

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**UTILIZAÇÃO DE PROGESTERONA INJETÁVEL DE LONGA AÇÃO NO  
MANEJO REPRODUTIVO DE FÊMEAS BOVINAS DE CORTE**

**DIMAS CORRÊA ROCHA**

PORTO ALEGRE

2011

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**UTILIZAÇÃO DE PROGESTERONA INJETÁVEL DE LONGA AÇÃO NO  
MANEJO REPRODUTIVO DE FÊMEAS BOVINAS DE CORTE**

Tese apresentada como requisito parcial  
para a obtenção do Grau de Doutor em Ciências  
Veterinárias na área de Reprodução Animal

**Orientador: Prof. Dr. Ricardo Macedo Gregory**

Co-orientador: Prof. Dr. Rodrigo Costa Mattos

DIMAS CORRÊA ROCHA

Porto Alegre, 2011

## CIP - Catalogação na Publicação

Rocha, Dimas Corrêa  
UTILIZAÇÃO DE PROGESTERONA INJETÁVEL DE LONGA  
AÇÃO NO MANEJO REPRODUTIVO DE FÊMEAS BOVINAS DE  
CORTE / Dimas Corrêa Rocha. -- 2011.  
86 f.

Orientador: Ricardo Macedo Gregory.  
Coorientador: Rodrigo Costa Mattos.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio  
Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de  
Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre,  
BR-RS, 2011.

1. Reprodução animal. 2. Reprodução de bovinos. 3.  
Manipulação do ciclo estral. I. Gregory, Ricardo  
Macedo, orient. II. Mattos, Rodrigo Costa, coorient.  
III. Título.

Dimas Corrêa Rocha

**UTILIZAÇÃO DE PROGESTERONA INJETÁVEL DE LONGA AÇÃO NO  
MANEJO REPRODUTIVO DE FÊMEAS BOVINAS DE CORTE**

Aprovada em 09 de maio de 2011

APROVADO POR:

---

Prof. Dr. Ricardo Macedo Gregory  
Orientador e Presidente da Comissão

---

Prof. Dr. Cláudio Alves Pimentel  
Membro da Comissão

---

Prof. Dr. Eduardo Malschitzky  
Membro da Comissão

---

Prof. Dr. Luiz Alberto Oliveira Ribeiro  
Membro da Comissão

## AGRADECIMENTOS

Os agradecimentos iniciais são ao amigo e orientador Prof. Dr. Ricardo Macedo Gregory pelo apoio, confiança, incentivo, ensinamentos e pela oportunidade dada para a realização deste trabalho.

Agradeço a minha esposa, Bianca Petrucci Rocha, muito obrigado pelo amor, carinho, parceria de trabalho e por tudo que hoje nos faz felizes.

A minha filha, Martina Rocha, por todas as alegrias proporcionadas.

Agradeço aos meus pais, Rosangela e João Marcos Rocha, pelo apoio incondicional em todos os momentos de minha vida.

Às minhas irmãs, Deise, Joana e Joice, agradeço pelo carinho e incentivo.

Ao REPROLAB, em especial aos Prof. Rodrigo Costa Mattos e Prof<sup>a</sup>. Maria Inês Jobim, bolsistas e estagiários agradeço pelo apoio nos experimentos e pelos bons momentos nestes últimos anos.

Aos Laboratórios Allignani Hnos. S. R. L., pelo apoio financeiro e pela concessão de bolsa ao autor.

Às empresas Agropecuárias Estância do Cuentrilho, Estância da Formosa, Fazenda Santa Thereza e Greenfield Ltda, agradeço pela confiança, profissionalismo e amizade sempre presentes.

Aos grandes amigos e colegas, Mariana Neuls, Marianne Lamprecht, Fernando Furtado Velloso e Andrei Beskow, pela amizade, força, torcida e por muitos conhecimentos compartilhados.

Aos meus amigos de sempre que, de longe ou de perto, torcem por mim e eu por eles.

Agradeço em especial à UFRGS por me dar o devido suporte para a realização deste sonho.

## RESUMO

### UTILIZAÇÃO DE PROGESTERONA INJETÁVEL DE LONGA AÇÃO NO MANEJO REPRODUTIVO DE FÊMEAS BOVINAS DE CORTE

Tese de Doutorado

Autor: Dimas Corrêa Rocha

Orientador: Ricardo Macedo Gregory

O objetivo deste estudo foi determinar a farmacocinética de uma solução injetável de progesterona concentrada de longa ação. A partir deste conhecimento, elaborar novos experimentos para testar a funcionalidade do produto em protocolos de sincronização de estro e posteriormente avaliar seus efeitos na esfera reprodutiva da fêmea bovina. O experimento 1 determinou a concentração de progesterona plasmática ao longo do tempo a partir do tratamento com uma solução injetável de progesterona concentrada de longa ação (MAD4<sup>®</sup>), variando a dose e a via de administração, no sentido de demonstrar a farmacocinética do produto. Foram utilizadas 08 vacas Braford ovariectomizadas. A concentração de progesterona utilizada nos tratamentos 1 e 2 foi 250mg por via IM e SC. No tratamento 3 utilizou-se dose de 375mg de progesterona SC. O experimento 2 analisou o efeito de um tratamento hormonal com progesterona em vacas de corte em anestro pós-parto, avaliando a dinâmica folicular, níveis plasmáticos de progesterona e taxa de prenhez final. Foram utilizadas 09 vacas Braford. O grupo controle (n=4) recebeu no dia 0 estradiol 2mg IM e 7 dias depois PGF2alfa. O grupo tratamento (n=5) recebeu o mesmo protocolo com a adição de 250mg SC de progesterona no dia 0. Todas as vacas foram entouradas a partir do dia 7. O experimento 3 avaliou a sincronização de estros e a taxa de prenhez em novilhas de corte previamente tratadas com progesterona, estradiol e prostaglandina. Utilizou-se 36 novilhas, da raça Braford. O primeiro grupo T1 (n=16), no dia 0, recebeu 2mg de estradiol IM e 125mg de progesterona IM e 7 dias depois, uma aplicação de PGF2alfa. O segundo grupo T2 (n=20), recebeu o mesmo tratamento, sendo que, no dia 0, a aplicação de 375mg SC. As novilhas foram submetidas à inseminação convencional por 5 dias após aplicação de PGF2alfa e depois repassadas com touros. O experimento 4 avaliou a taxa de prenhez em vacas de corte com cria ao pé em anestro previamente

tratadas com progesterona, estradiol e prostaglandina. Utilizou-se 140 vacas Angus e 128 Braford, com 30 a 60 dias pós-parto. O grupo controle (n=136) foi colocado com touros por um período de 60 dias. O grupo tratamento, no dia 0, recebeu estradiol 2mg IM e 250mg de progesterona injetável SC, sendo que após 2 dias foram colocadas com touros por um período de 58 dias. No experimento 1, o T1 250mg IM, T2 250mg SC e o T3 375mg SC atingiram o pico de progesterona as 12hs ( $2,48 \pm 2,05$ ), 24hs ( $3,23 \pm 2,15$ ) e 24hs ( $4,98 \pm 0,57$ ) respectivamente, mantendo níveis superiores a 1ng/ml até 24hs, 96hs e >192hs, respectivamente. No experimento 2, no dia 9 o diâmetro médio dos folículos do grupo tratamento foi maior numericamente quando comparado ao grupo controle (9,84mm vs. 8,03mm, respectivamente), os níveis de progesterona no grupo tratamento ( $7,94 \pm 5,29$  ng/ml) tenderam a ser maiores do que no grupo controle ( $1,73 \pm 2,04$ ng/ml), ao final do experimento ( $P < 0,06$ ), a taxa de prenhez foi de 80% e 25% para tratamento e controle. No experimento 3, a taxa de manifestação de estro foi maior no tratamento 1 quando comparada ao tratamento 2 (93,2 vs. 20,0%, respectivamente),  $P < 0,05$ . A prenhez final foi semelhante entre os grupos. No experimento 4, avaliando os períodos de monta, houve aos 40 dias uma maior prenhez no grupo tratamento ( $P < 0,05$ ). A taxa de prenhez ao final da temporada de monta foi maior no grupo tratamento comparado ao grupo controle,  $P < 0,05$  (51,52 vs. 29,41 %, respectivamente). Concluindo, doses e vias diferentes apresentaram concentrações plasmáticas diferentes em alguns momentos, caracterizando cada via de administração e doses utilizadas. O diâmetro folicular, os níveis plasmáticos de progesterona e prenhez final aumentaram numericamente após tratamento de progesterona e estradiol em vacas de corte em anestro pós-parto. O tratamento de novilhas com progesterona na dose de 375mg SC foi capaz de bloquear a manifestação de estro, não sendo indicada para este tipo de sincronização. Por outro lado, a sincronização de estros com 125mg IM de progesterona associada ao estradiol e PGF2alfa foi eficiente. A taxa de prenhez final não foi afetada pelas doses de progesterona. O tratamento de vacas de corte com cria ao pé com progesterona injetável de longa ação na dose de 250mg via SC associado ao estradiol foi capaz de antecipar as concepções e aumentar a taxa de prenhez final.

**Palavras-chave:** gado de corte, progesterona, farmacocinética, MAD-4<sup>®</sup>, indução hormonal, prenhez.

## **ABSTRACT**

### **USE OF LONG-ACTING PROGESTERONE ON REPRODUCTIVE MANAGEMENT OF BEEF COWS**

*Doctor of Science Thesis*

*Author: Dimas Corrêa Rocha*

*Adviser: Ricardo Macedo Gregory*

*This study aimed to determine the pharmacokinetics of a long-action progesterone. To assist on new experiments testing the product on oestrus synchronization and analyzing the effects on breeding beef cattle. Experiment 1 verified serum progesterone concentration in ovariectomised cows to determine pharmacokinetics of MAD-4<sup>®</sup> product. A group of 08 Braford cows received 250 mg of progesterone by different routes of administration: intramuscular (treatment 1) or subcutaneous (treatment 2). In treatment 3, 375mg of progesterone was administered SC. Experiment 2 identified the effect of a hormone treatment with progesterone (MAD-4<sup>®</sup>) on beef cows in postpartum anestrous, assessing the follicular dynamics, plasma levels of progesterone and following pregnancy rate. Nine braford suckling cows were used. The control group (n=4), received on day 0 estradiol 2mg IM and after 7 days an application of prostaglandin. The treatment group (n=5), received the same protocol as the control group with the addition on day 0 of 250mg progesterone SC. The cows were exposed to one bull from day 7 to day 60. Experiment 3 evaluated estrous synchronization and the rate of pregnancy in beef heifers previously treated with progesterone, estradiol and prostaglandin. Thirty six Braford heifers were used. The first group n = 16, T1, on day 0 received of estradiol 2 mg IM and 125mg of progesterone IM and after 7 days prostaglandin was administered. The second group n = 20, T2, received the same protocol with different concentration of progesterone on day 0 (375mg SC). After application of prostaglandin the heifers were inseminated for 5 days and than bred with bulls. Experiment 4 aimed to assess the pregnancy rate in multiparous suckling beef cows previously treated with progesterone, estradiol and prostaglandin. Angus (140) and Braford (128) cows with 30 to 60 days postpartum were used. The control group n = 136 was bred with bulls for a period of 60 days. The treatment group on day 0 received of estradiol 2 mg IM and 250 mg progesterone SC,*



and after 2 days was placed with bulls. In experiment 1, treatment 1 (250mg IM), treatment 2 (250mg SC) and treatment 3 (375mg SC) reached the progesterone peak at 12hs ( $2.48 \pm 2.05$ ), 24hs ( $3.23 \pm 2.15$ ) and 24hs ( $4.98 \pm 0.57$ ), and maintained serum progesterone levels higher than 1ng/ml at 24hs, 96hs and >192hs, respectively. In experiment 2, follicular diameter on day 9 was 9.84mm vs. 8.03mm treatment and control groups respectively. The progesterone plasma levels in the treated group ( $7.94 \pm 5.29$  ng/ml) tended to be higher than the control group ( $1.73 \pm 2.04$  ng/ml) at the end of the experiment ( $P < 0.06$ ). The pregnancy rate was 25% (1/4) in the control group and 80% (4/5) in the treated group. In experiment 3 the manifestation of oestrus was superior in T1 when compared to T2 (93.2 vs. 20.0%, respectively,  $P < 0.05$ ). The final pregnancy rate was similar between the groups. In experiment 4, there was a higher pregnancy rate ( $P < 0.05$ ) in the treatment group at the 40th day evaluation. The pregnancy rate at the end of the breeding season was higher in the treatment group compared to the control group (51.52 vs. 29.41%, respectively,  $P < 0.05$ ). Treatment of ovariectomised cows with long-acting injectable progesterone in different doses and different routes of administration resulted in significant different serum concentrations at some moments, according to route of administration and doses used. The ovarian follicular dynamics, plasma levels of progesterone and pregnancy rate showed positive numeric differences for the variables analyzed, although there was no statistical difference in postpartum beef cows. The treatment of heifers with long-acting injectable progesterone using 375mg SC was able to block the manifestation of oestrus, not being indicated for this type of synchronization. The synchronization of oestrus with progesterone 125mg IM and estradiol associated to prostaglandin was efficient. The final pregnancy rate was not affected by progesterone doses. The treatment of multiparous suckling beef cows with long-acting injectable progesterone (250 mg SC) associated with estradiol was able to anticipate conception and increase the rate of pregnancy.

**Keywords:** beef cattle, progesterone, pharmacokinetics, MAD®-4, hormone treatment, pregnancy.

## LISTA DE ABREVIATURAS

BE	benzoato de estradiol
CC	condição corporal
CIDR	Controlled Intravaginal Drug Realease
CL	corpo lúteo
E2	estradiol
E-17 $\beta$	estradiol natural
eCG	gonadotrofina coriônica eqüina
FSH	hormônio folículo-estimulante
GnRH	hormônio liberador de gonadotrofina
h	hora
IA	inseminação artificial
IM	intramuscular
IATF	inseminação artificial a tempo fixo
kg	quilograma
LH	hormônio luteinizante
MAP	Acetato de Medroxiprogesterona
mcg	microgramas
mg	miligramas
MHz	megahertz
mL	mililitro
mm	milímetro
P4	progesterona
PGF2alfa	prostaglandina
RS	Rio Grande do Sul
SC	subcutâneo
TE	transferência de embrião
VE	valerato de estradiol

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>11</b>
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>13</b>
<b>2.1 Importância do manejo reprodutivo eficiente.....</b>	<b>13</b>
<b>2.2 Hormônios.....</b>	<b>14</b>
<b>2.3 Fisiologia Reprodutiva da fêmea bovina.....</b>	<b>16</b>
2.3.1 Puberdade na fêmea bovina.....	20
2.3.2 Atividade ovariana no pós-parto na fêmea bovina.....	21
2.3.3 Perfil plasmático de progesterona na fêmea bovina .....	22
<b>2.4 Importância da progesterona na reprodução.....</b>	<b>23</b>
<b>2.5 Alternativas do uso da progesterona como hormonioterapia.....</b>	<b>25</b>
<b>2.6 Indução hormonal da puberdade.....</b>	<b>28</b>
<b>2.7 Indução hormonal da ciclicidade pós-parto.....</b>	<b>30</b>
<b>2.8 Efeito da condição corporal sobre o desempenho reprodutivo.....</b>	<b>32</b>
<b>2.9 Avaliação do status reprodutivo por ultrassonografia.....</b>	<b>33</b>
<b>3 ARTIGO 1: NÍVEIS SÉRICOS DE PROGESTERONA EM VACAS OVARIECTOMIZADAS TRATADAS COM MAD4<sup>®</sup> COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES E VIAS DE ADMINISTRAÇÃO .....</b>	<b>35</b>
<b>4 ARTIGO 2: AVALIAÇÃO DA DINÂMICA FOLICULAR DE VACAS EM ANESTRO TRATADAS COM PROGESTERONA INJETÁVEL DE LONGA AÇÃO, ESTRADIOL E PROSTAGLANDINA .....</b>	<b>46</b>
<b>5 ARTIGO 3: SINCRONIZAÇÃO DO ESTRO EM NOVILHAS UTILIZANDO PROGESTERONA INJETÁVEL ASSOCIADA AO ESTRADIOL E PROSTAGLANDINA .....</b>	<b>56</b>
<b>6 ARTIGO 4: EFEITO DO TRATAMENTO COM PROGESTERONA INJETÁVEL DE LONGA AÇÃO ASSOCIADO AO ESTRADIOL SOBRE A TAXA DE PREENHEZ DE VACAS COM CRIA AO PÉ .....</b>	<b>65</b>
<b>7 CONCLUSÃO.....</b>	<b>75</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>76</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A pecuária de corte tem competido por espaço físico-econômico com culturas agrícolas de alto potencial produtivo. Dentro deste contexto, passa-se a exigir cada vez mais produtividade dentro de um sistema pecuário, especialmente na etapa de cria, tornando-se cada vez mais importante objetivar a produção de um bezerro por vaca ano, ou algo muito próximo a isto (BERETTA *et al.*, 2001).

O índice geral de natalidade do RS que, apesar de possuir empresas rurais com elevadíssimo nível de produção, se encontra em torno de 50-60%, sendo que novilhas e vacas solteiras apresentam índices entre 75-95% de prenhez na temporada reprodutiva. Esse decréscimo de produção é atribuído às vacas com cria ao pé que, quando adultas, apresentam cerca de 20 a 25% de repetição de cria anualmente e, quando de primeira cria, apenas 6 a 15% (CACHAPUZ, 1991). Dessa forma, a maioria das fêmeas bovinas produz apenas um bezerro a cada dois anos, ficando o intervalo médio parto-concepção em torno de 300 dias (MORAES, 2000; NEVES *et al.*, 1999). As principais causas desses desempenhos, que demonstram a baixa eficiência reprodutiva das vacas com cria ao pé, é o anestro pós-parto prolongado e a puberdade tardia (SHORT *et al.*, 1990; BARUSELLI & MARQUES, 2002).

A utilização de protocolos hormonais contendo a associação de progesterona (implantes intravaginais - controlled internal drug-release) com estradiol, nos anos 2000, foram amplamente difundidos no intuito de propiciar antecipação da concepção, inseminação artificial de vacas com cria ao pé, retomada da atividade cíclica pós-parto, uniformização da produção de terneiros, entre tantos outros benefícios diretos e indiretos (BARUSELLI & MARQUES, 2002; CUTAIA *et al.*, 2003; STEVERSON *et al.*, 2006).

O uso da progesterona e dos progestágenos visa à preparação do útero para a gestação e sensibilização do hipotálamo, da hipófise e ovários, para responderem às gonadotropinas endógenas e exógenas (MACMILLAN *et al.* 2003; RIVERA *et al.*, 1997).

A utilização de progestágenos na sincronização de estros de bovinos é datada dos anos 50, inicialmente sendo administrados por um período de 11 a 24 dias. Posteriormente, em decorrência de baixos índices de fertilidade após o tratamento, o período de administração passou para 7 a 9 dias, com melhoria da fertilidade. Os principais métodos de administração utilizados para a suplementação com

progestágenos são: esponjas intravaginais impregnadas com acetato de medroxiprogesterona (MAP) ou progesterona natural, administração de gestágenos no alimento, implantes subcutâneos com Norgestomet, dispositivos intravaginais de silicone com liberação lenta de progesterona e progestenora injetável (ULBERG *et al.* 1951, WILTBANK *et al.*, 1965; MACMILLAN & PETERSON, 1993; CAVESTANY, 1996; MORAES, 2002; CAVESTANY, 2008).

Existe pouca informação a respeito do uso parenteral de progesterona de longa ação em protocolos de sincronização e seus efeitos nos níveis plasmáticos de progesterona na espécie bovina (FERNANDEZ & SALAZAR, 2007).

Os objetivos deste estudo foram determinar a concentração de progesterona sérica ao longo de um determinado tempo a partir do tratamento com uma solução injetável de progesterona concentrada de longa ação, variando a dose e a via de administração, no sentido de demonstrar a farmacocinética deste produto. A partir deste conhecimento, elaborar novos experimentos para testar a funcionalidade do produto em protocolos de sincronização de estro e posteriormente avaliar seus efeitos na esfera reprodutiva da fêmea bovina.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Importância do manejo reprodutivo eficiente

Para melhorar a eficiência reprodutiva o bom nível de manejo da propriedade é fator imprescindível, uma vez que as características reprodutivas são de baixa herdabilidade e, conseqüentemente, são muito mais influenciadas pelo meio, principalmente pelo manejo nutricional (VASCONCELOS, 1998; CUTAIA *et al.*, 2003).

A partir das mudanças que vêm influenciando a utilização dos recursos naturais pelos sistemas de produção na pecuária de corte, a cria bovina tem sido conduzida à utilização de áreas marginais. À agricultura e à fase de terminação são destinados os melhores solos e pastagens. Como conseqüências, as estratégias de manejo da cria, agora em ambientes mais limitados, tornam-se cada vez mais importantes para a eficiência dos sistemas. Hoje, além de aumentar a produtividade, é necessário produzir com sustentabilidade, garantindo a continuidade da exploração animal num dado espaço geográfico (MORAES, 2002; BARCELLOS *et al.*, 2003).

A eficiência reprodutiva é um dos principais fatores que contribuem para melhorar os resultados das empresas pecuárias. Os objetivos dos procedimentos de manejo reprodutivo devem ser os de otimizar a eficiência reprodutiva do rebanho (BÓ *et al.*, 2003; CUTAIA *et al.*, 2003). Aumentadas taxas de desmame representam o melhor valor de ajuste econômico para produtores na etapa de cria, simplesmente porque sem terneiros para vender, nenhuma outra característica tem muito significado (MELTON, 1995). Sendo assim, o principal alvo de um manejo reprodutivo é obter o máximo número de fêmeas prenhas em curto período de tempo. Aumentar a taxa de concepção é difícil, então o meio mais factível de elevar a taxa de prenhez é aumentando-se a detecção de estros ou o número de vacas em estro (CAVESTANY *et al.*, 2003).

Entre as principais limitações para se obter um bezerro/vaca/ano em rebanhos de corte (mantendo assim uma alta eficiência), pode-se ressaltar anestro pós-parto e puberdade tardia (BARUSELLI & MARQUES, 2002)

No Rio Grande do Sul, as novilhas são acasaladas pela primeira vez, na maioria das situações, com uma idade média de 36 meses ou mais. A principal conseqüência disto é a manutenção de um maior número de categorias improdutivas no rebanho,

ocasionando um maior custo de manutenção do sistema e, com isso, uma dificuldade em aumentar a receita (LOBATO & AZAMBUJA, 2002).

A produtividade do sistema de cria, em termos de peso de terneiro desmamado por área, aumenta conforme diminui a idade ao primeiro parto das fêmeas, mas a magnitude desta resposta é dependente da taxa de natalidade do rebanho. Somente com altas taxas de natalidade é justificável, do ponto de vista biológico, reduzir a idade ao primeiro parto de 3 para 2 anos. As características mais relacionadas ao resultado econômico da cria, como as porcentagens de natalidade, desmame e o peso ao desmame, não são afetadas pela idade ao primeiro parto (BERETTA *et al.*, 2001; BARCELLOS *et al.*, 2003).

O anestro pós-parto pode reduzir a eficiência reprodutiva por atrasar o primeiro serviço, pois as vacas que não apresentam estro nos primeiros 30 dias pós-parto requerem mais serviços por concepção com maior probabilidade de serem descartadas (THATCHER & WILCOX, 1973).

A taxa de prenhez em bovinos depende de dois fatores fundamentais: o primeiro, é a manifestação de estro, que inclui todo um condicionamento fisiológico prévio indicativo de que a fêmea está apta a ovular; e, o segundo, é a capacidade de fertilização dos oócitos ovulados, o que é dependente da qualidade biológica dos gametas masculinos e femininos e de condições propícias para sua fusão e formação do zigoto, bem como de um ambiente uterino adequado para sua manutenção. Assim, a eficácia dos métodos de reprodução é uma decorrência do percentual de fêmeas em estro e da taxa de fertilização, ou alternativamente, da taxa de fertilização em sistemas de indução ou sincronização da ovulação (MORAES, 2002).

## **2.2 Hormônios**

A interação entre o metabolismo dos diferentes órgãos dos mamíferos é realizada por dois sistemas: o nervoso e o endócrino. No primeiro, a comunicação opera através de neurotransmissores (tais como noradrenalina, acetilcolina ou serotonina) enquanto que no segundo os mensageiros químicos chamados de hormônios, são transportados pelo sangue até o local de ação (órgão-alvo).

A palavra *hormônio*, do grego *excitar*, foi proposto por Bayliss e Starling em 1905 (*apud* GONZÁLEZ, 2006), definindo como aquela substância produzida em um órgão endócrino e transportada no sangue para exercer sua ação em outro órgão.

Existem quatro grupos de hormônios: peptídeos, esteróides, aminas e eicosanóides. Os vários tipos de hormônios têm diferentes características quanto à sua forma de síntese, armazenagem, meia-vida, forma de transporte e mecanismo de ação.

Os hormônios esteróides são produzidos pelo córtex adrenal, as gônadas e placenta, e incluem os corticosteróides, os estrógenos, os andrógenos e a progesterona. Estes são compostos derivados do colesterol, com variações pequenas em suas moléculas que determinam ações biológicas diferentes entre si.

O transporte dos hormônios esteróides é feito pelo sangue mediante proteínas específicas, como a globulina transportadora de hormônios sexuais (SHBG). A união dos hormônios a essas proteínas limita a difusão através dos tecidos, mas ao mesmo tempo protege os hormônios da degradação enzimática.

A metodologia para medição da concentração dos hormônios leva em conta a baixa concentração destes na corrente sanguínea, da ordem de micromolar ( $\mu\text{M}=10^{-6}\text{M}$ ) a picomolar ( $\text{pM}=10^{-12}\text{M}$ ). Por esta razão, a medição, identificação e isolamento dos hormônios foi tarefa difícil por muitos anos, até o aparecimento da técnica de radioimunoanálise – RIA (YALOW & BERSON, 1960). Esta técnica é altamente sensível para determinar quantidades mínimas de muitos hormônios de forma bastante específica.

O progestágeno natural mais conhecido é a progesterona. Derivados sintéticos têm sido desenvolvidos através da alteração da estrutura química do esteróide.

Os compostos sintéticos mais utilizados em Medicina Veterinária são: medroxiprogesterona ou MAP, acetato de fluorogestona ou FGA, acetato de megestrol ou MGA, norgestomet, alil trembolone e proligestone (SPINOSA *et al.*, 2002).

A progesterona possui o nome químico Pregna-4-ene-3,20-diona, peso molecular = 314g/mol, ponto de fusão 121° e fórmula molecular  $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_2$  (figura 1);



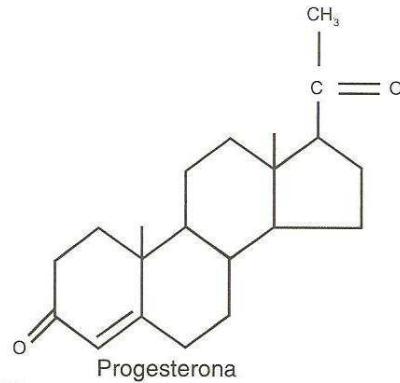


Figura 1 – fórmula molecular da progesterona (SPINOSA *et al.*, 2002).

O produto Progesterona MAD-4 é uma progesterona natural injetável de efeito lento, com uma concentração de 25mg/ml. Alcança seu nível plasmático máximo às 4 horas da aplicação, mantendo níveis superiores a 1ng/ml por 5 dias, baixando sua concentração de maneira similar à regressão fisiológica ao final de um ciclo estral normal, o que podemos visualizar na figura 2, abaixo:

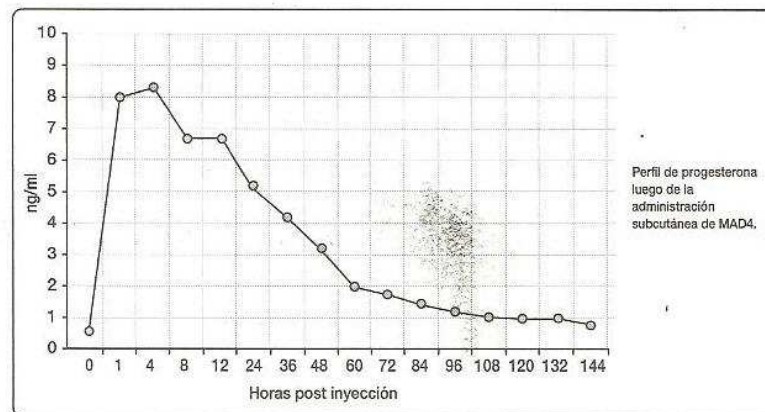


Figura 2 – perfil de progesterona após a administração subcutânea de MAD-4.

### 2.3 Fisiologia reprodutiva da fêmea bovina

O bom entendimento da fisiologia do ciclo estral da fêmea bovina é fundamental para o profissional que deseja trabalhar com o manejo reprodutivo dos rebanhos.

A vaca é um animal poliéstrico anual com ciclos estrais com duração de 17 a 25 dias, média de 21 dias. Este ciclo é regido por interações e antagonismos

endocrinológicos de homônios secretados pelo hipotálamo, hipófise, gônadas e útero (MACMILLAN & BURKE, 1996).

Durante o ciclo estral em vacas, ocorrem modificações na morfologia do trato genital e nas concentrações hormonais, hormônio folículo estimulante-FSH, hormônio luteinizante-LH, estradiol-E2 e progesterona-P4 (PIMENTEL, 2002).

O período entre dois estros consecutivos é denominado ciclo estral e pode ser dividido em duas fases principais: folicular que se estende do pro-estro ao estro e luteal que compreende metaestro e diestro até a luteólise (MACMILLAN & BURKE, 1996). A fase folicular tem início após a luteólise promovida pela PGF<sub>2</sub>alfa, com conseqüente queda nos níveis sanguíneos de progesterona (< 1ng/ml) entre 12 e 36 horas após o início da regressão do corpo lúteo (CL), seja ela natural ou induzida (DIELEMAN *et al.*, 1986). Esta fase caracteriza-se pelo crescimento folicular sob baixa concentração plasmática de progesterona e alta pulsatilidade de LH. Com a aproximação do estro, o folículo pré-ovulatório cresce e aumenta a sua produção de estradiol. Quando atinge um tamanho máximo (15 a 20 mm de diâmetro) o estradiol circulante aumenta, induzindo o estro e determinando a liberação do pico de LH, que vai determinar a ovulação entre 24 e 36 horas dando início, a seguir, na formação do corpo lúteo (CL).

A presença do CL caracteriza a fase luteal do ciclo estral. Nesta fase, o CL produz progesterona em quantidades crescentes do 4º ao 10º dia do ciclo estral, se mantendo estável até que ocorra a luteólise entre o 15º e o 20º dia (HAFEZ, 1993).

A fase luteal consiste no crescimento folicular sob maiores concentrações de progesterona, levando o crescimento e atresia dos folículos, devido à diminuição da pulsatilidade e ausência de pico de LH. A onda de crescimento folicular é caracterizada por três eventos importantes: o recrutamento, onde somente os folículos dependentes de gonadotrofina ingressam na onda de crescimento; seleção, quando os subordinados entrarão em atresia e, na dependência dos níveis de LH, o folículo dominante tornara-se-á atrésico ou seguirá crescendo até a ovulação (DRIANCOURT, 2001).

Com relação ao tamanho folicular, Pimentel (2002), dividiu o seu crescimento em 4 fases: 1 = folículo < 3 mm de diâmetro – independente de gonadotrofina, 2 = folículo de 3 a 10 mm dependente de FSH, 3 = folículo de 10 mm até o tamanho pré-ovulatório – dependente de secreção pulsátil de LH e 4 = folículo do tamanho pré-ovulatório até a ovulação – dependente do pico de LH.

Os tamanhos dos folículos, conforme Wiltbank *et al.* (2002), durante os estágios finais de cada fase de crescimento folicular são respectivamente: emergência (~4 mm), seleção (~9 mm) e ovulação (de 10 a 20mm).

O crescimento folicular em bovinos se dá, segundo o padrão de ondas. Estas ondas foliculares acontecem a cada 10 dias (entre 6 e 15 dias). Os ciclos estrais podem ser de 2 ou 3 ondas foliculares que são dependentes de estímulos de FSH que precedem cada onda. Segundo Ginther *et al.* (1989), a duração do ciclo estral é variável conforme a dinâmica folicular: ciclos com duas ondas foliculares costumam apresentar duração ao redor de 20 dias e ciclos com três ondas ao redor de 23 dias.

A fertilidade de vacas holandesas submetidas à inseminação artificial, que apresentavam 2 ou 3 ondas de crescimento folicular, foi comparada em um estudo. Animais que apresentavam 3 ondas durante o ciclo estral obtiveram maior taxa de concepção que animais com 2 ondas (81,2 vs. 62,5%,  $P < 0,05$ ). Essa diferença pode ser explicada pelo menor tempo de crescimento do folículo ovulatório em animais de 3 ondas foliculares, melhorando a qualidade do oócito e, conseqüentemente a taxa de concepção (TOWNSON *et al.*, 2002).

Quanto às diferenças encontradas entre *Bos indicus* e *Bos taurus* os resultados sugerem que o gado *Bos indicus* apresenta menor capacidade de secreção de LH (D'OCCHIO *et al.*, 1990). Quanto aos hormônios esteróides, os níveis circulantes de estradiol e de progesterona em fêmeas zebuínas mostram-se inferiores (RANDEL, 1984).

Em estudo realizado com novilhas *Bos indicus* e *Bos taurus* submetidas às mesmas condições de manejo, estas foram submetidas a um protocolo de sincronização de estro e avaliadas quanto ao desempenho reprodutivo. O protocolo consistiu no emprego de dispositivo intravaginal de progesterona e benzoato de estradiol no início do tratamento. Durante a permanência do dispositivo intravaginal, as concentrações de progesterona sérica foram superiores e permaneceram mais elevadas em novilhas *Bos indicus* (Carvalho *et al.*, 2008). Os autores discutem que esse achado pode ser decorrente da diferença de metabolismo entre esses grupos genéticos, atribuindo menor velocidade metabólica em zebuínos. Este resultado deve ser levado em consideração quando do emprego de tratamentos, com progesterona em *Bos indicus*. Elevadas concentrações de progesterona diminuem a pulsatilidade de LH e podem comprometer o crescimento folicular e a ovulação.

Utilizando o sistema denominado Heat-Watch para detectar o estro e a ultrasonografia para observar a ovulação, Mizuta (2003) confirmou o intervalo entre início do estro e ovulação em vacas Nelore ( $27,1 \pm 3,3h$ ), Nelore x Angus ( $25,7 \pm 7,6h$ ) e Angus ( $26,1 \pm 6,3 h$ ). Quanto à duração do estro, este mesmo trabalho demonstrou que o estro das vacas Nelore (*Bos indicus*) e Nelore x Angus (*Bos taurus* x *Bos indicus*) tem duração semelhante ( $\pm 12 h$ ), porém quando comparadas ao das vacas Angus (*Bos taurus*) tem cerca de 4 horas a menos.

Em um experimento com o objetivo de avaliar a manifestação estral de vacas (n=40) e novilhas (n=10) de leite (*Bos taurus*), foram controlados seis ciclos consecutivos induzidos a cada 11 dias pela aplicação de PGF2alfa. As vacas apresentaram um estro mais curto  $17,6 \pm 1.96 h$  vs.  $20,6 \pm 2.54 h$  que as novilhas (CASTELLANOS *et al.*, 1997).

Caso o conceito esteja presente no útero entre os dias 14 a 17 do ciclo estral, e ocorra a secreção adequada de interferon  $\tau$ , existe um bloqueio à liberação de prostaglandina (PGF2alfa) e a progesterona continuará a ser secretada para a manutenção da gestação (NORTHEY *et al.*, 1980). Caso exista comprometimento na produção de interferon ou ausência de embrião, nesse período ocorrerá a liberação de PGF2alfa com conseqüente luteólise, crescimento do folículo dominante e ovulação (iniciando um novo ciclo).

Existem similaridades em certas fases da vida reprodutiva de algumas espécies, como no caso de formação de um corpo lúteo de curta duração: primeira ovulação na puberdade em bovinos, primeira ovulação pós-parto em bovinos, primeira ovulação na saída do anestro fisiológico em eqüinos e a primeira ovulação na saída do anestro fisiológico em ovinos. Nesses quatro casos, o restabelecimento fisiológico do ovário antecede o endometrial e a primeira ovulação ocorre com as glândulas endometriais pouco funcionais por carecerem de um estímulo esteroideogênico prévio. A fertilidade dessa primeira ovulação é muito baixa e em bovinos sabe-se que há formação de um CL de curta duração, atribuída à liberação precoce de PGF2alfa pelo endométrio (PETER *et al.*, 1989; PIMENTEL, 2002)

A elevação nos níveis de progesterona plasmáticos, que ocorre antes do início da puberdade na novilha, e antes da ciclicidade ovariana normal na vaca amamentando pós-parto, é pré-requisito para o desenvolvimento de ciclos estrais normais (PATTERSON *et al.*, 1990).

### 2.3.1 Puberdade na fêmea bovina

As novilhas atingem a puberdade na primeira ovulação, que é seguido de uma fase luteínica normal. Geralmente a puberdade e a primeira ovulação não são síncronas em muitas novilhas. Após a primeira ovulação, geralmente ocorrem ciclos curtos e cios sem ovulação (anovulatórios) antes que o sistema reprodutivo seja completamente funcional (HAFEZ & HAFEZ, 2000).

Del Vecchio *et al.* (1992) observaram elevada frequência de ciclos com duração anormal, trabalhando com novilhas leiteiras, principalmente durante o primeiro e segundo ciclos, tanto mais curtos quanto mais longos após o primeiro estro, e mais ciclos curtos após o segundo estro. Também relatam a ocorrência, além de cios sem posterior formação de corpo lúteo, corpos lúteos de curta duração, cios silenciosos e atividade estral com elevada concentração de progesterona na circulação. Após o terceiro cio, todas as novilhas apresentaram ciclos de duração normal, com concentração de progesterona circulante superior em relação ao primeiro estro.

A maturidade reprodutiva tem sido definida como o momento em que ocorre a primeira ovulação com manifestação estral, seguida pelo desenvolvimento de um corpo lúteo funcional. O crescimento folicular ocorre em ondas precedidas por um pico do FSH. Estas ondas já ocorrem em fêmeas de apenas duas semanas de idade, sendo que o número de pequenos, médios, grandes folículos (3-5, 6-8 e >9 mm em diâmetro, respectivamente) e o diâmetro do maior folículo, aumentam de 2 para 14 semanas de idade. Entre as 6 e 24 semanas, há um marcado aumento nas concentrações de LH e FSH, sendo que a liberação do LH se dá através de pulsos, com aumentos de amplitude até a puberdade. Em 30 a 80 dias antes da primeira ovulação, aumenta a frequência dos pulsos de LH, assim como o diâmetro folicular e a concentração de estrógeno circulante. A concentração plasmática de FSH, entretanto, permanece praticamente estável. Antes da primeira ovulação não há estro, o corpo lúteo é pequeno e tem vida curta, seguindo-se uma fase luteal de duração normal. Aumentos precoces na secreção de gonadotropinas (FSH e LH) parecem ser subsequentemente suprimidos por retroalimentação negativa, enquanto as novilhas não estão ainda aptas à reprodução. O responsável por esta retroalimentação negativa parece ser o estrógeno em adultos, mas no caso dos animais jovens, parece atuar um mecanismo opióide estrógeno-dependente. Nos 40-80 dias que precedem a primeira ovulação, a sensibilidade da secreção de LH à retroalimentação negativa diminui, permitindo que a frequência de pulsos de LH

aumente, alcançando-se o desenvolvimento antral do folículo e a secreção de estrógeno. E este aumento na concentração de estrógeno circulante, resulta no pico pré-ovulatório de LH (SCHILLO, 1992; GONÇALVES *et al.*, 2000; KASTELIC, 2004).

Hall *et al.* (1997) definem a entrada na puberdade como momento da ocorrência de estro seguido da formação de corpo lúteo e presença de uma concentração plasmática de progesterona superior a 1 ng/ml.

Em seu estudo, Bergfeld *et al.* (1994) relatam que conforme se aproxima a primeira ovulação, o maior diâmetro do folículo dominante, em novilhas pré-púberes, aumenta de forma linear. O mesmo padrão de desenvolvimento, segundo Hall *et al.* (1994), é demonstrado pelos demais folículos presentes, aumentando também o número de folículos maiores que 10 ou 5 mm. O desenvolvimento folicular determina a função do futuro corpo lúteo formado após a ovulação, e sua capacidade de secreção de progesterona (DISKIN *et al.*, 2003).

### 2.3.2 Atividade ovariana pós-parto na fêmea bovina

Durante o final da gestação o eixo hipotalâmico-hipofisário está sob ação da retroalimentação negativa dos esteróides placentários e ovarianos, suprimindo a liberação de FSH, com acúmulo deste hormônio na hipófise anterior e depleção dos estoques de LH (YAVAS e WALTON, 2000). Após o parto, ocorre a imediata liberação do FSH (2 a 7 dias, WILTBANK, 2002) seguida da emergência da primeira onda de crescimento folicular. A dominância folicular é constatada de 10 a 21 dias após o parto. No entanto, os primeiros folículos dominantes não têm capacidade ovulatória e tornam-se atrésicos, levando ao crescimento de subseqüentes ondas de crescimento folicular (MURPHY *et al.*, 1990). Desta forma, conclui-se que o FSH não é o hormônio limitante para o reinício da ciclicidade pós-parto, mas sim o LH. Outro fator que induz ao anestro pós-parto é a diminuição da sensibilidade do hipotálamo ao estradiol produzido pelo folículo dominante (MACMILLAN *et al.*, 2003). O folículo cresce até atingir tamanho suficiente para que ocorra a ovulação. No entanto, o hipotálamo está dessensibilizado e não libera picos de GnRH para que ocorra a liberação de picos de LH pela hipófise.

Em vacas à pasto e sob condições de estresse nutricional, o primeiro folículo dominante pós-parto falha em ovular, sendo este fato também relacionado à baixa frequência de pulsos de LH, insuficiente para estimular a secreção de estrogênio pelo

folículo, para que este possa induzir o pico pré-ovulatório de LH (XU *et al.*, 2000). Nestas mesmas condições pode ocorrer a presença de mais de 10 ondas de crescimento folicular até a primeira ovulação (STAGG *et al.*, 1995).

Após o restabelecimento dos estoques de LH e reativada a sensibilidade do hipotálamo ao estradiol (MACMILLAN *et al.*, 2003), as deficientes condições de nutrição e a amamentação passam a ser os principais responsáveis pelo atraso na primeira ovulação pós-parto.

Uma alta porcentagem de animais não apresenta sinais de cio durante a primeira ovulação pós-parto. Após este evento observa-se um ciclo estral com duração de 8-12 dias. Este fenômeno é chamado de “ciclo de curta duração” e ocorre pela ausência de exposição prévia do endométrio uterino à progesterona. Desta forma, ocorre a secreção prematura de PGF2 $\alpha$  e o corpo lúteo sofre luteólise em torno do dia 10 do ciclo estral (ODDE *et al.*, 1980; HUNTER *et al.*, 1986; PETER *et al.*, 1989; MANN & LAMMING, 2000).

### 2.3.3 Perfil plasmático de progesterona na fêmea bovina

Bridges *et al.* (1999), trabalhando com vacas no pós-parto, consideraram como já tendo apresentado uma ovulação, animais que apresentaram concentração de progesterona plasmática superior a 0,5 ng/ml e, posteriormente, concentração pelo menos duas vezes superior à inicial em uma segunda amostra, utilizando um intervalo de 7 dias entre ambas. Mialot *et al.* (1999), para vacas da raça Holandês em lactação, adotaram os parâmetros de 1,5 ng/ml de progesterona plasmática e de 2 ng/ml no leite produzido, como correspondentes à presença de corpo lúteo funcional. A palpação do tamanho do corpo lúteo, segundo Sprecher *et al.* (1989) geralmente não se correlaciona com os níveis plasmáticos de progesterona.

Em estudo de Díaz *et al.* (1986), novilhas cruzas apresentaram níveis plasmáticos médios de progesterona de 0,5 ng/ml no Dia 0 do ciclo estral, 8,7 ng/ml no Dia 13, e 0,4 ng/ml no Dia 21 do ciclo. A concentração de progesterona no sangue de novilhas, semelhante ao que ocorre nas vacas, varia de acordo com o desenvolvimento do corpo lúteo, aumentando do Dia 3 ao Dia 13 (a uma taxa aproximada de 0,76 ng/ml/dia) e iniciando um declínio já a partir do Dia 11, em alguns animais.

Reed *et al.* (1985) observaram uma baixa repetibilidade dos níveis plasmáticos de progesterona, em novilhas leiteiras no Dia 7 do ciclo estral, sendo a maior variação em função da raça, e não em função da duração do ciclo estral. Outras possíveis fontes de variação na concentração de progesterona circulante podem ser a duração do estro, flutuações individuais diárias no *status* metabólico e nutricional dos animais ou flutuações diárias nos próprios níveis de progesterona.

Novilhas com concentrações de progesterona circulante superiores a 1 ng/ml são consideradas cíclicas, pela caracterização da ocorrência de atividade luteal, e aquelas com concentrações inferiores a 1 ng/ml, como pré-púberes ou não cíclicas (WHISNANT & BURNS, 2002). Tanaka *et al.* (1995), utilizaram outra metodologia para a classificação do *status* puberal em novilhas através da dosagem da progesterona plasmática, definindo-as como sem resposta após 2 dosagens inferiores a 1 ng/ml de plasma; novilhas de um ciclo, quando uma das amostras foi superior a 1 ng/ml de progesterona; e 2 ciclos quando duas amostras consecutivas, com intervalo de 18 dias entre as mesmas, apresentaram concentração de progesterona superior a 1 ng/ml. Entretanto, Rosenkrans & Hardin (2003) recomendam a utilização de um intervalo de 10 dias entre duas coletas, como forma de assegurar que uma delas seja realizada durante a fase luteal, no caso de novilhas que já estejam ciclando.

## **2.4 Importância da progesterona na reprodução**

Os gestágenos são substâncias capazes de manter a gestação e motivar a modificação do endométrio proliferativo em secretório. A progesterona é o gestágeno natural de maior importância e as ações dos progestágenos incluem preparação da mucosa uterina à recepção do zigoto, manutenção da gestação, relaxamento miometrial, bloqueio da hipófise e do ciclo sexual, desenvolvimento alveolar do úbere e efeito antagônicos aos estrógenos (GONZÁLEZ, 2006).

A progesterona interfere diretamente na dinâmica folicular do ciclo estral, no reconhecimento materno da gestação e no seu estabelecimento. O ambiente uterino devidamente preparado pela progesterona fornece as condições mais favoráveis para o desenvolvimento do concepto (BINELLI, 2000).

Existem relatos de interferência de altas concentrações plasmáticas de progesterona durante o diestro, sobre o crescimento folicular neste período (LUCY *et*



*al.*, 1992). Adams *et al.* (1992) relataram que fêmeas de 3 ondas de crescimento folicular apresentaram menor diâmetro máximo do folículo dominante da segunda onda, comparado ao da primeira. Os autores creditam este efeito à fase do ciclo estral que ocorre o crescimento folicular.

Bergfeld *et al.* (1996) observaram um significativo aumento na liberação pulsátil de LH em vacas, após a redução na concentração de progesterona liberada através de dispositivos intravaginais. Quando retiraram dois dispositivos comerciais com progesterona (PRID<sup>®</sup>) anteriormente colocados e os substituíram por 1/2 PRID<sup>®</sup>. Existe uma relação inversa entre a concentração de progesterona plasmática e a frequência de pulsos de LH em fêmeas bovinas. Em um ciclo estral típico, a concentração de progesterona é alta e baixa a frequência de pulsos de LH durante a fase luteal média, em relação à fase luteal inicial. A comunicação entre o ovário e o eixo hipotalâmico-hipofisiário é rápida após a redução na concentração de progesterona na circulação, fazendo com que ocorram mudanças na frequência de pulsos de LH dentro de 6 horas. A própria concentração de progesterona, parece não ser tão importante quanto o efeito de sua redução.

Tratando novilhas com outro tipo de dispositivo com progesterona (PRID<sup>®</sup>) durante 12 ou 14 dias, associando ou não uma cápsula com estrógeno ao tratamento, Ireland & Roche (1982) monitoraram os padrões de liberação de LH e FSH dos animais, constatando que não houve uma correlação entre as concentrações de progesterona e as concentrações de LH circulantes. As amplitudes de liberação do LH e do FSH, não foram afetadas pela redução na concentração de progesterona durante os tratamentos, mas o número ou a frequência de liberações de LH aumentou. Após a remoção do PRID<sup>®</sup>, a amplitude dos pulsos de LH e FSH aumentou, reforçando que a progesterona é parte de um complexo de retroalimentação negativa sobre a secreção de LH em fêmeas bovinas e que, este efeito, é aparentemente mediado pela frequência de pulsos de liberação de LH.

Em trabalho de Lucy *et al.* (1990), vacas que ovularam de 1 a 2 dias após a remoção de um implante com progesterona (CIDR<sup>®</sup>), tiveram um folículo grande desenvolvendo-se entre o dia da colocação e o quinto dia de permanência do implante, e que se manteve durante o tratamento. Os folículos são capazes de ovular depois de longos períodos de bloqueio com progesterona, entre 10 a 15 dias, entretanto, longos tratamentos com progesterona ou progestágenos podem provocar a formação de cistos foliculares, além da redução na fertilidade. Da mesma forma, segundo Mihm *et al.*

(1994), após a luteólise, a presença de concentrações de progesterona subluteais ou progestágenos, resulta num estendido período de dominância ou na persistência do folículo dominante.

Segundo Yavas *et al.* (1999) e Xu *et al.* (2000), a concentração de progesterona quando mantida dentro de um nível intermediário, em vacas adultas, proporciona um aumento na frequência de pulsos de LH, estendendo a vida do folículo dominante. Este efeito, entretanto, pode levar ao aparecimento de folículos persistentes, de forma semelhante ao que ocorre quando vacas cíclicas são tratadas com reduzidas concentrações de progesterona, na ausência de um corpo lúteo funcional. Para Yavas *et al.* (1999), os animais tratados com progesterona apresentaram uma maior taxa de ovulação em relação ao controle, desenvolvendo a seguir um ciclo estral normal, com a manutenção da ciclicidade.

Estudando o pós-parto em vacas leiteiras Fonseca *et al.* (1983) utilizaram duzentos e doze animais e verificaram que a taxa de concepção pós-parto na primeira inseminação aumenta proporcionalmente à concentração de progesterona em amostras de sangue coletadas durante 12 dias antes da primeira inseminação.

Werth *et al.* (1996) avaliaram as concentrações plasmáticas de progesterona e o primeiro cio em primíparas de corte durante o período pós-parto e observaram que animais que apresentaram aumento transitório da concentração plasmática de progesterona (primeira ovulação pós-parto sem sinais de cio) tiveram maior taxa de concepção à inseminação artificial que animais que não foram expostos à progesterona anteriormente (76 vs. 41%).

## **2.5 Alternativas do uso da progesterona como hormonioterapia**

Os principais métodos de administração utilizados para a suplementação com progestágenos são: esponjas intravaginais impregnadas com acetato de medroxiprogesterona (MAP) ou progesterona natural, administração de gestágenos no alimento (MGA), implantes subcutâneos com Norgestomet, dispositivos intravaginais de silicone com liberação lenta de progesterona e progesterona injetável (ULBERG, 1951; TRIMBERGER *et al.*, 1955; WILTBANK *et al.*, 1965; MACMILLAN & PETERSON, 1993; MORAES, 2002; CAVESTANY *et al.*, 2008).

A primeira proposta referente a um método capaz de manipular o ciclo estral na vaca partiu de Christian & Casida em 1948 que sugeriram a utilização da progesterona com intuito de bloquear a função reprodutiva. A partir da suspensão da medicação boa parte dos animais apresentava sintomas de estro. No mesmo ano, outros autores já trabalhavam em protocolos associando tratamento de progesterona com estradiol no controle do ciclo estral de ratos (EVERETT, 1948).

Mais tarde, verificaram que a adição de um estrógeno (Valerato de estradiol), no início do tratamento, através de seu efeito luteolítico, aumentava a incidência de estros nos animais tratados e que permitia a redução do período de bloqueio com progesterona (WILTBANK *et al.*, 1965; WILTBANK & KASSON, 1968)

Independente da via de administração, Boyd *et al.* (1973) verificaram que tratamentos com progestágenos por períodos longos (16 dias) resultavam em melhor sincronização de estros, porém com índices de concepção piores à inseminação. Quando o período de tratamento é encurtado (9 dias), obtém-se pior sincronia, todavia com melhores índices de concepção.

A utilização de um potente progestágeno (SC21009) combinado com PGF2alfa, em novilhas, induz a uma acentuação na manifestação de estro, demonstrando ser um método prático de sincronização de cio (WISHART, 1974).

Segundo Savio *et al.* (1993), o desenvolvimento folicular normal após a administração de gestágenos só se dá quando for removido o folículo dominante persistente presente durante estes tratamentos.

A associação de estrógenos a dispositivos que liberam progesterona, promove atresia do folículo dominante e induz a emergência de uma nova onda de crescimento folicular cerca de quatro dias após a aplicação destes esteróides (BÓ *et al.*, 1995).

Segundo Patterson *et al.* (2000) a evolução dos métodos para controle do ciclo estral na vaca pode ser ordenada em cinco fases distintas. A primeira compreende todas as investigações no sentido de prolongar a fase lútea através da administração de progesterona exógena. Mais adiante, estes métodos passaram a contar com a associação de estrógenos e gonadotrofinas. A terceira fase está caracterizada pela utilização de prostaglandinas com o intuito de encurtar a fase lútea, ao passo que se poderia caracterizar como quarta fase, aquela em que foram desenvolvidos os métodos com a associação de progestágenos e prostaglandinas. A denominada quinta fase, surgiu em decorrência de estudos recentes das ondas foliculares que mostram que o controle do

ciclo estral na vaca requer a manipulação não apenas da duração da fase lútea, mas também do crescimento folicular.

Os protocolos de sincronização associando progestágenos, estradiol e prostaglandina têm possibilitado um avanço no uso da Inseminação Artificial a Tempo Fixo em vacas de corte com cria ao pé (BÓ *et al.* 2003).

A investigação conduzida por Martinez *et al.* (2005) que avaliou a administração de estradiol e progesterona (CIDR) em vacas ovariectomizadas verificou supressão na concentração plasmática das gonadotrofinas. A supressão da concentração de FSH persistiu durante o mesmo período em que os níveis de estradiol mantiveram-se elevados na circulação. Em vacas normais, o mesmo tratamento causou a regressão dos folículos FSH-dependentes (pelo estradiol) e dos folículos LH-dependentes (pela ação sinérgica do estradiol e progesterona), seguida da emergência de uma nova onda folicular logo após o aumento dos níveis de FSH. Neste trabalho, foram utilizados diferentes estrogénos em cada grupo experimental: benzoato de estradiol (BE), estradiol na forma natural (E-17 $\beta$ ) e valerato de estradiol (VE). Doses apropriadas de E-17 $\beta$  e BE foram eficientes na sincronização da emergência da onda folicular e da ovulação. A dose ótima para sincronizar a emergência da onda folicular neste experimento foi 5mg E-17 $\beta$  (em vacas e novilhas) ou 1mg BE em novilhas. A administração de 1mg de E-17 $\beta$  ou BE 24 horas depois da retirada do CIDR, induziu a ovulação aproximadamente 52 horas após.

O protocolo convencional da associação de progesterona com estrógeno, segundo Cutaia *et al.* (2003), pode ser descrito da seguinte forma: colocação, no dia 0, de um dispositivo de P4 + aplicação de 2mg BE (bloqueio e sincronização folicular); dia 7, retirada do dispositivo + aplicação de PGF2alfa (retirada da fonte de P4 exógena e eventualmente endógena); dia 8, aplicação de 1mg BE (sincronização da ovulação); e dia 10, realização da IATF sem detecção de cio (aproximadamente 54hs após a retirada do dispositivo), obtendo taxa de prenhez média de 54,9%, (animais tratados 6.857), esta média oscilou de 28,7% a 75%.

Alguns estudos têm indicado a associação de estrógenos a progesterona, ou progestágenos, para elevar a taxa de manifestação de cio e os índices de prenhez em novilhas próximas à puberdade (PATTERSON *et al.*, 1990; RASBY *et al.*, 1998). A progesterona ou progestágeno atua promovendo uma regulação na liberação de LH durante o período de administração, permitindo a ocorrência do desenvolvimento folicular normal. Após a retirada do implante contendo o hormônio, e a aplicação de

uma dose de prostaglandina, ocorre uma queda na concentração do mesmo na circulação da fêmea, sinalizando ao eixo hipotalâmico-hipofisário para que ocorra a liberação do LH na forma de um pico, proporcionando o desenvolvimento final do maior folículo dominante presente, e a ovulação.

Uma alternativa de utilização da progesterona, além da sincronização de estro e ovulação, é a pré-exposição de vacas no pós-parto a níveis subluteais de progesterona para evitar a baixa concepção da primeira ovulação pós-parto. A pré-exposição à progesterona resulta no aumento da expressão dos sinais de estro e diminui significativamente a quantidade de ciclos de curta duração, aumentando a taxa de concepção no pós-parto (FONSECA *et al.*, 1983; TROXEL & KESLER, 1984; MARKEY *et al.*, 2000; RIVERA *et al.*, 1998; GONZÁLEZ CHAVES *et al.*, 2009).

A utilização da progesterona também é indicada como suplementação pós-cobertura. Vários autores sugeriram que a suplementação com progesterona durante a fase luteínica do ciclo estral poderia aumentar as taxas de prenhez em bovinos (MACMILLAN *et al.*, 1986; SIANANGAMA & RAJAMAHENDRAM, 1992). Esta utilização é feita com o objetivo de prevenir a mortalidade precoce por falhas no reconhecimento materno da gestação, principalmente em animais com baixos níveis plasmáticos de progesterona (vacas no pós-parto) Esta indicado uma dose subcutânea de 200mg de MAD-4 entre os dias 5 a 7 pós-inseminação. Tratamentos de visam produzir um corpo lúteo assessorio, para este produzir mais progesterona, tem sido estudados (MACMILLAN *et al.*, 1986, BARUSELLI *et al.* 2000; CUTAIA *et al.*, 2009). Em experimento onde vacas leiteiras foram tratadas com hCG nos dias 0, 7 ou 14 pós inseminação. Comparando com as vacas controle (40%), o tratamento aumentou a taxa de prenhez para 47, 62 e 55% respectivamente quando injetado no dia 0, 7 ou 14 do ciclo estral (SIANANGAMA & RAJAMAHENDRAM, 1992).

## **2.6 Indução hormonal da puberdade**

Alternativas de manejo que visam induzir a puberdade em novilhas tendem a aumentar sua eficiência reprodutiva, por proporcionar o primeiro estro – subfértil – antes do início da estação reprodutiva, fazendo que concebam mais cedo, desmamando produtos mais pesados e podendo repetir a prenhez na estação subsequente. Estes tratamentos tendem a aumentar a proporção de novilhas com corpo lúteo de duração

normal após a ovulação, reduzindo a incidência de ciclos curtos (PATTERSON *et al.*, 1990; RASBY *et al.*, 1998; LOBATO & AZAMBUJA, 2002; GREGORY & ROCHA, 2004).

O  $17\beta$  estradiol, segundo Patterson *et al.* (1990), provoca a liberação de LH em novilhas pré-púberes, mas não a ovulação sem uma pré-exposição a um progestágeno.

Os tratamentos com progestágenos induzem à puberdade, quando administrados próximos ao tempo em que esta ocorreria normalmente, sendo mais efetivos quando combinados a dietas com alto teor de energia (PATTERSON *et al.*, 1990). A indução da puberdade através do tratamento com progestágenos tendem a apresentar melhores resultados conforme aumenta a idade dos animais (WOOD-FOLLIS *et al.*, 2004).

Em estudo desenvolvido por Whisnant & Burns (2002), todas as novilhas tratadas com implantes de progesterona apresentaram comportamento de estro após sua retirada e, subseqüentemente, elevada concentração de progesterona plasmática, consistente com a formação de um corpo lúteo após a ovulação. Entretanto, nas novilhas tratadas somente com estradiol, o estro observado, em menor proporção e sem diferença em relação ao grupo controle, não foi associado com formação de tecido luteal, baseando-se na concentração de progesterona circulante. Foi observado um rápido aumento e declínio na concentração de progesterona, com níveis plasmáticos semelhantes aos encontrados em uma fase luteal normal (4-5 ng/ml), nas tratadas com a progesterona, permitindo um bom desenvolvimento folicular, e apontando para uma boa sincronia dos estros. Tanto a progesterona, quanto a sua associação com o estradiol, foram igualmente efetivos em induzir atividade luteal.

A utilização de uma aplicação de progesterona injetável, juntamente com a inserção de um CIDR<sup>®</sup>, em novilhas, resultou em um significativamente maior intervalo entre a remoção do CIDR<sup>®</sup> e o estro, em comparação com o grupo controle, em trabalho desenvolvido por Colazo *et al.* (2006). Da mesma forma, sua adição ao tratamento também resultou em menores taxas de estro comportamental e de concepção, com uma subseqüente menor taxa de prenhez.

Uma das possíveis causas para os resultados inferiores obtidos, com a sincronização para a IATF em novilhas, poderia estar relacionada ao fato de que altos níveis de progesterona circulantes durante o tratamento suprimem a frequência e magnitude dos pulsos de LH, afetando de forma negativa o crescimento do folículo dominante, a ovulação e a formação de um corpo lúteo competente (BURKE *et al.*, 1994). Segundo Cutiaia *et al.* (2007) esta situação seria mais grave em animais de menor

tamanho metabólico, como é o caso das novilhas e, em geral, nas que se encontram ainda cíclicas. Por outro lado, Baruselli *et al.* (2005) descreve que animais com sangue zebuíno, têm menor capacidade de metabolizar a progesterona, o que poderia resultar em menores índices de ovulação e fertilização nos protocolos realizados utilizando estes genótipos.

A taxa de sucesso para a indução da puberdade através de tratamentos com esteróides é variável, mas sugere que os tratamentos poderiam ser efetivos. Algumas das variações nas respostas entre estudos poderiam ser devidas às diferenças entre raças, ambientes e taxas de crescimento das novilhas (WHISNANT & BURNS, 2002).

## **2.7 Indução hormonal da ciclicidade pós-parto**

A retomada da dinâmica folicular em vacas leiteiras e de corte ocorre ao começo do pós-parto. Segundo hipótese de Roche *et al.* (1992) para que a ovulação ocorra o folículo dominante deve ser exposto a uma frequência de pulsos de LH adequada (um pulso a cada 60 minutos). A inadequada frequência de pulsos de LH resulta em uma baixa produção de andrógenos pelas células da teca e conseqüentemente uma baixa produção de estrógenos pelas células da granulosa, não chegam aos níveis necessários para desencadear um pico de LH. Assim, o folículo dominante começa a regredir, dando lugar ao crescimento de uma nova onda folicular.

A exposição a níveis elevados de progesterona parece ser pré-requisitos para uma expressão normal de estro e para uma fase luteal subsequente normal (PATTERSON *et al.*, 1990; BÓ *et al.*, 2000).

Foram realizados muitos estudos utilizando gonadotrfinas e esteróides buscando antecipar a primeira ovulação e a ciclicidade pós-parto, mas com resultados inconsistentes (ODDE, 1990). Uma razão importante que pode confundir estes estudos seria o desconhecimento do estágio do desenvolvimento folicular no momento do tratamento.

O tratamento com progesterona combinado com uma injeção de gonadotrofina eCG na remoção do dispositivo produziu estro com ovulação em 68% das 855 vacas leiteiras que tiveram um período prolongado de anestro pós-parto sem ovulação. Outros 14% das vacas ovularam sem ser detectado no cio e 18% não ovular. Esse

padrão de resposta variou significativamente entre os rebanhos, possivelmente devido a diferenças no grau de desnutrição no início da lactação (MACMILLAN, 1993).

Em experimento com vacas no pós-parto (30 dias) que avaliou o efeito do tratamento com a progesterona, progesterona associado ao estradiol ou remoção do terneiro sobre a dinâmica folicular e comportamento sexual, os autores verificaram que ocorreu a diminuição da quantidade de ciclos de curta duração após a primeira ovulação ( $P < 0,05$ ), grupo tratamento com  $P4 = 15\%$  vs.  $81\%$  para tratamento sem progesterona (MACKEY *et al.*, 2000).

Já Gonzáles Chaves *et al.* (2009) trabalharam com vacas de corte pré-tratadas com progesterona encontraram diferenças na taxa de prenhez no período de serviço natural de 0 a 7 dias ( $27,3\%$  para o grupo tratamento e  $7,2\%$  para o controle). Quando avaliaram a taxa de prenhez do período de 0 a 38 dias de serviço natural os resultados do grupo controle  $20,0\%$  ( $9/45$ ) vs.  $34,2\%$  ( $13/38$ ) para o tratamento, não diferindo estatisticamente.

O protocolo hormonal progesterona associado com estradiol foi testado em 362 vacas de corte com cria servidas com touros, monta natural (GRIGERA *et al.*, 2009). O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da utilização de dispositivos intravaginais com  $0,558g$  de progesterona, administração de benzoato de estradiol na colocação do implante e injeção de benzoato de estradiol ou não 24hs após a retirada do implante. Os animais foram divididos aleatoriamente em 3 grupos: grupo 1 =  $P4+BE+24hsBE$ , grupo 2 =  $P4+BE$  e grupo 3 = controle. Ao avaliar a taxa de prenhez dos primeiros 30 dias de serviço natural obtiveram respectivamente: grupo1 =  $74,2\%$  ( $95/128$ ), grupo2 =  $65,4\%$  ( $87/133$ ) e grupo3 =  $55,4\%$  ( $56/101$ ). A taxa de prenhez do grupo 1 foi maior quando comparada aos grupos 2 e 3 ( $P < 0,05$ ).

Em trabalho realizado com vacas de corte com cria ao pé (25 a 40 dias pós-parto), identificadas como estando em anestro, submeteram-as a quatro tratamentos para avaliar a sincronização da onda folicular e a indução da ovulação. Tratamentos: T1 = controle ( $n=9$ ), T2 = remoção do terneiro ( $n=8$ ), T3 = progesterona por 8 dias e T4 = progesterona por 8 dias mais estradiol. A sincronia da onda de crescimento folicular com menor desvio padrão foi do tratamento 4 seguido pelo T3, e depois T2. A taxa de indução da ovulação do tratamento 1 (controle) foi menor ( $1/9$ ) do que dos demais tratamentos ( $5/8$ ,  $6/9$ ,  $8/9$ , respectivamente). As vacas dos tratamentos 1 e 2 que ovularam todas apresentaram ciclo curto posterior ao tratamento, ao contrário das vacas



dos tratamentos 3 e 4 (progesterona por 8 dias) que nenhuma apresentou encurtamento da fase luteínica seguinte (RIVERA *et al.*, 1997).

Com o objetivo de reduzir o intervalo entre o parto e a IATF Ayres *et al.* (2007) estudaram o efeito da progesterona associada ao eCG conforme o período pós-parto e o escore de condição corporal. Foi observado aumento na taxa de concepção à IATF, tanto em animais com alto quanto com baixo escore de condição corporal, quando tratados com eCG no período pós parto precoce (entre 30 e 60 dias). No entanto, o efeito positivo da eCG em animais com escore de condição corporal satisfatório ( $\geq 3,0$ ) desapareceu conforme aumentou a distância do parto. Os dados são indicativos de que quando o tratamento de sincronização da ovulação para IATF é realizado antes de 60 dias pós-parto sugere-se a utilização de eCG em todos os animais, independentemente da condição corporal.

## **2.8 Efeito da condição corporal sobre o desempenho reprodutivo**

Na criação de bovinos é conhecida a importância da relação existente entre o nível nutricional das fêmeas e sua fertilidade. A condição corporal (CC) de um animal se relaciona com a quantidade de tecido adiposo de que o animal dispõe. Este estado corporal influencia diretamente a fertilidade, já que a partição de nutrientes se orienta prioritariamente a sobrevivência da novilha ou vaca seguida da proliferação da espécie. Os ciclos estrais geralmente podem ser alcançados e mantidos se a condição corporal é de 2 ou mais, numa escala de 1 a 5, ainda que isto possa variar segundo outros fatores como a raça, e se o animal está em um plano nutricional que leve a um aumento ou diminuição de peso (CACHAPUZ, 1997; MORAES, 2000; BÓ *et al.*, 2003; CUTAIA *et al.*, 2003).

A importância da condição corporal se reflete na atividade dos ovários das vacas, uma vez que as vacas com melhor condição corporal maior número de folículos nos ovários e maior incidência de folículos estrogênicos que tem condições de ovular. A incidência de manifestações de estro das vacas também é afetada pela condição corporal. As frequências de estro observadas num ensaio experimental foram 9%, 60% e 80%, respectivamente para vacas em condição corporal 2, 3 e 4. Esses resultados indicam que não devemos esperar bons desempenhos reprodutivos de vacas com baixa condição corporal (MORAES, 2000).

O fator ciclicidade do rebanho é muito importante na hora da escolha do protocolo de sincronização e também influencia no resultado da IATF. Segundo Cutaia *et al.* (2003) vacas que estavam ciclando (n = 5.873) apresentaram melhor taxa de prenhez 56,3% vs. 47,0%, apresentada por vacas em anestro (n = 984).

A adição de gonadotrofina coriônica equina (eCG) aos protocolos de sincronização de cio, no intuito de minimizar os baixos resultados obtidos em fêmeas com baixa CC e/ou em anestro, tem sido estudado por diversos pesquisadores. O eCG pode melhorar a taxa de concepção através do aumento da concentração plasmática de progesterona no diestro do ciclo subsequente à IATF (BARUSELLI *et al.* 2004). Os resultados estudados apresentaram efeitos positivos do eCG sobre a taxa de prenhez (BARUSELLI *et al.* 2003; CUTAIA *et al.*, 2003). Baruselli *et al.* (2004) realizando um estudo retrospectivo, analisando 1987 IATFs realizadas em vacas Nelore, verificou efeito positivo do tratamento com eCG somente nos animais com  $CC \leq 3,0$ . Em animais com satisfatória condição corporal ( $>3$ ) não foi verificado efeito positivo do tratamento com eCG na taxa de concepção.

A correlação encontrada por Cutaia *et al.* (2003) foi positiva entre a porcentagem de prenhez e a condição corporal. Neste trabalho verificaram uma taxa de prenhez crescente entre as condições corporais de 1,5 a 3,0 (escala de 1- 5): CC 1,5 = 27,8% (n = 79), CC 2,0 = 46,5% (n = 626), CC 2,5 = 52,3% (n = 1.809) e CC 3,0 = 57,7% (n = 2.592). Seguindo a escala da CC 3,5 e 4,0, a taxa de prenhez não diferiu da CC 3,0, se mantendo estável: CC 3,5 = 57,7% (n = 1574) e CC 4,0 = 57,6% (n = 177).

## 2.9 Avaliação do status reprodutivo por ultrassonografia

A ultrasonografia é uma técnica que permite a visualização dos órgãos internos. Sua aplicação em bovinos e eqüinos iniciou na década de 80 e tem sido muito importante para auxiliar na compreensão dos eventos ciclo estral e gestação, a tal ponto que é considerado por muitos pesquisadores como o avanço mais importante na biologia reprodutiva desde a utilização do radioinmuensaio (RIA) para medir os valores circulantes dos hormônios no animal (GRIFFIN *et al.*, 1992).

O diagnóstico ultra-sonográfico provê uma forma pouco invasiva, de acesso visual da cérvix, útero e ovários, para a avaliação da fisiologia e alterações presentes no trato reprodutivo da fêmea bovina (KASTELIC *et al.*, 1988; GINTHER *et al.*, 1989).

Rosenkrans & Hardin (2003) observaram uma leve superioridade da ultrasonografia, em relação à palpação retal, na identificação da presença do corpo lúteo em vacas. Um corpo lúteo em desenvolvimento pode ser palpado entre o Dia 1 e o Dia 4 do ciclo estral, e confundido com um corpo *albicans* maduro. Entretanto, no desenvolvimento, o corpo lúteo não secreta ainda grandes quantidades de progesterona. O corpo lúteo em regressão pode permanecer palpável no ciclo estral subsequente, mas a secreção de progesterona cessa próximo ao Dia 17 do ciclo.

A ultra-sonografia, segundo Pierson & Ginther (1987), tendeu a superestimar em mais ou menos um folículo, o número de folículos maiores que 2 mm em diâmetro por ovário, em relação à técnica do *slice* (dissecção realizada através de cortes). Quanto à localização do corpo lúteo, as duas técnicas foram iguais e 100% corretas. A ultrasonografia parece ser uma técnica extremamente segura para estimar a população folicular ovariana maior ou igual a 2 mm, e detectar corpos lúteos maduros e suas cavidades centrais.

Monitorando a emergência folicular da primeira onda de crescimento em novilhas, encontraram o maior folículo em média com 4,2 mm de diâmetro, contra 3,6 mm do segundo maior folículo. A partir daí, ambos apresentaram crescimento semelhante, a uma taxa de 0,5 mm em 8 horas, durante aproximadamente 61 horas (KULICK *et al.*, 1999). A diferença em crescimento entre os dois maiores folículos aumenta abruptamente quando um deles atinge aproximadamente 8,5 mm de diâmetro, ao que se denomina divergência, sendo este um diâmetro decisivo. No início da divergência, o maior folículo apresentava diâmetro médio de 8,3 mm contra 7,8 mm do segundo maior folículo.

A palpação retal apresenta uma precisão mais baixa, com um maior número de diagnósticos falsos negativos, e também maior número de erros envolvendo ovários pequenos. Da mesma forma, uma baixa sensibilidade para diferenciar folículos com diâmetro superior a 15 mm e com aparência de corpo lúteo, mas com simultânea baixa concentração de progesterona presente no leite. Mais erros tendem a ocorrer quando um baixo nível plasmático de progesterona é diagnosticado (SPRECHER *et al.*, 1989).

**3 ARTIGO 1****ORIGINAL ARTICLE****PUB.****Níveis séricos de progesterona em vacas ovariectomizadas tratadas com  
MAD4<sup>®</sup> com diferentes concentrações e vias de administração\***

*Serum progesterone levels in ovariectomised cows treated with MAD-4<sup>®</sup> with  
different concentrations and routes of administration*

**Dimas Corrêa Rocha, Andrei Beskow, Concepta Margaret McManus**

**Pimentel, Rodrigo Costa Mattos & Ricardo Macedo Gregory**

**CABEÇALHO: D.C. Rocha, A. Beskow, C.M.M. Pimentel, R.C. Mattos & R.M. Gregory...**

\*Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, UFRGS, Porto Alegre, Brasil.  
CORRESPONDÊNCIA: D.C. Rocha [[fazrocha@yahoo.com.br](mailto:fazrocha@yahoo.com.br) – Fone + 55 (51)  
99043356].

Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, UFRGS, Porto Alegre, Brasil.  
Av. Bento Gonçalves nº. 9090, CEP 91540- 000 Porto Alegre, RS, Brasil.

**Artigo aceito para publicação - Acta Scientiae Veterinariae – Porto Alegre, v. 39, n.  
3, 2011.**

### **ABSTRACT**

**Background:** Progesterone and synthetic progestogens are used to prepare the uterus for pregnancy, and for the hypothalamus, pituitary and ovaries to respond to endogenous and exogenous gonadotropins [5]. The object of this work was to check serum progesterone concentrations in ovariectomised cows, to determine pharmacokinetics of MAD-4<sup>®</sup> product.

**Materials, Methods & Results:** A group of 08 Braford cows was divided into two groups, in two experiments. In experiment I, both groups received 250 mg of progesterone by different routes of application: intramuscular or subcutaneous. In experiment II, subcutaneous application was used in both groups, the differentiation of the treatments lying in the concentration of progesterone: treatment 2 received 250 mg progesterone and treatment 3 was administered 375mg of progesterone. In the first 24 hours samples were collected in intervals of 6 hours, then every 24 hours up to 192 hours (day 8). In experiment I there was a significant difference ( $P < 0.05$ ) at 96hs, showing greater concentration in treatment 2 compared to treatment 1 (1.54ng/ml vs. 0.48 ng/ml, respectively). In experiment II, in the measures undertaken at 144hs, 168hs and 192hs with significant difference ( $P < 0.05$ ), concentrations of progesterone in treatment 2 were lower when compared to treatment 3 (0.79 ng/ml vs. 1.63 ng/ml, 0.66 ng/ml vs. 1.36 ng/ml and 0.49 ng/ml vs. 1.11 ng/ml respectively for hours and treatments). Due to the fact that the types of progestogens and doses used to control the estrous cycle in cattle may be less effective than endogenous progesterone (a corpus luteum) with respect to suppression of LH, the high frequency of LH pulses results in development of "persistent" follicles containing aged eggs of low fertility [11]. In this study, the application of 250 mg of intramuscular and subcutaneous long action

*injectable progesterone elevated progesterone serum concentration above 1ng/ml. Subcutaneous application presented levels exceeding 1ng/ml for a longer time, from 6 to 96hs. This treatment probably suppresses LH pulses temporarily without staying very long in the bloodstream; for this reason it doesn't impair fertility. The same cannot be said in the treatment situation with the application of 375 mg subcutaneous long-action injectable progesterone, because, as long as progesterone was measured (day 8), the concentration remained higher than 1ng/ml.*

**Discussion:** *Vaginal silicone implants impregnated with 0.5 g of progesterone, when used for the second time (7 days each time), failed to maintain serum progesterone levels for more than 24hs higher than 1ng/ml [2]. In this study, treatment with 250 mg intramuscular long-action injectable progesterone showed similar serum concentrations over time, because between 24 and 48 hours the levels were below 1ng/ml. Parenteral routes of administration include, among others, the intramuscular (IM) and subcutaneous (SC). The intramuscular route is characterised by a relatively rapid absorption via the subcutaneous, is characterized by a slower absorption and continuous (12). Treatment of ovariectomised cows with long-acting injectable progesterone in different doses and by different routes resulted in significantly different serum concentrations at some moments, characteristic of each route of administration and doses used. In this study we can conclude that the seemingly more appropriate treatment is that which makes use of 250 mg of long-acting progesterone, subcutaneously injected, keeping progesterone serum levels higher than 1ng/ml per period of four days.*

**Keywords:** *progesterone, pharmacokinetics, MAD-4, beef cattle, estrous synchronization and bovine reproduction.*

**Descritores:** *progesterona, farmacodinâmica, MAD-4, vacas de corte, sincronização de estros e reprodução bovina.*

## INTRODUÇÃO

O uso da progesterona e dos progestágenos visa a preparação do útero para a gestação e sensibilização do hipotálamo, da hipófise e ovários, para responderem às gonadotropinas endógenas e exógenas [6].

A utilização de progestágenos na sincronização de cios de bovinos é datada dos anos 50, inicialmente sendo administrados por um período de 11 a 24 dias. Posteriormente, em decorrência de baixos índices de fertilidade após o tratamento, o período de administração passou para 7 a 9 dias, com melhoria da fertilidade. Os principais métodos de administração utilizados para a suplementação com progestágenos são: esponjas intravaginais impregnadas com acetato de medroxiprogesterona (MAP) ou progesterona natural, administração de gestágenos no alimento, implantes subcutâneos com Norgestomet e dispositivos intravaginais de silicone com liberação lenta de progesterona [6, 8, 10].

Os objetivos deste estudo foram determinar a concentração de progesterona sérica ao longo de um determinado tempo a partir do tratamento com uma solução injetável de progesterona concentrada de longa ação, variando a dose e a via de administração, no sentido de demonstrar a farmacocinética deste produto.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil, onde se utilizaram 08 vacas Braford (sintético 3/8 *Bos indicus* e 5/8 *Bos taurus*) ovariectomizadas, com 6-8 anos de idade, manejadas confinadas com dieta de manutenção, dentro de um mesmo potreiro ocupado durante todo

o experimento. Os animais apresentaram peso corporal médio de 532kg, escore de condição corporal igual a 3,5 em escala de 1 a 5 pontos [3]. Previamente, aos experimentos, foram submetidas à ovariectomia pelo método via vaginal, utilizando-se o efeminador de Chassignac.

No experimento I, o tratamento 1 n=04 foi aplicado na hora 0, 10ml de produto contendo 250mg de progesterona injetável via IM (MAD-4<sup>®</sup>, Rio de Janeiro, Argentina) já no tratamento 2 n=4 utilizou-se a mesma dosagem alterando a via de administração que foi subcutânea SC (MAD-4<sup>®</sup>, Rio de Janeiro, Argentina). No experimento II, o tratamento 2 (foi idêntico ao tratamento 2 do experimento 1), n=4 foi aplicado no hora 0, 10ml com 250mg de progesterona injetável via SC (MAD-4<sup>®</sup>, Rio de Janeiro, Argentina) e o tratamento 3 n=4 foi administrado na hora 0 15ml com 375mg de progesterona injetável via SC (MAD-4<sup>®</sup>, Rio de Janeiro, Argentina). Para determinar a concentração de progesterona sérica foram realizadas coletas de sangue, em todas as vacas, 10 dias antes e no dia da formação dos grupos experimentais (Dias -10 e 0). Após formação dos grupos de tratamento as coletas de sangue foram realizadas de 6 em 6 horas do dia 0 ao dia 1 e depois de 24 em 24 horas até completar 192 horas (dia 8). As amostras de sangue foram centrifugadas a 800g durante 5 minutos, até no máximo de 30 minutos após a coleta. A seguir, as amostras foram armazenadas à temperatura de -20°C, para posterior análise laboratorial através da técnica do radioimunoensaio [13].

As respostas foram analisadas estatisticamente utilizando o programa SAS<sup>®</sup> usando o procedimento GLM para o modelo de medidas repetidas no tempo. Comparações significativas foram feitas através do teste de Tukey a 5% de significância (P<0,05). As variações foram transformadas usando sua raiz quadrada para estabilizar a variância.



## RESULTADOS

As concentrações séricas de progesterona aferidas no experimento 1 foram diferentes significativamente ( $P < 0,05$ ) às 96hs e as 192hs, apresentando maior concentração no tratamento 2 comparado ao tratamento 1 (1,54ng/ml vs. 0,48 ng/ml e 0,51ng/ml vs. 0,27 ng/ml, respectivamente). Nos momentos 48hs e 168hs houve uma tendência de diferença, novamente a concentração no tratamento 2 foi maior que no tratamento 1 (2,73 ng/ml vs. 0,73 ng/ml e 0,83 ng/ml vs. 0,37 ng/ml, respectivamente). Nos demais momentos mensurados, não houve diferença significativa entre os tratamentos. O pico de concentração sérica para a via intramuscular (IM) foi às 12hs ( $2,48 \pm 2,05$ ng/ml) enquanto que o pico da via subcutânea foi às 24hs ( $3,23 \pm 2,15$ ng/ml). O comportamento da progesterona sérica ao longo do tempo está exposto na figura 1 e as médias e desvios-padrões estão na Tabela I.

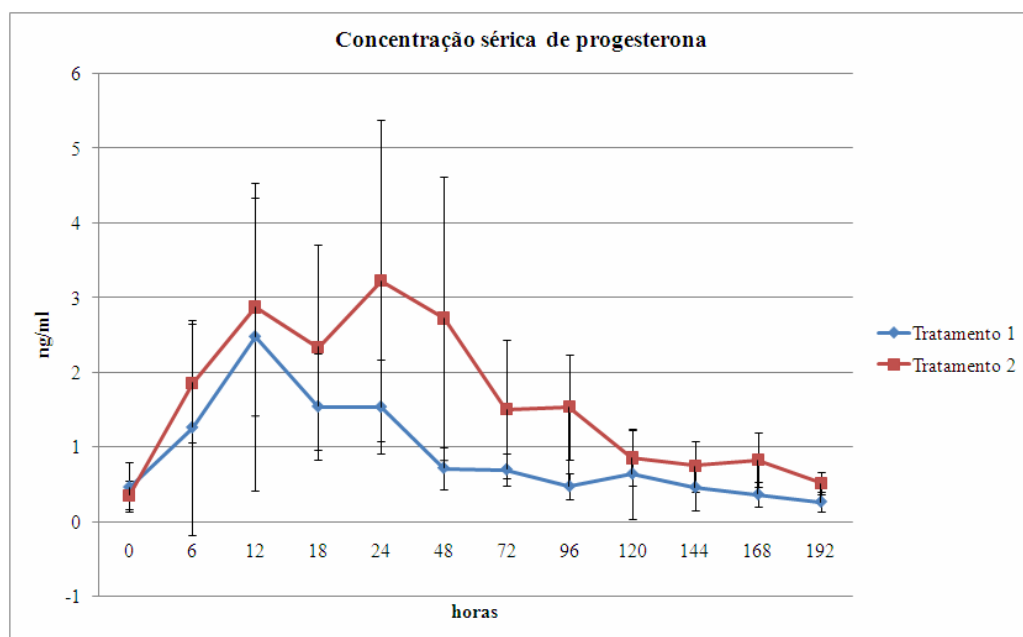


Figura 1 – Concentração sérica de progesterona ao longo do tempo após aplicação de 10ml de MAD-4<sup>®</sup> (250mg de progesterona), T1- via SC e T2 – via IM.

**Tabela I.** Concentração sérica de progesterona em ng/ml (média e desvio-padrão) ao longo do tempo

Tempo (horas)	Experimento I		Experimento II	
	T1 - 250mg de P4 via IM	T2 - 250mg de P4 via SC	T2 - 250mg de P4 via SC	T3 - 375mg de P4 via SC
0h	0,47±0,32	0,35±0,19	0,37±0,28	0,34±0,25
6hs	1,26±1,44	1,86±0,78	1,77±0,89	1,47±1,15
12hs	2,48±2,05	2,88±1,45	2,81±2,26	2,33±0,57
18hs	1,54±0,71	2,34±1,37	4,82±2,95	4,25±0,33
24hs	1,54±0,63	3,23±2,15	4,10±2,35	4,98±0,57
48hs	0,72±0,27	2,73±1,89	2,03±1,27	3,41±0,62
72hs	0,70±0,21	1,51±0,92	1,29±0,84	1,88±0,59
96hs	0,48±0,17 <sup>a</sup>	1,54±0,69 <sup>b</sup>	1,54±1,25	1,97±0,75
120hs	0,64±0,60	0,86±0,37	0,79±0,55	1,25±0,33
144hs	0,46±0,30	0,75±0,33	0,79±0,45 <sup>a</sup>	1,63±0,42 <sup>b</sup>
168hs	0,37±0,17	0,83±0,36	0,66±0,19 <sup>a</sup>	1,36±0,40 <sup>b</sup>
192hs	0,27±0,12 <sup>a</sup>	0,51±0,15 <sup>b</sup>	0,49±0,12 <sup>a</sup>	1,11±0,33 <sup>b</sup>

Letras diferentes entre as colunas na mesma linha indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ).

No experimento 2, o comportamento sérico da progesterona não apresentou diferença entre os tratamentos 2 e 3 desde a hora 0 até a hora 120 (dia 5). Nas medidas realizadas às 144hs, 168hs e 192hs houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ), as concentrações de progesterona do tratamento 2 foram menores quando comparadas ao tratamento 3 (0,79 ng/ml vs. 1,63 ng/ml, 0,66 ng/ml vs. 1,36 ng/ml e 0,49 ng/ml vs. 1,11 ng/ml, respectivamente para as horas e tratamentos). A Figura 2 apresenta as medidas de concentração séricas de progesterona ao longo do tempo e a Tabela I apresenta as médias e os desvios-padrões.

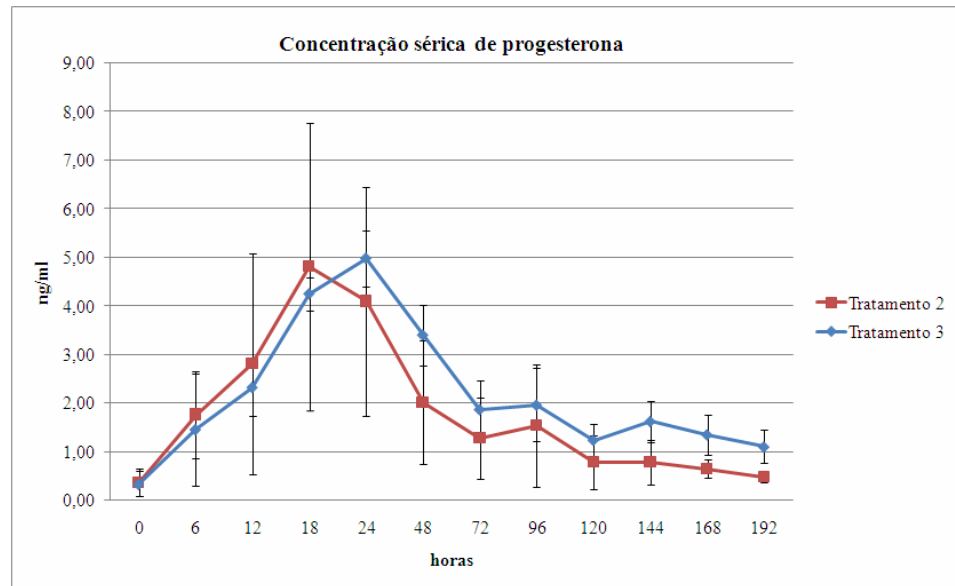


Figura 2 – Concentração sérica de progesterona ao longo do tempo após aplicação subcutânea de MAD-4<sup>®</sup> T2 - 250mg de progesterona e T3 – 375mg de progesterona.

## DISCUSSÃO

O tratamento de fêmeas bovinas com progestágenos visa elevar os níveis séricos de progesterona a patamares superiores a 1ng/ml por períodos determinados. A progesterona altera a função ovárica suprimindo o estro e evitando a ovulação. Ocorre também uma redução da frequência dos pulsos de LH, o qual por sua vez suprime o crescimento do folículo dominante dependendo da dose [11]. O acetato de melengesterol (MGA) é menos efetivo que a progesterona natural para suprimir o LH. É importante destacar que a progesterona não altera a secreção de FSH [1]. Assim sendo, as ondas foliculares seguem emergindo em presença de um corpo lúteo funcional. Os progestágenos administrados por intervalos maiores do que a vida do corpo lúteo, mais do que 14 dias, resulta em um estro sincronizado, porém com fertilidade baixa [4, 7, 9]. Conforme os tipos de gestágenos e doses utilizadas para controlar o ciclo estral em bovinos, estes podem ser menos eficazes que a progesterona endógena (de um corpo

lúteo) especialmente com relação à supressão de LH. A alta frequência de pulsos de LH resulta em desenvolvimento de folículos “persistentes” que contêm óvulos envelhecidos de baixa fertilidade [11]. Neste estudo a aplicação de 250mg de progesterona injetável de longa ação via intramuscular e subcutânea elevou a concentração sérica de progesterona acima de 1ng/ml. A via subcutânea apresentou níveis superiores a 1ng/ml por mais tempo, de 6 até às 96hs. Este tratamento provavelmente suprime temporariamente os pulsos de LH sem permanecer por muito tempo na corrente sanguínea, dessa forma, não prejudicando a fertilidade.

Já no tratamento onde utilizou-se 375mg de progesterona injetável de longa ação via subcutânea, não pode-se dizer o mesmo, pois até onde mensurou-se a progesterona, no dia 8, a concentração permanecia superior a 1ng/ml.

Os implantes vaginais de silicone impregnados com 0,5g de progesterona quando usados pela segunda vez (usos de 7 dias cada), não conseguem manter os níveis de progesterona sérica por mais de 24hs superiores a 1ng/ml [2]. No presente estudo, o tratamento com 250mg de progesterona injetável de longa ação via intramuscular demonstrou concentrações séricas ao longo do tempo semelhantes, pois entre às 24hs e 48hs os níveis ficaram abaixo de 1ng/ml.

As vias de administração parenteral contemplam, entre outras, a via intramuscular (IM) e subcutânea (SC). A via intramuscular se caracteriza por ser uma via de absorção relativamente rápida, já a via subcutânea, se caracteriza por uma absorção mais lenta e contínua [12]. No experimento I, podemos observar claramente este efeito, pois o pico de progesterona sérica do tratamento via IM foi 12hs mais cedo do que a SC, e ainda manteve-se com níveis superiores a 1ng/ml somente nas primeiras 24hs. Por outro lado, o tratamento via SC apresentou níveis superiores aos 1ng/ml até às 96hs.

## CONCLUSÕES

O tratamento de vacas ovariectomizadas com progesterona injetável de longa ação com doses e vias diferentes apresentou concentrações séricas diferentes significativamente em alguns momentos, caracterizando cada via de administração e doses utilizadas. Neste estudo podemos concluir que o tratamento aparentemente mais adequado é aquele no qual se utiliza 250mg de progesterona injetável de longa ação pela via subcutânea, com manutenção de níveis séricos de progesterona superiores a 1ng/ml por período determinado de quatro dias.

## AGRADECIMENTOS

Aos Laboratórios Allignani Hnos S. R. L., pelo apoio financeiro e pela concessão de bolsa ao autor.

## REFERÊNCIAS

- 1 Adams G.P., Matteri R.L. & Ginther O.J. 1992.** The effect of progesterone on growth of ovarian follicles, emergence of follicular waves and circulating FSH in heifers. *Journal of Reproduction and Fertility*. 96:627-640.
- 2 Aviles M., Cutaia L.E., Videla Dorna I., Aba M. & Bó G.A. 2005.** Concentraciones plasmáticas de progesterona em vacas ovariectomizadas tratadas com dispositivos intravaginales con 0,5 y 1,0 g de progesterona y previamente utilizados. In: VI Simpósio Internacional de Reproducción Animal (Córdoba, Argentina). p.384.
- 3 Cachapuz, J.M.S. 1997.** Experiências com desmame aos 90 e 60 dias. Porto Alegre, EMATER-RS, p.1-52.
- 4 Britt J. H. & Ulberg L. C. 1972.** Melengesterol acetate administration to dairy heifers and progestagen levels in the peripheral blood plasma. *Journal of Reproduction and Fertility*, 29:119-122.
- 5 González F.H.D. 2006.** Introdução à Endocrinologia Reprodutiva Veterinária. 1ªed. Porto Alegre:UFRGS. 147p.

- 6 Gregory R.M. 2002.** Métodos de sincronização de estros em bovinos. In: I Simpósio de Reprodução Bovina – Sincronização de Estros em Bovinos (Porto Alegre, Brasil). pp.18-24.
- 7 Larson L.L. & Ball P.J.H. 1992.** Regulation of oestrus cycles in dairy cattle. *Theriogenology*. 38:255-267.
- 8 Moraes J.C.F. 2002.** Controle da reprodução em bovinos de corte. In: I Simpósio de Reprodução Bovina – Sincronização de Estros em Bovinos (Porto Alegre, Brasil). pp.32-40.
- 9 Odde. K.G. 1990.** A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. *Journal of Animal Science*. 68:817-830.
- 10 Pimentel C.A. 2002.** Fisiologia e endocrinologia da reprodução da fêmea bovina. In: I Simpósio de Reprodução de Bovinos (Porto Alegre, Brasil). 5p.
- 11 Savio J.D., Thatcher W.W., Morris G.R., Entwistle K. & Mattiacci M.R. 1993.** Effects of induction of low plasma progesterone concentrations with a progesterone-releasing intravaginal device on follicular turnover and fertility in cattle. *Journal of Reproduction and Fertility*. 98:77-84.
- 12 Spinosa H.S., Górnaiak L.S. & Bernardi M.M. 2002.** Farmacologia aplicada à Medicina Veterinária. 3ªed. Rio de Janeiro:Guanabara. 752p.
- 13 Tanaka Y., Vincent D.L., Ledgerwood K.S. & Weems C. W. 1995.** Variable progesterone response and estradiol secretion in prepubertal beef heifers following treatment with norgestomet implants. *Theriogenology*. 43(6):1077-1086.

#### 4. ARTIGO 2

### AVALIAÇÃO DA DINÂMICA FOLICULAR DE VACAS EM ANESTRO TRATADAS COM PROGESTERONA INJETÁVEL DE LONGA AÇÃO, ESTRADIOL E PROSTAGLANDINA

#### Resumo

O estudo objetivou identificar o efeito de um tratamento hormonal com progesterona injetável de liberação lenta (MAD-4<sup>®</sup>) utilizado em vacas de corte em anestro pós-parto, avaliando a dinâmica folicular, níveis plasmáticos de progesterona e taxa de prenhez final. Foram utilizadas 09 vacas Braford, com 6-8 anos de idade, com peso corporal médio de  $422,7 \pm 10,8$  kg, condição corporal média de  $2,83 \pm 0,25$  (1-5), manejadas sobre campo nativo e avaliadas através do ultra-som para a determinação de seu “*status*” ovariano. Somente foram utilizadas vacas que não apresentavam corpo lúteo. As avaliações ecográficas foram realizadas diariamente do dia 0 ao 9. As coletas de sangue para dosagem de progesterona ocorreram 10 dias antes (dia -10), no dia em que os animais foram divididos em 2 grupos (dia 0) e nos dias 15, 60 e 71. O primeiro grupo, Controle (n=4), recebeu no dia 0 Benzoato de Estradiol 2mg IM e 7 dias depois uma aplicação de prostaglandina. O segundo grupo, Tratamento (n=5), recebeu o mesmo protocolo que o grupo controle com a adição no dia 0 de progesterona injetável 250mg SC. O entoure foi realizado com 1 touro, do dia 7 ao dia 60. O diagnóstico de gestação foi feito por ultra-som, 30 dias após o término do entoure. A concentração de progesterona plasmática no início do tratamento ficou abaixo de 1ng/ml. O diâmetro folicular nos dias 0, 5 e 9 foi de 8,98mm, 6,50mm, e 8,03 mm para o grupo controle e 8,98mm, 6,60mm, e 9,84 mm para o tratado ( $P > 0,05$ ). A taxa de prenhez final foi de 25% (1/4) para o grupo controle e 80% (4/5) para o grupo tratado. O grupo tratado apresentou diferenças numéricas positivas para as variáveis analisadas, não havendo diferença estatística.

**Palavras-chave:** progesterona injetável, MAD-4<sup>®</sup>, vacas de corte em anestro, tratamento hormonal, dinâmica folucular.

**ASSESSMENT OF FOLLICULAR DYNAMICS IN ANESTRUS COWS  
TREATED WITH LONG-ACTING INJECTABLE PROGESTERONE,  
ESTRADIOL AND PROSTAGLANDIN**

***Abstract***

*The study aimed to identify the effect of hormone treatment with injectable slow release progesterone (MAD-4 ®) used on postpartum anestrus beef cows, assessing the follicular dynamics, progesterone plasma levels and pregnancy rate of the cows. Nine suckling cows, 6-8 years old, with average body weight of  $422.7 \pm 10.8$  kg and body condition of  $2.83 \pm 0.25$  (1-5), were grazed on natural pasture and evaluated with ultrasound to determine their ovarian status. Only the cows that did not have a corpus luteum were used and the ultrasonographic evaluations were held daily from day 0 to 9. Blood collections for progesterone dosage occurred 10 days before (day-10), on the day on which the animals were divided into 2 groups (day 0) and days 15, 60 and 71. The first group, named control (n=4), received on day 0 2mg of Estradiol benzoate IM and 7 days after an application of prostaglandin. The second group, named treatment (n=5), received the same protocol as the control group with the addition on day 0 of 250mg progesterone SC. The cows were exposed to one bull from day 7 to day 60. The pregnancy diagnosis was done by ultrasound 30 days after the breeding season. The plasma progesterone concentration at the start of treatment was below 1ng/ml and the follicular diameter on days 0, 5 and 9 was 8, 9.8 mm, 6 mm and 8.03 mm for the control group and 8, 9.8 mm, 6 mm and 9.84 mm for the treated group ( $P > 0.05$ ). The pregnancy rate was 25% (1/4) in the control group and 80% (4/5) in the treated group. The treated group showed positive numeric differences for the variables analyzed, although there was no statistical difference.*

***Keywords:*** progesterone injectable, MAD-4 ®, suckling beef cows, hormone treatment, dynamic follicular.



## Introdução

A pecuária de corte tem competido por espaço físico-econômico com culturas agrícolas de alto potencial produtivo. Dentro deste contexto, passa-se a exigir cada vez mais produtividade dentro de um sistema pecuário, especialmente na etapa de cria, tornando-se cada vez mais importante objetivar a produção de um bezerro por vaca ano, ou algo muito próximo a isto (BERETTA *et al.*, 2001).

A utilização de protocolos hormonais contendo a associação de progesterona (implantes intravaginais - controlled internal drug-release) com estradiol, nos anos 2000, foram amplamente difundidos no intuito de propiciar antecipação da concepção, inseminação artificial de vacas com cria ao pé, retomada da atividade cíclica pós-parto, uniformização da produção de terneiros, entre tantos outros benefícios diretos e indiretos (BARUSELLI & MARQUES, 2002; CUTAIA *et al.*, 2003; STEVERSON *et al.*, 2006).

Uma alta porcentagem de animais não apresenta sinais de cio durante a primeira ovulação pós-parto. Após este evento observa-se um ciclo estral com duração de 8-12 dias. Este fenômeno é chamado de “ciclo de curta duração” e ocorre pela ausência de exposição prévia do endométrio uterino à progesterona. Desta forma, ocorre a secreção prematura de PGF2alfa e o corpo lúteo sofre luteólise em torno do dia 10 do ciclo estral (ODDE *et al.*, 1980; HUNTER *et al.*, 1986; PIMENTEL, 2002).

Werth *et al.* (1996) avaliaram as concentrações plasmáticas de progesterona e o primeiro cio em primíparas de corte durante o período pós-parto e observaram que animais que apresentaram aumento transitório da concentração plasmáticas de progesterona (primeira ovulação pós-parto sem sinais de cio) tiveram maior taxa de concepção à inseminação artificial que animais que não foram expostos à progesterona anteriormente (76 vs. 41%).

Os objetivos deste trabalho foram avaliar o efeito de um tratamento hormonal a base de progesterona injetável de longa ação associado ao estradiol em vacas de corte com cria ao pé em anestro, analisando a dinâmica folicular, concentração plasmática do produto e taxa de prenhez final.

Esta hormonioterapia visa obter a ativação hormonal no pós-parto de vacas de corte em anestro e uma maior taxa de prenhez, buscando a antecipação da prenhez dentro da temporada reprodutiva.

## Material e Métodos

O experimento foi realizado em uma propriedade em Cachoeira do Sul, RS, Brasil, onde utilizou-se 09 vacas com cria, da raça Braford (sintético, 3/8 *Bos indicus* e 5/8 *Bos taurus*), com 6-8 anos de idade, aos 45-60 dias pós-parto, com peso corporal médio de  $422,7 \pm 10,8$ kg, condição corporal média de  $2,83 \pm 0,25$  em escala de 1 a 5 pontos (CACHAPUZ, 1997) manejadas sobre campo nativo, e avaliadas através do ultra-som para a determinação de seu “*status*” ovariano. Somente vacas sem a presença de corpo lúteo foram utilizadas.

As avaliações ecográficas com a utilização do equipamento Falco100, Pie Medical® e transdutor de 7,5 MHz para determinar a dinâmica folicular foram realizadas diariamente desde o dia do início do tratamento (dia 0) até o dia 9. As coletas de sangue para dosagem de progesterona ocorreram 10 dias antes (dia -10), no dia em que os animais foram divididos em 2 grupos (dia 0) e nos dias 15, 60 e 71. As amostras de sangue foram centrifugadas a 800g dentro de 30 minutos após a coleta, durante 5 minutos. A seguir, as amostras de plasma foram armazenadas à temperatura de  $-20^{\circ}\text{C}$  para posterior análise laboratorial através da técnica do radioimunoensaio, conforme descrito por Tanaka *et al.* (1995).

Os animais foram então divididos em dois grupos homogêneos quanto ao peso e condição corporal e “*status*” ovariano. O primeiro grupo n=4, Controle, no dia 0 recebeu 2mg de Benzoato de Estradiol IM e, 7 dias depois, uma aplicação de prostaglandina. O segundo grupo n=5, Tratamento, recebeu o mesmo protocolo que o grupo controle com a aplicação no dia 0 de 250mg de progesterona injetável, 10 ml SC (MAD-4®, Rio de Janeiro, Argentina). As vacas foram colocadas com 1 touro de fertilidade comprovada, do dia 7 ao dia 60. O diagnóstico de gestação foi realizado por ultra-som, 30 dias após o término do período de monta.

As respostas foram analisadas estatisticamente através do programa SAS® usando o procedimento GLM para o modelo de medidas repetidas no tempo. Comparações significativas foram feitas através do teste de Tukey a 5% de significância ( $P < 0,05$ ). As variações foram transformadas usando sua raiz quadrada para estabilizar a variância. As taxas de prenhez foram comparadas estatisticamente através do teste Qui-quadrado, ao nível de 5% de significância ( $P < 0,05$ ).

## Resultados

As dosagens de progesterona plasmática realizadas através das amostras de sangue, respeitando o intervalo de 10 dias entre a primeira e a segunda coleta, confirmaram que as vacas no início do experimento estavam sem atividade luteal (concentração sérica de progesterona abaixo de 1ng/ml em dosagens pareadas).

O grupo tratamento, no dia 15, apresentou concentração plasmática de progesterona inferior ao controle (0,22ng/ml vs. 0,33ng/ml). Já nas demais aferições (dias 60 e 71) foi superior (2,32ng/ml vs. 0,78ng/ml e 7,94ng/ml vs. 1,73ng/ml, respectivamente). Estatisticamente não houve diferença entre os grupos, porém, na aferição do dia 71 houve uma tendência com nível de significância de 6%.

A atividade luteal foi identificada somente no dia 60 do protocolo. O grupo controle apresentou 50% (2/4) de animais com níveis de progesterona superior a 1ng/ml e o grupo tratamento apresentou atividade luteal de 80% (4/5), não havendo diferença estatística significativa. As médias e desvios-padrões podem ser observados na Tabela I.

**Tabela I.** Concentração plasmática de progesterona em ng/ml (média e desvio-padrão) e vacas em atividade luteal ao longo do tempo

Grupos	Dia -10	Dia 0	Dia 15	Dia 60	Dia 71
Controle n=4 (BE + PG)	0,15±0,06	0,13±0,05	0,33±0,33	0,78±0,86	1,73±2,04
Atividade luteal	0/4	0/4	0/4	2/4	2/4
Tratamento n=5 (MAD-4 + BE + PG)	0,28±0,25	0,26±0,21	0,22±0,13	2,32±1,57	7,94±5,29
Atividade luteal	0/5	0/5	0/5	4/5	4/5

Letras diferentes entre as linhas indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ).

Teste Qui-quadrado ao nível de significância de 5%.

A dinâmica folicular pós-tratamento foi semelhante entre os grupos controle e tratamento do dia 0 ao dia 5 (8,98 e 6,5mm vs. 9,04 e 6,6mm, respectivamente). Já no dia 9 o diâmetro médio dos folículos do grupo tratamento apresentou superioridade numérica quando comparado ao grupo controle (9,84mm vs. 8,03mm, respectivamente), não diferindo, porém, estatisticamente. As médias e desvios-padrões podem ser observados na Tabela II e a dinâmica folicular na figura 1.

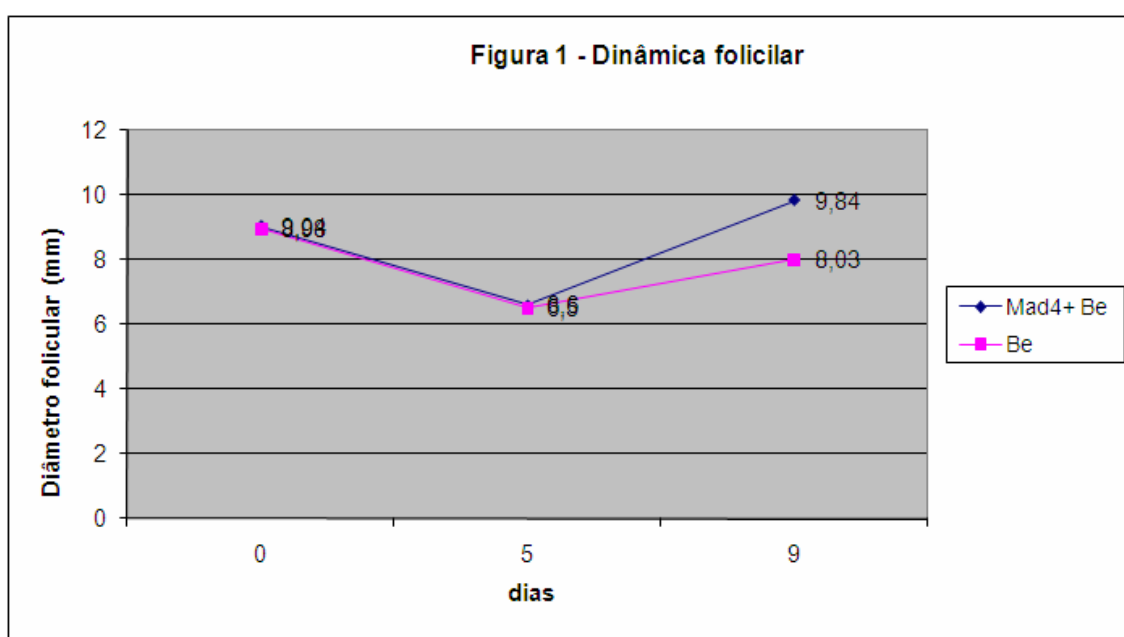
Apesar das diferenças numéricas encontradas entre as taxas de prenhez das vacas com cria ao pé dos grupos controle e tratamento (Tabela II), ao final da estação reprodutiva (25% vs. 80%, respectivamente), as médias não diferiram.

**Tabela II.** Médias e desvios padrões do diâmetro folicular no período de 9 dias pós tratamento e taxa de prenhez final.

Grupos	Dia 0	Dia 5	Dia 9	Tx. Prenhez
<b>Controle n=4 (BE + PG)</b>	8,98±4,15	6,5±2,77	8,03±3,03 <sup>a</sup>	25% (1/4) <sup>a</sup>
<b>Tratamento n=5 (MAD-4 + BE + PG)</b>	9,04±1,38	6,6±1,51	9,84±0,96 <sup>a</sup>	80% (4/5) <sup>a</sup>

Letras diferentes entre as linhas indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ).

Teste Qui-quadrado ao nível de significância de 5%.



**Figura 1.** Dinâmica folicular durante o período de 9 dias pós-tratamento.

### Discussão

Em trabalho anterior Cavestany *et al.* (2008), demonstraram que a aplicação de progesterona injetável (MAD-4<sup>®</sup>, Rio de Janeiro, Argentina) em vacas holandesas ovariectomizadas elevou a concentração plasmática de progesterona a valores superiores a 1ng/ml por 48 horas. Neste experimento, buscou-se identificar possíveis efeitos do tratamento com progesterona injetável de longa ação no manejo reprodutivo da vaca de cria em anestro.

A medição da concentração plasmática de progesterona aos 15 dias pós-tratamento objetivou confirmar a ovulação dos animais esperada teoricamente neste protocolo para 72-84hs após aplicação da PGF2alfa (dia 10). Segundo Bó *et al.* (1994) a maioria dos animais tratados inicialmente com a associação de progesterona (CIDR) e estradiol e que no momento da retirada da fonte de progesterona aplica-se prostaglandina, estes animais ovulam entre 72-84 hs após a aplicação da prostaglandina.

Wetterman *et al.* (1972) acompanhando os níveis séricos de estradiol e da progesterona durante o ciclo estral de novilhas demonstraram que no 4º dia após a ovulação a concentração média de progesterona ficou abaixo de 1ng/ml ( $0,92\pm 0,25$ ng/ml) e, no 7º dia, encontrou valores superiores aos 1ng/ml ( $2,25\pm 0,29$ ng/ml).

Os níveis de progesterona plasmática neste momento para todos os animais foram inferiores a 1ng/ml, não indicando atividade luteal. Provavelmente esta medição tenha sido realizada anterior à plena atividade luteal pós-ovulação. O tratamento com progesterona pode ter diminuído a taxa de crescimento folicular e conseqüentemente atrasando a ovulação. Segundo Castro *et al.* (1996) níveis altos de progesterona exógena em ovinos diminuiu a taxa de crescimento folicular (1,0 vs. 0,7 mm por dia).

Segundo Marques *et al.* (2003) vacas com cria ao pé tratadas com progesterona, estradiol e prostaglandina quando é aferida a concentração plasmática de progesterona 8 dias após a ovulação encontrou-se níveis iguais a  $5,8\pm 0,8$ ng/ml.

No presente trabalho, administrando a progesterona injetável de longa ação em momento anterior ao do acasalamento, a atividade luteal aos 60 dias pós-tratamento foi detectada em 4/5 vacas, contra 2/4 vacas do grupo controle.

Em experimento utilizando suplementação com sementes de algodão (WILLIAMS, 1989) as concentrações plasmáticas de colesterol elevaram-se sendo observado na sequência um aumento nos níveis de progesterona antes da primeira ovulação pós-parto (81 vs. 37%). Avaliando a duração da fase luteal pós-elevação prévia da progesterona, as vacas do grupo controle apresentaram fase luteal mais curta quando comparadas às do grupo tratamento (7,2 vs. 15,3 dias, respectivamente,  $P<0,01$ ).

Neste experimento a medição de progesterona após 11 dias do final do período de acasalamento apresentou uma tendência favorável no grupo tratado, de aumento na concentração de progesterona plasmática (7,94ng/ml vs. 1,73ng/ml, nível de significância de 6%). Analisando individualmente os animais tinha-se neste momento

2/4 vacas do grupo controle sem atividade luteal (níveis plasmáticos abaixo de 1ng/ml) e, no grupo tratado, 1/5 vacas em anestro. Segundo Ghallab *et al.* (1984) somente um tratamento com progestágeno (Norgestomet<sup>®</sup>) não é capaz de prevenir o retorno ao anestro, havendo a necessidade de repetir o tratamento nas fêmeas não prenhas.

O diâmetro folicular entre os grupos no dia do tratamento não apresentou diferença significativa. Houve uma redução no tamanho dos folículos em ambos os grupos comparando o diâmetro folicular no dia 0 e no dia 5 ( $P < 0,05$ ), caracterizando uma possível regressão folicular após início do tratamento, não havendo também diferença significativa entre os grupos. No dia 9 o diâmetro médio dos folículos do grupo tratado com progesterona foi numericamente maior (9,84 vs. 8,03mm, respectivamente).

Em experimento utilizando 26 vacas (sintéticas, 3/8 *Bos indicus* e 5/8 *Bos taurus*) no pós-parto as que receberam tratamento similar (progesterona, estradiol e prostaglandina) apresentaram diâmetro do folículo ovulatório igual a  $13,83 \pm 0,41$ mm (MARQUES *et al.*, 2003). A partir destes dados podemos supor que as vacas do presente experimento devem ter ovulado somente ao redor do dia 12-13 do protocolo, ao invés do dia 10 como esperado.

O presente trabalho avaliou a taxa de prenhez final apresentando uma diferença somente numérica entre os grupos, o grupo controle 25% vs. 80% do grupo tratamento.

No mesmo sentido, imagina-se que o aumento dos níveis de progesterona pré-fecundação estão associados à melhora da fertilidade Burke *et al.* (1997) trabalhando com 426 vacas de leite, mediram níveis plasmáticos de progesterona aos 55-68 dias pós-parto. Estes níveis estiveram relacionados positivamente com a taxa de concepção ao serviço (IA) realizado pós-sincronização com PGF2alfa. Para cada 1ng/ml incrementado de progesterona plasmática, a porcentagem de prenhez aumentou 1,4%.

Trabalhando com vacas de corte com cria ao pé, Baruselli *et al.* (2001) avaliou a taxa de prenhez (dos primeiros 45 dias da estação reprodutiva) de 4 protocolos diferentes: inseminação tradicional com observação de cio, protocolo com progesterona (CIDR<sup>®</sup>), protocolo com progestágeno (CRESTAR<sup>®</sup>) e protocolo utilizando GnRH (OVSYNCH<sup>®</sup>). A taxa de prenhez foi de 19,1% (18/94), 65% (65/100), 60,2 (62/103) e 38% (38/100), respectivamente. Estes resultados corroboram com os descritos no presente experimento.

## Conclusões

Nas condições do presente experimento, o tratamento com progesterona injetável de longa ação foi capaz de proporcionar numericamente maior diâmetro folicular ao final da sincronização, maior atividade luteal e maior taxa de prenhez ao final do período reprodutivo. Faz-se porém, necessária a repetição do mesmo trabalho com maior número de animais para uma provável validação estatística.

## Agradecimentos

Aos Laboratórios Allignani Hnos S. R. L., pelo apoio financeiro e pela concessão de bolsa ao autor.

## REFERÊNCIAS

- BARUSELLI, P.S. & MARQUES, M.O. Programas de sincronização da ovulação em gado de corte. I Simpósio de Reprodução Bovina – Sincronização de Estros em Bovinos, Porto Alegre-RS. **Anais do ...**, p. 41-60, 2002.
- BARUSELLI, P.S.; MADUREIRA, E.H. & MARQUES, M.O. Programas de I.A. a tiempo fijo em *Bos Indicus*. In: IV Simpósio Internacional de Reproducción Animal, Córdoba, Argentina. **Anales de los...** p. 95-116, 2001.
- BERETTA, V.; LOBATO, J.F.P. & MIELITZ NETTO, C.G.A. Produtividade e eficiência biológica de sistemas pecuários de cria diferindo na idade das novilhas ao primeiro parto e na taxa de natalidade do rebanho no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 4, p. 1278-1286, 2001.
- BÓ, G.A.; CACCIA, M.; MARTINEZ, M. *et al.* Synchronous ovulation in heifers treated with E-17 $\beta$  and progestogen treatment for the control of follicular wave dynamics in beef cattle. **Theriogenology**, v. 40, p. 165, 1994.
- BURKE, J.M.; STAPLES, C.R.; RISCO, C.A. *et al.* Effect of ruminant grade menhaden fish meal on reproductive and productive performance of lactating dairy cows. **Journal of Animal Science**, v. 80, n.12, p.3386-3398, 1997.
- CACHAPUZ, J.M.S. **Experiências com desmame aos 90 e 60 dias**. Porto Alegre, EMATER-RS, p.1-52, 1997.
- CASTRO, T.; CARBAJAL, B. & RUBIANES, E. Efecto de altos niveles de progesterona sobre el crecimiento del foliculo dominante de la 1º onda folicular em ovejás monitoreadas ultrasonograficamente. In: II Simpósio Internacional de Reproducción Animal, Córdoba, Argentina. **Anales de lo...** p.251, 1996.

CAVESTANY, D.; FERNÁNDEZ, D.; SALAZAR, E. *et al.* Determinación de niveles de progesterona en sangre luego de la administración parenteral de progesterona em vacas Holando ovariectomizadas o ciclando. XXXVI Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay. **Anales de las ...** p.179, 2008.

CUTAIA, L.; VENERANDA, G.; TRÍBULO, R. *et al.* Inseminación artificial a tiempo fijo utilizando dispositivos intravaginales con progesterona: criterios para la elección del tratamiento y factores condicionantes. 2º Simpósio de Reprodução de Bovinos, Porto Alegre-RS. **Anais do ...** , p. 28-40, 2003.

GHALLAB, A.M.; OTT, R.S.; CMARIK, G.F. *et al.* Effects of repetitive norgestomet treatments on pregnancy rates in cyclic and anestrous beef heifers. **Theriogenology**, v. 22, n. 1, p. 67-74, 1984.

HUNTER, M.G.; SOUTHEE, J.A.; MCLEOD, B.J. *et al.* Progesterone pretreatment has a direct effect on GnRHinduced preovulatory follicles to determine their ability to develop into normal corpora lutea in anoestrous ewes. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 176, p.349-363, 1996.

MARQUES, M.O.; REIS, E.L.; CAMPOS FILHO, E.P. *et al.* Efeitos da administração de eCG e de benzoato de estradiol para sincronização da ovulação em vacas *Bos taurus taurus X Bos taurus indicus* no período pós-parto. In: V Simpósio Internacional de Reproducción Animal. Huerta Grande, Córdoba, Argentina, **Anales de lo...**, p.392, 2003.

ODDE, K.G.; WARD, H.S.; KIRACOFE, G.H. *et al.* Short estrous cycles and associated serum progesterone levels in beef cows. **Theriogenology**, v. 14, p. 105-112, 1980.

PIMENTEL, C. A. Fisiologia e endocrinologia da reprodução da fêmea bovina. I Simpósio de Reprodução de Bovinos, Porto Alegre, RS, 2002. **Anais do...**, Porto Alegre, Anexo, 5p., 2002.

STEVENSON, J.S.; PURSLEY, J.H.; GARVERICK, H.A. *et al.* . Treatment of cycling and noncycling lactating dairy cows with progesterone during ovsynch. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p. 2567-2578, 2006.

TANAKA, Y.; VINCENT, D.L.; LEDGERWOOD, K.S. *et al.* Variable progesterone response and estradiol secretion in prepubertal beef heifers following treatment with norgestomet implants. **Theriogenology**, v. 43, n. 6, p. 1077-1086, 1995.

WERTH, L. A.; WHITTIER, J. C.; AZZAM, S. M. *et al.* Relationship between circulating progesterone and conception at the first postpartum. **Journal of Animal Science**, v. 74, p.616-619, 1996.

WETTEMANN, R.P.; HAFS, H.D.; EDGERTON, L.A. *et al.* Estradiol and progesterone in blood serum during the bovine estrous cycle. **Journal of Animal Science**, v. 34, p.1020-1024, 1972.

WILLIAMS, G.L. Modulation of luteal activity in postpartum beef cows through changes in dietary lipid. **Journal of Animal Science**, v. 67, p.785-793, 1989.



## 5. ARTIGO 3

### SINCRONIZAÇÃO DO ESTRO EM NOVILHAS UTILIZANDO PROGESTERONA INJETÁVEL ASSOCIADA AO ESTRADIOL E PROSTAGLANDINA

#### Resumo

O presente trabalho objetivou avaliar a sincronização de estros e a taxa de prenhez em novilhas de corte previamente tratadas com progesterona injetável, estradiol e prostaglandina. Utilizaram-se 36 novilhas de corte, da raça Braford, com 24-30 meses de idade, com peso corporal médio de  $357,6 \pm 26,9$  kg e condição corporal média de  $3,22 \pm 0,25$  (1 a 5). Os animais foram divididos em dois grupos homogêneos quanto ao peso e condição corporal e “*status*” ovariano. O primeiro grupo  $n=16$ , T1, no dia 0 recebeu 2mg de Benzoato de Estradiol IM e 125mg de progesterona injetável IM e 7 dias depois, uma aplicação de prostaglandina. O segundo grupo  $n=20$ , T2, recebeu o mesmo protocolo que o grupo controle com a aplicação no dia 0 de 375mg de progesterona injetável, SC. O estro foi observado por 5 dias após aplicação da prostaglandina e realizada a inseminação convencional. Após o período de inseminação as novilhas foram repassadas com 2 touros do dia 13 ao dia 82 do protocolo. O diagnóstico de gestação foi realizado por ultra-som 30 dias após o término da temporada reprodutiva. A taxa de manifestação de estro foi superior no tratamento 1 quando comparada ao tratamento 2 (93,2 vs. 20,0%, respectivamente), houve diferença estatística ( $P < 0,05$ ). A prenhez final foi semelhante entre os grupos. O tratamento 1 apresentou 75% e o tratamento 2 foi de 80% de prenhez, não diferindo estatisticamente. Nas condições do presente experimento o tratamento de novilhas com progesterona injetável de longa ação utilizando dose de 375mg via SC foi capaz bloquear a manifestação de estro, não sendo indicada esta dose e via de aplicação para este tipo de sincronização. A sincronização com 125mg de progesterona injetável via IM associado ao estradiol e PGF2alfa foi eficiente. A prenhez final não foi afetada pela alta dose de progesterona em T2.

**Palavras-chave:** progesterona injetável, MAD-4<sup>®</sup>, novilhas de corte, tratamento hormonal, sincronização de estro.

**SYNCHRONIZATION OF OESTRUS IN HEIFERS USING INJECTABLE  
PROGESTERONE ASSOCIATED TO ESTRADIOL AND PROSTAGLANDIN**

**Abstract**

*The present study aimed to evaluate estros synchronization and rate of pregnancy in beef heifers previously treated with injectable progesterone, estradiol and prostaglandin. Thirty six Braford heifers, 24-30 months old, with average body weight of  $357.6 \pm 26$  kg and body condition of  $3.22 \pm 0.25$  (1 to 5) were used. The animals were divided into two homogenous groups regarding body weight, body condition and ovarian status. The first group  $n = 16$ , T1, on day 0 received 2 mg of estradiol IM and 125mg of progesterone IM and 7 days after prostaglandin was administered. The second group  $n = 20$ , T2, received the same protocol, however with different concentration of progesterone on day 0 (375mg SC). After the application of prostaglandin the heifers were inseminated for 5 days and than bred with bulls from day 13 to 82. The pregnancy diagnosis of pregnancy was performed by ultrasound 30 days after of the breeding season. The manifestation of oestrus was superior in T1 when compared to T2 (93.2 vs. 20.0%, respectively) and there was statistical difference ( $P < 0.05$ ). The final pregnancy rate was similar between the groups (T1 75% and T2 80%) not differing statistically. In the conditions of this experiment, the treatment of heifers with long-acting injectable progesterone using 375mg SC was able to block the manifestation of oestrus, therefore not being indicated for this type of synchronization. The sinchronizacion of oestrus with 125mg IM of progesterone the associated to estradiol and prostaglandin was efficient. The final pregnancy rate was not affected by the high progesterone doses in T2.*

**Keywords:** *progesterone injectable, MAD®-4, heifers, hormone treatment, oestrus synchronization.*

## Introdução

A necessidade de aumento da produção e produtividade passa pela aceleração das etapas do ciclo produtivo dos bovinos, com a redução da idade de abate e do primeiro parto das fêmeas, minimizando o espaço de tempo em que permanecem sem contribuir para o desfrute do rebanho, ou seja, sem a contribuição em quilos de carne para a venda (BERETTA *et al.*, 2001; LOBATO & AZAMBUJA, 2002). Deste modo, como forma de produzir cada vez mais, com qualidade, é fundamental utilizar o que há de melhor em termos de genética disponível.

Análises dos resultados de programas de IATF indicam que é possível obter porcentagens de prenhez médias de 50% à primeira inseminação, tanto em vacas com cria ao pé como em novilhas *Bos taurus* de dois anos de idade (CUTAIA *et al.*, 2003a).

A inseminação artificial provê a oportunidade de acasalar novilhas com touros selecionados, com diferenças esperadas na progênie (DEPs) para baixo peso ao nascer, porém melhoradores para outras características de interesse econômico com alta confiabilidade. Esta prática minimiza a incidência e a severidade das dificuldades ao parto, diminuindo as perdas de produtos resultantes de distocia (PATTERSON *et al.*, 1999).

O presente trabalho objetivou avaliar a sincronização de estros, a taxa de prenhez em novilhas de corte previamente tratadas com progesterona injetável, estradiol e prostaglandina.

## Material e métodos

O experimento foi realizado em uma propriedade em Cachoeira do Sul, RS, Brasil, utilizou-se 36 novilhas de corte, da raça Braford (sintético, 3/8 *Bos indicus* e 5/8 *Bos taurus*), com 24-30 meses idade, com peso corporal médio de 357,6±26,9kg, condição corporal média de 3,22±0,25 em escala de 1 a 5 pontos (CACHAPUZ, 1997), manejadas sobre campo nativo e avaliadas através da ultra-sonografia para a determinação do “*status*” ovariano, utilizando-se 3 classificações: 1 para novilhas com folículos < 8 mm de diâmetro, 2 para novilhas com folículos > 8 mm de diâmetro e 3 para novilhas com corpo lúteo, a partir de metodologia proposta por Cutaia *et al.* (2003). Foram utilizadas somente novilhas com escore 2 e 3.

Os animais foram então divididos em dois grupos homogêneos quanto ao peso, condição corporal e *status* ovariano. O primeiro grupo n=16, T1, no dia 0 recebeu 2mg de Benzoato de Estradiol 2ml IM e 125mg de progesterona injetável 5ml IM (MAD-4<sup>®</sup>, Rio de Janeiro, Argentina) e, 7 dias depois, uma aplicação de prostaglandina (500 mcg Cloprostenol – Sincrocio<sup>®</sup> – Ourofino).

O segundo grupo n=20, T2, recebeu o mesmo protocolo que o grupo controle com a aplicação no dia 0 de 375mg de progesterona injetável 15ml SC (MAD-4<sup>®</sup>, Rio de Janeiro, Argentina). O estro foi observado por 5 dias após aplicação da prostaglandina. A inseminação artificial foi realizada através do sistema convencional de observação de estro pela manhã e inseminação à tarde ou observação de estro à tarde e inseminação pela manhã. Após o período da inseminação as novilhas foram repassadas com dois touros (raça Aberdeen Angus) de fertilidade comprovada, do dia 13 ao dia 82. O diagnóstico de gestação foi realizado por ultra-som (Falco100, Pie Medical<sup>®</sup> com transdutor de 7,5 MHz) 30 dias após o término do entoure. Na figura I podemos observar os tratamentos.

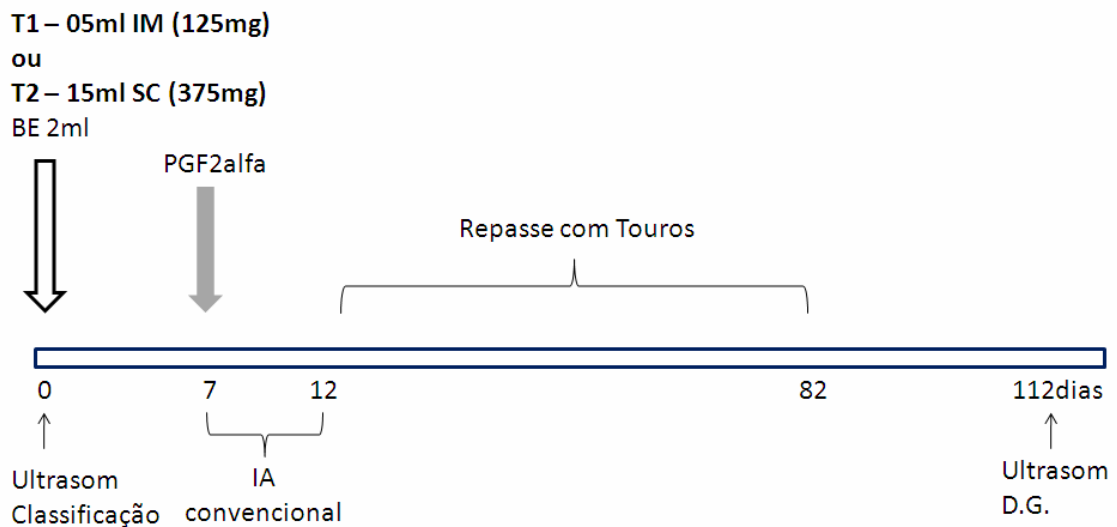


Figura I – protocolo de sincronização de estro, inseminação artificial e manejo reprodutivo.

As respostas foram analisadas estatisticamente através do teste Qui-quadrado, ao nível de 5% de significância ( $P < 0,05$ ).

## Resultados

A taxa de manifestação de estro foi superior no tratamento 1 quando comparada ao tratamento 2 (93,2 vs. 20,0%, respectivamente), houve diferença estatística ( $P < 0,05$ ).

A prenhez final foi semelhante entre os grupos. O tratamento um apresentou 75% e o tratamento 2 atingiu 80% de prenhez, não diferindo estatisticamente. Ambos os resultados podem ser visualizados na tabela 1.

**Tabela 1.** Taxas de Manifestação de Estro e Prenhez de Novilhas após Sincronização e IA + repasse por Touros de Acordo com o Tratamento Antes do Início da Estação Reprodutiva

Tratamento	Manifestação de estro		Prenhez Final	
	N	%	N	%
<b>T1 – P4, 125mgIM</b>	15/16	93,7 <sup>a</sup>	12/16	75,0
<b>T2 – P4, 375mgSC</b>	4/20	20,0 <sup>b</sup>	16/20	80,0
<b>Total</b>	<b>19/36</b>	<b>52,7</b>	<b>28/36</b>	<b>77,7</b>

Teste Qui-quadrado ao nível de significância de 5%. Letras em diferentes entre as linhas indicam diferença estatística.

O peso corporal e condição corporal foram semelhantes entre os grupos, não diferindo estatisticamente. Através da análise de variância foi avaliada a relação entre o peso e manifestação de estro e peso e prenhez, não demonstrando correlação. Também foi realizada a análise da correlação entre condição corporal quanto à manifestação de estro e condição corporal quanto à prenhez, novamente não havendo correlação.

## Discussão

Trabalhos da década de 50 relacionaram doses diárias de progesterona injetável com a resposta ovariana. Foram utilizadas 14 novilhas e avaliados 48 ciclos estrais. As doses diárias utilizadas foram de 50mg, 25mg, 12,5mg, 6,25mg e 3,125mg. A dose de 50mg de progesterona diária bloqueou a ovulação e a manifestação de estro. O tamanho folicular médio ao final do tratamento foi de 11,3mm e os animais entraram em estro de 4-6 dias após o final do tratamento. Por outro lado, as doses de 12,5 a 25mg proporcionaram ao final do tratamento folículos com 15,5mm e os estros ocorreram entre 2-3 dias após (ULBERG *et al.*, 1951).

No presente experimento tornou-se evidente que a alta dose de progesterona de 375mg aplicada no início do protocolo bloqueou a manifestação de estro após a aplicação da prostaglandina.

Em estudo recente utilizando vacas braford de 532 kg de peso corporal médio observou-se que quando aplicadas 375mg de progesterona de longa ação injetável via SC a concentração plasmática de progesterona foi superior a 1ng/ml durante os 8 dias mensurados (ROCHA *et al.*, 2011). Esta mesma dosagem quando aplicada em novilhas de 357 kg de peso médio pode ter determinado o bloqueio do estro.

Em trabalho realizado com vacas de corte comparando tratamentos com altas e baixas doses de progesterona onde avaliaram o diâmetro do folículo dominante (FD) no momento da retirada da fonte de progesterona exógena e no momento da inseminação artificial a tempo fixo (IATF), 56hs após remoção (PFEIFER *et al.*, 2008). O folículo dominante no grupo de baixo-P4 foi maior ( $P < 0,05$ ) do que no grupo de alto-P4 no dia da remoção e no dia da IATF ( $11,8 \pm 0,4$  e  $13,7 \pm 0,5$  vs.  $13,3 \pm 0,6$  e  $15,3 \pm 0,6$  no Alto P4 e P4-grupos de baixo, respectivamente). A taxa de prenhez foi semelhante ( $P = 0,16$ ) entre os grupos de Alta-P4: 55,6% (20/36) e de Baixa-P4: 44,4% (16/33). Concluiu-se que a Baixa-P4 resultou em um maior folículo dominante sem nenhum efeito aparente na taxa de prenhez. Em trabalho realizado com ovelhas onde se aferiu a taxa de crescimento folicular de animais controles e tratados com progesterona os resultados diferiram entre os grupos apresentando um crescimento de  $1,0 \pm 0,1$  mm/dia para o grupo controle e  $0,7 \pm 0,1$  mm/dia para o tratado (CASTRO *et al.*, 1996).

Estes resultados que relacionam altas doses de progesterona com menor crescimento folicular e folículos pré-ovulatórios menores pode explicar a menor manifestação de estro no grupo tratado com 375mg de progesterona.

No presente experimento quando utilizamos dose baixa de progesterona via IM associada ao estradiol obtivemos maior sincronização de estro comparada com a utilização de dose alta. Este resultado pode ser melhor compreendido quando analisamos o trabalho que utilizou novilhas *bos taurus*, comparando os tratamentos hormonais para IA que propiciavam às fêmeas níveis fisiológicos ou sub-fisiológicos de progesterona durante o tratamento com implantes de progesterona (PFEIFER *et al.*, 2009; ADAMS *et al.*, 1992). Estes autores demonstraram que em novilhas cíclicas submetidas a níveis inferiores de progesterona produzem um maior folículo dominante e um maior corpo lúteo, com maior produção de progesterona. Entretanto, o efeito sobre a taxa de prenhez foi semelhante entre os grupos.

Quando utilizaram uma mesma concentração de progesterona natural (100mg) aplicada por via parenteral (subcutânea), tanto em vacas ovariectomizadas como em vaquilhaonas, a duração dos níveis plasmáticos de progesterona acima dos valores basais (>1ng/ml) foi possivelmente diferente. Isto talvez se devesse à diferença de peso entre ambas as categorias de animais, o que permite supor que exista uma relação de dose de progesterona por Kg de peso vivo, o que poderia explicar a curta duração de níveis elevados de progesterona plasmática em vacas ovariectomizadas e a suposta presença de valores supra-basais ao momento da IATF em vaquilhaonas submetidas a um protocolo de Ovsynch com a aplicação de 100mg de P4 via SC ao início do mesmo (FERNANDEZ & SALAZAR, 2007).

A administração de estradiol exógeno associado à progesterona suprime o desenvolvimento do folículo dominante e resulta em uma nova onda de crescimento folicular, aproximadamente 4,3 dias após aplicação (BÓ *et al.*, 1995). Esta nova onda vai propiciar o folículo dominante e pré-ovulatório do estro sincronizado.

Os autores McDougall *et al.* (1992) realizaram experimentos para testar a hipótese de que o pré-tratamento com progesterona aumentaria a proporção de animais que exibem estro após a injeção de benzoato de estradiol-17 $\beta$ . Vacas no pós-parto foram separadas aleatoriamente para ser pré-tratados com dispositivo CIDR-B contendo 1,9 g de progesterona ou um dispositivo sem hormônio (placebo) CIDR-B por 5 dias. Todas as vacas foram injetadas com 600 $\mu$ g de benzoato de estradiol 48 horas após a remoção do dispositivo CIDR-B. As vacas foram observadas para o comportamento estral durante 15 minutos, 4 vezes ao dia. Houve 81% (13/16) de estro no grupo pré-tratados com progesterona em comparação com 39% (07/18) de vacas em estro do grupo não pré-tratado com progesterona. O pré-tratamento de progesterona, aparentemente sensibilizou as vacas para os efeitos comportamentais do benzoato de estradiol exógena.

Estes achados concordam com os resultados encontrados neste experimento, onde a associação de dose baixa de progesterona (125mg) com estradiol e prostagladina apresentou boa taxa de sincronização de estro.

## **Conclusões**

Nas condições do presente experimento o tratamento de novilhas com progesterona injetável de longa ação utilizando dose de 375mg via SC bloqueou a

manifestação de estro, não sendo indicada esta dose e via de administração para este tipo de sincronização (período de 12 dias).

A sincronização de estros utilizando progesterona na dose de 125mg via IM associada com estradiol foi efetiva.

A taxa de prenhez final foi semelhante entre os tratamentos, independente da dosagem de progesterona.

### **Agradecimentos**

Aos Laboratórios Allignani Hnos S. R. L., pelo apoio financeiro e pela concessão de bolsa ao autor.

### **REFERÊNCIAS**

ADAMS, G. P.; MATTERI, R. L. & GINTHER, O. J. Effect of progesterone on ovarian follicles, emergence of follicular waves and circulating follicle-stimulating hormone in heifers. **Journals of Reproduction and Fertility**, v. 95, p. 627-640, 1992.

BERETTA, V.; LOBATO, J.F.P. & MIELITZ NETTO, C.G.A. Produtividade e eficiência biológica de sistemas pecuários de cria diferindo na idade das novilhas ao primeiro parto e na taxa de natalidade do rebanho no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 4, p. 1278-1286, 2001.

BÓ, G.A.; ADAMS, G.P. CACCIA, M. *et al.* Ovarian follicular wave emergence after treatment with progestogen and estradiol in cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 39, nº 3, p. 193-204, 1995.

CACHAPUZ, J.M.S. **Experiências com desmame aos 90 e 60 dias**. Porto Alegre, EMATER-RS, p.1-52, 1997.

CASTRO, T.; CARBAJAL, B. & RUBIANES, E. Efecto de altos niveles de progesterona sobre el crecimiento del foliculo dominante de la 1º onda folicular em ovejás monitoreadas ultrasonograficamente. In: II Simpósio Internacional de Reproducción Animal, Córdoba, Argentina. **Anales de lo...** p.251, 1996.

CUTAIA, L.; VENERANDA, G.; TRÍBULO, R. *et al.* Programas de Inseminación Artificial a Tiempo Fijo em Rodeos de Cria: Factores que lo Afectan y Resultados Productivos. V Simpósio Internacional de Reproducción Animal. Huerta Grande, Córdoba, Argentina, **Anais do ...**, p. 119-132, 2003a.



CUTAIA, L.; VENERANDA, G.; TRÍBULO, R. *et al.* Inseminación artificial a tiempo fijo utilizando dispositivos intravaginales con progesterona: criterios para la elección del tratamiento y factores condicionantes. 2° Simpósio de Reprodução de Bovinos, Porto Alegre-RS. **Anais do ...**, p. 28-40, 2003b.

FERNANDEZ, D. & SALAZAR, E. Determinación de niveles de progesterona en sangre luego de la administración parenteral de progesterona y evaluación de diferentes protocolos de sincronización de celos en vaquillonas de la raza Holando. **Tese de Doutorado**: Montevideo: Univercidad de la República, Facultad de Veterinária, 58p, 2007.

LOBATO, J.F.P. & AZAMBUJA, P.S. Recria de terneiras e eficiência reprodutiva de novilhas e vacas primíparas. I Simpósio de Reprodução Bovina – Sincronização de Estros em Bovinos, Porto Alegre-RS. **Anais ...**, p. 5-17, 2002.

MCDUGALL, S.; BURKE, C.R.; MACMILLAN, K.L. *et al.* The effect of pretreatment with progesterone on the oestrous response to oestradiol-17Beta benzoate in the post-partum dairy cow. *Proceedings of New Zealand Society of Animal Production*, v. 52, p. 157-160, 1992.

PATTERSON, D.J.; WOOD, S.L. & RANDLE, R.F. Procedures that support reproductive management of replacement beef heifers. **Proceedings of the American Society of Animal Science**, [www.asas.org/jas/symposia/proceedings/0902.pdf](http://www.asas.org/jas/symposia/proceedings/0902.pdf), 1999.

PFEIFER, L.F.M.; MAPLETOFT, R.; ADAMS, G. *et al.* The effect of progesterone on follicular development and pregnancy rate in beef cattle. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 20, nº1, p.90, 2008.

PFEIFER, L.F.M.; MAPLETOFT, R.J.; KASTELIC, J.P. *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.

ROCHA, D.C.; BESKOW, A.; PIMENTEL, C.M.M. *et al.* Níveis séricos de progesterona em vacas ovariectomizadas tratadas com MAD4<sup>®</sup> com diferentes concentrações e vias de administração. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 39, n. 3 (in press), 2011.

ULBERG, L.C.; CHRISTIAN, R.E. & CASIDA, L.E. Ovarian response in heifers to progesterone injections. **Journal of Animal Science**, v.10, p.752-759, 1951.

## 6. ARTIGO 4

### **EFEITO DO TRATAMENTO COM PROGESTERONA INJETÁVEL DE LONGA AÇÃO ASSOCIADO AO ESTRADIOL SOBRE A TAXA DE PREENHEZ DE VACAS COM CRIA AO PÉ**

#### **Resumo**

O presente trabalho objetivou avaliar a taxa de prenhez em vacas de corte com cria ao pé previamente tratadas com progesterona injetável, estradiol e prostaglandina. Utilizaram-se 268 vacas de corte com cria ao pé, da raça Angus (140) e Braford (128), com 4-8 anos de idade, com condição corporal média de  $2,83 \pm 0,19$  (1 a 5), aos 30 a 60 dias pós-parto. Os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos. O grupo controle n=136 foi colocado com touros por um período de 60 dias. O grupo tratamento, no dia 0 recebeu 2mg de Benzoato de Estradiol IM e 250mg de progesterona injetável 10ml SC (MAD-4<sup>®</sup>). Após 2 dias foram colocadas com touros por um período de 58 dias. O diagnóstico de gestação foi realizado por ultra-som, aos 50, 70 e 90 dias após o início do período de monta natural. Avaliando os períodos de monta houve aos 40 dias uma maior prenhez no grupo tratamento ( $P < 0,05$ ). A taxa de prenhez ao final da temporada de monta foi superior no grupo tratamento comparado ao grupo controle,  $P < 0,05$  (51,52 vs. 29,41 %, respectivamente). Nas condições do presente experimento, o tratamento de vacas de corte com cria ao pé com progesterona injetável de longa ação na dose de 250mg via SC associado ao estradiol foi capaz de antecipar as concepções e aumentar a taxa de prenhez final.

**Palavras-chave:** progesterona injetável, MAD-4<sup>®</sup>, vacas de corte, tratamento hormonal, sincronização de estro.

**EFFECT OF TREATMENT WITH LONG-ACTING INJECTABLE  
PROGESTERONE ASSOCIATED WITH ESTRADIOL ON THE RATE OF  
PREGNANCY OF SUCKLING COWS**

***Abstract***

*The present study aimed to assess the pregnancy rate in multiparous suckling beef cows previously treated with injectable progesterone, estradiol and prostaglandin. Angus (140) and Braford (128) cows, 4-8 years old, with average body condition of  $2.83 \pm 0.19$  (1-5) and 30 to 60 days postpartum were used. The animals were randomly divided into two groups. The control group  $n = 136$  was bred with bulls for a period of 60 days. The treatment group on day 0 received 2mg of Estradiol benzoate IM and 250mg progesterone SC (MAD<sup>®</sup>-4) and after 2 days was bred with bulls for a period of 58 days. The pregnancy diagnosis was performed by ultrasound, 50, 70 and 90 days after the start of the breeding period. At the 40<sup>th</sup> day evaluation the pregnancy rate in the treatment group was higher ( $P < 0.05$ ). The pregnancy rate at the end of the season was higher in the treatment group compared to the control group (51.52 vs. 29.41%, respectively  $P < 0.05$ ). In the conditions of this experiment, the treatment of multiparous suckling beef cows with long-acting injectable progesterone 250 mg SC associated with estradiol was able to anticipate conception and increase pregnancy rate.*

**Keywords:** *progesterone injectable, MAD<sup>®</sup>-4, suckling cows, hormone treatment, oestrus synchronization.*

## Introdução

A atual situação da pecuária do Mercosul exige dos produtores a máxima eficiência para garantir o retorno econômico (CUTAIA *et al.*, 2003). Neste contexto, a otimização da eficiência reprodutiva é um dos principais fatores que contribuem para melhorar os lucros das empresas pecuárias.

A manifestação de cio fértil pós-parto nas vacas de corte é um fenômeno controlado por inúmeros fatores e relacionado com a regulação do metabolismo, no qual participa o cérebro, a hipófise, as gônadas e outros hormônios, integrando um sistema complexo, preciso e ainda não completamente esclarecido (MORAES, 2002).

Uma alta porcentagem de animais não apresenta sinais de cio durante a primeira ovulação pós-parto. Após este evento observa-se um ciclo estral com duração de 8-12 dias. Este fenômeno é chamado de “ciclo de curta duração” e ocorre pela ausência de exposição prévia do endométrio uterino à progesterona. Desta forma, ocorre a secreção prematura de PGF2alfa e o corpo lúteo sofre luteólise em torno do dia 10 do ciclo estral (HUNTER *et al.*, 1986; PIMENTEL, 2002).

Werth *et al.* (1996) avaliaram as concentrações plasmáticas de progesterona e o primeiro cio em primíparas de corte durante o período pós-parto e observaram que animais que apresentaram aumento transitório da concentração plasmática de progesterona (primeira ovulação pós-parto sem sinais de cio) tiveram maior taxa de concepção à inseminação artificial que animais que não foram expostos à progesterona anteriormente (76 vs. 41%).

O presente trabalho objetivou avaliar o período de monta natural e a taxa de prenhez em vacas de corte com cria ao pé previamente tratadas com progesterona injetável e estradiol.

## Material e métodos

O experimento foi realizado em duas propriedades em São Gabriel, RS, Brasil. Utilizou-se 268 vacas de corte com cria ao pé, 140 vacas da raça Aberdeen Angus e 128 da raça Braford (sintético, 3/8 *Bos indicus* e 5/8 *Bos taurus*), com 4-8 anos de idade, com condição corporal média de  $2,83 \pm 0,19$  em escala de 1 a 5 pontos (CACHAPUZ, 1997), manejadas sobre campo nativo, com intervalo de dias pós-parto de 30 a 60 dias,

todas paridas durante o mês de março de 2010. A estação reprodutiva foi outonal, de 1º de maio a 30 de junho de 2010. Os animais foram então divididos aleatoriamente em dois grupos. O grupo controle n=136 foi colocado com touros (06) de fertilidade provada por um período de 60 dias. O grupo tratamento no dia 0 recebeu 2mg de Benzoato de Estradiol IM (Estrogin<sup>®</sup>, Farmavet, Brasil) e 250mg de progesterona injetável 10ml SC (MAD-4<sup>®</sup>, Rio de Janeiro, Argentina). Após 2 dias as vacas foram colocadas com 06 touros de fertilidade provada, por 58 dias. O diagnóstico de gestação foi realizado por ultrason (Falco100, Pie Medical<sup>®</sup> com transdutor de 7,5 MHz) aos 50, 70 e 90 dias após o início do entoure. Na figura I podemos observar os grupos.

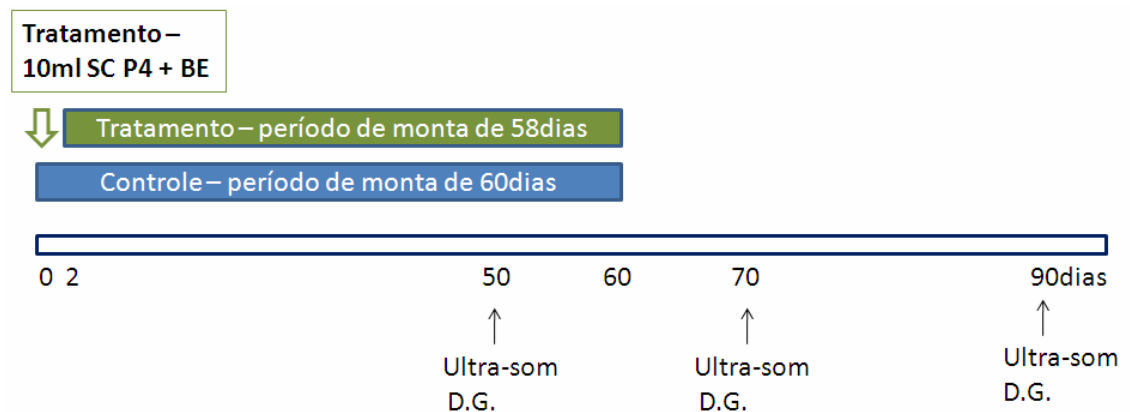


Figura I – grupo controle e grupo tratamento hormonal.

As respostas foram analisadas estatisticamente através do teste Qui-quadrado, ao nível de 5% de significância ( $P < 0,05$ ).

## Resultados

Os dados das duas propriedades foram analisados em conjunto, já que não houve nenhum efeito do local e conseqüentemente da raça sobre os resultados quando avaliados estatisticamente.

A taxa de prenhez nos primeiros 20 dias do período de monta foi de 14,7% para o grupo controle e de 18,8% para o tratamento, não diferindo estatisticamente. Ao analisar a taxa de prenhez acumulada aos 40 dias da estação de monta encontramos

diferença estatística ( $P < 0,05$ ). Em que o grupo tratamento apresentou taxa de prenhez maior que o grupo controle (42,4 vs. 20,5%, respectivamente).

Ao término do período reprodutivo analisamos a taxa de prenhez final. O grupo controle apresentou 29,4% vs. grupo tratamento com taxa de 51,5%, houve diferença estatística ( $P < 0,05$ ). Os resultados podem ser visualizados na tabela 1.

**Tabela 1.** Taxas de prenhez dividida por períodos e prenhez ao final do período reprodutivo de vacas de corte com cria ao pé pré-tratadas com P4 e BE ou não.

Grupos	Tx. de Prenhez 20dias		Tx. de Prenhez 40dias		Tx. de Prenhez Final	
	N	%	N	%	N	%
<b>Controle</b>	20/136	14,7	28/136	20,5 <sup>a</sup>	40/136	29,4 <sup>a</sup>
<b>Tratamento</b>	24/132	18,8	56/132	42,4 <sup>b</sup>	68/132	51,5 <sup>b</sup>
<b>Total</b>	<b>44/268</b>	<b>16,4</b>	<b>84/268</b>	<b>31,3</b>	<b>108/268</b>	<b>40,2</b>

Teste Qui-quadrado ao nível de significância de 5%. Letras em diferentes entre as linhas indicam diferença estatística.

A condição corporal foi homogênea entre os grupos. Não houve correlação entre a condição corporal e a taxa de prenhez neste estudo.

## Discussão

A retomada da dinâmica folicular em vacas leiteiras e de corte ocorre ao começo do pós-parto. Segundo hipótese de Roche *et al.* (1992) para que a ovulação ocorra o folículo dominante deve ser exposto a uma frequência de pulsos de LH adequada (um pulso a cada 60 minutos). A inadequada frequência de pulsos de LH resulta em uma baixa produção de andrógenos pelas células da teca e conseqüentemente uma baixa produção de estrógenos pelas células da granulosa, que não chegam aos níveis necessários para desencadear um pico de LH. Assim, o folículo dominante começa a regredir, dando lugar ao crescimento de uma nova onda folicular.

A exposição a níveis elevados de progesterona parece ser pré-requisito para uma expressão normal de estro e para uma fase luteal subseqüente normal (PATTERSON *et al.*, 1990; BÓ *et al.*, 2000).

O protocolo utilizado neste experimento proporciona ao grupo tratamento um aporte de progesterona por um período curto. Em estudo recente, utilizando vacas

braford de 532 kg de peso corporal médio, quando aplicou-se 250mg de progesterona de longa ação injetável via SC, a concentração plasmática de progesterona foi superior aos 1ng/ml por 120hs (ROCHA *et al.*, 2011).

Os ciclos curtos podem ser obtidos induzindo uma ovulação com GnRH durante o anestro em ovelhas e vacas (TROXEL & KESLER, 1984), mas os ciclos normais podem ser alcançados administrando progesterona exógena antes do tratamento com GnRH (RIVERA *et al.*, 1998; TROXEL & KESLER, 1984).

Portanto, a exposição à progesterona exógena seguida por sua retirada (*priming* de progesterona), parece ser necessária para uma diferenciação normal das células da gragulosa e o desenvolvimento pós-ovulação do corpo lúteo (BÓ, 2000).

A associação entre períodos anovulatórios longos e ciclos curtos no pós-parto, pode ser atribuída ao longo período em que as vacas apresentam níveis baixos de progesterona (perda da pré-exposição à progesterona) comparando com vacas com um período anovulatório mais curto e ciclos normais. Alguns outros sugeriram que a prostaglandina secretada durante a involução uterina pode ser responsável pela luteólise precoce no pós-parto (HUNTER *et al.*, 1986; SHORT *et al.*, 1990; PIMENTEL, 2002).

Foram realizados muitos estudos utilizando gonadotrfinas e esteróides buscando antecipar a primeira ovulação e a ciclicidade pós-parto, mas com resultados inconsistentes (ODDE, 1990). Uma razão importante que pode confundir estes estudos seria o desconhecimento do estágio do desenvolvimento folicular no momento do tratamento.

No presente estudo buscou-se utilizar a pré-exposição à progesterona associada com benzoato de estradiol no intuito de promover o chamado efeito “*priming*” com estimulação do hipotálamo-hipófise e ao mesmo tempo a sincronização folicular. A administração de estradiol exógeno associado à progesterona suprime o desenvolvimento do folículo dominante e resulta em uma nova onda de crescimento folicular, aproximadamente 4,3 dias após aplicação (BÓ *et al.*, 1995). Esta nova onda vai propiciar um folículo dominante e pré-ovulatório do estro sincronizado.

Neste experimento quando avaliamos a prenhez por períodos de 20, 40 e 60 dias podemos observar que nos primeiros 20 dias não houve diferença entre o grupo controle e tratamento (14,7 vs. 18,8%, respectivamente), bem como ao descrito por Echevarria *et al.* (2009) que, após tratamento similar, obtiveram taxa de prenhez, dos primeiros 20 dias de serviço natural, de 40% (16/40) no grupo controle vs. 35% (14/40) no grupo tratamento, não havendo diferença estatística.

Trabalhando com vacas de corte pré-tratadas com progesterona González Chaves *et al.* (2009) encontraram diferenças na taxa de prenhez no período de serviço natural de 0 a 7 dias (27,3% para o grupo tratamento e 7,2% para o controle). Quando avaliaram a taxa de prenhez do período de 0 a 38 dias de serviço natural os resultados são semelhantes numericamente aos encontrados no atual experimento. O grupo controle obteve 20,0% (9/45) vs. 34,2% (13/38) para o tratamento, não diferindo estatisticamente.

A taxa de prenhez nos primeiros 40 dias e no final do período de monta natural neste estudo foi maior no grupo tratamento quando comparada ao grupo controle. Diverços trabalhos que utilizaram protocolos hormonais semelhantes apresentaram somente diferenças numéricas (CALLEJAS *et al.*, 2009; ECHEVARRIA *et al.*, 2009; GONZÁLES CHAVES, *et al.*, 2009; GRIGERA *et al.*, 2009).

O protocolo hormonal progesterona associado com estradiol foi testado em 362 vacas de corte com cria servidas com touros, monta natural (GRIGERA *et al.*, 2009). O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da utilização de dispositivos intravaginais com 0,558g de progesterona, administração de benzoato de estradiol na colocação do implante e injeção de benzoato de estradiol ou não 24hs após a retirada do implante. Os animais foram divididos aleatoriamente em três grupos: grupo um = P4+BE+24hsBE, grupo dois = P4+BE e grupo três = controle. Ao avaliar a taxa de prenhez dos primeiros 30 dias de serviço natural obtiveram respectivamente: grupo um = 74,2% (95/128), grupo dois = 65,4% (87/133) e grupo três = 55,4% (56/101). A taxa de prenhez do grupo 1 foi maior quando comparada aos grupos 2 e 3 ( $P < 0,05$ ). Os grupos dois e três quando comparados apresentaram somente diferença numérica diferente do atual trabalho.

Esta diferença encontrada por Grigera *et al.* (2009) pode ser compreendida quando analisamos o trabalho dos autores Os autores McDougall *et al.* (1992) que realizaram experimentos para testar a hipótese de que o pré-tratamento com progesterona aumentaria a proporção de animais que exibem estro após a injeção de benzoato de estradiol-17 $\beta$ . Vacas no pós-parto foram separadas aleatoriamente para serem pré-tratadas com dispositivo CIDR-B contendo 1,9 g de progesterona ou um dispositivo sem hormônio (placebo) CIDR-B por 5 dias. Todas as vacas foram injetadas com 600 $\mu$ g de benzoato de estradiol-17 $\beta$  48 horas após a remoção do dispositivo CIDR-B. As vacas foram observadas para o comportamento estral durante 15 minutos, 4 vezes ao dia. Houve 81% (13/16) de estro no grupo pré-tratados com progesterona em



comparação com 39% (07/18) de vacas em estro do grupo não pré-tratados com progesterona. O pré-tratamento de progesterona, aparentemente sensibilizou as vacas para os efeitos comportamentais do benzoato de estradiol-17 $\beta$  exógena.

A diferença de prenhez encontrada nos primeiros 40 dias de serviço natural caracteriza uma antecipação de concepção no grupo tratado comparado ao grupo controle. Esta antecipação tem sido considerada essencial no manejo reprodutivo da fêmea bovina, pois proporciona melhor repetição de cria no ano seguinte (GREGORY & ROCHA, 2004) com efeitos produtivos, pois os terneiros que nascem mais cedo apresentam maior peso ao desmame (CUTAIA *et al.*, 2003).

### **Conclusões**

Nas condições do presente experimento, o tratamento de vacas de corte com cria ao pé com progesterona injetável de longa ação utilizando dose de 250mg via SC associado ao estradiol pré-período de reprodução outonal através de monta natural foi capaz antecipar a concepção e incrementar a taxa de prenhez ao final da temporada de monta.

### **Agradecimentos**

Aos Laboratórios Allignani Hnos S. R. L., pelo apoio financeiro e pela concessão de bolsa ao autor.

### **REFERÊNCIAS**

BÓ, G.A.; ADAMS, G.P. & MAPLETOFT. R.J. Dinâmica folicular ovárica en el bovino. Controle Farmacológico do Ciclo Estral em Ruminantes. São Paulo – SP - Brasil, **Anais do ...**, n. 1, 2000.

BÓ, G.A.; ADAMS, G.P.; CACCIA, M. *et al.* Ovarian follicular wave emergence after treatment with progestogen and estradiol in cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 39, nº 3, p. 193-204, 1995.

CACHAPUZ, J.M.S. **Experiências com desmame aos 90 e 60 dias**. Porto Alegre, EMATER-RS, p.1-52, 1997.

CALLEJAS, S.; SCHANG, S.; CLEDOU, G. *et al.* Uso de dispositivos intravaginales con progesterona combinados con benzoato de estradiol al retiro en vacas con cria en servicio natural. VIII Simpósio Internacional de Reproducción Animal. Córdoba, Argentina, **Anais do ...** , n. 8, 2009.

CUTAIA, L.; VENERANDA, G.; TRÍBULO, R. *et al.* Inseminación artificial a tiempo fijo utilizando dispositivos intravaginales con progesterona: criterios para la elección del tratamiento y factores condicionantes. 2° Simpósio de Reprodução de Bovinos, Porto Alegre-RS. **Anais do ...**, p. 28-40, 2003.

ECHEVARRIA, S.; ZAPIOLA, A. Y CALLEJAS, S. Uso de dispositivos con 0,5 g de progesterona en vacas con cria cola de parición com servicio natural. VIII Simpósio Internacional de Reproducción Animal. Córdoba, Argentina, **Anais do ...** , n. 22, 2009.

GONZÁLEZ CHAVES, S.; USLENGHI, G.; CLEDOU, G. *et al.* Efecto de la utilización de dispositivos intravaginales con progesterona sobre el porcentaje de preñez en vacas con servicio natural que recibieron o no una iatf. VIII Simpósio Internacional de Reproducción Animal. Córdoba, Argentina, **Anais do ...** , n. 25, 2009.

GREGORY, R.M. & ROCHA, D.C. Protocolos de sincronização e indução de estros em vacas de corte no Rio Grande do Sul. 1° Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, Londrina-PR. **Anais ...**, p. 147-154, 2004.

GRIGERA, J.; CLEDOU, G. & CALLEJAS, S. Uso de dispositivos intravaginales con 0,558 g de progesterona combinado con benzoato de estradiol en vacas con cria en servicio natural. VIII Simpósio Internacional de Reproducción Animal. Córdoba, Argentina, **Anais do ...** , n. 30, 2009.

HUNTER, M.G.; SOUTHEE, J.A.; MCLEOD, B.J. *et al.* Progesterone pretreatment has a direct effect on GnRH induced preovulatory follicles to determine their ability to develop into normal corpora lutea in anoestrous ewes. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 176, p.349-363, 1996.

MORAES, J.C.F. Controle da reprodução em bovinos de corte. I Simpósio de Reprodução Bovina – Sincronização de Estros em Bovinos, Porto Alegre-RS. **Anais ...** , p. 32-40, 2002.

MCDUGALL, S.; BURKE, C.R.; MACMILLAN, K.L. *et al.* The effect of pretreatment with progesterone on the oestrous response to oestradiol-17Beta benzoate in the post-partum dairy cow. Proceedings of New Zealand Society of Animal Production, v. 52, p. 157-160, 1992.

ODDE, K.G. A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. **Journal Animal Science**, v. 68, p. 817-830, 1990.

PATTERSON, D.J.; CORAH, L.R. & BRETHOUR, J.R. Response of prepubertal *Bos taurus* and *Bos indicus* x *Bos taurus* heifers to melengestrol acetate with or without gonadotropin-releasing hormone. **Theriogenology**, v. 33, n. 3, p. 661-668, 1990.

- PIMENTEL, C. A. Fisiologia e endocrinologia da reprodução da fêmea bovina. I Simpósio de Reprodução de Bovinos, Porto Alegre, RS, 2002. **Anais do...**, Porto Alegre, Anexo, 5p., 2002.
- RIVERA, G.M.; GOÑI, C.G.; CHAVES, M.A. *et al.* Ovarian follicular wave synchronization and induction of ovulation in postpartum beef cows. **Theriogenology**, v. 49, nº 7, p.1365-1375.
- ROCHA, D.C.; BESKOW, A.; PIMENTEL, C.M.M. *et al.* Níveis séricos de progesterona em vacas ovariectomizadas tratadas com MAD4<sup>®</sup> com diferentes concentrações e vias de administração. **Acta Scientiae Veterinariae**, (in press), 2011.
- ROCHE, J. F.; CROWE, M.A. & M.P. BOLAND. Postpartum anoestrus in dairy and beef cows. **Animal Reproduction Science**, v. 28, nº 1-4, p. 371-378, 1992.
- SHORT, R. E.; BELLOWS, R. A.; STAIGMILLER, R. B. *et al.* Physiological mechanisms controlling anoestrus and infertility in postpartum beef cattle. **Journal Animal Science**, v. 68, p. 799-816, 1990.
- TROXEL, T.R. & KESLER, D.J. The effect of progestin and GnRH treatments on ovarian function and reproductive hormone secretions of anoestrus postpartum suckled beef cows. **Theriogenology**, v. 21, nº5, p. 699-711, 1984.
- WERTH, L. A.; WHITTIER, J. C.; AZZAM, S. M. *et al.* Relationship between circulating progesterone and conception at the first postpartum. **Journal of Animal Science**, v. 74, p.616-619, 1996.

## 7 CONCLUSÕES

Os resultados do presente trabalho, nas condições em que foi realizado, permitem as seguintes conclusões:

A administração de progesterona injetável de longa ação com doses e vias diferentes em vacas ovariectomizadas apresentou concentrações séricas diferentes significativamente em alguns momentos, caracterizando cada via de administração e doses utilizadas.

O tratamento de vacas de corte com cria ao pé em anestro pós-parto com progesterona injetável de longa ação associado ao estradiol foi capaz de proporcionar numericamente maior diâmetro folicular ao final da sincronização, maior atividade luteal e maior taxa de prenhez ao final do período reprodutivo. Faz-se porém, necessária a repetição do mesmo trabalho com maior número de animais para uma provável validação estatística.

O tratamento de novilhas de corte com progesterona injetável de longa ação utilizando dose de 375mg via SC bloqueou a manifestação de estro, não sendo indicada esta dose e via de administração para este tipo de sincronização (período de 12 dias). A sincronização de estros utilizando progesterona na dose de 125mg via IM associada com estradiol foi efetiva. A dosagem de progesterona não interferiu na taxa de prenhez final.

A utilização do tratamento hormonal com progesterona injetável de longa ação utilizando dose de 250mg via SC associado ao estradiol pré-período de reprodução outonal (através de monta natural), em vacas de corte com cria ao pé, foi capaz antecipar a concepção e incrementar a taxa de prenhez ao final da temporada de monta.

## REFERÊNCIAS

- ADAMS, G. P.; MATTERI, R. L. & GINTHER, O. J. Effect of progesterone on ovarian follicles, emergence of follicular waves and circulating follicle-stimulating hormone in heifers. **Journals of Reproduction and Fertility**, v. 95, p. 627-640, 1992.
- AVILES, M.; CUTAIA, L.E.; VIDELA DORNA I. *et al.* Concentraciones plasmáticas de progesterona em vacas ovariectomizadas tratadas com dispositivos intravaginales con 0,5 y 1,0 g de progesterona y previamente utilizados. VI Simpósio Internacional de Reproducción Animal (Córdoba, Argentina). **Anales de lo...**, p.384, 2005.
- AYRES. H.; MARQUES; M. O.; SILVA, R. C. P. *et al.* Influência do uso de eCG em diferentes períodos pós parto e do escore de condição corporal na taxa de prenhez de vacas nelore inseminadas em tempo fixo. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 35, supl. 3, p. 1113, 2007.
- BARCELLOS, J.O.J.; COSTA, E.C.; SEMMELMANN, C.E.N. *et al.* Manejo nutricional da novilha de corte até o primeiro acasalamento. 2º Simpósio de Reprodução de Bovinos, Porto Alegre-RS. **Anais do ...**, p. 4-27, 2003.
- BARUSELLI, P. S. MADUREIRA, E.H.; MARQUES, M.O. *et al.* Efeito do tratamento com eCG na taxa de concepção de vacas Nelore com diferentes escores de condição corporal inseminadas em tempo fixo (Análise Retrospectiva). **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32, p. 228, 2004.
- BARUSELLI, P.S.; BÓ, G.A.; REIS, E.L. *et al.* Introdução da IATF no manejo reprodutivo de rebanhos bovinos de corte no Brasil. In: VI Simpósio Internacional de Reproducción Animal, Córdoba, 24 a 26 de junho de 2005, **Anais**, p. 151-176, 2005.
- BARUSELLI, P.S.; MARQUES, M.O.; REIS, E.L. *et al.* Tratamentos hormonais para melhorar a performance reprodutiva de vacas de cria em anestro em condições tropicais. In: V Simpósio Internacional de Reproducción Animal. Huerta Grande, Córdoba, 27 a 29 de junho de 2003, **Anais**, p. 103-116, 2003.
- BARUSELLI, P.S.; MADUREIRA, E.H. & MARQUES, M.O. Programas de I.A. a tiempo fijo em *Bos Indicus*. In: IV Simpósio Internacional de Reproducción Animal, Córdoba, Argentina. **Anales de los...** p. 95-116, 2001.
- BARUSELLI, P.S. & MARQUES, M.O. Programas de sincronização da ovulação em gado de corte. I Simpósio de Reprodução Bovina – Sincronização de Estros em Bovinos, Porto Alegre-RS. **Anais do ...**, p. 41-60, 2002.
- BARUSELLI, P.S.; MARQUES, M.O.; MADUREIRA, E.H. *et al.* Superestimulação ovariana de receptoras de embriões bovinos visando o aumento de corpos lúteos, concentração de P4 e taxa de prenhez. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.28, supl. 2, p.218, 2000.
- BERETTA, V.; LOBATO, J.F.P. & MIELITZ NETTO, C.G.A. Produtividade e eficiência biológica de sistemas pecuários de cria diferindo na idade das novilhas ao

primeiro parto e na taxa de natalidade do rebanho no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 4, p. 1278-1286, 2001.

BERGFELD, E.G.; KOJIMA, F.N.; CUPP, A.S. *et al.* Ovarian follicular development in prepuberal heifers is influenced by level of dietary energy intake. **Biology of Reproduction**, v. 51, p. 1051-1057, 1994.

BERGFELD, E.G.; KOJIMA, F.N.; CUPP, A.S. *et al.* Changing dose of progesterone results in sudden changes in frequency of luteinizing hormone pulses and secretion of 17 beta-estradiol in bovine females. **Biology of Reproduction**, v. 54, p. 546-553, 1996.

BINELLI, M. Estratégias anti-luteolíticas para a melhora da sobrevivência embrionária em bovinos. Controle Farmacológico do Ciclo Estral em Ruminantes. São Paulo – SP - Brasil, **Anais do ...**, n. 1, p. 99-114, 2000.

BÓ, G.A.; ADAMS, G.P. CACCIA, M. *et al.* Ovarian follicular wave emergence after treatment with progestogen and estradiol in cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 39, nº 3, p. 193-204, 1995.

BÓ, G.A.; ADAMS, G.P. & MAPLETOFT. R.J. Dinâmica folicular ovárica en el bovino. Controle Farmacológico do Ciclo Estral em Ruminantes. São Paulo – SP - Brasil, **Anais do ...**, n. 1, p. 12-34, 2000.

BÓ, G.A.; CACCIA, M.; MARTINEZ, M. *et al.* Synchronous ovulation in heifers treated with E-17 $\beta$  and progestogen treatment for the control of follicular wave dynamics in beef cattle. **Theriogenology**, v. 40, p. 165, 1994.

BÓ, G.A.; CUTAIA, L. & VENERANDA, G. Aplicación de programas de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) en rodeos de cría manejados en condiciones pastoriles. XXXI Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay. **Anales de las ...**, p. 31-40, 2003.

BOYD, L. G., SMITH, G. F., WOOD, P. D. P., CRAVEN, J. Fertility of inseminations with two sperm concentrations in oestrus-synchronized cattle. **Animal Production**, v. 17, p. 163-168, 1973.

BRIDGES, P.J.; LEWIS, P.E.; WAGNER, W.R. *et al.* Follicular growth, estrus and pregnancy after fixed-time insemination in beef cows treated with intravaginal inserts and estradiol benzoate. **Theriogenology**, v. 52, n. 4, p., 1999.

BRITT, J. H. & ULBERG, L. C. Melengesterol acetate administration to dairy heifers and progesterone levels in the peripheral blood plasma. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 29, p.119-122, 1972.

BURKE, C. R.; MIHM, M.; MACMILLAN, K.L. *et al.* Some effects of prematurely elevated concentrations of progesterone on luteal and follicular characteristics during the estrous cycle in heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 35, p. 27-39, 1994.

BURKE, J.M.; STAPLES, C.R.; RISCO, C.A. *et al.* Effect of ruminant grade menhaden fish meal on reproductive and productive performance of lactating dairy cows. **Journal of Animal Science**, v. 80, n.12, p.3386-3398, 1997.

CACHAPUZ, J.M.A. O setor primário no Rio Grande do Sul – Diagnóstico e perspectivas sócio económicas. Porto Alegre. **Pecuária de Corte nos Anos 80**, p. 17-39, 1991.

CACHAPUZ, J.M.S. **Experiências com desmame aos 90 e 60 dias**. Porto Alegre, EMATER-RS, p.1-52, 1997.

CALLEJAS, S.; SCHANG, S.; CLEDOU, G. *et al.* Uso de dispositivos intravaginales con progesterona combinados con benzoato de estradiol al retiro en vacas con cria en servicio natural. VIII Simpósio Internacional de Reproducción Animal. Córdoba, Argentina, **Anais do ...**, n. 8, 2009.

CARVALHO, J.B.P.; CARVALHO, N.A.T.; REIS, E.L. *et al.* Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus*, and *Bos taurus* heifers. **Theriogenology**, v. 69, p. 167-175, 2008.

CASTELLANOS, F. *et al.* Estrous expression in dairy cows and heifers (*Bos taurus*) following repeated PGF<sub>2α</sub> injection and choice of selecting a mounting partner. **Applied Animal Behaviour Science**, v.51, p.29-37, 1997.

CASTRO, T.; CARBAJAL, B. & RUBIANES, E. Efecto de altos niveles de progesterona sobre el crecimiento del foliculo dominante de la 1º onda folicular em ovejás monitoreadas ultrasonograficamente. In: II Simpósio Internacional de Reproducción Animal, Córdoba, Argentina. **Anales de lo...** p.251, 1996.

CAVESTANY, D. Estrus synchronization in lactating Holstein cows with a vaginal sponge impregnated with medroxyprogesterone acetate. 13th International Congress on Animal Reproduction, **Anais do ...** v.2, p. 4-13, 1996.

CAVESTANY, D.; FERNÁNDEZ, D.; SALAZAR, E. *et al.* Determinación de niveles de progesterona en sangre luego de la administración parenteral de progesterona em vacas Holando ovariectomizadas o ciclando. XXXVI Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay. **Anales de las ...** p.179, 2008.

CAVESTANY, D.; MEIKLE, A.; KINDAHL, H. *et al.* Use of medroxyprogesterone acetate (MAP) in lactating Holstein cows within an Ovsynch protocol: follicular growth and hormonal patterns. **Theriogenology**, v. 59, n. 8, p. 1787-1798, 2003.

COLAZO, M.G.; KASTELIC, J.P.; MAINAR-JAIME, R.C.; *et al.* Resynchronization of previously timed-inseminated beef heifers with progestins. **Theriogenology**, v. 65, n. 3, p. 557-572, 2006.

CHRISTIAN, R. E. & CASIDA, L. E. The effects of progesterone in altering the estrous cycle of the cow. **Journal of Animal Science**, v. 7, p. 540, 1948.

CUTAIA, L.E.; PERES, L.C.; PINCINATO, D.; *et al.* Programas de sincronização de celos en vaquillonas de carne: puntos críticos a tener en cuenta. VII Simpósio Internacional de Reproducción Animal, Córdoba, Argentina. **Anales del ...**, p. 83-93, 2007.

CUTAIA, L.; RAMOS, M.; CHESTA, P. *et al.* Efecto de la aplicación de ecg 14 días después de la iatf en vacas de carne con cría tratadas con dispositivos con progesterona.

VIII Simpósio Internacional de Reproducción Animal. Córdoba, Córdoba, Argentina, **Anais do ...**, n.17, 2009.

CUTAIA, L.; VENERANDA, G.; TRÍBULO, R. *et al.* Inseminación artificial a tiempo fijo utilizando dispositivos intravaginales con progesterona: criterios para la elección del tratamiento y factores condicionantes. 2° Simpósio de Reprodução de Bovinos, Porto Alegre-RS. **Anais do ...**, p. 28-40, 2003.

DEL VECCHIO, R.P.; NEUENDORFF, D.A.; STAHRINGER, R.C.; *et al.* Concentration of 13,14-dihydro-15-keto-prostaglandin F2 $\alpha$ , estradiol-17 $\beta$  and progesterone during the peripubertal period in heifers. **Theriogenology**, v. 38, n. 3, p. 419-429, 1992.

DÍAZ, T.; MANZO, M.; TROCÓNIZ, J. *et al.* Plasma progesterone levels during the estrous cycle of Holstein and Brahman cows, carora type and cross-bred heifers. **Theriogenology**, v.26, n. 4, p. 419-432, 1986.

DIELEMAN, S. J.; BEVERS, M.M.; VAN TOL, H.T.M. *et al.* Peripheral plasma concentrations of estradiol, progesterone, cortisol, LH and prolactin during the estrous cycle in the cow, with emphasis on the peri-oestrus period. **Animal Reproduction Science.**, v. 10, p. 275-292, 1986.

D'OCCHIO, M.J.; NEISH, A. & BROADHURST, L. Differences in gonadotrophin secretion post partum between zebu and european breed cattle. **Animal Reproduction Science**, v.22, p.311-317, 1990.

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

DISKIN, M.G.; MACKEY, D.R.; ROCHE, J.F.; *et al.* Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 78, n. 3-4, p. 345-370, 2003.

ECHEVARRIA, S.; ZAPIOLA, A. Y CALLEJAS, S. Uso de dispositivos con 0,5 g de progesterona en vacas con cria cola de parición com servicio natural. VIII Simpósio Internacional de Reproducción Animal. Córdoba, Argentina, **Anais do ...**, n. 22, 2009.

EVERETT, J.W. Progesterone and estrogen in the experimental control of ovulation time and other features of the estrous cycle in the rat. **Endocrinology**, v.43, p.389, 1948.

FERNANDEZ, D. & SALAZAR, E. Determinación de niveles de progesterona en sangre luego de la administración parenteral de progesterona y evaluación de diferentes protocolos de sincronización de celos en vaquillonas de la raza Holando. **Tese de Doutorado**: Montevideo: Univercidad de la República, Facultad de Veterinária, 58p, 2007.

FONSECA, F.A.; BRITT, J.H.; McDANIEL, B.T. *et al.* Reproductive traits of Holsteins and Jerseys. Effects of age, milk yield, and clinical abnormalities on



involution of cervix and uterus, ovulation, estrous cycles, detection of estrus, conception rate, and days open. **Journal of Animal Science**, v. 66, n.5, p.1128-1147, 1983.

GHALLAB, A.M.; OTT, R.S.; CMARIK, G.F. *et al.* Effects of repetitive norgestomet treatments on pregnancy rates in cyclic and anestrus beef heifers. **Theriogenology**, v. 22, n. 1, p. 67-74, 1984.

GINTHER, O. J.; KASTELIC; J. P., KNOPF, L. Composition and characteristics of follicular waves during the bovine estrous cycle. **Animal Reproduction Science**, v. 20, p. 187-200, 1989.

GONÇALVES, P.B.D.; NEVES, J.P.; OLIVEIRA, J.F.C. *et al.* Fisiologia do ciclo estral. Simpósio Avanços na Reprodução Bovina 2000, Pelotas-RS. **Anais ...**, Editora Universitária, UFPel. p. 11-24, 2000.

GONZÁLEZ F.H.D. **Introdução à Endocrinologia Reprodutiva Veterinária**. 1ªed. Porto Alegre:UFRGS. 147p. 2006.

GONZÁLEZ CHAVES, S.; USLENGHI, G.; CLEDOU, G. *et al.* Efecto de la utilización de dispositivos intravaginales con progesterona sobre el porcentaje de preñez en vacas con servicio natural que recibieron o no una iatf. VIII Simpósio Internacional de Reproducción Animal. Córdoba, Argentina, **Anais do ...**, n. 25, 2009.

GREGORY R.M. Métodos de sincronização de estros em bovinos. In: I Simpósio de Reprodução Bovina – Sincronização de Estros em Bovinos (Porto Alegre, Brasil). **Anais do...**, p.18-24, 2002.

GREGORY, R.M. & ROCHA, D.C. Protocolos de sincronização e indução de estros em vacas de corte no Rio Grande do Sul. 1º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, Londrina-PR. **Anais ...**, p. 147-154, 2004.

GRIFFIN, P.G. & GINTHER, O.J. Research applications of ultrasonic imaging in reproductive biology. **Journal of Animal Science**, v.70, p. 953-972, 1992.

GRIGERA, J.; CLEDOU, G. & CALLEJAS, S. Uso de dispositivos intravaginales con 0,558 g de progesterona combinado con benzoato de estradiol en vacas con cria en servicio natural. VIII Simpósio Internacional de Reproducción Animal. Córdoba, Argentina, **Anais do ...**, n. 30, 2009.

HAFEZ, E. S. E. **Reproduction in farm animals**. 6<sup>a</sup> Ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 585p., 1993.

HAFEZ, B. & HAFEZ, E.S.E. **Reproduction in Farm Animals**. Baltimore, ed. 7, 2000.

HALL, J.B.; SCHILLO, K.K.; FITZGERALD, B.P. *et al.* Effects of recombinant bovine somatotropin and dietary energy intake on growth, secretion of luteinizing hormone, follicular development and onset of puberty in beef heifers. **Journal of Animal Science**, v. 72, n. 3, p. 709-718, 1994.

HALL, J.B.; STAIGMILLER, R.B.; SHORT, R.E.; *et al.* Effect of age and pattern of gain on induction of puberty with a progestin in beef heifers. **Journal of Animal Science**, v. 75, n. 6, p. 1606-1611, 1997.

HUNTER, M.G.; SOUTHEE, J.A.; MCLEOD, B.J. *et al.* Progesterone pretreatment has a direct effect on GnRH-induced preovulatory follicles to determine their ability to develop into normal corpora lutea in anoestrous ewes. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 176, p.349-363, 1996.

IRELAND, J.J. & ROCHE, J.F. Effect of progesterone on basal LH and episodic LH and FSH secretion in heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 64, p. 295-302, 1982.

KASTELIC, J.P. Folliculogenesis in cattle. 1<sup>o</sup> Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, Londrina-PR. **Anais ...**, p. 17-25, 2004.

KASTELIC, J.P.; CURRAN, S.; PIERSON, R.A. *et al.* Ultrasonic evaluation of the bovine conceptus. **Theriogenology**, v. 29, p. 39-54, 1988.

KULICK, L.J.; KOT, K.; WILTBANK, M.C. *et al.* Follicular and hormonal dynamics during the first follicular wave in heifers. **Theriogenology**, v. 52, n. 5, p. 913-921, 1999.

LARSON, L.L. & BALL, P.J.H. Regulation of oestrus cycles in dairy cattle. **Theriogenology**, v. 38, p.255-267, 1992.

LOBATO, J.F.P. & AZAMBUJA, P.S. Recria de terneiras e eficiência reprodutiva de novilhas e vacas primíparas. I Simpósio de Reprodução Bovina – Sincronização de Estros em Bovinos, Porto Alegre-RS. **Anais ...**, p. 5-17, 2002.

LUCY, M.C.; SAVIO, J.D.; BADINGA, L. *et al.* Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. **Journal of Animal Science**, v. 70, p.3615-3626, 1992.

LUCY, M.C.; THATCHER, W.W. & MACMILLAN, K.L. Ultrasonic identification of follicular populations and return to estrus in early post partum dairy cows given intravaginal progesterone for 15 days. **Theriogenology**, v. 34, n. 2, p. 325-340, 1990.

MACMILLAN, K. L. & BURKE, C. R. Effects of oestrous cycle control on reproductive efficiency. **Animal Reproduction Science**, v.42, p.307-320, 1996.

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.

MACMILLAN, K.L.; SEGWAGWE, B.V.E.; C.S. PINO. Associations between the manipulation of patterns of follicular development and fertility in cattle. **Animal Reproduction Science**, v.78, p.327-344, 2003.

MACMILLAN, K.L.; TAUFU, V.K. & DAY, A.M. Effects of an agonist of gonadotrophin releasing hormone (Buserelin) in cattle. III. Pregnancy rates after a post-

insemination injection during metoestrus or dioestrus. **Animal Reproduction Science**, v.11, p. 1-10, 1986.

MACKEY, D. R.; SREENAN, J. M.; ROCHET, J. F. *et al.* The effect of progesterone alone or in combination with estradiol on follicular dynamics, gonadotropin profiles, and estrus in beef cows following calf isolation and restricted suckling. **Journal of Animal Science**, v.78, n.7, p.1917-1929, 2000.

MANN, G.E. & LAMMING, G. E. *et al.* The role of sub-optimal preovulatory oestradiol secretion in the aetiology of premature luteolysis during the short oestrous cycle in the cow. **Animal Reproduction Science**, v.64, p.171-180, 2000.

MARQUES, M.O.; REIS, E.L.; CAMPOS FILHO, E.P. *et al.* Efeitos da administração de eCG e de benzoato de estradiol para sincronização da ovulação em vacas *Bos taurus taurus* X *Bos taurus indicus* no período pós-parto. In: V Simpósio Internacional de Reproducción Animal. Huerta Grande, Córdoba, Argentina, **Anales de lo...**, p.392, 2003.

MARTINEZ, M. F. *et al.* Effects of oestradiol and some of its esters on gonadotrophin release and ovarian follicular dynamics in CIDR-treated beef cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 86, p. 37-52, 2005.

MCDUGALL, S.; BURKE, C.R.; MACMILLAN, K.L. *et al.* The effect of pretreatment with progesterone on the oestrous response to oestradiol-17Beta benzoate in the post-partum dairy cow. Proceedings of New Zealand Society of Animal Production, v. 52, p. 157-160, 1992.

MELTON, B.E. Conception to consumption: The economics of genetic improvement. **Proc. Beef Improvement Federation**, Sheridan, WY. p. 40-87, 1995.

MIALOT, J.P.; LAUMONNIER, G.; PONSART, C. *et al.* Postpartum subestrus in dairy cows: comparison of treatment with prostaglandin F2 $\alpha$  or GnRH + prostaglandin F2 $\alpha$  + GnRH. **Theriogenology**, v. 52, n. 5, p. 901-911, 1999.

MIHM, M.; BAGUISI, A.; BOLAND, M.P. *et al.* Association between the duration of dominance of the ovulatory follicle and pregnancy rate in beef heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 102, p. 123-130, 1994.

MIZUTA, K. **Estudo comparativo dos aspectos comportamentais do estro e dos teores plasmáticos de LH, FSH, Progesterona e Estradiol que precedem a ovulação em fêmeas bovinas Nelore (*Bos taurus indicus*), Angus (*Bos taurus taurus*) e Nelore x Angus (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*).** São Paulo, 2003, 98p. Tese (Doutorado em Reprodução Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Departamento Animal – Universidade de São Paulo. 2003.

MORAES, J.C.F. Anestro e fertilidade pós-parto em bovinos de corte. In: GALINA, C. *et al.* Avanços na reprodução bovina. Editora Universitária: UFPel/Pelotas. **Anais do ...**, p.25-33, 2000.

MORAES, J.C.F. Controle da reprodução em bovinos de corte. I Simpósio de Reprodução Bovina – Sincronização de Estros em Bovinos, Porto Alegre-RS. **Anais ...**, p. 32-40, 2002.

MURPHY, M.G.; BOLAND, M.P. & ROCHE, J.F. Pattern of follicular growth and resumption of ovarian activity in post-partum beef suckler cows. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 90, p.523-533, 1990.

NEVES, J.P.; GONÇALVES, P.B.D. & OLIVEIRA, J.F.C. Fatores que afetam a eficiência reprodutiva na vaca. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 23, p. 99-105, 1999.

ODDE, K.G. A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. **Journal Animal Science**, v. 68, p. 817-830, 1990.

ODDE, K.G.; WARD, H.S.; KIRACOFÉ, G.H. *et al.* Short estrous cycles and associated serum progesterone levels in beef cows. **Theriogenology**, v. 14, p. 105-112, 1980.

PATTERSON, D.J.; CORAH, L.R. & BRETHOUR, J.R. Response of prepubertal *Bos taurus* and *Bos indicus* x *Bos taurus* heifers to melengestrol acetate with or without gonadotropin-releasing hormone. **Theriogenology**, v. 33, n. 3, p. 661-668, 1990.

PATTERSON, D.J.; WOOD, S.L. & RANDLE, R.F. Procedures that support reproductive management of replacement beef heifers. **Proceedings of the American Society of Animal Science**, [www.asas.org/jas/symposia/proceedings/0902.pdf](http://www.asas.org/jas/symposia/proceedings/0902.pdf), 1999.

PETER, A.T.; BOSU, W.T.K; LIPTRAP, R.M. *et al.* Temporal changes in serum prostaglandin F<sub>2α</sub> and oxytocin in dairy cows with short luteal phases after the first postpartum ovulation. **Theriogenology**, v. 29, p. 21-37, 1989.

PFEIFER, L.F.M.; MAPLETOFT, R.; ADAMS, G. *et al.* The effect of progesterone on follicular development and pregnancy rate in beef cattle. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 20, n°1, p.90, 2008.

PFEIFER, L.F.M.; MAPLETOFT, R.J.; KASTELIC, J.P. *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.

PIMENTEL, C. A. Fisiologia e endocrinologia da reprodução da fêmea bovina. I Simpósio de Reprodução de Bovinos, Porto Alegre, RS, 2002. **Anais do...**, Porto Alegre, Anexo, 5p., 2002.

PIERSON, R.A. & GINTHER, O.J. Reliability of diagnostic ultrasonography for identification and measurement of follicles and detecting the corpus luteum in heifers. **Theriogenology**, v. 28, n. 6, p. 929-937, 1987.

RANDEL, R.D. Seasonal effects on female reproductive functions in the bovine (Indian breeds). **Theriogenology**, v. 21, p. 170-185, 1984.

RASBY, R.J.; DAY, M.L.; JOHNSON, S.K. *et al.* Luteal function and estrus in peripubertal beef heifers treated with an intravaginal progesterone releasing device with

or without a subsequent injection of estradiol. **Theriogenology**, v. 50, n. 1, p. 55-64, 1998.

NORTHEY, D. L. & FRENCH, L. R. Effect of embryo removal and intrauterine infusion of embryonic homogenates on the lifespan of the bovine corpus luteum. **Journal of Animal Science**, v. 50, p. 298-302, 1980.

REED, M.L.; ROUSSEL, J.D. & SEYBT, S.H. Repeatability of blood serum progesterone levels in dairy heifers on day 7 of the estrous cycle. **Theriogenology**, v.24, n.6, p. 643-646, 1985.

RIVERA, G.M.; GOÑI, C.G.; CHAVES, M.A. *et al.* Ovarian follicular wave synchronization and induction of ovulation in postpartum beef cows. **Theriogenology**, v. 49, n° 7, p.1365-1375, 1998.

ROCHA, D.C.; BESKOW, A.; PIMENTEL, C.M.M. *et al.* Níveis séricos de progesterona em vacas ovariectomizadas tratadas com MAD4<sup>®</sup> com diferentes concentrações e vias de administração. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 39, n. 3 (in press), 2011.

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

ROSENKRANS, K.S. & HARDIN, D.K. Repeatability and accuracy of reproductive tract scoring to determine pubertal status in beef heifers. **Theriogenology**, v. 59, n. 5-6, p. 1087-1092, 2003.

SAVIO, J.D.; THATCHER, W.W.; MORRIS G.R. *et al.* Effects of induction of low plasma progesterone concentrations with a progesterone-releasing intravaginal device on follicular turnover and fertility in cattle. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 98, p.77-84, 1993.

SCHILLO, K.K. Effects of dietary energy on control of luteinizing hormone secretion in cattle and sheep. **Journal of Animal Science**, v. 70, p. 1271-1282, 1992.

SHORT, R. E.; BELLOWS, R. A.; STAIGMILLER, R. B. *et al.* Physiological mechanisms controlling anestrus and infertility in postpartum beef cattle. **Journal of Animal Science**, v.68, p.799-816, 1990.

SIANANGAMA, P.C. & RAJAMAHENDRAM, R. Effect of human chorionic gonadotropin administered at specific times following breeding on milk progesterone and pregnancy in cows. **Theriogenology**, v. 38, p. 85-96, 1992.

SPINOSA, H.S.; GÓRNIK, L.S. & BERNARDI, M.M. **Farmacologia aplicada à Medicina Veterinária**. 3ªed. Rio de Janeiro:Guanabara. 752p, 2002.

SPRECHER, D.J.; NEBEL, R.L. & WHITMAN, S.S. The predictive value, sensitivity and specificity of palpation per rectum and transrectal ultrasonography for the determination of bovine luteal status. **Theriogenology**, v. 31, n. 6, p. 1165-1172, 1989.

STAGG, K.; DISKIN, M.G. SREENAN, J.M. *et al.* Follicular development in long-term anoestrous suckler beef cows fed two levels of energy postpartum. **Animal Reproduction Science**, v. 38, p.49-61, 1995.

STEVENSON, J.S.; PURSLEY, J.H.; GARVERICK, H.A. *et al.* . Treatment of cycling and noncycling lactating dairy cows with progesterone during ovsynch. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p. 2567-2578, 2006.

TANAKA, Y.; VINCENT, D.L.; LEDGERWOOD, K.S. *et al.* Variable progesterone response and estradiol secretion in prepubertal beef heifers following treatment with norgestomet implants. **Theriogenology**, v. 43, n. 6, p. 1077-1086, 1995.

THATCHER, W.W., WILCOX, C.J. Post partum estrus as an indicator of reproductive status in the cow. **Journal Dairy Science**, v.56, p.608-610, 1973.

TRIMBERGER, G.W & HANSEL, W Conception Rate and Ovarian Function Following Estrus Control by Progesterone Injections in Dairy Cattle. **Journal of Animal Science**, v.14, p.224-232, 1955.

TROXEL, T.R. & KESLER, D.J. The effect of progestin and GnRH treatments on ovarian function and reproductive hormone secretions of anestrous postpartum suckled beef cows. **Theriogenology**, v. 21, nº5, p. 699-711, 1984.

TOWNSON, D.H.; TSANG, P.C.; BUTLER, W.R. *et al.* Relationship of fertility to ovarian follicular waves before breeding in dairy cows. **Journal of Animal Science**, v. 80, p. 1053-1080, 2002.

ULBERG, L.C.; CHRISTIAN, R.E. & CASIDA, L.E. Ovarian response in heifers to progesterone injections. **Journal of Animal Science**, v.10, p.752-759, 1951.

VASCONCELOS, J.L.M. Avaliação da sincronização de ovulação e fatores relacionados com a produção de leite e taxa de concepção em vacas. Jaboticabal, SP: UNESP – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, **Tese** (Doutorado), 128p, 1998.

WERTH, L. A.; WHITTIER, J. C.; AZZAM, S. M. *et al.* Relationship between circulating progesterone and conception at the first postpartum. **Journal of Animal Science**, v. 74, p.616-619, 1996.

WETTEMANN, R.P.; HAFS, H.D.; EDGERTON, L.A. *et al.* Estradiol and progesterone in blood serum during the bovine estrous cycle. **Journal of Animal Science**, v. 34, p.1020-1024, 1972.

WHISNANT, C.S. & BURNS, P.J. Evaluation of steroid microspheres for control of estrus in cows and induction of puberty in heifers. **Theriogenology**, v. 58, n. 6, p. 1229-1236, 2002.

WILLIAMS, G.L. Modulation of luteal activity in postpartum beef cows through changes in dietary lipid. **Journal of Animal Science**, v. 67, p.785-793, 1989.

WILTBANK, J. N.; GÜMEN, M. C.; SARTORI, R. Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. **Theriogenology**, v. 57, p. 21-53, 2002.

WILTBANK, J. N.; KASSON, C. W. Synchronization of estrus in cattle with an oral progestational agent and an injection of an estrogen. **Journal of Animal Science**, v. 27, p. 113-116, 1968.

WILTBANK, J. N.; ZIMMERMAN, D. R.; INGALLS, J. E. *et al.* Use of progestational compounds alone or in combination with estrogen for synchronization of estrus. **Journal of Animal Science**, v.24, p.990-994, 1965.

WISHART, D. F. Synchronisation of oestrus in cattle using a potent progestin (SC21009) and PGF2 $\alpha$ . **Theriogenology**, v. 1, p. 87-90, 1974.

WOOD-FOLLIS, S.L.; KOJIMA, F.N.; LUCY, M.F. *et al.* Estrus synchronization in beef heifers with progestin-based protocols. 1. Differences in response based on pubertal status at the initiation of treatment. **Theriogenology**, v. 62, n. 8, p. 1518-1528, 2004.

XU, Z.Z.; VERKERK, G.A.; MEE, J.F.; *et al.* Progesterone and follicular changes in postpartum non cyclic dairy cows after treatment with progesterone and estradiol or with progesterone, GnRH, PGF2 $\alpha$  and estradiol. **Theriogenology**, v. 54, n. 2, p. 273-282, 2000.

YALOW, R.S. & BERSON, S.A. Immunoassay of endogenous plasma insulin in man. **Journal of Clinical Investigation**, v.39, n.7, p.1157-1175, 1960.

YAVAS, Y.; JOHNSON, W.H. & WALTON, J.S. Modification of follicular dynamics by exogenous FSH and progesterone, and the induction of ovulation using hCG in postpartum beef cows. **Theriogenology**, v. 52, n. 6, p. 949-963, 1999.

YAVAS, Y. & WALTON, J.S. Postpartum acyclicity in suckled beef cows: A review. **Theriogenology**, v. 54, p. 25-55, 2000.