

Avaliação de protocolo de indução de ciclicidade em novilhas *Bos taurus* usando progesterona injetável

EVALUATION OF A CYCLICITY INDUCTION PROTOCOL IN BOS TAURUS HEIFERS USING INJECTABLE PROGESTERONE

Arthur Marçal Almeida, Fernando Garbelotti, Fernando Caetano de Oliveira¹

Universidade do Sul de Santa Catarina, Tubarão, Santa Catarina, Brasil.

¹Autor para correspondência: UNISUL Campus Tubarão, Av José Acácio Moreira, 787 Dehon – CEP. 88704900, Tubarão / SC. email: fcoliveiravet@gmail.com

Resumo

Em sistemas de produção de bovinos de corte, protocolos reprodutivos para inseminação artificial são utilizados em grande escala, sendo constantemente estudados diferentes manejos e hormônios a fim de melhorar os índices reprodutivos e ampliar as alternativas para serem utilizadas, sendo que as novilhas constituem a categoria de grande impacto dentro do sistema. Considerando os manejos reprodutivos para novilhas, um ponto importante dentro da cadeia produtiva de bovinos em todo o mundo, temos com este trabalho interesse em avaliar o uso de progesterona injetável associado ao estradiol para indução da puberdade em novilhas, junto a observação de estro e IA. Foram utilizadas 185 novilhas, cruzas de raças europeias, com peso médio de 380 ± 20 Kg e idade média de 26 ± 2 meses. Foi realizado exame ginecológico em todas as fêmeas, no D-22 e D0. O grupo tratado (TRAT; $n=46$) recebeu o protocolo para indução de ciclicidade, que consistiu em aplicar 150 mg de progesterona injetável (P4; Sincrogest®, OuroFino), IM, no D-22, no D-12 se aplicou 1 mg de estradiol (E.C.P.®, Zoetis), IM, e no D0, 0,530 mg de Cloprostenol (PGF; Ciosin®, MSD). O grupo controle (CONT; $n=139$) recebeu protocolo para sincronização de cio com aplicação de PGF (conforme grupo TRAT) no D-12 e D0. No D0, 12 horas após a PGF iniciou em ambos os grupos, TRAT e CONT, as observações de cio, com duas observações diárias, por 1 hora e 30 minutos início da manhã e final da tarde, até as 144 horas após PGF (D6). Se considerou em cio as fêmeas que se deixaram montar por outras fêmeas, permanecendo imóveis e sem reação de fuga. Os dados são apresentados em média $\pm$ SEM. Sendo o P gerado por ANOVA e comparação de médias por teste t, considerando significância estatística de $P \leq 0,05$. Todos os procedimentos foram realizados no software JMP7 (SAS®). No exame ginecológico no D-22, se identificou CL em 85% e 92%, para os grupos TRAT e CONT, e 100% de presença de CL no D0 ($P > 0,05$), o que caracterizou o efeito de indução a ciclicidade. Quanto a observação de cio, os animais apresentaram 76% (35/46) e 92% (128/139) ($P < 0,05$), para os grupos TRAT e CONT, respectivamente, possivelmente a menor expressão de estro no grupo TRAT se deve à falta de controle folicular, para o momento da PGF no D0. Também se observou a distribuição de cio, e o pico de manifestação, com uma concentração de 77,6% das 60 às 96 horas e 54% das 48 às 72 horas, para os grupos CONT e TRAT, respectivamente, importante por estar relacionado com o tamanho folicular no momento da aplicação de PGF, podendo estar relacionado com o tamanho do folículo ovulatório e qualidade de ovócito. Com isso, concluímos que protocolos de indução a ciclicidade com P4

injetável e estradiol induzem a ciclicidade, porém a falta de controle do desenvolvimento folicular diminuiu a expressão de estro.

Palavras-chave: Ciclicidade, Cio, CL, P4 injetável.

Abstract

In beef cattle production systems, reproductive protocols for artificial insemination are used on a large scale, with different managements and hormones constantly being studied in order to improve reproductive rates and expand alternatives to be used, with heifers being the category of heifers. great impact within the system. Considering the reproductive management for heifers, an important point within the cattle production chain worldwide, we are interested in evaluating the use of injectable progesterone associated with estradiol to induce puberty in heifers, along with the observation of estrus and AI. 185 heifers were used, crossbreeds of European breeds, with an average weight of 380 ± 20 kg and an average age of 26 ± 2 months. Gynecological examination was performed on all females, at D-22 and D0. The treated group (TRAT; $n = 46$) received the protocol for cyclicity induction, which consisted of applying 150 mg of injectable progesterone (P4; Sincrogest®, OuroFino), IM, on D-22, on D-12 1 mg of estradiol (ECP®, Zoetis), IM, and on D0, 0.530 mg of Cloprostenol (PGF; Ciosin®, MSD). The control group (CONT; $n = 139$) received a protocol for estrus synchronization with application of PGF (according to the TRAT group) on D-12 and D0. At D0, 12 hours after PGF, the estrus observations began in both groups, TRAT and CONT, with two daily observations, for 1 hour and 30 minutes early in the morning and late afternoon, until 144 hours after PGF (D6). Females who let themselves be ridden by other females were considered in heat, remaining immobile and with no escape reaction. Data are presented as mean $\pm$ SEM. P being generated by ANOVA and comparison of means by t test, considering statistical significance of $P \leq 0.05$. All procedures were performed using the JMP7 (SAS®) software. In the gynecological examination at D-22, CL was identified in 85% and 92%, for the TRAT and CONT groups, and 100% of the presence of CL in D0 ($P > 0.05$), which characterized the induction effect at cyclicity. Regarding the observation of estrus, the animals showed 76% (35/46) and 92% (128/139) ($P < 0.05$), for the TRAT and CONT groups, respectively, possibly the lowest estrus expression in the TRAT group. due to the lack of follicular control, for the moment of PGF in D0. Also observed was the distribution of heat, and the peak of manifestation, with a concentration of 77.6% from 60 to 96 hours and 54% from 48 to 72 hours, for the CONT and TRAT groups, respectively, important for being related to follicular size at the time of PGF application, which may be related to ovulatory follicle size and oocyte quality. Thus, we conclude that protocols for inducing cyclicity with injectable P4 and estradiol induce cyclicity, but the lack of control of follicular development decreased the expression of estrus.

Keywords: Cyclicity, Cio, CL, P4 for injection.

Introdução

O Brasil tem o maior rebanho bovino do mundo, com 214,69 milhões de cabeça, porém é o segundo maior produtor de carne, expressando 15,3% da produção mundial, atrás dos EUA, terceiro maior rebanho mundial, contendo um rebanho de 94,3 milhões de cabeça, expressando 17,2% da produção mundial de carne (ABIEC, 2019). Sendo assim, em sistemas de produção de bovinos de corte diversos fatores são de grande importância para que se tenha um rebanho eficiente, produtivo e rentável. Dentre os variados pontos que podem ser trabalhados, os índices reprodutivos são de extrema importância, expressando a eficiência produtiva. Segundo Silva Filho, Araújo e Rodrigues (2007), quando se busca mensurar essa eficiência reprodutiva, a idade a primeira cria é um dos parâmetros mais importantes, sendo que as novilhas que chegam a puberdade mais cedo, a idade a primeira cria é reduzida, diminuindo o custo de manutenção da categoria.

Para o desencadeamento da puberdade em novilhas, várias interações podem ocorrer, entre genótipo, nutrição, desenvolvimento corporal expresso por peso e condição corporal, raça, e idade dos animais (ROBINSON *et al.*, 2006). Nos últimos anos, diversos protocolos hormonais têm sido utilizados para induzir a puberdade dessas fêmeas, estes tratamentos, se baseiam na associação ou não de hormônios como o hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), gonadotrofina coriônica humana (hCG) e gonadotrofina coriônica equina (eCG), progestágenos, estrógenos e prostaglandinas. Para Silva Filho, Araújo e Rodrigues (2007), a hormonioterapia se bem aplicada, pode aumentar a eficiência reprodutiva do rebanho.

Em novilhas pré-púberes a utilização da progesterona visa a menor sensibilização do hipotálamo ao estrógeno endógeno, assim como o eixo hipotálamo-hipófise-gônada, promovendo a resposta ovariana as gonadotrofinas endógenas e exógenas (GREGORY, 2002). O uso de esponjas intravaginais impregnadas com acetato de medroxiprogesterona (MAP), progestágenos orais, implantes subcutâneos, e dispositivos intravaginais de silicone com liberação lenta de progesterona, são as principais formas de administração dos progestágenos (GREGORY, 2002; MORAES, 2002; PIMENTEL, 2002). Recentemente, como se busca vias alternativas e que facilitem o manejo para administração de progesterona, a via injetável (intramuscular - IM) se tornou uma abordagem interessante prévio a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) (Morotti *et al.*, 2013; Simões *et al.*, 2018), e também após a inseminação artificial (IA) (Pugliesi *et al.*, 2016), essa via de administração também diminui a quantidade de progesterona necessária, reduzindo o esteroide residual porém sem controle sobre a retirada do produto e tempo de metabolização. Considerando os manejos reprodutivos para novilhas, um ponto importante dentro da cadeia produtiva de bovinos em todo o mundo, podendo esta ser trabalhada com conhecimentos do pecuarista e profissionais da área, temos com este trabalho interesse em avaliar o uso de progesterona injetável associado ao estradiol para indução da puberdade em novilhas, junto a observação de estro e IA.

Materiais e métodos

Este experimento obteve parecer favorável junto ao CEUA. O estudo foi realizado em propriedade particular no município de Palmeira das Missões, Rio Grande do Sul. Foram utilizadas 185 novilhas, cruzas de raças europeias, com peso médio de 380 ± 20 Kg e idade média de 26 ± 2 meses, mantidas em boa oferta de pastagem com água *ad libitum*. Para avaliação da indução da puberdade, foi realizado exame ginecológico por palpação retal em todas as fêmeas, no D-22 e D0, avaliando a presença ou não de corpo

lúteo. Os animais foram divididos em dois grupos, sendo estes: o grupo tratado (TRAT; n=46) (Fig. 1A), que recebeu o protocolo para indução de ciclicidade, que consistiu em aplicar 150 mg de progesterona injetável (P4; Sincrogest®, OuroFino), IM, no D-22, no D-12 se aplicou 1 mg de cipionato de estradiol (CE; E.C.P.®, Zoetis), IM, e no D0, 0,530 mg de Cloprostenol (PGF; Ciosin®, MSD) e, o grupo controle (CONT; n=139) (Fig.1B), que recebeu protocolo para sincronização de cio com aplicação de PGF (conforme grupo TRAT) no D-12 e D0. No D0, 12 horas após a PGF iniciou em ambos os grupos, TRAT e CONT, as observações de cio, com duas observações diárias, por 1 hora e 30 minutos início da manhã e final da tarde, até as 144 horas após PGF (D6). Se considerou em cio as fêmeas que se deixaram montar por outras fêmeas, permanecendo imóveis e sem reação de fuga, sendo inseminada 12 horas após classificadas em cio. Os dados são apresentados em média±SEM. Sendo o P gerado por ANOVA e comparação de médias por teste t, considerando significância estatística de $P \leq 0,05$. Todos os procedimentos foram realizados no software JMP7 (SAS®).

Resultados e Discussão

No exame ginecológico no D-22, se identificou CL em 85% e 92%, para os grupos TRAT e CONT, e 100% de presença de CL no D0 ($P > 0,05$), o que caracterizou o efeito de indução a ciclicidade. Quanto a observação de cio, os animais apresentaram 76% (35/46) e 92% (128/139) ($P < 0,05$) para os grupos TRAT e CONT, respectivamente, possivelmente a menor expressão de estro no grupo TRAT se deve à falta de controle folicular, para o momento da PGF no D0 (Fig.2). Também se observou a distribuição de cio (Fig.3), e o pico de manifestação, com uma concentração de 77,6% das 60 às 96 horas e 54% das 48 às 72 horas, para os grupos CONT e TRAT, respectivamente, importante por estar relacionado com o tamanho folicular no momento da aplicação de PGF, podendo estar relacionado com o tamanho do folículo ovulatório e qualidade de ovócito.

Assim como no presente estudo, Lima *et al.* (2020) também encontraram efeito positivo da indução da puberdade em novilhas pré-púberes tratadas com 150 mg de P4 injetável comparadas as pré-púberes não tratadas, observando também aumento na prenhez no grupo tratado. A maior presença de corpo lúteo em novilhas púberes tratadas comparadas as púberes não tratadas também foi relatada.

Pugliesi *et al.* (2019), avaliando protocolo de ressincronização de cio com p4 injetável associada a dispositivo intravaginal (Grupo P4-LA), observaram efeito positivo para observação de estro, resultando em maior expressão de estro e maior taxa de prenhez quando comparado com grupo controle que recebeu protocolo de ressincronização apenas com dispositivo de P4. No mesmo estudo, mensurando tamanho de folículo pré-ovulatório, não foi encontrado diferença para grupo controle e grupo P4-LA, porém, sugeriram que possa ocorrer uma melhora na função do folículo pela maior taxa de estro observada e maior prenhez nas tratadas.

Morotti *et al.* (2017), mensurando dinâmica folicular com P4 injetável, perfil de metabolização e taxa de prenhez em bovinos de corte submetidos a IATF, em protocolo utilizando 350 mg de P4 injetável, observaram maior taxa de crescimento folicular por dia nas tratadas, porém menor taxa de ovulação comparada ao grupo controle que recebeu protocolo convencional, resultando em baixa taxa de prenhez.

No mesmo estudo avaliando P4 injetável 250 mg com IATF 36 horas, encontrou taxa de prenhez de 34%, semelhante a encontrada por Campos *et al.* (2016), que encontraram 33%. Porém no estudo de Campos *et al.* (2016), o grupo que recebeu P4/IATF 48 horas, teve taxa de prenhez de 48,9%, semelhante as tratadas com protocolo convencional.

Neste estudo, a P4 injetável foi efetiva para induzir a ciclicidade, visando uma alternativa promissora em protocolos reprodutivos, porém são necessários mais estudos avaliando doses utilizadas, assim como seu tempo de metabolização e dinâmica folicular, para chegar-se a dados expressivos e confiáveis quanto ao seu uso. No entanto, já é visto benefícios da sua utilização, diminuindo o risco de enfermidades que podem ser ocasionadas por dispositivos intravaginais, sem o risco de perda do mesmo, assim como maior facilidade no manejo pela aplicação via parenteral.

Conclusão

Com isso, concluímos que protocolos de indução a ciclicidade com P4 injetável e estradiol induzem a ciclicidade, porém a falta de controle do desenvolvimento folicular diminuiu a expressão de estro, sendo necessário mais estudos quanto ao seu tempo de metabolização e ação em dinâmica folicular.

Agradecimentos

Agradecemos ao Senhor Flávio Velho e família por permitir o uso dos animais e instalações da propriedade, assim como todo apoio ao experimento.

Referências:

ABIEC. Perfil da pecuária no Brasil. Disponível em: Acesso em: 05 out. 2019.

CAMPOS, Jefferson Tadeu; MOROTTI, Fábio; COSTA, Camila Bortoliero; BERGAMO, Larissa Zamparone; SENEDA, Marcelo Marcondes. Evaluation of pregnancy rates of *Bos indicus* cows subjected to different synchronization ovulation protocols using injectable progesterone or an intravaginal device. **Semina: Ciências Agrárias**, [s.l.], v. 37, n. 6, p. 4149, 14 dez. 2016. Universidade Estadual de Londrina. <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2016v37n6p4149>.

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

Lima RS, Martins T, Lemes KM, Binelli M, Madureira EH. Effect of a puberty induction protocol based on injectable long acting progesterone on pregnancy success of beef heifers serviced by TAI,

Theriogenology (2020), doi: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.05.036>.

MOROTTI, F., CAMPOS, J. T., OLIVEIRA, E. R., SENEDA, M. M. Ovarian follicular dynamics of Nelore (*Bos indicus*) cows subjected to a fixed-time artificial insemination protocol with injectable progesterone. **Semina: Ciências Agrárias** 34, 3859-3866, 2013.

MOROTTI, Fábio; CAMPOS, Jefferson Tadeu de; LUNARDELLI, Paula Alvares; COSTA, Camila Bortoliero; BERGAMO, Larissa Zamparone; BARREIROS, Thales Ricardo Rigo; SANTOS, Gustavo Martins Gomes dos; SENEDA, Marcelo Marcondes. Injectable progesterone in timed artificial insemination programs in beef cows. **Animal Reproduction**, [s.l.], v. 15, n. 1, p. 17-22, 2017. Colegio Brasileiro de Reproducao Animal - CBRA. <http://dx.doi.org/10.21451/1984-3143-2017-ar928>.

PIMENTEL, C.A. Fisiologia e endocrinologia da reprodução da fêmea bovina. I Simpósio De Reprodução De Bovinos (Porto Alegre, Brasil), 5P, 2002.

PUGLIESI, G., SANTOS, F. B., LOPES, E., NOGUEIRA, É., MAIO, J. R. G., BINELLI, M. Improved fertility in suckled beef cows ovulating large follicles or supplemented with long- acting progesterone after timed-AI. **Theriogenology** 85, 1239-1248, 2016.

PUGLIESI, Guilherme; BISINOTTO, Danilo Zago; MELLO, Barbara Piffero; LAHR, Fábio C.; FERREIRA, Catia A.; MELO, Gabriela Dalmaso; BASTOS, Michele Ricieri; MADUREIRA, Ed Hoffmann. A novel strategy for resynchronization of ovulation in Nelore cows using injectable progesterone (P4) and P4 releasing devices to perform two timed inseminations within 22 days. **Reproduction In Domestic Animals**, [s.l.], v. 54, n. 8, p. 1149-1154, 17 jun. 2019. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/rda.13475>.

ROBINSON, J. J., ASHWORTH, C. J., ROOKE, J. A., MITCHELL, L. M., McEVOY, T. G. Nutrition and fertility in ruminant livestock. **Animal Feed Science and Technology**, v. 126, p. 259-276, 2006.

SILVA FILHO, A. H. S.; ARAÚJO, A. A., RODRIGUES, A. P. R. Indução da puberdade em novilhas com uso da hormonioterapia. **Ciência Animal**, Ceará, p.83-89, 2007.

SIMÕES, L. M. S., ORLANDI, R. E., MASSONETO, J. P. M., SCANDIUZZI JR, L. A., FREITAS, B. G., BASTOS, M. R., SOUZA, J. C., SALES, J. N. S. Exposure to progesterone 22 previous to the protocol of ovulation synchronization increases the follicular diameter and the fertility of suckled Bos indicus cows. **Theriogenology** v. 116, p. 28-33, 2018.