



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

MATHEUS CRUZ SILVA

**USO DA PROGESTERONA INJETÁVEL COMO ESTRATÉGIA
DE PRÉ-SINCRONIZAÇÃO EM PROTOCOLO DE IATF COM
GnRH DE VACAS DE CORTE *Bos indicus* EM ANESTRO**

MATHEUS CRUZ SILVA

**USO DA PROGESTERONA INJETÁVEL COMO ESTRATÉGIA
DE PRÉ-SINCRONIZAÇÃO EM PROTOCOLO DE IATF COM
GnRH DE VACAS DE CORTE *Bos indicus* EM ANESTRO**

Dissertação apresentada ao Departamento de Clínicas Veterinárias da Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Clínicas Veterinárias.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Morotti

Co-orientador: Prof. Dr. Thales Ricardo Rigo Barreiros

Londrina
2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Silva, Matheus Cruz.

Uso da progesterona injetável como estratégia de pré-sincronização em protocolo de IATF com GnRH em vacas de corte *Bos indicus* em anestro / Matheus Cruz Silva. - Londrina, 2022. 44 f. : il.

Orientador: Fábio Morotti.

Coorientador: Thales Ricardo Rigo Barreiros.

Dissertação (Mestrado Profissional em Clínicas Veterinárias) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Clínicas Veterinárias, 2022.

Inclui bibliografia.

1. Emergência folicular - Tese. 2. Controle farmacológico do ciclo estral - Tese. 3. Dinâmica foliculat - Tese. I. Morotti, Fábio. II. Barreiros, Thales Ricardo Rigo. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Clínicas Veterinárias. IV. Título.

CDU 619

MATHEUS CRUZ SILVA

**USO DA PROGESTERONA INJETÁVEL COMO ESTRATÉGIA
DE PRÉ-SINCRONIZAÇÃO EM PROTOCOLO DE IATF COM
GnRH DE VACAS DE CORTE *Bos indicus* EM ANESTRO**

Dissertação apresentada ao Departamento de Clínicas Veterinárias da Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Clínicas Veterinárias.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Fábio Morotti
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Marcelo Marcondes Seneda
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Denis Vinicius Bonato
Universidade Paranaense - UNIPAR

Londrina, 21 de setembro de 2022.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Dirceu e Del, por todo sangue, suor e lágrimas derramados para a formação de dois filhos, por todo suporte, amor, apoio e exemplo de pais, empresários, casal e seres humanos. A vocês devo a vida, obrigado.

AGRADECIMENTOS

A Deus, criador e cuidador de tudo e de todos, pelo seu imenso amor a todos nós, por toda proteção e bênçãos na minha vida.

À minha irmã, Leticia, pelo amor, parceria, amizade, cuidados e conselhos dados durante todos os dias da minha vida. Obrigado por tudo, Tata.

À minha noiva, Dandara, amiga, parceira, colega de profissão, que me aceita mesmo sabendo dos meus defeitos, por ser essa grande mulher e por ter dito sim a nós dois.

Ao Prof. Dr. Fábio Morotti, por mais uma vez aceitar meu convite para orientação, pelos conselhos e ajudas durante o processo. Com certeza um dos grandes profissionais que admiro e levo como exemplo para minha carreira.

Ao Prof. Dr. Thales, pelo período de orientação na residência e pelo aceite na co-orientação neste projeto. Agradeço por todas as conversas, dicas, ensinamentos e por toda ajuda quando necessária. Outro grande profissional que levo ao meu lado, além de um grande amigo. Obrigado, Jovem.

Aos professores, Dr. Marcelo e Dr. Denis, que aceitaram fazer parte da banca. Dois grandes profissionais que tive o prazer de conhecer e conviver durante minha graduação.

Aos amigos que fiz durante minha jornada acadêmica, em Londrina, Adamantina, Piracicaba, Bandeirantes e todos outros locais que passei. Nós que escolhemos sair de casa em busca de uma carreira deixamos a família para trás, mas quando chegamos descobrimos os amigos, e eles se tornam família.

Aos professores que fizeram parte da minha formação, da pré-escola ao último dia dessa etapa, obrigado por me ensinarem, me guiarem e formarem. Grandes profissionais só surgem quando moldados por grandes mestres.

À equipe de manejo, Zé Claudio, Gilberto e Paraguai pelo auxílio durante o projeto.

Aos animais, pois sem eles nossa profissão não existiria e nossas vidas seriam mais vazias.

“Não fui eu que ordenei a você? Seja forte e corajoso! Não se apavore nem desanime, pois o Senhor, o seu Deus, estará com você por onde você andar” (Josué 1:9)

RESUMO

SILVA, Matheus Cruz. **Uso da progesterona injetável como estratégia de pré-sincronização em protocolo de IATF com GnRH em vacas de corte *Bos indicus* em anestro.** 2022. 44fls. Dissertação (Mestrado Profissional em Clínicas Veterinárias) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2022.

O uso de protocolos de sincronização e pré-sincronização da ovulação tem ganhado cada vez mais espaço no mercado brasileiro, sendo que quanto mais a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) cresce, mais estudos são necessários para atingir uma melhor eficiência reprodutiva do rebanho. Este estudo avaliou o efeito da pré-sincronização com progesterona (P4) injetável na dinâmica folicular ovariana de vacas *Bos indicus* em anestro tratadas com protocolo de IATF à base de GnRH/P4. Foram utilizadas fêmeas Nelore (N=50), multíparas, entre 5 e 8 anos de idade, com 30 a 60 dias pós-parto. Dez dias antes (D-10) do início do protocolo de IATF foram avaliados a contagem de folículos antrais (CFA; folículos ≥ 3 mm), condição ovariana (diâmetro do maior folículo e presença de CL) e escore de condição corporal (ECC: 1-5) por um único técnico para estabelecer dois grupos: Controle (N =23) e Pré-sincronização (N=27; P4 injetável). No mesmo dia, o grupo de Pré-sincronização recebeu 150mg de P4 injetável, por via intramuscular (i.m). No D0, a avaliação ovariana foi repetida e o protocolo de IATF foi iniciado com a inserção de um dispositivo intravaginal P4 e administração de 10,5 μ g de acetato de buserelina/GnRH em todos os animais. No D7, o dispositivo P4 foi removido e 300UI de eCG, 150 μ g de D-cloprostenol e 1mg de cipionato de estradiol foram aplicados por via i.m. No mesmo dia, avaliou-se a presença de CL, mediu-se o folículo dominante e pintou-se a cauda para avaliar a expressão do estro. No D9, repetiu-se a medição do maior folículo, e a IATF foi realizada em todas as vacas utilizando sêmen de um único touro. Animais sem estro ou com baixa expressão receberam 10,5 μ g de GnRH. Dados numéricos foram analisados pelo teste de Mann-Whitney. Dados binários foram analisados pelo teste exato de Fisher (5%). Os grupos Controle e Pré-sincronização não diferiram quanto ao ECC no início da pré-sincronização (D-10; 2,4 \pm 0,1 e 2,5 \pm 0,1; P=0,59) e no início do protocolo de IATF (D0; 2,5 \pm 0,1 e 2,6 \pm 0,1; P=0,43), e quanto a CFA (40,5 \pm 5,7 e 49,7 \pm 6,1 folículos; P=0,16) respectivamente. O diâmetro do maior folículo (mm) também foi semelhante entre os grupos Controle e Pré-sincronização no D-10 (9,2 \pm 0,7 e 10,1 \pm 0,6; P=0,33), no D0 (9,9 \pm 0,6 e 10,7 \pm 0,6; P = 0,33), no D7 (11,0 \pm 0,8 e 10,1 \pm 0,8; P=0,21) e D9 (11,3 \pm 0,7 e 12,0 \pm 0,7; P=0,20), respectivamente. Os grupos Controle e Pré-sincronização também não diferiram quanto à presença de CL no D7 do protocolo [56,5% (13/23) e 77,8% (21/27); P=0,11], a taxa de expressão de estro [91,3% (21/23) e 96,3% (26/27); P=0,44] e a taxa de concepção [39,1% (9/23) e 44,4% (12/27); P=0,45], respectivamente. O uso da P4 injetável como estratégia de pré-sincronização não melhorou a dinâmica folicular ovariana de vacas em anestro tratadas com protocolo de IATF a base de GnRH/P4 injetável.

Palavras-chave: Emergência folicular; Controle farmacológico do ciclo estral; Nelore; Dinâmica folicular.

ABSTRACT

SILVA, Matheus Cruz. **Use of injectable progesterone as a pre-synchronization strategy in an FTAI protocol with GnRH in anestrus *Bos indicus* beef cows.** 2022. 44 pages Dissertation (Professional Master's in Veterinary Clinics) – State University of Londrina, Londrina, 2022.

The use of ovulation synchronization and pre-synchronization protocols has gained more and more space in the Brazilian market, and the more fixed-time artificial insemination (FTAI) grows, the more studies are needed to achieve a better reproductive efficiency of the herd. This study evaluated the effect of injectable progesterone (P4) pre-synchronization on ovarian follicular dynamics in anestrus *Bos indicus* cows treated with a GnRH/P4-based FTAI protocol. Nellore females (N=50), multiparous, between 5 and 8 years of age, with 30 to 60 days postpartum, were used. Ten days before (D-10) the start of the FTAI protocol, antral follicle count (AFC; follicles ≥ 3 mm), ovarian condition (diameter of the largest follicle and presence of CL) and body condition score (ECC: 1-5) by a single technician to establish two groups: Control (N=23) and Pre-synchronization (N=27; P4 injectable). On the same day, the Pre-synchronization group received 150mg of injectable P4, intramuscularly (i.m). On D0, the ovarian evaluation was repeated and the FTAI protocol was initiated with the insertion of a P4 intravaginal device and administration of 10.5 μ g of buserelin acetate/GnRH in all animals. On D7, the P4 device was removed and 300IU of eCG, 150 μ g of D-cloprostenol and 1mg of estradiol cypionate were applied i.m. On the same day, the presence of CL was evaluated, the dominant follicle was measured and the tail was dyed to assess estrus expression. On D9, the measurement of the largest follicle was repeated, and the FTAI was performed on all cows using semen from a single bull. Animals without estrus or with low expression received 10.5 μ g of GnRH. Numerical data were analyzed using the Mann-Whitney test. Binary data were analyzed by Fisher's exact test (5%). The Control and Pre-synchronization groups did not differ in terms of ECC at the beginning of pre-synchronization (D-10; 2.4 \pm 0.1 and 2.5 \pm 0.1; P=0.59) and at the beginning of the protocol of FTAI (D0; 2.5 \pm 0.1 and 2.6 \pm 0.1; P=0.43), and for AFC (40.5 \pm 5.7 and 49.7 \pm 6.1 follicles; P=0.16) respectively. The diameter of the largest follicle (mm) was also similar between the Control and Pre-synchronization groups on D-10 (9.2 \pm 0.7 and 10.1 \pm 0.6; P=0.33), on D0 (9.9 \pm 0.6 and 10.7 \pm 0.6; P=0.33), in D7 (11.0 \pm 0.8 and 10.1 \pm 0.8; P=0.21) and D9 (11.3 \pm 0.7 and 12.0 \pm 0.7; P=0.20), respectively. The Control and Pre-synchronization groups also did not differ regarding the presence of CL on D7 of the protocol [56.5% (13/23) and 77.8% (21/27); P=0.11], the estrus expression rate [91.3% (21/23) and 96.3% (26/27); P=0.44] and the conception rate [39.1% (9/23) and 44.4% (12/27); P=0.45], respectively. The use of injectable P4 as a pre-synchronization strategy did not improve ovarian follicular dynamics in anestrus cows treated with an FTAI protocol based on injectable GnRH/P4.

Keywords: Follicular emergence; Pharmacological control of the estrous cycle; Nellore; Follicular dynamics.

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO DE LITERATURA

ARTIGO

- Figura 1** - Delineamento experimental, demonstrando os dois grupos experimentais (Pré-sincronização e Controle) e seus respectivos manejos dos protocolos de IATF33

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Média e erro padrão da média do escore de condição corporal de vacas Nelore em anestro sincronizadas ou não com progesterona injetável previamente ao protocolo de IATF a base de GnRH/progesterona34
- Tabela 2** - Média e erro padrão da média do diâmetro do maior folículo (mm) de vacas Nelore em anestro sincronizadas ou não com progesterona injetável previamente ao protocolo de IATF a base de GnRH/progesterona35
- Tabela 3** - Proporção de animais com corpo lúteo (CL) no D7, com expressão de estro e taxa de concepção de vacas Nelore em anestro sincronizadas ou não com progesterona injetável previamente ao protocolo de IATF a base de GnRH/progesterona35

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BE	Benzoato de estradiol
CE	Cipionato de estradiol
CFA	Contagem de folículos antrais
CL	Corpo lúteo
E2	Estrógeno
ECC	Escore de condição corporal
eCG	Gonadotrofina coriônica equina
FSH	Hormônio folículo estimulante
GnRH	Hormônio liberador de gonadotrofinas
IATF	Inseminação artificial em tempo fixo
IM	Intramuscular
LH	Hormônio luteinizante
mg	Miligrama
mm	Milimetro
PGF	Prostaglandina F2 α
PIB	Produto interno bruto
P4	Progesterona
UI	Unidades internacionais
μ g	Micrograma

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	11
2	DESENVOLVIMENTO.....	13
2.1	Ciclo estral nas fêmeas bovinas.....	13
2.1.1	Progesterona.....	14
2.1.2	Estrógeno.....	14
2.1.3	Gonadotrofinas.....	14
2.1.4	Prostaglandina.....	15
2.1.5	GnRH.....	15
2.2	CONTROLE FARMACOLÓGICO DO CICLO ESTRAL.....	15
2.3	PROTOCOLO DE IATF.....	17
2.4	ANESTRO PÓS-PARTO.....	18
2.5	CONTAGEM DE FOLÍCULOS ANTRAIS E SUA RELAÇÃO COM FERTILIDADE.....	19
2.6	PRÉ-SINCRONIZAÇÃO.....	20
	REFERÊNCIAS.....	22
3	HIPÓTESES.....	27
4	OBJETIVOS.....	28
4.1	GERAL.....	28
4.2	ESPECÍFICO.....	28
5	ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO.....	29
1	RESUMO.....	29
2	INTRODUÇÃO.....	30
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	31
3.1	LOCAL E ANIMAIS.....	31
3.2	TRATAMENTO E DELINEAMENTO.....	32
3.3	ULTRASSONOGRRAFIA.....	33
3.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	34
4	RESULTADOS.....	34
5	DISCUSSÃO.....	35
6	CONCLUSÃO.....	38
	REFERÊNCIAS.....	39
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	43

1 INTRODUÇÃO

O agronegócio tem grande importância na economia do Brasil, tendo movimentado cerca de 2,5 trilhões de reais no ano de 2021 e sendo responsável por cerca de 27,4% do PIB nacional. Dessa fatia, aproximadamente 426 bilhões de reais provêm da pecuária, mostrando a relevância da atividade para o país (CEPEA, 2022; IBGE, 2022). Em 2021, cerca de 16,5% da receita proveniente da exportação brasileira é devido a produção de carne (seja bovina, suína ou de aves), isso mostra a importância da produção animal na economia do nosso país (CEPEA, 2022).

Como forma de aumentar a rentabilidade na pecuária, a procura por animais com melhor conversão alimentar, maior desenvolvimento corporal ou maior produção leiteira se faz necessária. Para isso, a inseminação artificial surgiu para ajudar na disseminação de genes de touros melhoradores, além de apresentar vantagens como redução de doenças sexualmente transmissíveis, contenção de gastos com touros de reposição e padronização na produção, porém com aumento de custos com mão-de-obra para implementação da tecnologia (BARUSELLI et al., 2004).

O uso de protocolos que sincronizam a ovulação permite que a inseminação artificial seja realizada em um momento pré-estabelecido, eliminando o manejo de observação de cio, aumentando o número de animais inseminados e consequentemente a eficiência reprodutiva do rebanho (NORMAN et al., 2009; PURSLEY et al., 1997). A inseminação artificial em tempo-fixo (IATF) é baseada em três princípios: controle do crescimento de uma nova onda folicular, controle da progesterona (P4) e sincronização da ovulação (CONSENTINI, 2019). Os protocolos mais difundidos pelo mundo são do tipo Ovsynch, que é constituído a base de hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) e prostaglandina (PGF2 α) (PURSLEY et al., 1997), ou a base de estradiol (E2), P4 via dispositivo intravaginal e PGF2 α (BARUSELLI, 2012).

Seguindo o primeiro princípio, para que a emergência de uma nova onda folicular seja alcançada, é necessário que haja atresia dos folículos em crescimento ou ovulação do folículo dominante, podendo ser alcançado com uma combinação de E2 e P4 ou com a administração de indutores da ovulação, como o GnRH, respectivamente (PURSLEY et al., 1995; BÓ et al., 2002; CAVALIERI et al., 2006; VASCONCELOS et al., 2011). Após, o controle da concentração de P4 pode ser

obtido de forma exógena, com dispositivos de P4 ou de forma endógena através de agentes luteolíticos, como a PGF₂ α , para o controle do corpo lúteo (CL) (PURSLEY et al., 1997, BARUSELLI et al., 2004). Por último, a sincronização da ovulação pode ser alcançada com o uso de GnRH ou ésteres de estradiol, como benzoato de estradiol (BE) ou cipionato de estradiol (CE) (PURSLEY et al., 1995; AMBROSE et al., 2005; SOUZA et al., 2009; SALES et al., 2012).

Sabe-se que é proibido a utilização de ésteres de estradiol na produção animal na União Europeia desde outubro de 2006, sendo assim, buscam-se alternativas para as biotecnologias reprodutivas para que os fármacos não sejam utilizados nos programas de IATF.

Para isso, propõe-se a utilização de um protocolo de IATF com uso de GnRH para sincronização de emergência folicular no lugar do BE. Os demais fármacos do protocolo serão mantidos, pois inicialmente será avaliada apenas a viabilidade do GnRH na emergência da onda. Além disso, como a utilização do GnRH depende da presença de um folículo dominante responsivo ao hormônio, também será avaliada a necessidade da utilização de uma pré-sincronização a base de P4 para que, no momento do início do protocolo, haja um folículo responsivo ao GnRH.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 CICLO ESTRAL NAS FÊMEAS BOVINAS

O ciclo reprodutivo das fêmeas é controlado por um grupo de hormônios que trabalham de forma regulada e sistemática, sendo esse controle realizado pelo eixo hipotálamo-hipófise com colaboração dos ovários. As fêmeas bovinas apresentam duas ou três ondas foliculares durante o seu ciclo estral, havendo diferença entre subespécies. O desenvolvimento dos folículos ovarianos se inicia ainda durante o período gestacional da fêmea, sendo que o seu pleno desenvolvimento com maturação e posterior ovulação (ou atresia) só ocorre após a ação dos hormônios gonadotróficos (SILVA-SANTOS et al., 2016).

A dinâmica folicular ovariana durante o ciclo estral, tal como emergência, seleção, dominância e atresia ou ovulação são controlados pelo eixo hipotálamo-hipófise-ovário. A emergência folicular se dá após um pulso do hormônio folículo estimulante (FSH), onde surgirão os folículos antrais, responsáveis por secretar estrógeno. O folículo estimula a liberação de GnRH, que por sua vez, associada a baixa concentração de progesterona, produzem um pico de hormônio luteinizante (LH), e havendo um folículo dominante pré-ovulatório, haverá a ovulação cerca de 24 horas após este pico (HAFEZ et al., 2004; DRÖHER, 2019).

O ciclo estral das fêmeas bovinas se divide em duas fases: fase folicular ou estrogênica e fase lútea ou progesterônica. A fase folicular compreende o proestro e estro, tem duração de 4 a 6 dias, sendo a fase com maior concentração do E2, visto que nesse momento há presença de um folículo dominante e não há mais o CL secretando P4. Já a fase lútea compreende o metaestro e diestro, tem duração de 14 a 18 dias, constitui a fase em que o CL está presente, há baixas concentrações de E2 e alta concentração de P4 (DIAS, 2018)

O ciclo estral é a combinação regulada dos seguintes hormônios: P4, GnRH, LH, Hormônio folículo estimulante (FSH), E2 e PGF2 α (SILVA-SANTOS et al., 2016). Estes hormônios trabalham através do mecanismo de retroalimentação, ou seja, a liberação de alguns hormônios depende da diminuição ou aumento da concentração plasmática de outro (HAFEZ et al., 2004).

A seguir veremos a origem e atuação de cada um destes hormônios

2.1.1 Progesterona

A P4 é liberada pelo CL, um órgão morfo-funcional temporário que tem origem após a ovulação do folículo dominante (SILVA-SANTOS et al., 2016). A P4 tem ação direta na manutenção da gestação, fechando a cervix e relaxando o miométrio (HAFEZ et al., 2004). Foi evidenciado por TORTORELLA et al. (2013) que altas concentrações de P4 após a ovulação aumentaram a secreção de interferon-tau e, conseqüentemente, melhoraram a sobrevivência embrionária.

Além disso, a P4 tem relação com a estimulação de pulsos de LH, sendo relatado por Day e Anderson et al. (1998) que a presença de progestágenos reduzem a quantidade de receptores de E2 no hipotálamo, diminuindo a influência da retroalimentação sobre a liberação de GnRH, reduzindo a secreção de LH. Devido a isso, a progesterona inibe o pico pré-ovulatório de LH, portanto, inibe o comportamento de cio (HAFEZ et al., 2004).

2.1.2 Estrógeno

Produzido pelo folículo dominante e liberado conforme este cresce. O pico de E2 leva a um feedback positivo no hipotálamo, estimulando maior liberação de GnRH, conseqüentemente, liberação de LH, responsável pela ovulação. Também é responsável pelos sinais de receptividade sexual durante o cio (TORTORELLA, 2014; SILVA-SANTOS et al., 2016).

2.1.3 Gonadotrofinas

O FSH, hormônio folículo estimulante, é responsável pelo recrutamento e crescimento inicial dos folículos ovarianos (HAFEZ et al., 2004), sendo controlado por feedback positivo do GnRH e negativo de hormônios ovarianos, como estrógeno e inibina (SILVA-SANTOS et al., 2016).

Assim como o FSH, a liberação do LH, hormônio luteinizante, é regulada por feedback positivo dos pulsos de GnRH. É responsável pelo crescimento final, maturação e ovulação do folículo dominante (HAFEZ et al., 2004). Além disso, o LH é responsável pelo aumento na produção de E2 e pela luteinização das células da granulosa e da teca interna, tendo grande importância na formação

do CL (TORTORELLA, 2014; SILVA-SANTOS et al., 2016).

2.1.4 Prostaglandina

Produzida no endométrio, é o responsável pela regressão do CL, ou seja, responsável pelo início de uma nova fase folicular caso não haja gestação. Também auxilia na contração uterina e transporte espermático no útero (HAFEZ et al., 2004).

2.1.5 GnRH

O GnRH, liberado pelo hipotálamo, é o responsável pelo estímulo e liberação de LH e FSH na glândula pituitária. Este, por sua vez, é liberado através de pulsos, com frequência dependente da fase do ciclo estral que o animal se apresenta (SILVA-SANTOS et al., 2016).

Durante o ciclo estral, quando a concentração de P4 se encontra baixa e o E2 alto, a frequência de liberação de GnRH é maior, estimulando a liberação de gonadotrofinas. Quando o animal está em anestro, a baixa concentração de E2 resulta em baixa pulsatilidade de GnRH, impedindo assim que haja ovulação (SILVA-SANTOS et al., 2016).

2.2 CONTROLE FARMACOLÓGICO DO CICLO ESTRAL

A utilização de tecnologias que permitam a sincronização da ovulação vem crescendo em todo o mundo, mas particularmente no Brasil tem focado na emergência da onda folicular e ovulação com ésteres de estradiol, manutenção da fase lútea com a utilização de progestágenos exógenos e prostaglandina F₂α (BARROS et al., 2000; BÓ et al., 2002).

Os protocolos de IATF seguem os seguintes princípios: controle do crescimento de nova onda folicular, controle da P4 e sincronização da ovulação. Para isso, é necessário lançar mão de fármacos que possam atender a esses princípios em cada momento do protocolo (BARUSELLI, 2012).

O primeiro princípio, de controlar o recrutamento e crescimento

folicular, pode ser atingido com a atresia dos folículos médios e pequenos, ou através da ovulação de um folículo responsivo a um indutor de ovulação. O principal fármaco utilizado para indução da ovulação no início do protocolo é o GnRH, visto que apresenta uma ação mais rápida que os ésteres de estradiol, como BE e CE. Caso a intenção seja a atresia dos folículos, é indicado a utilização de BE juntamente com uma fonte exógena de P4. A P4 vai causar a atresia dos folículos médios e grandes através de *feedback* negativo com o LH, impedindo que haja o pico desse hormônio, impedindo então o desenvolvimento final e possível ovulação destes. Já o BE irá causar atresia dos folículos menores através de *feedback* negativo com o FSH, impedindo que haja um maior desenvolvimento destes. Sendo assim, a associação de P4+E2 se mostra eficaz na sincronização do controle de crescimento de uma nova onda folicular (PURSLEY et al., 1995; BÓ et al., 2002; CAVALIERI et al., 2006; VASCONCELOS et al., 2011).

O controle da P4, segundo princípio do protocolo de IATF, pode ser realizado de forma endógena ou exógena. Nos casos dos protocolos a base de GnRH+PGF2 α é feito o controle do CL, responsável pela produção de P4 endógena. Cerca de 7 dias após a administração de GnRH é aplicada uma dose de PGF2 α para causar a regressão desse corpo lúteo. Já nos protocolos a base de P4+E2 é utilizado um implante intravaginal de P4 e, quando é desejado a diminuição dos níveis de P4, o implante é retirado e é administrado uma dose de PGF no mesmo momento, pois se houver um CL ativo esse irá sofrer luteólise (PURSLEY et al., 1997; BARUSELLI et al., 2004).

Por último, a sincronização da ovulação, pode ser atingida com uso de indutores diretos ou indiretos de ovulação. Os indutores diretos são os análogos do GnRH, que irão levar ao pico de LH e conseqüente ovulação do folículo dominante. Os indutores indiretos são os ésteres de estradiol, podendo ser o BE ou o CE. Ambos causam um bom resultado, porém com tempos de ação diferentes. Estes são chamados de indutores indiretos pois não são eles que causam o pico de LH. Eles, através do mecanismo de *feedback*, estimulam a liberação de GnRH, que por conseqüência estimula a liberação de LH, causando a ovulação (PURSLEY et al., 1995; AMBROSE et al., 2005; SOUZA et al., 2009; SALES et al., 2012).

2.3 PROTOCOLOS DE IATF

A utilização de protocolos de sincronização de ovulação vem ganhando cada vez mais espaço devido a melhores taxas de serviço e demandar menos trabalho quando comparada a inseminação convencional com observação de cio (BARUSELLI, 2004). Atualmente, cerca de 93,3% das inseminações realizadas no Brasil são feitas após um protocolo farmacológico para sincronização da ovulação, o que mostra a alta viabilidade da tecnologia para a produção animal (BARUSELLI, 2022). Apesar da expressiva proporção de IATF em relação a IA, o número de animais inseminados ainda se mostra baixo no Brasil, sendo inseminado apenas 23,4% das fêmeas (BARUSELLI et al., 2022).

Existem vários protocolos farmacológicos utilizados para sincronização da ovulação, sendo que na América do Sul os principais são a base de progesterona e estrógeno (CONSENTINI, 2019). A maioria dos protocolos com E2+P4 utilizam BE no início do protocolo para que haja a sincronização da emergência da onda folicular através da atresia dos folículos existentes, porém, cerca de 30% dos animais não apresentam atresia folicular (MONTEIRO et al., 2015; MELO et al., 2016).

Quando a busca pela sincronização da emergência é realizada com a utilização de GnRH em dia aleatório do ciclo, apenas 50% dos animais irão responder ao tratamento e apresentarão uma nova onda folicular (GIORDANO et al., 2012). Estudos mostram que essa baixa taxa de ovulação pode ocorrer devido a dose de GnRH utilizada (100 microgramas) ser baixa para causar aumento na liberação de LH, sendo que outros trabalhos mostram que ao utilizar dose de 200 microgramas o aumento do LH é expressivo, podendo aumentar consideravelmente a taxa de ovulação (MARTINEZ et al., 2003; MELO et al., 2018; SOUZA et al., 2009).

Após a administração do GnRH, a emergência de uma nova onda folicular ocorre entre 1,5 a 2 dias (BARROS et al., 2000), cerca de 1,5 a 2 dois dias antes da emergência causada pelo BE, que seria aproximadamente de 3 a 4 dias após sua administração (BÓ et al., 1995; BARUSELLI et al., 2010).

A administração de GnRH leva à ovulação do folículo dominante, conseqüentemente surgirá um CL, glândula endócrina temporária responsável pela produção de P4 (SILVA-SANTOS et al., 2016). Altos níveis de P4 podem interferir no crescimento e maturação dos folículos dominantes (BARUSELLI et al., 2008), tendo

isso em mente, a utilização de GnRH para sincronizar a emergência de onda associada a uma fonte exógena de P4 irá elevar a concentração do hormônio na circulação, podendo influenciar negativamente o crescimento dos folículos, em especial nas fêmeas cíclicas.

Em protocolos de IATF em gado de corte, principalmente em vacas e novilhas *Bos indicus*, é utilizado o eCG junto da remoção do dispositivo de progesterona para estimular o crescimento final do folículo dominante, fazendo com que ele seja mais responsivo a indução e melhorando as taxas de prenhez. Esse efeito benéfico é observado principalmente em animais com baixo escore de condição corporal e/ou anestro, visto que animais nessas condições apresentam baixa pulsatilidade de LH e a administração de eCG mostra melhoria na taxa de concepção (SARTORI e GUARDIEIRO, 2010; PRATA et al., 2017).

Os protocolos de E2+P4 utilizam BE ou CE para a indução da ovulação (MELO et al., 2016) que causam uma boa taxa desta. Os ésteres de estradiol apresentam alta dispersão do momento da ovulação, mas mesmo assim mostram bons resultados ao final do protocolo (AMBROSE et al., 2005; SOUZA et al., 2009; SALES et al., 2012). Já os protocolos do tipo Ovsynch utilizam o GnRH como indutor da ovulação, que tem uma menor taxa de dispersão, sincronizando a ovulação de forma mais eficaz (PURSLEY et al., 1995).

2.4 ANESTRO PÓS-PARTO

O anestro pós-parto é o intervalo entre o parto e a primeira manifestação de estro, sem qualquer expressão estral nesse período (DE CASTRO, 2002), sendo um dos fatores de maior relevância negativa sobre a fertilidade pós-parto, elevando o intervalo entre partos, sofrendo maior influência da nutrição e amamentação (BRAUNER et al., 2009). Para atingir a eficiência reprodutiva do rebanho, as vacas têm de 30 a 60 dias para reestabelecer sua capacidade reprodutiva, restando cerca de 2 ciclos para manter o objetivo de um bezerro/vaca/ano (BÓ et al., 2004; ALMEIDA, 2015).

Para que haja nova gestação, é necessário que ocorra a involução uterina e retomada da atividade ovariana. Isso deve ocorrer de forma fisiológica caso

não haja nenhuma intercorrência, como distocias, retenção de placenta ou doenças metabólicas (DE CASTRO, 2002).

Vacas no período pós-parto e novilhas pré-púberes apresentam uma condição em comum, ambas podem não ovular logo no primeiro ciclo. Isso se dá devido à baixa concentração de LH armazenado. Logo, os folículos que atingiram a dominância irão sofrer atresia e uma nova onda folicular irá se iniciar (GONÇALVES et al., 2004).

Sabe-se que a primeira ovulação de novilhas e vacas pós-parto geram um CL de curta duração, isso se dá devido ao baixo número de receptores de FSH e LH no folículo dominante. Isso faz com que seja ovulado um folículo menor, conseqüentemente, surgimento de um CL menor, com menor secreção de P4 (ALMEIDA et al., 2015).

2.5 CONTAGEM DE FOLICULOS ANTRAIIS E SUA RELAÇÃO COM FERTILIDADE

Estudos mostram que a população folicular das fêmeas tem relação direta com a fertilidade destas e são influenciadas por alguns fatores. As fêmeas bovinas apresentam uma população folicular de aproximadamente 235 mil folículos ao nascer, mas há variação entre indivíduos da mesma espécie, de acordo com a raça (SILVA-SANTOS et al., 2016).

Outros trabalhos também mostram a diferenças na fertilidade de vacas *Bos taurus* e *Bos indicus* quando relacionadas a contagem de folículos antrais (CFA). As vacas taurinas com maior número de folículos antrais apresentam melhores resultados quando comparadas as vacas de menor CFA (MOSSA et al., 2012). Ao contrário das vacas zebuínas, que apresentam taxa de prenhez até 10% menor quando possuem alta CFA (LIMA et al., 2020; MOROTTI et al., 2016). Morotti et al. (2018) também correlacionaram que vacas *Bos indicus* com menor CFA apresentaram maiores folículos pré-ovulatórios e maiores taxas de prenhez comparadas a vacas de intermediária ou alta CFA.

Moraes et al. (2019) avaliaram a taxa de prenhez com a CFA e escore de condição corporal (ECC) de vacas Nelore submetidas a protocolo de IATF, mostrando que vacas com melhor condição corporal e menor CFA apresentam maior taxa de concepção quando comparada aos demais animais.

Os estudos de Morotti et al. (2018) e Moraes et al. (2019) mostram

que sempre que a baixa CFA em vacas *Bos indicus* é relacionada com algum aspecto positivo (maior folículo pré-ovulatório e maior ECC, respectivamente), o resultado na taxa de concepção é mais efetivo. Ao contrário do que é observado em vacas *Bos taurus*, como o que foi evidenciado no trabalho de Martinez et al. (2016), que confirma a melhor concepção em vacas leiteiras com alta CFA.

2.6 PRÉ-SINCRONIZAÇÃO

A pré-sincronização com P4 mostra efeito benéfico em vacas em anestro pós-parto e novilhas pré-púberes por reduzir a expressão de receptores de E2 no hipotálamo, diminuindo o feedback negativo do E2 com o GnRH (DAY et al., 1998).

A utilização de uma pré-sincronização com progestágenos, seguido de indução com análogos do GnRH, aumenta o nível sérico de 17-beta-estradiol durante a fase folicular do ciclo estral, ocasionando um folículo maior para ser ovulado (BRADEN et al., 1989).

Protocolos de pré-sincronização são utilizados para ajudar a melhorar as taxas de concepção e, em alguns casos, induzir a ciclicidade em animais em anestro. O uso de P4 exógena pode auxiliar no desenvolvimento folicular estimulando pulsos de GnRH, conseqüentemente impulsionando pulsos de LH de vacas em anestro. Portanto, a utilização de P4 como forma de estimular os pulsos de LH se mostra como boa alternativa para promover o desenvolvimento folicular no anestro, diminuindo a ocorrência de ciclos curtos e aumentando a taxa de concepção ao primeiro serviço (ALMEIDA, 2015; GOMES, 2013).

Dessa forma, a utilização da pré-sincronização apresenta vantagem aos que querem atingir melhores taxas ao fim da estação, sendo evidenciado por ALMEIDA (2015) que vacas mestiças submetidas à pré-sincronização com implante de P4 + E2 atingem folículos com tamanhos satisfatórios. A utilização de protocolo de pré-sincronização com P4 injetável se mostra eficiente para novilhas pré-púberes, aumentando o número de animais ciclando no início do protocolo e, conseqüentemente, aumentando a taxa de concepção ao protocolo de IATF (LIMA, 2017).

Após essas considerações, a utilização do GnRH para sincronização

da emergência folicular se mostra com grande vantagem aos produtores que buscam a inovação a fim de não perder oportunidades no mercado externo, porém a presença do anestro pós-parto pode dificultar a utilização do GnRH por não haver um folículo dominante no início do protocolo. Esperar até que as vacas voltem a ciclar levará a prejuízos na atividade, visto que essas tem entre 70 e 80 dias para emprenhar após o parto para atingirem a marca de um bezerro parido ao ano, fazendo com que a pré-sincronização seja o elo necessário para unir a produtividade à necessidade dessa inovação.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, I. C.; Efeito do protocolo de pré sincronização em vacas mestiças no período pós-parto. 2015. Monografia (Mestrado) – **Universidade Federal do Espírito Santo**, Alegre – ES, 2015.
- AMBROSE, J.D.; KASTELIC, J.P.; RAJAMAHENDRAN, R.; AALI, M.; DINN, N. Progesterone (CIDR)-based timed AI protocols using GnRH, porcine LH or estradiol cypionate for dairy heifers: ovarian and endocrine responses and pregnancy rates. **Theriogenology** 64: 1457-1474. 2005.
- ANDERSON, L. H., AND M. L. DAY. Development of a progestin-based estrus synchronization program: I. Reproductive response of cows fed melengestrol acetate for 20 days with an injection of progesterone. **J. Anim. Sci.**,v.76,p.1267-1272, 1998.
- BARROS, C.M. et al. Synchronization of ovulation in beef cows (*Bos indicus*) using GnRH, PGF2alpha and estradiol benzoate. **Theriogenology**. v.15, p.1121-34, 2000.
- BARUSELLI, P.S; BÓ, G.A.; REIS, E.L.; MARQUES, M.O. – Inseminação artificial em tempo fixo em bovinos de corte. In: **1º Simpósio internacional de reprodução animal aplicada**, Londrina. Anais [...]. p. 155-165. 2004.
- BARUSELLI, P.S.; SALES, J.N.S.; SALA, R.V.; VIEIRA, L.M.; SÁ FILHO, M.F. History, evolution and perspectives of timed artificial insemination programs in Brazil. **Animal Reproduction** 9: 139-152. 2012.
- BARUSELLI, P.S. IATF bate mais um recorde e supera 26 milhões de procedimentos em 2021. **Boletim Eletrônico do Departamento de Reprodução Animal/FMVZ/USP**, 6a ed., 2022. Acesso <http://vra.fmvz.usp.br/boletim-eletronico-vra/>.
- BÓ, G.A.; ADAMS, G.P.; CACCIA, M.; MARTINEZ, M.; PIERSON, R.A.; MAPLETOFT, R.J. – Ovarian follicular wave emergence after treatment with progesterone and estradiol in cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 39, p. 193-204, 1995.
- BÓ, G.A.; BARUSELLI, P.S.; MORENO, D.; CUTAIA, L.; CACCIA, M.; TRIBULO, R.; TRIBULO, H.; MAPLETOFT, R.J. The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. **Theriogenology** 57: 53-72. 2002.
- BARUSELLI, P.S.; JACOMINI, J. O.; SALES, J. N. S.; CREPALDI, G. A. Importância do emprego da eCG em protocolos de sincronização para IA, TE e SOV em tempo fixo. In: **Anais III Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada**, v. 1, p. 146-167, 2008.
- BARUSELLI, P.S.; SALES, J.N.S.; SÁ FILHO, M.F. Atualização dos protocolos de IATF e TETF. In: **4º Simpósio internacional de reprodução animal aplicada**, v.4, Londrina. Londrina: p. 166-185. 2010.
- BARUSELLI, P. S.; SANTOS, G. F. F; CREPALDI, G. A.; CATUSSI, B. L. C.; OLIVEIRA, A. C. S. FTAI in numbers: evolution and future projection. In: **VI Reunião**

anual da associação brasileira de andrologia animal. Campinas, 2022.

BÓ, G.A.; CUTAIA, I.; BARUSELLI, P.S. Programas de inseminación artificial y transferencia de embriones a tiempo fijo. In: **Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada.** São Paulo: FMZU - USP, p.56-80, 2004.

Braden TD, King ME, Odde KG, Niswender GD. Development of preovulatory follicles expected to form short-lived corpora lutea in beef cows. **J Reprod Fertil.** 1989 Jan;85(1):97-104. doi: 10.1530/jrf.0.0850097. PMID: 2915364.

BRAUNER, C. C.; PIMENTEL, M. A.; LEMES, J. S.; PIMENTEL, C. A.; MORAES, J. C. F. Desempenho reprodutivo pós-parto de vacas de Corte submetidas a indução/sincronização de cio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n.1, p. 99-103, 2009.

CAVALIERI, J.; HEPWORTH, G.; FITZPATRICK, L.A.; SHEPHARD, R.W.; MACMILLAN, K.L. Manipulation and control of the estrous cycle in pasture-based dairy cows. **Theriogenology** 65: 45-64. 2006.

CONSENTINI, C. E. C.Strategies for induction of ovulation for fixed-time AI in lactating dairy cows submitted to a novel presynchronization protocol. 2019. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) - **Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo**, Piracicaba, 2019. doi:10.11606/D.11.2019.tde-07052019-182857.

DE CASTRO, T. Anestro posparto em la vaca de cria. In: **Reproducción em los animales domésticos.** 1. ed, Montevideo: Melibea, v.1, p. 207-218, 2002.

DIAS, J. H. A. Demonstração de esto e taxa de concepção à IATF de vacas nelore com alta, intermediária e baixa contagem de folículos antrais. Dissertação (Mestrado Profissional em Clínicas Veterinárias) – **Universidade Estadual de Londrina**; Londrina, 2018.

DORNELES, T. R.; FERREIRA, R., TONELOTTO, S. J., SILVEIRA; A. N. O.; B. M.H.; OLIVEIRA, J.F.; GONÇALVES, P. B.; PEREIRA, N. J. The effect of equine chorionic gonadotropin on follicular size, luteal volume, circulating progesterone concentrations, and pregnancy rates in anestrous beef cows treated with a novel fixed-time artificial insemination protocol. **Theriogenology.** 2013 May;79(8):1204-9. doi: 10.1016/j.theriogenology.2013.02.019. Epub 2013 Mar 16. PMID: 23510789.

DRÖHER, R. G.; Características produtivas e reprodutivas de vacas holandesas de alta produção com diferentes contagens de folículos antrais. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – **Universidade Estadual de Londrina**; Londrina, 2019.

GIORDANO, J. O., M. C. WILTBANK, J. N. GUENTHER, R. PAWLISCH, S. BAS, A. P. CUNHA, and P. M. FRICKE. Increased fertility in lactating dairy cows resynchronized with Double-Ovsynch compared with Ovsynch initiated 32 d after timed artificial insemination. **J. Dairy Sci.** 95:639–653. 2012.

GOMES, T. B. Efeito da pré-exposição de progesterona na taxa de concepção em vacas de corte submetidas a IATF. Dissertação (Mestrado). **Universidade Federal do Norte Fluminense**, Campo dos Goytacazes – RJ, 2013.

GONÇALVES, P. B. D.; OLIVEIRA, F. F. C.; SILVEIRA, R. S.; FERREIRA, R. Anestro pós-parto em vacas de corte. Anais **Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada**. Londrina, p. 105-116, 2004.

HAFEZ, E. S. E. et al. – Hormônios, fatores de crescimento e reprodução. In: **Reprodução animal**. 7ª ed. São Paulo: Editora Manole LTDA, 2004.

LANE, E.A.; AUSTIN, E.J.; CROWE, B.C. Oestrous synchronisation in cattle. Current options following the EU regulations restricting use of oestrogenic compounds in food-producing animals: A review. *Animal Reproduction Science*, v.109, p.1-16, 2008.

LIMA, Rafaela Sanchez de. Emprego de progesterona injetável de longa ação para pré-sincronização da ovulação em novilhas Nelore. 2017. Tese (Doutorado em Reprodução Animal) - **Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo**, Pirassununga, 2017. doi:10.11606/T.10.2018.tde-16042018-114502. Acesso em: 2022-07-24.

Lima MA, Morotti F, Bayeux BM, De Rezende RG, Botigelli RC, De Bem TH, Fontes PK, Nogueira MFG, Meirelles FV, Baruselli PS, da Silveira JC, Perecin F, Seneda MM. Ovarian follicular dynamics, progesterone concentrations, pregnancy rates and transcriptional patterns in *Bos indicus* females with a high or low antral follicle count. **Sci Rep** v.10, p.19557, 2020

Martínez, M. F., R. J. Mapletoft, J. P. Kastelic, and T. Carruthers. 2003. The effects of 3 gonadorelin products on luteinizing hormone release, ovulation, and follicular wave emergence in cattle. **Can.Vet. J.** 44:125–131.

MELO, L.F.E.; NASCIMENTO, A.B.; DRUM, J.N.; SPIES, C.; MONTEIRO JUNIOR, P.L.J.; PRATA, A.B.; WILTBANK, M.C.; SARTORI, R. Circulating progesterone, follicular dynamics, and fertility in Holstein cows during reuse of intravaginal progesterone devices for fixed-time AI. **Animal Reproduction** 13: 433. 2016.

Melo, L.F.; Monteiro, P.L.J. Jr.; Nascimento, A.B.; Drum, J.N.; Spies, C.; Prata, A.B.; Wiltbank, M.C.; Sartori, R. 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 Apr;101(4):3554-3567. doi: 10.3168/jds.2017-13570. Epub 2018 Feb 7. PMID: 29428754.

MONTEIRO, P.L.J.; BORSATO, M.; SILVA, F.L.M.; PRATA, A.B.; WILTBANK, M.C.; SARTORI, R. Increasing estradiol benzoate, pretreatment with gonadotropin-releasing hormone, and impediments for successful estradiol-based fixed-time artificial insemination protocols in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, 98: 3826-3839. 2015.

Moraes, F.L.Z.; Morotti, F.; Costa, C.B.; Lunardelli, P.A.; Seneda, M.M. Relationships between antral follicle count, body condition, and pregnancy rates after timed-AI in *Bos indicus* cattle. **Theriogenology**, v.136, p.4-10, 2019.

MOROTTI, F. Influência da contagem de folículos antrais na dinâmica folicular ovariana e nos parâmetros de mérito genético de fêmeas bovinas. 2016. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – **Universidade Estadual de Londrina**, Londrina, 2016.

MOSSA, F.; WALSH, S.W.; BUTLER, S.T.; BERRY, D.P.; CARTER, F.; LONERGAN, P.; SMITH, G.W.; IRELAND, J.J.; EVANS, A.C.O. Low numbers of ovarian follicles ≥ 3 mm in diameter are associated with low fertility in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 95, p. 2355-2361, 2012.

NORMAN, H. D., J. R. Wright, S. M. Hubbard, R. H. Miller, and J. L. Hutchison. 2009. Reproductive status of Holstein and Jersey cows in the United States. **J. Dairy Sci.** 92:3517–3528.

PRATA, A.B., PONTES, G.C.S., MONTEIRO, P.L.J., DRUM, J.N., WILTBANK, M.C., SARTORI, R. Equine chorionic gonadotropin increases fertility of grazing dairy cows that receive fixed-time artificial insemination in the early but not later postpartum period. **Theriogenology**. 2017 Aug;98:36-40. doi: 10.1016/j.theriogenology.2017.04.041. Epub 2017 Apr 26. PMID: 28601153.

PURSLEY, J.R.; MEE, M.O.; WILTBANK, M.C. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF 2α and GnRH. **Theriogenology** 44: 915-923. 1995.

PURSLEY, J.R.; KOSOROK, M.R.; WILTBANK, M.C. Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. **Journal of Dairy Science** 80: 301-306. 1997.

SALES, J.N.S.; CARVALHO, J.B.P.; CREPALDI, G.A.; CIPRIANO, R.S.; JACOMINI, J.O.; MAIO, J.R.G.; SOUZA, J.C.; NOGUEIRA, G.P.; BARUSELLI, P.S. 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** 78: 510-516. 2012.

SARTORI, R.; GUARDIEIRO, M. M. Nutritional factors associated with reproduction in heifers and cows. **Revista brasileira de zootecnia**. Viçosa. 2010.

SILVA-SANTOS, K. C. et al. – Female Reproductive Physiology: Current Concepts and Advanced Perspectives. In: **Biotechnology of Animal Reproduction**. New York: Nova Science Publishers, 2016.

SOUZA, A.H.; VIECHNIESKI, S.; LIMA, F.A.; SILVA, F.F.; ARAÚJO, R.; BÓ, G.A.; WILTBANK, M.C.; BARUSELLI, P.S. Effects of equine chorionic gonadotropin and type of ovulatory stimulus in a timed-AI protocol on reproductive responses in dairy cows. **Theriogenology** 72: 10-21. 2009.

Tortorella, R.D.; Ferreira, R.; Santos, J.T.; Andrade Neto, O.S.; Barreta, M.H.; Oliveira, J.F.; Gonçalves, P.B.; Neves, J.P. 2013. The effect of equine chorionic gonadotropin on follicular size, luteal volume, circulating progesterone concentrations, and pregnancy rates in anestrous beef cows treated with a novel fixed-time artificial insemination protocol. **Theriogenology** 79: 1204-1209.

TORTORELLA, R.D. – Fisiologia e manipulação do ciclo estral dos bovinos da raça

Curraleiro Pé-Duro. 2014. Tese (Doutorado em Ciências Animais). Universidade de Brasília, Brasília, 2014.

VASCONCELOS, J.L.M.; JARDINA, D.T.G.; SA FILHO, O.G.; ARAGON, F.L.; VERAS, M.B. Comparison of progesterone-based protocols with gonadotropin-releasing hormone or estradiol benzoate for timed artificial insemination or embryo transfer in lactating dairy cows. **Theriogenology** 75: 1153-1160. 2011.

https://cepea.esalq.usp.br/upload/kceditor/files/Cepea_Export_2021.pdf (Acesso em 30/06/2022)

https://www.cepea.esalq.usp.br/upload/kceditor/files/Cepea_CNA_PIB_JAn_Dez_2021_Mar%C3%A7o2022.pdf (Acesso em 05/07/2022)

<https://www.ibge.gov.br/explica/pib.php> (Acesso em 05/07/2022)

3 HIPÓTESE

A pré-sincronização com progesterona injetável melhora a ação do GnRH no D0 do protocolo de IATF de vacas de corte *Bos indicus* em anestro.

4 OBJETIVOS

4.1 GERAL:

Avaliar a viabilidade do uso da progesterona injetável anteriormente ao GnRH, para sincronizar a emergência de onda de crescimento folicular em dia aleatório do ciclo estral de vacas de corte *Bos indicus* em anestro, durante protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF).

4.2 ESPECÍFICO:

Avaliar a dinâmica folicular ovariana após o uso do GnRH, com ou sem pré-sincronização prévia, no início do protocolo de IATF, com intuito de avaliar a sincronização de emergência de onda folicular em vacas de corte *Bos indicus* em anestro de alta e baixa CFA.

5 ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO

Uso da progesterona injetável como estratégia de pré-sincronização em protocolo de IATF com GnRH como indutor da emergência folicular em vacas de corte *Bos indicus* em anestro

1. Resumo

Este estudo avaliou o efeito da pré-sincronização com P4 injetável na dinâmica folicular ovariana de vacas *Bos indicus* em anestro tratadas com protocolo de IATF à base de GnRH/P4. Foram utilizadas fêmeas Nelore (N=50), múltiparas, entre 5 e 8 anos de idade, com 30 a 60 dias pós-parto. Dez dias antes (D-10) do início do protocolo de IATF foram avaliados a contagem de folículos antrais (CFA; folículos ≥ 3 mm), condição ovariana (diâmetro do maior folículo e presença de CL) e escore de condição corporal (ECC: 1-5) por um único técnico para estabelecer dois grupos: Controle (N =23) e Pré-sincronização (N=27; P4 injetável). No mesmo dia, o grupo de Pré-sincronização recebeu 150mg de P4 injetável, por via i.m. No D0, a avaliação ovariana foi repetida e o protocolo de IATF foi iniciado com a inserção de um dispositivo intravaginal P4 e administração de 10,5 μ g de acetato de buserelina/GnRH em todos os animais. No D7, o dispositivo P4 foi removido e 300UI de eCG, 150 μ g de D-cloprostenol e 1mg de cipionato de estradiol foram aplicados por via intramuscular. No mesmo dia, avaliou-se a presença de CL, mediu-se o folículo dominante e pintou-se a cauda para avaliar a expressão do estro. No D9, repetiu-se a medição do maior folículo, e a IATF foi realizada em todas as vacas utilizando sêmen de um único touro com fertilidade comprovada. Animais sem estro ou com baixa expressão receberam 10,5 μ g de GnRH. Dados numéricos foram analisados pelo teste de Mann-Whitney. Dados binários foram analisados pelo teste exato de Fisher (5%). Os grupos Controle e Pré-sincronização não diferiram quanto ao ECC no início da pré-sincronização (D-10; 2,4 \pm 0,1 e 2,5 \pm 0,1; P=0,59) e no início do protocolo de IATF (D0; 2,5 \pm 0,1 e 2,6 \pm 0,1; P=0,43), e quanto a CFA (40,5 \pm 5,7 e 49,7 \pm 6,1 folículos; P=0,16) respectivamente. O diâmetro do maior folículo (mm) também foi semelhante entre os grupos Controle e Pré-sincronização no D-10 (9,2 \pm 0,7 e 10,1 \pm 0,6; P=0,33), no D0 (9,9 \pm 0,6 e 10,7 \pm 0,6; P = 0,33), no D7 (11,0 \pm 0,8 e 10,1 \pm 0,8; P=0,21) e D9 (11,3 \pm 0,7 e 12,0 \pm 0,7; P=0,20), respectivamente. Os grupos Controle e Pré-sincronização também não diferiram

quanto à presença de CL no D7 do protocolo [56,5% (13/23) e 77,8% (21/27); $P=0,11$], a taxa de expressão de estro [91,3% (21/23) e 96,3% (26/27); $P=0,44$] e a taxa de concepção [39,1% (9/23) e 44,4% (12/27); $P=0,45$], respectivamente. O uso da P4 injetável como estratégia de pré-sincronização não melhorou a dinâmica folicular ovariana de vacas em anestro tratadas com protocolo de IATF a base de GnRH/P4.

2. Introdução

O agronegócio tem grande importância na economia do Brasil, tendo movimentado cerca de 2,5 trilhões de reais no ano de 2021 e sendo responsável por cerca de 27,4% do PIB nacional. Dessa fatia, aproximadamente 426 bilhões de reais provem da pecuária, mostrando a relevância da atividade para o país (CEPEA, 2022; IBGE, 2022). A procura por animais com melhor conversão alimentar, maior desenvolvimento corporal, maior produção leiteira e, portanto, maior aproveitamento monetário, faz com que as buscas por estratégias para a perpetuação desses animais sejam cada vez mais avançadas. A inseminação artificial surgiu como uma técnica para ajudar na disseminação de genes de touros melhoradores, além de apresentar vantagens como redução de doenças sexualmente transmissíveis, contenção de gastos com touros de reposição e padronização na produção, porém com aumento de custos com mão de obra para implementação da tecnologia (BARUSELLI et al., 2004).

O uso de protocolos que sincronizam a ovulação permite que a inseminação artificial seja realizada em um momento pré-estabelecido, eliminando a necessidade de observação de cio, aumentando o número de animais inseminados e, conseqüentemente, melhorando a eficiência reprodutiva do rebanho (NORMAN et al., 2009; PURSLEY et al., 1997). A inseminação artificial em tempo fixo (IATF) é baseada em três princípios: controle na emergência de uma nova onda de crescimento folicular, controle da fase progesterônica e sincronização da ovulação. Os protocolos mais difundidos pelo mundo são do tipo Ovsynch, à base de hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) e prostaglandina ($PGF2\alpha$) (PURSLEY et al., 1997), ou à base de estradiol (E2), P4 via dispositivo intravaginal e $PGF2\alpha$ (BARUSELLI et al., 2012), bem como suas derivações conforme a categoria animal trabalhada.

Para que a emergência de uma nova onda folicular seja alcançada,

é necessário que haja atresia dos folículos em crescimento ou ovulação do folículo dominante, podendo ser alcançado com uma combinação de E2 e P4 ou com a administração de indutores da ovulação, como o GnRH, respectivamente (PURSLEY et al., 1995; Bó et al., 2002; Cavalieri et al., 2006; Vasconcelos et al., 2011). O controle da concentração de P4 pode ser obtido de forma exógena, com uso de dispositivos de P4 ou de forma endógena empregando agentes luteolíticos, como a PGF2 α , para o controle do corpo lúteo (CL) (PURSLEY et al., 1997, BARUSELLI et al., 2004). Por último, a sincronização da ovulação pode ser alcançada com o uso de GnRH ou éster es de estradiol, como benzoato de estradiol (BE) ou cipionato de estradiol (CE) (PURSLEY et al., 1995; AMBROSE et al., 2005; SOUZA et al., 2009; SALES et al., 2012).

O pós-parto é considerado um dos períodos com maiores desafios nutricionais e hormonais tanto para vaca de leite como de corte (BARUSELLI et al., 2004). Neste contexto, o sucesso reprodutivo nesta fase é dependente do retorno da funções hormonais hipotalâmicas-hipofisárias-ovarianas para que haja o desenvolvimento folicular, o estro e a ovulação, com restabelecimento do ciclo estral (CROWE, 2008).

O uso de P4 exógena pode auxiliar no desenvolvimento folicular, estimulando pulsos de GnRH e, conseqüentemente, impulsionando pulsos de LH de vacas em anestro. Portanto, a utilização de P4 como forma de estimular os pulsos de LH se mostra como uma boa alternativa para promover o desenvolvimento folicular no anestro (BARUSELLI et al., 2004). Objetivou-se, então, com o presente estudo, avaliar o efeito da pré-sincronização com P4 injetável na dinâmica folicular ovariana de vacas em anestro tratadas com protocolo de IATF baseado em GnRH/P4.

3. Material e métodos

O experimento foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual de Londrina, Londrina – PR, com o número 004.2022.

3.1- Local e animais

O experimento foi realizado em uma fazenda de corte, localizada no

município de Marília – SP (-21.968331, -50.053444). Foram utilizadas fêmeas bovinas *Bos taurus indicus* (Nelore, N = 50), múltíparas (≥ 2 partos), entre 30 e 60 dias pós-parto, com Escore de Condição Corporal (ECC) variando de 2.0 a 3.0 (escala de 1 a 5) e idade entre 5 e 8 anos. Os animais foram mantidos em piquete de *Urochloa decumbens*, com acesso à água e sal mineral *ad libitum*.

3.2- Tratamento e delineamento

Os animais receberam um protocolo de IATF a base de GnRH/P4 e para isso foram divididos em 2 grupos: Pré-sincronização (N = 27; animais submetidos ao protocolo de pré-sincronização com P4 injetável antes do protocolo de IATF) e Controle (N = 23; animais que não receberam pré-sincronização). No grupo Pré-sincronização (N=27) foi administrado uma dose de 150 mg de P4 injetável (Sincrogest® Injetável, Ourofino, Cravinhos, Brasil), por via intramuscular, 10 dias antes do início do protocolo de sincronização da ovulação (D-10).

No início do protocolo de IATF propriamente dito (D0), todos os animais receberam por via intramuscular 10,5 µg acetato de buserelina (Gonaxal®, Biogénes Bagó, Curitiba, Brasil), associado a inserção intravaginal de um dispositivo de liberação lenta de P4 (0,5g, Cronipres®, Biogénes Bagó), que permaneceu durante 7 dias.

No sétimo dia (D7), realizou-se a retirada do dispositivo de P4, bem como as administrações, por via intramuscular, de 150 µg de D-cloprostenol (Croniben®, Biogénes Bagó); 300 UI de eCG (Ecegon®, Biogénes Bagó, Curitiba, Brasil) e 1 mg de cipionato de estradiol (Croni-cip®, Biogénes Bagó). Neste mesmo dia, foi realizada a pintura na base da cauda, utilizando-se de bastão de cera colorido, com o objetivo de avaliar a manifestação de estro (NOGUEIRA et al., 2019). Vacas que demonstraram pouco ou nenhum sinal de estro (permanência da pintura em maior intensidade) receberam 10,5 µg de GnRH (Gonaxal®, Biogénes Bagó), i.m., no momento da inseminação, que foi realizada 48 horas após a administração do indutor de ovulação (CE), no D9.

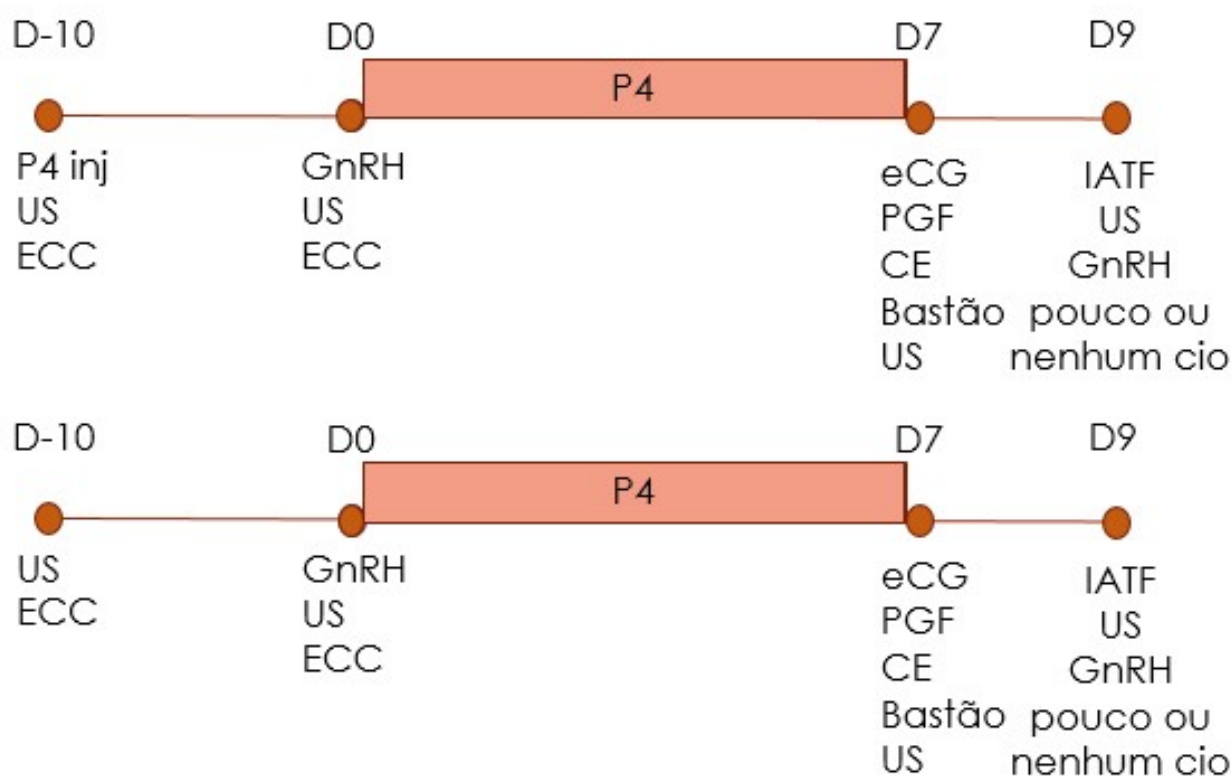


Figura 1 - Delineamento experimental, demonstrando os dois grupos experimentais (Pré-sincronização e Controle) e seus respectivos manejos dos protocolos de IATF. (P4 inj – Progesterona injetável; US – Ultrassonografia; ECC – Escore de condição corporal; eCG – Gonadotrofina coriônica equina; PGF – Prostaglandina; CE – Cipionato de estradiol; IATF – Inseminação artificial em tempo fixo).

3.3- Ultrassonografia

As avaliações ultrassonográficas foram realizadas com auxílio de um aparelho de ultrassom portátil e transdutor linear de 7,5MHz (Domed DM 10V PRO, Valinhos, São Paulo, Brasil), utilizando-se do modo Brilho (B), por via transretal.

No início do experimento (D-10), realizou-se a varredura ultrassonográfica dos dois ovários, com o objetivo de realizar a contagem de folículos antrais (folículos com ≥ 3 mm de diâmetro) em cada animal, conforme descrito por Morotti et al. (2018). Em todos os 4 manejos realizados, utilizou-se da ultrassonografia para avaliação da dinâmica ovariana, obtendo-se o diâmetro do folículo dominante através da média do seu maior diâmetro com o diâmetro perpendicular a este e determinando a presença ou não de estrutura lútea. A condição de anestrose foi

confirmada com base na ausência de CL em dois exames realizados no D-10 e D0. Os animais foram submetidos a um novo exame ultrassonográfico do trato reprodutivo, 30 dias após a IATF, para diagnóstico gestacional.

3.4- Análise estatística

Os dados foram analisados no programa Minitab 19. As variáveis numéricas não apresentaram distribuição normal, portanto os dados foram analisados pelo teste de Mann-Whitney. Os dados binários foram analisados pelo teste exato de Fisher (5%).

4. Resultados

O ECC obtido dez dias antes (D-10) e no início do protocolo de IATF (D0) não diferiu ($p > 0,1$) entre o grupo controle e pré-sincronização, evidenciando um equilíbrio entre os grupos experimentais. Também não foi observado variação ($p > 0,1$) do ECC entre o momento de pré-sincronização e início do protocolo de IATF, independentemente do grupo estudado. O número médio de folículos antrais obtido no grupo controle também não diferiu ($P = 0,16$) do grupo pré-sincronização.

Tabela 1 - Média e erro padrão da média do escore de condição corporal de vacas Nelore em anestro sincronizadas ou não com progesterona injetável previamente ao protocolo de IATF a base de GnRH/progesterona.

Variáveis	Controle (N = 23)	Pré- sincronização (N = 27)	P-valor
ECC D-10	2,4 ± 0,1	2,5 ± 0,1	0,59
ECC D0	2,5 ± 0,1	2,6 ± 0,1	0,43
CFA	40,5 ± 5,7	49,7 ± 6,1	0,16

Considerando o tamanho folicular, não foi observada diferenças ($p > 0.1$) para o diâmetro do maior folículo entre o grupo controle e o pré-sincronização em nenhum dos momentos avaliados (Tabela 2) ao longo do protocolo de IATF.

Tabela 2 - Média e erro padrão da média do diâmetro do maior folículo (mm) de vacas Nelore em anestro sincronizadas ou não com progesterona injetável previamente ao protocolo de IATF a base de GnRH/progesterona.

Dias do protocolo	Controle (N = 23)	Pré-sincronização (N = 27)	P-valor
D-10 (Pré-sinc)	9,2 ± 0,7	10,1 ± 0,6	0,33
D0	9,9 ± 0,6	10,7 ± 0,6	0,33
D7	11,0 ± 0,8	10,1 ± 0,8	0,21
D9 (IATF)	11,3 ± 0,7	12,0 ± 0,7	0,20

O grupo que recebeu pré-sincronização apresentou 77,8% de taxa de presença de CL no D7 do protocolo de IATF (Tabela 3), semelhante ($p = 0,11$) ao resultado encontrado no grupo controle que foi de 56,5%. O grupo controle e pré-sincronização também não diferiram ($p > 0,1$) com relação a taxa de expressão de estro (91,3% e 96,3%) e a taxa de concepção (39,1% e 44,4%), respectivamente.

Tabela 3 - Proporção de animais com corpo lúteo (CL) no D7, com expressão de estro e taxa de concepção de vacas Nelore em anestro sincronizadas ou não com progesterona injetável previamente ao protocolo de IATF a base de GnRH/progesterona.

Variáveis	Controle (N = 23)	Pré-sincronização (N = 27)	P-valor
Proporção de CL no D7, % (n/N)	56,5 (13/23)	77,8 (21/27)	0,11
Taxa de expressão de estro, % (n/N)	91,3 (21/23)	96,3 (26/27)	0,44
Taxa de concepção, % (n/N)	39,1 (9/23)	44,4 (12/27)	0,45

5. Discussão

O tratamento mais comum para o retorno da ciclicidade ovariana no pós-parto se dá pela utilização de fontes exógenas de P4, principalmente através de dispositivos intravaginais, durante 5 a 10 dias (BARUSELLI et al., 2004). A permanência desses dispositivos, por esse determinado período de tempo, leva a uma manutenção da concentração de progesterona plasmática em níveis sublúteos,

levando ao aumento da frequência dos pulsos de LH, permitindo um maior crescimento do folículo dominante, prevenindo sua atresia (STOCK e FORTUNE, 1993; SAVIO et al., 1993), culminando em sua completa maturação e ovulação, mesmo no período de anestro pós-parição (RHODES et al., 2002). Ainda, como resultado desta ovulação, observou-se a formação de um CL funcional, de duração normal – prevenindo a formação de um CL de curta vida (BREUEL et al., 1993; RIVERA et al., 1998) -, capaz de manter uma gestação (WILTBANK et al., 2002).

No presente estudo, a hipótese era de que a pré-sincronização com P4 injetável iria melhorar a responsividade do folículo dominante ao protocolo de IATF a base de GnRH/P4. Sabe-se que folículos menores de 10mm (SARTORI et al., 2001) são menos responsivos aplicação do GnRH ao início do tratamento hormonal, levando a sincronização de cerca de 50% dos animais tratados com o fármaco (GIORDANO et al., 2012). No entanto, nossa hipótese não foi alcançada já que tanto o tamanho do folículo dominante ao início do protocolo, como a taxa de CL no D7 e a taxa de concepção se mostraram semelhante entre o grupo controle e pré-sincronização.

A administração de P4 injetável demonstrou bons resultados de fertilidade em vacas de corte recém-paridas. Em um estudo comercial de larga escala (N = 11.000), Motta e Guerreiro (2021), utilizando-se também de 150 mg de progesterona injetável 10 dias antes do início do protocolo de IATF, observaram um acréscimo de 7% na taxa de concepção em primíparas (acrécimo de 18%) e multíparas (acrécimo de 5,5%), independente da condição corporal. No entanto, este efeito positivo não se repetiu no presente estudo.

Corroborando com nossos resultados, Santos et al. (2018), administrando-se a mesma dose de P4 injetável para pré-sincronização de vacas Nelore com ECC satisfatório ($2,9 \pm 0,1$), entre 30 e 60 dias pós-parto, antes do início do protocolo de IATF a base de E2 + P4, não encontraram benefícios da administração injetável de P4 em relação ao grupo Controle na taxa de concepção (62,86%, vs. 64,6%, $P=0,55$, respectivamente).

Embora não tenha observado efeito significativo ($p = 0,11$), o grupo pré-sincronização apresentou mais que 20 pontos percentuais de vacas com CL no D7 do protocolo de IATF em relação ao controle. Tal evento pode estar associado a uma possível resposta à administração de P4 10 dias antes do seu início do protocolo. O maior acúmulo hipofisário e aumento da frequência dos pulsos de LH,

permitidos pela concentração sérica de P4 do grupo tratado, permitiu um folículo dominante mais responsivo à administração de GnRH no início do protocolo, mesmo que sem diferença estatística no seu maior diâmetro (média de 0,8 mm maior no grupo Pré-sincronização). Possivelmente, o número de animais avaliados no presente estudo foi um limitante em não encontrarmos diferença entre os grupos.

O uso do GnRH como agente sincronizador da emergência folicular, no início do protocolo de IATF, é menos utilizado em fêmeas bovinas *Bos taurus indicus*, devido características inerentes à essa subespécie. Esses animais possuem uma maior concentração sérica de P4 circulante quando comparada à *Bos taurus taurus*, devido, principalmente, à maior esteroidogênese e menor metabolismo hepático dos hormônios esteroides, como a P4 (SARTORI, MONTEIRO JR e WILTBANK, 2016). A P4 elevada ocasiona menor resposta ovulatória ao GnRH devido diminuição da expressão de receptores de LH nos folículos dominantes (DIAS et al., 2014). No entanto, a justificativa para seu uso, neste presente estudo, se deve à maior demanda global por protocolos de IATF com diminuição ou ausência de ésteres de estradiol, como o benzoato de estradiol, amplamente utilizado para esta finalidade no D0.

O ECC estava equilibrado entre os grupos experimentais e permaneceu estável até o início do protocolo de IATF. Ambos os grupos, tinha score aproximado de 2,5 (escala de 1 a 5), valor muito próximo ao ECC 3 que é considerado valor médio ideal para equilíbrio sanitário e reprodutivo dos animais (MACHADO et al., 2008). Neste contexto, destaca-se que é necessária uma condição corporal mínima para que ocorra a manutenção das funções vitais básicas e o pleno funcionamento das atividades reprodutivas. Frequentemente desequilíbrios nutricionais acentuam os problemas reprodutivos, sendo que fatores como a permanência exclusiva em sistemas extensivos de pastejo, subnutrição, ocorrência da lactação e presença do bezerro ao pé, podem levar ao prolongamento do anestro pós-parto devido ao insucesso da ovulação dos folículos dominantes que se desenvolvem nesse período (MONTIEL e AHUJA, 2005).

Vacas de corte com ECC mais próximo a 2,0 tiveram maior anestro pós-parto do que aquelas que pariram próximo ao ECC adequado (WRIGHT et al., 1992), sendo que animais com melhor ECC retornaram à atividade ovariana cíclica mais precocemente (KUNKLE et al., 1994). Portanto, um dos principais impactos do baixo ECC à parição é a intensificação do anestro pós-parto, com aumento do intervalo

entre partos e redução nas taxas de concepção e prenhez, tanto utilizando-se monta natural (GRECELLÉ et al., 2006) quanto inseminação artificial (SANTOS et al., 2009). O índice pluviométrico anual da região do experimento foi de 1417,6mm, sendo que no trimestre que antecedeu o experimento houve precipitação de apenas 129,4mm (INMET, 2021), valor que contribui para a baixa oferta de forrageiras, reduzindo o ECC dos animais devido a um balanço energético negativo, consequentemente, reduzindo os índices reprodutivos destes.

6. Conclusão

No presente estudo, a utilização de 150 mg de progesterona injetável, dez dias antes do início de um protocolo de IATF em fêmeas bovinas *Bos taurus indicus*, durante anestro pós-parto, não se mostrou eficiente em promover benefícios à condição ovariana, principalmente no que se refere ao diâmetro do folículo dominante, taxa de CL, taxa de expressão de estro e taxa de concepção.

Referências.

- Ambrose, J.D.; Kastelic, J.P.; Rajamahendran, R.; Aali, M.; Dinn, N. 2005. Progesterone (CIDR)-based timed AI protocols using GnRH, porcine LH or estradiol cypionate for dairy heifers: ovarian and endocrine responses and pregnancy rates. **Theriogenology** 64: 1457-1474.
- Barros, C.M. et al. Synchronization of ovulation in beef cows (*Bos indicus*) using GnRH, PGF₂alpha and estradiol benzoate. **Theriogenology**. v.15, p.1121-34, 2000.
- Baruselli, P. S., Marques, M. O., Carvalho, N. A. T., Madureira, E. H., & Campos Filho, E. P. (2002). Efeito de diferentes protocolos de inseminação artificial em tempo fixo na eficiência reprodutiva de vacas de corte lactantes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, 26(3), 218-221.
- Baruselli, P.S.; Bó, G.A.; Reis, E.L.; Marques, M.O. 2004. Inseminação artificial em tempo fixo em bovinos de corte. In: **1º Simpósio internacional de reprodução animal aplicada**, Londrina. Anais [...]. p. 155-165.
- Baruselli, P.S.; Sales, J.N.S.; Sá Filho, M.F. 2010. Atualização dos protocolos de IATF e TETF. In: 4º Simpósio internacional de reprodução animal aplicada, v.4, Londrina. Anais... Londrina: **SIRAA**, 2010, p. 166-185.
- Baruselli, P.S.; Sales, J.N.S.; Sala, R.V.; Vieira, L.M.; Sá Filho, M.F. 2012. History, evolution and perspectives of timed artificial insemination programs in Brazil. **Animal Reproduction** 9: 139-152.
- Bó, G.A.; Adams, G.P.; Caccia, M.; Martinez, M.; Pierson, R.A.; Mapletoft, R.J. 1995. Ovarian follicular wave emergence after treatment with progesterone and estradiol in cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 39, p. 193-204.
- Bó, G.A.; Baruselli, P.S.; Moreno, D.; Cutaia, L.; Caccia, M.; Tribulo, R.; Tribulo, H.; Mapletoft, R.J. 2002. The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. **Theriogenology** 57: 53-72.
- Bó, G.A.; de la Mata, J.J.; Baruselli, P.S.; Menchaca, A. 2016. Alternative programs for synchronizing and resynchronizing ovulation in beef cattle. **Theriogenology** 86: 388-396.
- Breuel, K.F., Lewis, P.E., Inskoop, E.K., Butcher, R.L., 1993. Endocrine profiles and follicular development in early-weaned postpartum beef cows. **J. Reprod. Fertil.** 97, 205–212.
- Cavaliere, J.; Hepworth, G.; Fitzpatrick, L.A.; Shephard, R.W.; Macmillan, K.L. 2006. Manipulation and control of the estrous cycle in pasture-based dairy cows. **Theriogenology** 65: 45-64.
- Crowe MA. Resumption of ovarian cyclicity in post-partum beef and dairy cows. **Reprod Domest Anim.** 2008 Nov;43 Suppl 5:20-8. doi: 10.1111/j.1439-0531.2008.01210.x. PMID: 19068029.
- Dias, H.P.; Albuquerque, J.P.; Castilho, A.C.S.; Vasconcelos, J.L.M. 2014. High

progesterone concentration has a negative effect on the expression of LH receptors in granulosa cells from Nelore heifers. **Anim Reprod**, 11:366. (abstract).

Giordano, J. O., M. C. Wiltbank, J. N. Guenther, R. Pawlisch, S. Bas, A. P. Cunha, and P. M. Fricke. 2012. Increased fertility in lactating dairy cows resynchronized with Double-Ovsynch compared with Ovsynch initiated 32 d after timed artificial insemination. **J. Dairy Sci.** 95:639–653.

Grecellé, R. A.; Barcellos, J. O. J.; José, B. N.; Costa, E. C.; Prates, E. R. 2006. Taxa de prenhez de vacas Nelore x Hereford em ambiente subtropical sob restrição alimentar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 4, p.1423-1430.

Lalman, D.L.; Keisler, D.H.; Williams, J.E.; Scholljegerdes, E.J.; Mallett, D.M. Influence of postpartum weight and body condition change on duration of anestrus by undernourished suckled beef heifers. **Journal of Animal Science**, v. 75, n. 8, p.2003-2008, 1997.

Machado, R.; Corrêa, R. F.; Barbosa, R. T.; Bergamaschi, M. A. C. M. 2008. Escore da condição corporal e sua aplicação no manejo reprodutivo de ruminantes. Circular Técnica n. 57, **Embrapa Pecuária Sudeste**, São Carlos.

Melo, L.F.E.; Nascimento, A.B.; Drum, J.N.; Spies, C.; Monteiro Junior, P.L.J.; Prata, A.B.; Wiltbank, M.C.; Sartori, R. 2016. Circulating progesterone, follicular dynamics, and fertility in Holstein cows during reuse of intravaginal progesterone devices for fixed-time AI. **Animal Reproduction** 13: 433.

Monteiro, P.L.J.; Borsato, M.; Silva, F.L.M.; Prata, A.B.; Wiltbank, M.C.; Sartori, R. 2015. Increasing estradiol benzoate, pretreatment with gonadotropin-releasing hormone, and impediments for successful estradiol-based fixed-time artificial insemination protocols in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, 98: 3826-3839.

Montiel, F.; Ahuja, C. 2005. Body condition and suckling as factors influencing the duration of postpartum anestrus in cattle: a review **Animal Reproduction Science**; 85:1-26.

Morotti F, Moretti R, Santos GMG, Silva-Santos KC, Cerqueira PHR, Seneda MM. Ovarian follicular dynamics and conception rate in *Bos indicus* cows with different antral follicle counts subjected to timed artificial insemination. **Anim Reprod Sci.** 2018;188:170-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2017.12.001>. PMID:29224967.

Motta, Igor Garcia.; Guerreiro, Bruna. Pré-sincronização, a estratégia para aumentar a prenhez de vacas de corte paridas. **Ourofino Saúde Animal**, 2021. Disponível em: <<https://www.ourofino.saudeanimal.com/ourofinoemcampo/categoria/artigos/pre-sincronizacao-estrategia-para-aumentar-prenhez/>>. Acesso em: 22 de jul. de 2022.

Nogueira, E., Silva, M. R., Silva, J. C. B., Abreu, U. P. G., Anache, N. A., Silva, K. C.,... Rodrigues, W. B. (2019). Timed artificial insemination plus heat I: Effect of estrus expression scores on pregnancy of cows subjected to progesterone-estradiol-based protocols. *Animal*, 13(10), 2305-2312. doi: 10.1017/ S1751731119000442

Norman, H.D.; Wright, J.R.; Hubbard, S.M.; Miller, R.H.; Hutchison, J.L. 2009. Reproductive status of Holstein and Jersey cows in the United States. **Journal of**

Dairy Science 92: 3517-3528.

PIB-AGRO/CEPEA: PIB DO AGRONEGÓCIO FECHA 2018 COM ESTABILIDADE. **Cepea** **ESALQ-USP**, 2018. Disponível em: <<https://www.cepea.esalq.usp.br/br/releases/pib-agro-cepea-pib-do-agronegocio-fecha-2018-com-estabilidade.aspx>>. Acesso em: 22 de jul. de 2022.

Produto Interno Bruto – PIB. **IBGE**, 2019. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/explica/pib.php>>. Acesso em: 22 de jul. de 2022.

Pursley, J.R.; Mee, M.O.; Wiltbank, M.C. 1995. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2 α and GnRH. **Theriogenology** 44: 915-923.

Pursley, J.R.; Kosorok, M.R.; Wiltbank, M.C. 1997. Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. **Journal of Dairy Science** 80: 301-306.

Rivera, G.M., Goñi, C.G., Chaves, M.A., Ferrero, S.B., Bó, G.A., 1998. Ovarian follicular wave synchronization and induction of ovulation in postpartum beef cows. **Theriogenology** 49, 1365–1376.

Santos APC, Orlandi RE, Bottino MP, Simões LMS, Lima EA, Silva AG, Guerreiro BM, Bastos MR, Freitas BG, Bertoncini FLS, Santos JA, Sales JNS. 2018. Effect of pre-exposition to injectable long acting progesterone on pregnancy rates of suckled beef cows submitted to the estrous synchronization protocol. **Anim Reprod**, 15:328. (Abstract).

Sartori R, Fricke PM, Ferreira JC, Ginther OJ, Wiltbank MC. Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. **Biol Reprod**. 2001 Nov;65(5):1403-9. doi: 10.1095/biolreprod65.5.1403. PMID: 11673256.

Sartori, R.; Monteiro Jr, P.L.J.; Wiltbank, M.C. 2016. Endocrine and metabolic differences between *Bos taurus* and *Bos indicus* cows and implications for reproductive management. **Anim. Reprod.**, v.13, n.3, p.168-181.

Sales, J.N.S.; Carvalho, J.B.P.; Crepaldi, G.A.; Cipriano, R.S.; Jacomini, J.O.; Maio, J.R.G.; Souza, J.C.; Nogueira, G.P.; Baruselli, P.S. 2012. 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** 78: 510-516.

Silva-Santos, K. C. et al. – Female Reproductive Physiology: Current Concepts and Advanced Perspectives. In: **Biotechnology of Animal Reproduction**. New York: Nova Science Publishers, 2016.

Souza, A.H.; Viechnieski, S.; Lima, F.A.; Silva, F.F.; Araújo, R.; Bó, G.A.; Wiltbank, M.C.; Baruselli, P.S. 2009. Effects of equine chorionic gonadotropin and type of ovulatory stimulus in a timed-AI protocol on reproductive responses in dairy cows. **Theriogenology** 72: 10-21.

Stock, A.E., Fortune, J.E., 1993. Ovarian follicular dominance in cattle: relationship between prolonged growth and the ovulatory follicle and endocrine parameters.

Endocrinology 132, 1108–1114.

Tortorella, R.D.; Ferreira, R.; Santos, J.T.; Andrade Neto, O.S.; Barreta, M.H.; Oliveira, J.F.; Gonçalves, P.B.; Neves, J.P. 2013. The effect of equine chorionic gonadotropin on follicular size, luteal volume, circulating progesterone concentrations, and pregnancy rates in anestrous beef cows treated with a novel fixed-time artificial insemination protocol. **Theriogenology** 79: 1204-1209.

Vasconcelos, J.L.M.; Jardina, D.T.G.; Sa Filho, O.G.; Aragon, F.L.; Veras, M.B. 2011. Comparison of progesterone-based protocols with gonadotropin-releasing hormone or estradiol benzoate for timed artificial insemination or embryo transfer in lactating dairy cows. **Theriogenology** 75: 1153-1160.

Wiltbank, M.C., Gumen, A., Sartori, R., 2002. Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. **Theriogenology** 57, 21–52.

Wright, I. A., Rhind, S. M. and Whyte, T. K. 1992. A note on the effects of pattern of food intake and body condition on the duration of the post-partum anoestrous period and LH profiles in beef cows. **Animal Production** 54: 143–146.

https://www.cepea.esalq.usp.br/upload/kceditor/files/Cepea_CNA_PIB_JAn_Dez_2021_Mar%C3%A7o2022.pdf (Acesso em 05/07/2022)

<https://www.ibge.gov.br/explica/pib.php> (Acesso em 05/07/2022)

<https://portal.inmet.gov.br/dadoshistoricos> (Acesso em 02/09/2022)

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com o fim do presente estudo, pode-se concluir que o uso da pré-sincronização com P4 injetável em vacas em anestro pós-parto não mostrou benefícios em induzir a ovulação no D0 do protocolo de IATF com GnRH quando comparado às vacas que não receberam a P4.