin and estradiol during a timed artificial insemination protocol in suckled *Bos indicus* beef cows. **Livestock Science**, v. 154, p. 229- 234, 2013.

PRATA, A. B et al. Equine chorionic gonadotropin increases fertility of grazing dairy cows that receive fixed-time artificial insemination in the early but not later postpartum period. **Theriogenology**, v. 98, p. 36- 40, 2017.

PROBO, M et al. Reproductive performance of dairy cows with luteal or follicular ovarian cysts after treatment with buserelin. **Animal Reproduction Science**, v. 27, p. 135-139, 2011.

PULLEY, S. L et al. Ovarian characteristics, serum concentrations of progesterone and estradiol, and fertility in lactating dairy cows in response to equine chorionic gonadotropin. **Theriogenology**, v. 79, p. 127- 134, 2013.

PURSLEY, J. R et al. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF_{2α} and GnRH. **Theriogenology**, v. 44, p. 915- 923, 1995.

RONCHI, B et al. Influence of heat stress or feed restriction on plasma progesterone, oestradiol-17β, LH, FSH, prolactin and cortisol in Holstein heifers. **Livestock Production Science**, v. 68, p. 231-241, 2001.

SÁ FILHO, M. F et al. Equine chorionic gonadotropin and gonadotropin-releasing hormone enhance fertility in a norgestomet-based, timed artificial insemination protocol in suckled Nelore (*Bos indicus*) cows. **Theriogenology**, v. 73, p. 651- 658, 2010.

SALES, J. N. S et al. Fixed-time AI protocols replacing eCG with a single dose of FSH were less effective in stimulating follicular growth, ovulation, and fertility in suckled-anestrus Nelore beef cows. **Animal Reproduction Science**, v. 124, p. 12- 18, 2011.

SAMPAIO, P. C et al. Comparative efficacy of exogenous eCG and progesterone on endogenous progesterone and pregnancy in Holstein cows submitted to timed artificial insemination. **Animal Reproduction Science**, v. 162, p. 88- 94, 2015.

SANTOS, J.E.P et al. Effect of reducing the period of follicle dominance in a timed artificial insemination protocol on reproduction of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 2976-2988, 2010.

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, 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, p. 10- 21, 2009.

STEVENSON, J.S; LAMB, G.C. Contrasting effects of progesterone on fertility of dairy and beef cows. **Journal of Dairy Science**. v. 99, p. 5951-5964, 2016.

STEVENSON, J.S; PULLEY, S.L. Feedback effects of estradiol and progesterone on ovulation and fertility of dairy cows after gonadotropin-releasing hormone-induced release of luteinizing hormone. **Journal of Dairy Science**, v. 99, p. 3003-3015, 2016.

TORTORELLA, R.D et al. The effect of equine chorionic gonadotropin on follicular size, luteal volume, circulating progesterone concentrations, and pregnancy rates in anestrus beef cows treated with a novel fixed-time artificial insemination protocol. **Theriogenology**, v. 79, p. 1204- 1209, 2013.

WALSH, S.W et al. A review of the causes of poor fertility in high milk producing dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v. 123, p. 127-138, 2011.

WILTBANK, M. C et al. Gerenciando o folículo dominante em vacas leiteiras em lactação. **Theriogenologia**, v. 76, p. 1568- 1582, 2011.

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

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada 'Progesterona injetável na sincronização do estro em bovinos', protocolada sob o CEUA nº 6531130319 (000004), sob a responsabilidade de **Rogério Ferreira e equipe; Henrique Rodrigues da Fonseca** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade do Estado de Santa Catarina (CEUA/UDESC) na reunião de 15/03/2019.

We certify that the proposal 'Injectible progesterone in estrus synchronization in cattle', utilizing 112 Bovines (112 females), protocol number CEUA 6531130319 (000004), under the responsibility of **Rogério Ferreira and team; Henrique Rodrigues da Fonseca** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the University of Santa Catarina State (CEUA/UDESC) in the meeting of 03/15/2019.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa (Acadêmica)**

Vigência da Proposta: de **03/2019** a **10/2019** Área: **Zootecnia**

Origem: **Animais de proprietários**

Espécie: **Bovinos**

sexo: **Fêmeas**

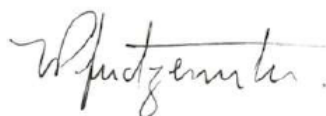
Idade: **2 a 6 anos**

N: **112**

Linhagem: **Holandês**

Peso: **400 a 600 kg**

Local do experimento: Propriedade comercial



Ubirajara Maciel da Costa
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade do Estado de Santa Catarina

em aberto

Vice-Coodenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade do Estado de Santa Catarina