

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

EFEITO DA UTILIZAÇÃO DE UMA DOSE ADICIONAL DE DINOPROST
TROMETAMINA EM PROTOCOLOS DE IATF EM VACAS NELORE

ISABELLA MARCONATO NORONHA

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia como
parte das exigências para obtenção do
título de Mestre em Zootecnia

BOTUCATU – SP

Março - 2020

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

EFEITO DA UTILIZAÇÃO DE UMA DOSE ADICIONAL DE DINOPROST
TROMETAMINA EM PROTOCOLOS DE IATF EM VACAS NELORE

ISABELLA MARCONATO NORONHA

Médica Veterinária

Orientador: Prof. Dr. José Luiz Moraes Vasconcelos

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia como parte
das exigências para obtenção do título de
Mestre em Zootecnia.

BOTUCATU – SP
Março - 2020

Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que seja citada a fonte.

N852e	<p>Noronha, Isabella Marconato</p> <p>Efeito da utilização de uma dose adicional de dinoprost trometamina em protocolos de IATF em vacas Nelore / Isabella Marconato Noronha. -- Botucatu, 2020</p> <p>50 f. : il., tabs.</p> <p>Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu</p> <p>Orientador: José Luiz Moraes Vasconcelos</p> <p>1. protocolos de IATF. 2. vacas Nelore. 3. dinoprost trometamina. 4. PGF2. I. Título.</p>
-------	--

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

BIOGRAFIA DO AUTOR

Isabella Marconato Noronha, nascida no município de Valinhos – SP, em 12 de Abril de 1994, filha de Claudio Roberto Noronha e Andrea Marconato. No ano de 2012 mudou-se para a cidade de Jaguariúna no Estado de São Paulo onde iniciou seus estudos no curso de medicina veterinária na Faculdade de Jaguariúna (FAJ), durante a graduação focou seus estudos e estágios na área de reprodução e produção de bovinos de corte. No ano de 2017 ao finalizar a graduação em medicina veterinária, participou de pesquisas na área de desenvolvimento de programas de sincronização do ciclo estral (IATF), no estado do Mato Grosso, sob orientação do Prof. Dr. José Luiz Moraes Vasconcelos. Em 2018 ingressou no curso de mestrado pelo programa de pós-graduação em Zootecnia da FMVZ-UNESP/Botucatu – SP, sob a orientação do Prof. Dr. José Luiz Moraes Vasconcelos. Durante o mestrado desenvolveu trabalhos na área de desenvolvimento de programas de sincronização do ciclo estral (IATF) em vacas Nelore e participou de pesquisas na área de fertilidade de vacas Nelore. Tendo para apresentação para obtenção do título de mestre o trabalho intitulado como: Efeito da utilização de uma dose adicional de dinoprost trometamina em protocolos de IATF em vacas Nelore.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais **Claudio Roberto Noronha** e **Andrea Marconato**, e ao meu irmão **João Guilherme Marconato Noronha**, por sempre me apoiarem e por todos os esforços que fizeram e fazem para que eu consiga realizar meus sonhos.

Aos meu avós **Bruno Marconato** e **Josefina de Stefano Marconato**, por todo o carinho, ajuda e torcida para meu sucesso.

Muito obrigada, amo vocês!

AGRADECIMENTOS

À Deus, por estar sempre comigo, me ajudando, iluminando meus caminhos e me dando sempre muito mais do que eu sonhei.

Ao meu orientador Prof. Dr. José Luiz Moraes Vasconcelos, pela oportunidade de participar do seu grupo de pesquisa, pelos ensinamentos profissionais e conselhos, pelo amadurecimento e por ser sempre um exemplo de garra e determinação.

Aos meu pais, por toda educação, oportunidade de estudo e esforço para que eu realizasse todos os meus sonhos.

Ao meu irmão João Guilherme, pela amizade e por toda torcida para meu sucesso.

Aos meus avós Bruno e Josefina, grandes responsáveis pela minha paixão pelos bovinos.

À toda minha família que me incentiva e está sempre torcendo pela minha felicidade e sucesso.

Ao meu amigo e namorado Cícero Fleury Guedes Martins, por sempre ter acreditado em mim, por toda compreensão e cuidados. E que além de tudo não mediu esforços para a realização dos experimentos. Muito obrigada por tudo!

As minhas queridas Professoras da graduação Bruna Oliveira e Karina Ribeiro, por todo incentivo e principalmente por despertar em mim a paixão pela ciência.

À faculdade de Jaguariúna – FAJ, pela minha formação em Medicina Veterinária.

A todos os amigos da FAJ, pelos incríveis momentos vividos. Muitas saudades!

À Agropecuária Fazenda Brasil por permitir a realização dos experimentos.

Aos funcionários da Agropecuária Fazenda Brasil, que foram essenciais para realização desses experimentos. Em especial quero agradecer os capatazes e vaqueiros Vivaldino, Valdeir, Gilberto, Cleudão, Piloto, Seu Luiz, Batovi, Gordinho, Galego, Neguinho, Ronne, Renato, Gil, Bigode, Gabriel, aos veterinários Cícero Fleury e Hugo Graff e todos os demais funcionários que não mediram esforços para execução dos experimentos, e também aos estagiários Djalma e Danielli.

Ao amigo e médico veterinário Rogério Fonseca, por todo incentivo, ensinamentos e valiosos conselhos. E por abrir para mim as portas do grupo do Prof. Zequinha.

Ao Izaias Claro Jr. pela oportunidade de participar da organização dos dados do grupo GERAR durante o mestrado.

Aos meus amigos de Pós-graduação Ana Paula, João Paulo, Marconi, Beatriz, Tânia, Leone, Abias, Bismarck, Rafael Carvalho e Anderson, por toda ajuda durante o mestrado e por todo companheirismo e momentos de alegria e descontração.

Ao Professor Dr. Reinaldo Cooke, pela ajuda com as análises estatísticas.

Aos Professores Dr. Reinaldo Fernandes Cooke e Dr. Ky Garrett Pohler e todos os alunos da Texas A&M University que ajudaram na realização das análises laboratoriais dos experimentos.

Aos amigos Manoel Sá e Adnan Darin, por toda a ajuda com a escrita da dissertação.

Aos membros da banca do Exame Geral de Qualificação Dr. Ky Garrett Pohler e Dr. Marcos Henrique Colombo Pereira, por todas as sugestões pertinentes ao trabalho.

Ao Professor Dr. Reinaldo Fernandes Cooke e ao Dr. Rogério Fonseca Guimarães Peres por participarem da banca da defesa do Mestrado.

Aos técnicos da Seção de Pós-Graduação da UNESP – Botucatu: Cláudia e Ellen e do Departamento de Produção Animal: Renato, Barbosa e Edgar, por sempre estarem à disposição e por toda paciência!

Aos membros da Conapec Jr., por todo auxílio durante o mestrado.

À Zoetis por colaborar com a realização dos experimentos.

As vacas utilizadas nesse estudo, pela quantidade de informação disponibilizada.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, pela importante bolsa concedida.

Muito Obrigada a todos!

"Se alguém lhe oferece uma oportunidade incrível, mas você não tem certeza de que pode fazer, diga sim - e aprenda como fazer mais tarde."

(Richard Branson)

"Se não puder se destacar pelo talento, vença pelo esforço."

(Dave Weibaum)

" Isto é uma ordem: sê firme e corajoso. Não te atemorizes, não tenhas medo, porque o Senhor está contigo em qualquer parte para onde fores"

(Josué 1:9)

SUMÁRIO DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1 - Cenário fisiológico que explica a falha na ovulação em situação de deficiência nutricional ou durante a amamentação (WILTBANK et al., 2002)..... 4

CAPÍTULO 2

Figura 1- Diagrama de atividades, experimento 1. Os tratamento foram: 1PGF2 α = 9 dias de dispositivo de progesterona e apenas uma dose de PGF2 α no D-4; 2PGF2 α = 9 dias de dispositivo de progesterona e duas doses de PGF2 α (D-4 e D-2). ECC= avaliação do escore de condição corporal.....18

Figura 2 – Diagrama de atividades, experimento 2. Os tratamento foram: 1PGF2 α = 9 dias de dispositivo de progesterona e apenas uma dose de PGF2 α no D-4; 2PGF2 α = 9 dias de dispositivo de progesterona e duas doses de PGF2 α (D-4 e D-2). ECC= avaliação do escore de condição corporal. US-CL = exame ultrassonográfico para avaliar presença de corpo lúteo; US-Fol = exame ultrassonográfico para avaliar o diâmetro folicular; Sg-P4 = amostra de sangue para dosagem de progesterona.....20

Figura 3. Probabilidade de sincronização de vacas Nelore (n=934) de acordo com o tratamento utilizado [1PG (n=413) ou 2PG (n= 418)] e o diâmetro do maior folículo no momento da IATF.....26

Figura 4. Probabilidade de sincronização de vacas Nelore (n= 934) de acordo com o tratamento utilizado [1PG (n=457) ou 2PG (n= 472)] e a concentração sérica de P4 no momento da IA.....26

SUMÁRIO DE TABELAS

- Tabela 1** - Dias pós-parto, escore de condição corporal (ECC) e taxa de prenhez de vacas Nelore recebendo uma (1PG) ou duas (2PG) injeções de prostaglandina F2 α durante o protocolo de sincronização da ovulação no Experimento 1..... 23
- Tabela 2** - Dias pós-parto, escore de condição corporal (ECC), e dados reprodutivos de vacas Nelore que receberam um (1PG) ou duas (2PG) injeções de prostaglandina F2 α durante o protocolo de sincronização da ovulação no Experimento 2..... 24
- Tabela 3** - Taxa de sincronização, concepção e prenhez, e concentração de P4 no d7 de acordo com o diâmetro do folículo no momento da IATF de vacas Nelore que receberam uma (1PG) ou duas (2PG) injeções de PGF2 α durante o protocolo de sincronização da ovulação no Experimento 2..... 25
- Tabela 4** - Efeito do tratamento utilizado [1PG (n=457) ou 2PG (n=472)], na taxa de sincronização, concepção e prenhez, de acordo com a concentração de P4 (ng/ml) no momento da IATF.....27
- Tabela 5** - Dias pós-parto, escore de condição corporal (ECC) e dados reprodutivos de vacas Nelore que receberam uma (1PG; n=373) ou duas (2PG; n=405) injeções de prostaglandina F2 α durante o protocolo de sincronização da ovulação, que ovularam em resposta ao protocolo no Experimento 2..... 28

LISTA DE ABREVIATURAS

ACTH – Hormônio adrenocorticotrófico

ADAMTS - metalloproteinase with thrombospondin motif 1 (uma desintegrina e metalloproteinase com domínios trombospondina 1)

BE – Benzoato de estradiol

BEN – Balanço energético negativo

CC – Condição corporal

CIDR – Control intern drug realease (dispositivo intravaginal liberador de progesterona)

CL – Corpo lúteo

DG – Diagnóstico de gestação

DPP – Dias pós-parto

E₂ - Estradiol

ECC – Escore de condição corporal

eCG – Gonadotrofina coriônica equina

ECP – Cipionato de estradiol

EM – Estação de monta

FSH – Hormônio folículo estimulante

GM – Grupo de manejo

GnRH – Hormônio liberador de gonadotrofinas

IA – Inseminação artificial

IATF – Inseminação artificial em tempo fixo

IGF-1 – Fator de crescimento semelhante a insulina tipo 1

IM - Intramuscular

LH – Hormônio luteinizante

Mg – Miligramas

mL – Mililitros

ng/mL- Nanogramas por mililitro

P₄ - Progesterona

PGF₂ α – Prostaglandina F₂ α

SC - Subcutâneo

UI – Unidades internacionais

US – Ultrassom

SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO 1.....	1
CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	2
1. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
1.1. Relação entre Nutrição, Condição Corporal e Eficiência Reprodutiva.....	3
1.2. Anestro pós-parto.....	5
1.3. Prostaglandina F2 α na reprodução.....	5
1.4. Concentrações de P4 próximo ao momento da inseminação.....	7
REFERÊNCIAS.....	9
CAPÍTULO 2.....	13
RESUMO.....	14
ABSTRACT.....	15
1. INTRODUÇÃO.....	16
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	17
2.1. EXPERIMENTO 1.....	17
2.1.1. Local e animais	17
2.1.2. Manejo Reprodutivo.....	17
2.1.3. Avaliação do escore de condição corporal	18
2.1.4. Diagnóstico de gestação e cálculo da Taxa de prenhez	18
2.2. EXPERIMENTO 2.....	18
2.2.1. Local e animais.....	19
2.2.2. Manejo reprodutivo.....	19
2.2.3. Avaliação do escore de condição corporal.....	20
2.2.4. Ultrassonografia dos ovários.....	20
2.2.5. Avaliação da expressão de estro.....	20
2.2.6. Colheita de sangue e análises laboratoriais.....	21
2.2.7. Diagnóstico de gestação e cálculo das Taxas de sincronização, concepção e prenhez.....	21
2.2.8. Análise de dados.....	22

3. RESULTADOS.....	22
3.1. Experimento 1.....	22
3.2. Experimento 2.....	23
4. DISCUSSÃO.....	28
5. CONCLUSÃO.....	31
REFERÊNCIAS.....	32
IMPLICAÇÕES.....	36

CAPÍTULO 1

Considerações iniciais

Para que as fazendas de cria se mantenham no mercado com retorno financeiro capaz de competir com os demais segmentos da pecuária se torna importante o emprego de tecnologias que melhorem a eficiência reprodutiva dessas fazendas, onde o principal objetivo é produzir um bezerro ao ano por matriz. Um fator que dificulta alcançar este objetivo é o prolongado anestro pós-parto que ocorre nas vacas de corte (SHORT et al., 1990). Isto ocorre devido à falha de ovulação dos folículos dominantes (STAGG et al., 1995). Uma das causas para esta falha na ovulação é à ausência de pulsos de LH (CROWE et al., 2014; YAVAS & WALTON, 2000). Os protocolos hormonais foram desenvolvidos para sincronizar a ovulação e proporcionam taxas de prenhez satisfatórias (~50%) independente da ciclicidade dos animais (MENEGHETTI et al., 2009).

Os protocolos a base de progesterona e estradiol são mais eficientes para vacas pós parto em clima tropical, do que protocolos com GnRH (BARUSELLI et al., 2002). Estes utilizam a progesterona e o estradiol para regredir o crescimento folicular e sincronizar a emergência de uma nova onda, independente do estágio de desenvolvimento folicular no momento do tratamento (BO et al., 1994). Utiliza-se uma injeção de PGF2 α para regredir o corpo lúteo (ROCHE, 1974; LUCY et al., 2001) e cipionato de estradiol para induzir a ovulação (PANCARCI et al., 2002)

Com o objetivo de aumentar a ocorrência de luteólise completa, uma vez que altas concentrações de P4 próximo ao momento da IA estão correlacionadas com queda nas taxas de prenhez (SOUZA et al., 2007; BRUSVEEN et al., 2009), alguns estudos foram realizados com vacas de leite, utilizando uma segunda dose de PGF2 α em protocolos Ovsynch (BRUSVEEN et al., 2009; RIBEIRO et al., 2012). Também em vacas de leite, Pereira et al (2015) utilizaram a adição de uma segunda dose de PFG2 α em protocolo a base de E2/P4, e observaram que mesmo nas vacas que não apresentaram CL durante o protocolo, vacas que receberam duas doses de PGF2 α , tiveram maior taxa de prenhez do que o grupo controle (32,1%; 25/78 vs. 19,4%; 19/98). Um estudo semelhante realizado por Lopes Jr (2017), utilizando vacas holandesas primíparas e multíparas sem CL, vacas que receberam duas doses de PGF2 α apresentaram maior diâmetro de folículo pré-ovulatório, maior concentração de estradiol no fluido folicular, tiveram pico de LH mais longo e maior proporção de pulsos de LH por hora.

Outros estudos sugerem que regredir o corpo lúteo talvez não seja a única atuação da PGF2 α . Já foi relatado que esta, também pode agir estimulando a liberação de LH (RANDEL et al., 1996; CRUZ et al., 1997).

Com base neste contexto, são necessários estudos para avaliar a ação de duas doses de PGF2 α em vacas de corte e verificar se a PGF2 α pode atuar por outros mecanismos no protocolo de sincronização da ovulação, além da luteólise. Sendo assim, a hipótese deste estudo é que vacas Nelore, mesmo sem CL, que receberem duas doses de PGF2 α , terão melhor P/IA do que vacas que receberem apenas uma dose de PGF2 α .

1. Revisão de Literatura

1.1 Relação entre Nutrição, Condição Corporal e Eficiência Reprodutiva

A gestão nutricional é um fator importante de controle ou limitação para a reprodução. A ingestão de energia tem efeito em vários mecanismos endócrinos, neurais e metabólicos (SHORT & ADAMS, 1988). A desnutrição atrasa o início da puberdade, interfere na ciclicidade de animais sexualmente maduros e prolonga o anestro pós-parto em ruminantes (SCHILLO., 1992). Um mecanismo importante pelo qual a restrição energética pode causar condição anovulatória é o efeito do feedback negativo do estradiol nos pulsos de GnRH e LH, que resulta em crescimento reduzido dos folículos ovarianos e atresia (SCHILLO, 1992; WILTBANK et al, 2002) como demonstrado na figura 1. Este feedback negativo do estradiol também foi descrito por Imakawa et al (1987), que utilizou novilhas ovariectomizadas, submetidas a dieta de alta e baixa energia, suplementadas ou não com estrógeno. Os animais que não receberam estrógeno apresentaram alta concentração de LH, independente da dieta. O mesmo foi observado em novilhas suplementadas com estrógeno mas sob dieta de alta energia, já as novilhas suplementadas com estrógeno, recebendo dieta de baixa energia, tiveram baixas concentrações de LH.

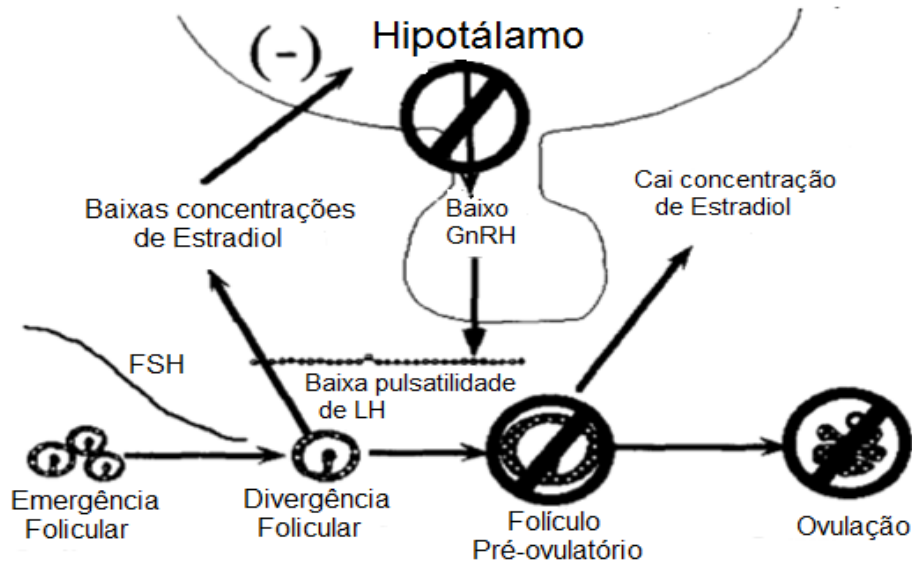


Figura 1 - Cenário fisiológico que explica a falha na ovulação em situação de deficiência nutricional ou durante a amamentação (WILTBANK et al., 2002).

Durante as últimas semanas de gestação e início da lactação, vacas de corte que não consomem quantidades suficientes de energia para suprir as exigências de manutenção e produção de leite, e entram em processo de balanço energético negativo (MENEGETTI., 2006).

Meneghetti & Vasconcelos (2008), avaliaram o efeito do ECC e DPP na resposta ao protocolo de IATF e observaram maior CC nos animais com menor DPP no momento da IATF e efeito da CC na taxa de sincronização, sendo que os animais com menor CC, tiveram menor taxa de sincronização. As vacas com menor CC, também apresentaram folículos de menor diâmetro no momento da IATF. E concluíram que o aumento na taxa de concepção foi proporcional ao aumento da CC das matrizes, de forma que o incremento médio na concepção foi de 6 pontos percentuais para cada 0,25 ponto na CC. Ayres et al (2014), também observaram que vacas que estavam com $ECC \geq 3,5$ no parto, perderam ECC pós-parto mas, foram capazes de retomar a ovulação. Também em novilhas a restrição de nutrientes diminuiu pulsos de LH e atrasou a puberdade (YELICH et al., 1996).

A condição corporal se correlaciona positivamente com concentração sérica de IGF-1 (RUTTER et al., 1989), que em estudos in vitro, aumentou o número de células da teca, a produção de androstenediona e a quantidade de sítios de ligação de LH nas células da teca de bovinos (STEWART et al., 1995). Isto sugere que o IGF-1 atua no aumento da capacidade de

resposta das células foliculares ao LH, que por sua vez aumentaria a produção de estradiol folicular que é um pré-requisito para que ocorra a ovulação (PERES., 2016).

1.2 Anestro pós – parto

O anestro é o principal componente da infertilidade pós-parto e responsável por diminuir a eficiência reprodutiva do gado de corte (SHORT et al., 1990). A duração do anestro pós-parto é influenciada por quatro fatores principais: balanço energético, presença do bezerro, estação do ano e número de partos (YAVAS & WALTON, 2000). O estado nutricional e o ato da mamada, são considerados os fatores que atuam de forma mais acentuada para o prolongamento do anestro (STAGG et al., 1995; GARCIA-WINDER et al., 1984).

O anestro pós-parto é o intervalo entre o parto e a primeira ovulação. Embora a involução uterina e o retorno de ondas foliculares ovarianas comecem logo após o parto, os folículos dominantes dessas ondas não sofrem maturação final e não ovulam (YAVAS & WALTON., 2000). Uma das causas para esta falha no desenvolvimento e ovulação dos folículos é à ausência de pulsos de LH (CROWE et al., 2014; YAVAS & WALTON, 2000).

A redução na condição corporal e inadequado estoque de energia corporal no parto podem prolongar o anestro pós parto, uma vez que a restrição na ingestão de nutrientes reduz a secreção de LH, o folículo dominante produz menos estradiol e não há ovulação (WETTEMANN & BOSSIS, 2000). Em primíparas, isto se torna um entrave ainda maior, já que esses animais além dos requerimentos de manutenção e lactação, ainda necessitam de reservas energéticas para o crescimento (MENEGHETTI., 2006).

1.3 Prostaglandina F2 α na reprodução

As prostaglandinas atuam na ovulação, na função lútea, no reconhecimento materno da gestação, na implantação, no parto, na fisiologia pós parto e também é utilizada em protocolos para sincronização do estro (WEEMS et al, 2006).

Um dos papéis mais importantes da PGF2 α é atuar na luteólise (McCRACKEN et al., 1999). Da mesma forma, sua aplicação exógena é utilizada nos protocolos de sincronização da ovulação para induzir a regressão do CL, e isto ocorre dependendo do estágio do ciclo estral (entre os dia 5 -15 ou 16 do ciclo estral) (RATHOBONE et al., 2001). Existem duas formas exógenas de PGF2 α , o cloprostenol que possui meia vida mais longa (~ 3h) (REEVES et al.,

1978) e o dinoprost que possui meia vida curta (~ 8 min) (KINDAHL et al., 1976). Apesar de não observada diferença na taxa de prenhez de vacas, o dinoprost foi mais eficaz do que o cloprostenol na indução da luteólise (STEVENSON et al., 2010).

Estudos foram realizados para otimizar a utilização da PGF2 α nos protocolos de sincronização da ovulação. Meneghetti et al (2009) avaliaram o efeito da utilização de meia dose de PGF2 α (12,5 mg dinoprost), que foi efetiva em causar luteólise em vacas com CL com mais de 7 dias e não ocorreu diminuição nas taxas de ovulação e prenhez de vacas Nelore.

Com o objetivo de identificar o melhor momento de aplicação da PGF2 α , Peres et al (2009) compararam a aplicação de PGF2 α no D7 ou no D9 do protocolo de vacas nelore não lactantes, e concluíram que vacas que receberam PGF2 α no D7 tiveram menor concentração sérica de progesterona no D9, maior folículo na IATF e melhores taxas de ovulação, concepção e prenhez. Meneghetti et al (2009) ao testarem a antecipação da PGF2 α para o D7 do protocolo, encontraram melhora na fertilidade das vacas que estavam ciclando. Da mesma forma Dadarwal et al (2013), afirmaram que menor intervalo de proestro reduziu as taxas de prenhez.

Também foram realizados estudos utilizando duas doses de PGF2 α . Carvalho et al (2008), utilizando novilhas cíclicas (B. Indicus, B. Indicus x B. taurus, B. taurus) e protocolo a base de progesterona e estradiol, o tratamento adicionando uma dose de prostaglandina no dia da inserção do CIDR reduziu a concentração sérica de progesterona durante o tratamento com progesterona e também resultou em maior diâmetro folicular ($11,9 \pm 0,4$ mm vs. $10,5 \pm 0,4$ mm) e maior taxa de ovulação (78,8 vs. 54,0 %). Kasimanickam et al (2009) testaram uma dose vs. duas doses de dinoprost, em vacas de corte cruzadas, no dia da retirada do CIDR em protocolo CO-Synch+CIDR e concluíram que vacas de corte que receberam duas doses tiveram maior taxa de prenhez na IATF do que as que receberam apenas uma dose (69,00% vs. 52,00%; $P < 0,0001$). Pereira et al (2015), observaram que a utilização de duas PGF2 α aumentou a taxa de prenhez (32,1%; 25/78) comparado a uma dose de PGF2 α (19,4%; 19/98) mesmo em vacas em anestro. Um estudo semelhante foi realizado por Lopes Jr. (2017), utilizando vacas holandesas em anestro e vacas que receberam duas doses de PGF2 α apresentaram maior diâmetro de folículo pré-ovulatório ($14,4 \pm 0,8$ vs. $12,3$ mm), maior concentração de estradiol no fluido folicular ($262,3 \pm 55,8$ vs. $115,4 \pm 22,9$ ng/ml; $P=0,02$), tiveram maior duração do pico de LH ($15,5 \pm 0,8$ vs. $13,1 \pm 0,8$ h; $P=0,04$) e maior proporção de pulsos de LH por hora ($0,75 \pm 0,04$ vs. $0,65 \pm 0,04$ pulso/hora; $P=0,05$).

Avaliando outros efeitos da PGF2 α além da luteólise, alguns estudos mostraram que esta pode agir estimulando a liberação de LH. Randel et al (1996) avaliaram o efeito da PGF2 α exógena sobre as concentrações circulantes de LH em vacas Brahman (30 dia pós-parto) e

afirmaram que a liberação hipofisária de LH em resposta ao GnRH foi aumentada pela exposição simultânea a PGF2 α . Resultados de experimentos em ratos reportaram também, que a PGF2 α é um potente estimulador da liberação de LH in vivo (WARBERG et al., 1976). Em vacas de corte a concentração de LH também aumentou após o tratamento com PGF2 α tanto nas vacas em anestro quanto nas que estavam ciclando (CRUZ et al., 1997).

1.4 Concentrações de P4 próximo ao momento da inseminação

O final do processo de luteólise é marcado pela diminuição da concentração de P4 abaixo de 1 ng/ml, e dura em média 24 h (GINTHER et al., 2010).

Diversos estudos mostraram que altas concentrações de P4 próximo ao momento da IA estão correlacionadas com baixa fertilidade. Souza et al (2007) observaram em vacas de leite que concentrações de P4 >0,5ng/ml próximo a IA reduziu a fertilidade. Brusveen et al (2009) constataram que concentrações acima de 0,4 ng/ml reduziram a taxa de prenhez em 50%. Em estudos realizados por Pereira et al (2013) utilizando protocolos a base de E2 e P4 em vacas de leite, verificaram melhor taxa de prenhez nos animais com concentrações de P4 <0,1 ng/ml no dia da IA.

Vale ressaltar que a origem da progesterona durante o protocolo pode ser endógena e exógena. Dentre as fontes endógenas primariamente temos o corpo lúteo, no entanto, em bovinos de corte, a glândula adrenal pode produzir progesterona quando estimulada por altas concentrações de ACTH (WILLARD et al., 2005). A produção de P4 pela adrenal fica evidente em trabalhos que avaliam a concentração de P4 em animais pré-púberes. Cooke e Arthington (2009), avaliaram diferentes critérios de puberdade (1,0, 1,5, 2,0 ng/ml de P4) em fêmeas cruzadas Brahman e observaram que concentrações de P4 de 1,0 ng/ml parecem não ser um bom critério para a avaliação da puberdade, já que, por provável influência da adrenal foram verificadas concentrações plasmáticas de P4 superiores a 1,0 ng/ml, mesmo na ausência de um CL funcional. Também constataram correlação positiva ($P < 0,01$) entre concentrações de P4 e cortisol e P4 e escore de temperamento. E afirmaram que aumentar o critério de puberdade de 1,0 ng/ml para 1,5 ng/ml, diminui ($P = 0,03$) a proporção de animais falso positivo. Claro Júnior et al (2010) em estudos com novilhas Nelore, também observaram concentrações séricas de P4 maiores que 1,0 ng/ml em animais sem tecido lúteo detectado na ultrassonografia, associado a elevadas concentrações séricas de cortisol.

Objetivos Gerais

O objetivo do experimento 1 foi avaliar a P/IA de vacas Nelore submetidas a protocolo de sincronização da ovulação utilizando uma dose adicional de PGF2 α . No experimento 2, o objetivo foi avaliar a taxa de sincronização, concepção e P/IA das vacas e verificar o efeito da dose adicional de PGF2 α , em vacas Nelore sem CL.

Referências

- Ayres, H., Ferreira, R.M., Torres-Júnior, J.R.S., Demétrio, C.G.B., Sá Filho, M.F., Gimenes, L.U., Penteado, L., D'Occhio, M.J., Baruselli, P.S., 2014. Inferences of body energy reserves on conception rate of suckled Zebu beef cows subjected to timed artificial insemination followed by natural mating. *Theriogenology* 82, 529–536.
- Baruselli, P.S., Marques, M.O., Carvalho, N.A.T., Madureira, E.H., Campos Filho, E.P., 2002. Efeito de diferentes protocolos de inseminação artificial em tempo fixo na eficiência reprodutiva de vacas de corte lactantes. *Rev. Bras. Reprod. Anim.* 26, 218–221.
- Bo, G., Adams, G., Pierson, R., Tribulo, H., Caccia, M., Mapletoft, R., 1994. Wave Dynamics After Estradiol-17P Treatment. *Theriogenology* 1555–1569.
- Brusveen, D.J., Souza, A.H., Wiltbank, M.C., 2009. Effects of additional prostaglandin F_{2α} and estradiol-17β during Ovsynch in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 92, 1412–1422.
- Carvalho, J.B.P., Carvalho, N.A.T., Reis, E.L., Nichi, M., Souza, A.H., Baruselli, P.S., 2008. Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus* × *Bos taurus*, and *Bos taurus* heifers. *Theriogenology* 69, 167–175.
- Claro Júnior, I., Sá Filho, O.G., Peres, R.F.G., Aono, F.H.S., Day, M.L., Vasconcelos, J.L.M., 2010. Reproductive performance of prepubertal *Bos indicus* heifers after progesterone-based treatments. *Theriogenology* 74, 903–911.
- Cooke, R.F., Arthington, J.D., 2009. Plasma progesterone concentrations as puberty criteria for Brahman-crossbred heifers. *Livest. Sci.* 123, 101–105.
- Crowe, M.A., Diskin, M.G., Williams, E.J., 2014. Parturition to resumption of ovarian cyclicity: comparative aspects of beef and dairy cows. *Animal* 8, 40–53.
- Cruz, L.C., DoValle, E.R., Kesler, D.J., 1997. Effect of prostaglandin F(2α)- and gonadotropin releasing hormone-induced luteinizing hormone releases on ovulation and corpus luteum function of beef cows. *Anim. Reprod. Sci.* 49, 135–142.
- Dadarwal, D., Mapletoft, R.J., Adams, G.P., Pfeifer, L.F.M., Creelman, C., Singh, J., 2013. Effect of progesterone concentration and duration of proestrus on fertility in beef cattle after fixed-time artificial insemination. *Theriogenology* 79, 859–866.
- Dias, C.C., Wechsler, F.S., Day, M.L., Vasconcelos, J.L.M., 2009. Progesterone concentrations, exogenous equine chorionic gonadotropin, and timing of prostaglandin F_{2α} treatment affect fertility in postpubertal Nelore heifers. *Theriogenology* 72, 378–385.
- Garcia-Winder, M., Day, M.L., Zalesky, D.D., Kinder, J.E., Imakawa, K., Kittok, R.J., 1984. Effect of Suckling and Ovariectomy on the Control of Luteinizing Hormone Secretion During the Postpartum Period in Beef Cows 1. *Biol. Reprod.* 31, 771–778.
- Ginther, O.J., Shrestha, H.K., Fuenzalida, M.J., Shahiduzzaman, A.K.M., Hannan, M.A., Beg, M.A., 2010. Intrapulse temporality between pulses of a metabolite of prostaglandin F_{2α} and circulating concentrations of progesterone before, during, and after spontaneous luteolysis in

heifers. *Theriogenology* 74, 1179–1186.

Imakawa, K., Day, M.L., Zalesky, D.D., Clutter, A., Kittok, R.J., Kinder, J.E., 1987. Effects of 17 beta-estradiol and diets varying in energy on secretion of luteinizing hormone in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 64, 805–815.

Kasimanickam, R., Day, M.L., Rudolph, J.S., Hall, J.B., Whittier, W.D., 2009. Two doses of prostaglandin improve pregnancy rates to timed-AI in a 5-day progesterone-based synchronization protocol in beef cows. *Theriogenology* 71, 762–767.

Leonardi, C.E.P., Pfeifer, L.F.M., Rubin, M.I.B., Singh, J., Mapletoft, R.J., Pessoa, G.A., Bairy, A.M., Silva, C.A.M., 2012. Prostaglandin F2 α promotes ovulation in prepubertal heifers. *Theriogenology* 78, 1578–1582.

Lopes Jr, F.R. Efeito do uso de uma dose adicional de prostaglandina F2 α durante o protocolo de IATF à base de estradiol e progesterona na fertilidade de vacas holandesas em lactação em anestro. 88 f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2017.

Lucy, M.C., Billings, H.J., Butler, W.R., Ehnis, L.R., Fields, M.J., Kesler, D.J., Kinder, J.E., Mattos, R.C., Short, R.E., Thatcher, W.W., Wettemann, R.P., Yelich, J. V., Hafs, H.D., 2001. Efficacy of an intravaginal progesterone insert and an injection of PGF2 α for synchronizing estrus and shortening the interval to pregnancy in postpartum beef cows, peripubertal beef heifers, and dairy heifers. *J. Anim. Sci.* 79, 982–995.

McCracken, J.A., Custer, E.E., Lamsa, J.C., 1999. Luteolysis: A neuroendocrine-mediated event. *Physiological Reviews* 79, 263-324.

Meneghetti, M. Mês de parição, condição corporal e resposta a protocolos de inseminação artificial em tempo fixo em vacas de corte primíparas. 66 f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2006.

Meneghetti, M., Filho, O.G.S., Peres, R.F.G., Lamb, G.C., Vasconcelos, J.L.M., 2009. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows I: Basis for development of protocols. *Theriogenology* 72, 179–189.

Meneghetti, M., Vasconcelos, J.L.M., 2008. Mês De Parição, Condição Corporal E Resposta a Protocolos De Inseminação Artificial Em Tempo Fixo Em Vacas De Corte Primíparas. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 60, 786–793.

Pancarci, S.M., Jordan, E.R., Risco, C.A., Schouten, M.J., Lopes, F.L., Moreira, F., Thatcher, W.W., 2002. Use of Estradiol Cypionate in a Presynchronized Timed Artificial Insemination Program for Lactating Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.* 85, 122-131.

Pereira, M.H.C., Sanches, C.P., Guida, T.G., Rodrigues, A.D.P., Aragon, F.L., Veras, M.B., Borges, P.T., Wiltbank, M.C., Vasconcelos, J.L.M., 2013. Timing of prostaglandin F2 α treatment in an estrogen-based protocol for timed artificial insemination or timed embryo transfer in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 96, 2837–2846.

- Pereira, M.H.C., Wiltbank, M.C., Barbosa, L.F.S.P., Costa, W.M., Carvalho, M.A.P., Vasconcelos, J.L.M., 2015. Effect of adding a gonadotropin-releasing-hormone treatment at the beginning and a second prostaglandin F₂ α treatment at the end of an estradiol-based protocol for timed artificial insemination in lactating dairy cows during cool or hot seasons of the year. *J. Dairy Sci.* 98, 947–959.
- Peres, R.F.G. Relação entre os hormônios metabólicos IGF-1, leptina e GH e eficiência reprodutiva em fêmeas Nelore. 169 f. Tese (doutorado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2016.
- Peres, R.F.G., Júnior, I.C., Filho, O.G.S., Nogueira, G.P., Vasconcelos, J.L.M., 2009. Strategies to improve fertility in *Bos indicus* postpubertal heifers and nonlactating cows submitted to fixed-time artificial insemination. *Theriogenology* 72, 681–689.
- Randel, R.D., Lammoglia, M.A., Lewis, A.W., Neuendorff, D.A., Guthrie, M.J., 1996. Exogenous PGF₂ α enhanced GnRH-induced LH release in postpartum cows. *Theriogenology* 45, 643–654.
- Rathbone, M.J., Kinder, J.E., Fike, K., Kojima, F., Clopton, D., Ogle, C.R., Bunt, C.R., 2001. Recent advances in bovine reproductive endocrinology and physiology and their impact on drug delivery system design for the control of the estrous cycle in cattle. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 50, 277–320.
- Roche, J.F., 1974. Synchronization of oestrus and fertility following artificial insemination in heifers given Prostaglandin F₂ α . *J. Reprod. Fertil.* 37, 135–138.
- Rutter, L.M., Snopce, R., Manns, J.G., 1989. Serum concentrations of IGF-1 in postpartum beef cows. *J. Anim. Sci.* 67, 2060–2066.
- Schillo, K.K., 1992. Effects of dietary energy on control of luteinizing hormone secretion in cattle and sheep. *J. Anim. Sci.* 70, 1271–1282.
- Short, R.E., Adams, D.C., 1988. Nutritional and Hormonal Interrelationships in Beef Cattle Reproduction. *Can. J. Anim. Sci.* 68, 29–39.
- Short, R.E., Bellows, R.A., Staigmiller, R.B., Berardinelli, J.G., Custer, E.E., 1990. Physiological mechanisms controlling anestrus and infertility in postpartum beef cattle. *J. Anim. Sci.* 68, 799–816.
- Souza, A.H., Gumen, A., Silva, E.P.B., Cunha, A.P., Guenther, J.N., Peto, C.M., Caraviello, D.Z., Wiltbank, M.C., 2007. Supplementation with Estradiol-17 β before the last Gonadotropin-Releasing Hormone Injection of the Ovsynch Protocol in Lactating Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 90, 4623–4634.
- Stagg, K., Diskin, M.G., Sreenan, J.M., Roche, J.F., 1995. Follicular development in long-term anoestrous suckler beef cows fed two levels of energy postpartum. *Anim. Reprod. Sci.* 38, 49–61.
- Stevenson, J.S., Phatak, A.P., 2010. Rates of luteolysis and pregnancy in dairy cows after treatment with cloprostenol or dinoprost. *Theriogenology* 73, 1127–1138.

- Stewart, R.E., Spicer, L.J., Hamilton, T.D., Keefer, B.E., 1995. Effects of insulin-like growth factor I and insulin on proliferation and on basal and luteinizing hormone-induced steroidogenesis of bovine thecal cells: involvement of glucose and receptors for insulin-like growth factor I and luteinizing hormone. *J. Anim. Sci.* 73, 3719–3731.
- Warberg, J., Eskay, R.L., Porter, J.C., 1976. Prostaglandin-Induced Release of Anterior Pituitary Hormones: Structure-Activity Relationships. *Endocrinology* 98, 1135–1141.
- Weems, C.W., Weems, Y.S., Randel, R.D., 2006. Prostaglandins and reproduction in female farm animals. *Vet. J.* 171, 206–228.
- Wettemann, R.P., Bossis, I., 2000. Energy Intake Regulates Ovarian Function in Beef Cattle. *J. Anim. Sci.* 77, 1–10.
- Willard, S.T., Lay Jr., D.C., Friend, T.H., Neuendorff, D.A., Randel, R.D., 2005. Plasma progesterone response following ACTH administration during mid-gestation in the pregnant Brahman heifer 63, 1061–1069.
- Wiltbank, M.C., Gumen, A., Sartori, R., 2002. Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. *Theriogenology* 52, 21–52.
- Yavas, Y., Walton, J.S., 2000. Postpartum acyclicity in suckled beef cows: A review. *Theriogenology* 54, 25–55.
- Yelich, J. V., Wettemann, R.P., Marston, T.T., Spicer, L.J., 1996. Luteinizing hormone, growth hormone, insulin-like growth factor-I, insulin and metabolites before puberty in heifers fed to gain at two rates. *Domest. Anim. Endocrinol.* 13, 325–338.

CAPÍTULO 2

Efeito da utilização de uma dose adicional de dinoprost trometamina em protocolos de IATF em vacas Nelore

Efeito da utilização de uma dose adicional de dinoprost trometamina em protocolos de IATF em vacas Nelore

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar se vacas Nelore, que receberam duas doses de PGF2 α em protocolos de IATF a base de progesterona e estradiol, teriam melhor fertilidade em comparação a uma dose de PGF2 α . Foram realizados 2 experimentos em que os animais receberam o protocolo de IATF: dispositivo intravaginal de P4 (CIDR) e 2,0 mg benzoato de estradiol (i.m., 2 ml Gonadiol®, Zoetis), no d-11, dinoprost trometamina (PGF2 α ; i.m., 2,5 ml Lutalyse®, Zoetis) no d-4, retirada do dispositivo de P4, 0,6 mg de cipionato de estradiol (i.m., 0,3 ml ECP®, Zoetis) e 300 UI de eCG (i.m., 1,5 ml Novormon®, Zoetis) no d-2, e IATF no d0. No experimento 1, as vacas (n=1.039) foram divididas aleatoriamente para receber uma ou duas doses de PGF2 α , sendo a primeira no d-4 e a segunda no d-2. No experimento 2, foram avaliadas 1.051 fêmeas Nelore, permanecendo para as análises deste estudo apenas fêmeas que não apresentaram um CL no d-4 (momento da primeira PGF2 α ; n=934), os tratamentos foram os mesmos descritos no experimento 1. Foi fixado um dispositivo para avaliar a expressão do cio (EstroTECT®) no d-2, avaliado o diâmetro folicular no d0, as colheitas de sangue foram realizadas no d0 e d7, para dosagem de P4. O diagnóstico de gestação (DG) foi realizado 30 dias após IA. No experimento 1, a taxa de prenhez foi maior para os animais do grupo 2PG (54,5% vs. 46,6%; $P = 0,01$) em relação a 1PG. No experimento 2, a taxa de sincronização e a taxa de prenhez foram maiores no grupo 2PG, (81,4% vs. 72,1%; [$P = 0,01$] e 55,5% vs. 45,6%; [$P = 0,04$], respectivamente) apenas nos animais com ECC < 5,0 (escala de 1 a 9). Já nos animais com ECC $\geq 5,0$, não houve diferença entre os tratamentos. Independente de ECC, não foi observado diferença na taxa de concepção, diâmetro do maior folículo no momento da IA e expressão de cio. Houve interação entre o tratamento e o diâmetro folicular sobre a taxa de sincronização ($P = 0,004$). Em conclusão, a utilização de duas doses de PGF2 α foi mais eficiente em sincronizar folículos menores (< 13,1 mm) e promoveu efeito positivo na taxa de sincronização e prenhez, nas vacas com ECC < 5,0.

Palavras-chave: dinoprost trometamina, PGF2 α , protocolos de IATF, vacas Nelore.

Effect of using an additional dose of dinoprost tromethamine on TAI protocols in Nelore cows

Abstract

The aim of this study was to evaluate whether Nelore cows that received two doses of PGF2 α in progesterone and estradiol-based TAI protocols would have better fertility compared to one dose of PGF2 α . Two experiments were performed in which the animals received an TAI protocol: intravaginal P4 device (CIDR) and 2.0 mg estradiol benzoate (i.m., 2 ml Gonadiol®, Zoetis) at d-11, dinoprost tromethamine (PGF2 α ; i.m., 2 , 5 ml Lutalyse®, Zoetis) at d-4, P4 device withdrawal, 0.6 mg estradiol cypionate (i.m., 0.3 ml ECP®, Zoetis) and 300 IU eCG (i.m., 1.5 ml Novormon®, Zoetis) at d-2, and AI at d0. In experiment 1 the animals (n = 1,039) were randomly assigned to receive one or two doses of PGF2 α , the first on d-4 and the second on d-2. In experiment 2, 1,051 Nelore cows were used, and remaining for the analysis of this study only females without CL on d-4 (moment of first PGF2 α ; n=934), the treatments were the same as described in experiment 1. A device was fixed to evaluate estrus expression (Estroprotect®) at d-2, measured follicular diameter at d0, blood samples were collected at d0 and d7 for P4 dosage. The pregnancy diagnosis was made 30 days after AI. In experiment 1, the pregnancy rate was higher for animals in group 2PG (54.5% vs. 46.6%; $P = 0.01$) compared to 1PG. In experiment 2, synchronization rate and pregnancy rate were higher in group 2PG (81.4% vs. 72.1%; [$P = 0.01$] and 55.5% vs. 45.6%; [$P = 0.04$], respectively) only in animals with BCS < 5.0 (scale from 1 to 9). In animals with BCS \geq 5.0, there was no difference between treatments. Regardless of BCS, there was no difference in conception rate, diameter of the largest follicle at the moment of AI, and estrus expression. There was an interaction between treatment and follicular diameter on the synchronization rate ($P=0.004$). In conclusion, the use of two doses of PGF2 α was more efficient in synchronizing small follicles (< 13.1 mm) and had a positive effect on synchronization and pregnancy rates in cows with BCS < 5.0.

Keywords: dinoprost tromethamine, PGF2 α , Nelore cows, TAI protocol.

1. Introdução

Os protocolos hormonais para sincronização da ovulação, foram desenvolvidos para promover o desenvolvimento folicular, induzir a ovulação das vacas e inseminar sem a necessidade de detecção de estro (MENEGHETTI et al., 2009). A PGF2 α é de extrema importância nestes protocolos de sincronização da ovulação, pois induz a regressão do CL, que é responsável pela produção de progesterona (SCHAMS & BERISHA., 2004).

As altas concentrações de P4 próximo ao momento da inseminação, foram associadas com diminuição nas taxas de prenhez em vacas de leite (BRUSVEEN et al., 2009; SOUZA et al., 2007; PEREIRA et al., 2013), e a luteólise em resposta a PGF2 α está diretamente correlacionada com esta concentração de P4. Por isso, diversos estudos foram realizados com o objetivo de aumentar a ocorrência de luteólise completa e diminuir as concentrações de progesterona próximo ao momento da inseminação.

Em vacas de leite, submetidas a protocolos Ovsynch, a utilização de uma dose adicional de PGF2 α aumentou a porcentagem de vacas com luteólise completa (95,6%) comparado ao grupo controle (84,6%) (BRUSVEEN et al., 2009). Ribeiro et al (2012), encontraram maior taxa de luteólise em vacas de leite, quando a mesma dose de PGF2 α foi administrada em duas injeções, do que quando administrado em apenas uma injeção. Em protocolos a base de E2/P4, avaliando a ciclicidade dos animais, Pereira et al (2015) observaram que mesmo em vacas sem CL, a utilização de duas PGF2 α aumentou a taxa de prenhez (32,1%; 25/78) comparado ao grupo controle (19,4%; 19/98), sugerindo que a PGF2 α poderia atuar por outro mecanismo além da luteólise.

Outros estudos sugeriram que a PGF2 α pode atuar por outro mecanismo, além da luteólise. Randel et al (1996) avaliaram o efeito da PGF2 α exógena sobre as concentrações circulantes de LH em vacas Brahman e afirmaram que a liberação hipofisária de LH em resposta ao GnRH foi aumentada pela exposição simultânea a PGF2 α . Resultados de experimentos em ratos reportaram, que a PGF2 α é um potente estimulador da liberação de LH in vivo (WARBERG et al., 1976). Em vacas de corte, a concentração de LH aumentou após o tratamento com PGF2 α tanto nas vacas em anestro quanto nas que estavam ciclando (CRUZ et al., 1997).

Com base neste contexto, é importante avaliar a utilização de duas doses de PGF2 α , em vacas de corte. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da utilização de uma dose adicional de PGF2 α em vacas Nelore e verificar se a PGF2 α pode atuar por outro mecanismo, que não a luteólise, nos protocolos de sincronização da ovulação a base de E2/P4.

2. Materiais e métodos

2.1. Experimento 1

Todos os procedimentos utilizados neste experimento foram desenvolvidos de acordo com os princípios éticos da experimentação animal, protocolo CEUA 0180/2018, determinado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Universidade Estadual Paulista, Campus de Botucatu/SP, Brasil.

2.1.1. Local e animais

O experimento foi realizado durante a EM de 2017/2018, que ocorreu de novembro a fevereiro, na Fazenda Fortaleza localizada no município de General Carneiro-MT. A região possui bioma característico de cerrado e solo predominantemente arenoso.

As pastagens eram compostas basicamente de *Brachiaria decumbens*, *Brachiaria brizantha* cv. Marandu e algumas áreas de *Brachiaria humidicula*, matrizes tiveram acesso *ad libitum* a água e suplemento mineral.

Foram avaliadas 1.039 fêmeas Nelore (*Bos Indicus*) múltiparas, com $67,93 \pm 6,22$ DPP. As vacas foram distribuídas em 9 grupos de manejo (GM) com aproximadamente 120 animais cada, de acordo com a ordem de parição e subdivididas em dois grupos de acordo com o tratamento recebido (1PG ou 2PG).

2.1.2. Manejo reprodutivo

O protocolo de IATF iniciou no D-11 com todos os animais, recebendo um dispositivo intravaginal contendo 1,9 g de P4 (CIDR®, Zoetis, Guarulhos- SP, Brasil) e injeção intramuscular de 2,0 mg benzoato de estradiol (i.m., 2 ml Gonadiol®, Zoetis). No dia D-4 todos os animais receberam uma dose de 12,5 mg de dinoprost trometamina (i.m., 2,5 ml Lutalyse®, Zoetis). No D-2 o dispositivo de P4 foi retirado de ambos os grupos; administrado 0,6 mg de cipionato de estradiol (0,3 ml ECP®, Zoetis), 300 UI de eCG (i.m., 1,5 ml Novormon®, Zoetis) e de forma aleatória foi aplicada em apenas metade do lote (2PG) uma segunda dose de 12,5 mg de Dinoprost Trometamina (i.m., 2,5 ml Lutalyse®, Zoetis). No dia 0 do protocolo, 48 horas após a retirada do dispositivo intravaginal de P4, os animais foram inseminados (Figura 1).

Foram utilizadas doses de sêmen de dois touros Nelore. A inseminação artificial foi realizada por dois técnicos previamente treinados.

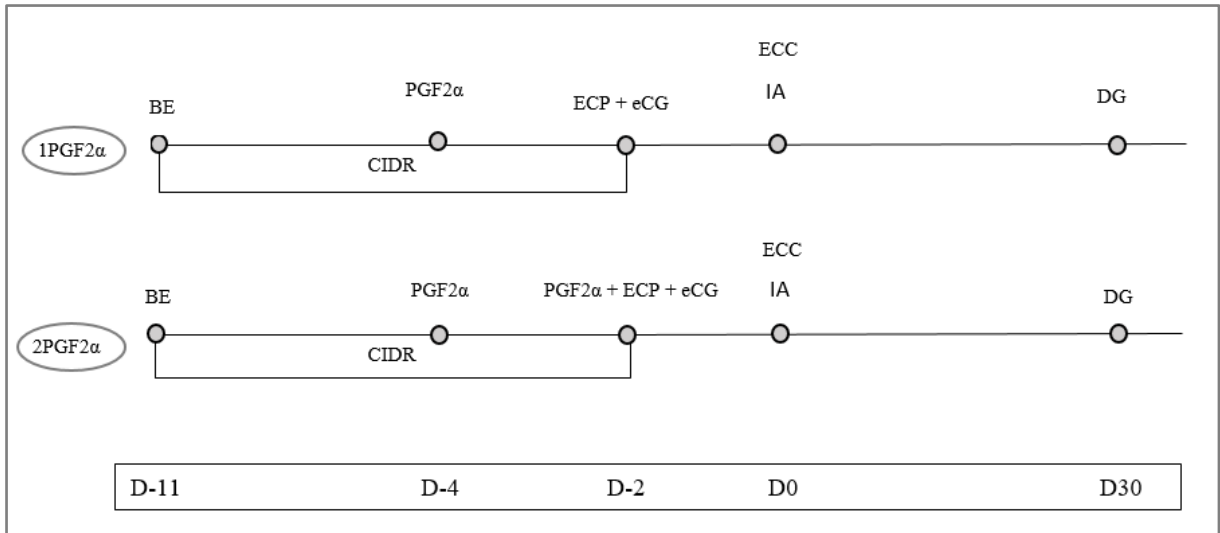


Figura 1- Diagrama de atividades, experimento 1. Os tratamentos foram: 1PGF2 α = 9 dias de dispositivo de progesterona e apenas uma dose de PGF2 α no D-4; 2PGF2 α = 9 dias de dispositivo de progesterona e duas doses de PGF2 α (D-4 e D-2). ECC= avaliação do escore de condição corporal.

2.1.3. Avaliação do escore de condição corporal

A avaliação visual do escore de condição corporal (ECC) de cada fêmea foi realizada no momento da IATF. Os escores foram realizados sempre por dois avaliadores, usando uma escala de 1 a 9; sendo 1= severamente emaciada e 9= muito obesa (WAGNER et al., 1988).

2.1.4. Diagnóstico de gestação e cálculo da Taxa de prenhez

O diagnóstico de gestação foi realizado por ultrassonografia transretal 30 dias após a IA. Foi considerada gestante a fêmea que apresentou vesícula amniótica contendo um embrião com batimentos cardíacos.

A taxa de prenhez foi calculada dividindo o número de vacas diagnósticas prenhas aos 30 dias pelo número de vacas inseminadas de cada grupo de tratamento.

2.2. Experimento 2

Todos os procedimentos utilizados neste experimento foram desenvolvidos de acordo com os princípios éticos da experimentação animal, protocolo CEUA 0180/2018, determinado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Universidade Estadual Paulista, Campus de Botucatu/SP, Brasil.

2.2.1. Local e animais

O experimento foi realizado durante a EM 2018/2019, que ocorreu de novembro a fevereiro, na Fazenda Santo Antônio, localizada no município de Araguaiana-MT. A região possui bioma característico de cerrado e solo predominantemente arenoso. As pastagens eram compostas de *Brachiaria decumbens*, *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, *Panicum maximum* cv. Mombaça e algumas áreas de *Brachiaria humidicula*, matrizes tiveram acesso *ad libitum* a água e suplemento mineral.

Foram avaliadas 1.051 fêmeas Nelore (*Bos indicus*) lactantes (primíparas e multíparas), com $54,79 \pm 11,90$ DPP. As vacas foram distribuídas em 9 grupos de manejo (GM) com aproximadamente 120 animais cada, de acordo com a ordem de parição e subdivididas em dois grupos de acordo com o tratamento recebido (1PG ou 2PG), permanecendo neste estudo, apenas vacas que não apresentaram um CL no d-4 do protocolo (momento da primeira PGF2 α ; n= 934).

2.2.2. Manejo reprodutivo

O protocolo de IATF foi o mesmo utilizado no experimento 1, já descrito anteriormente (Figura 2). Foram utilizadas doses de sêmen de dois touros Angus. A inseminação artificial foi realizada por dois técnicos previamente treinados.

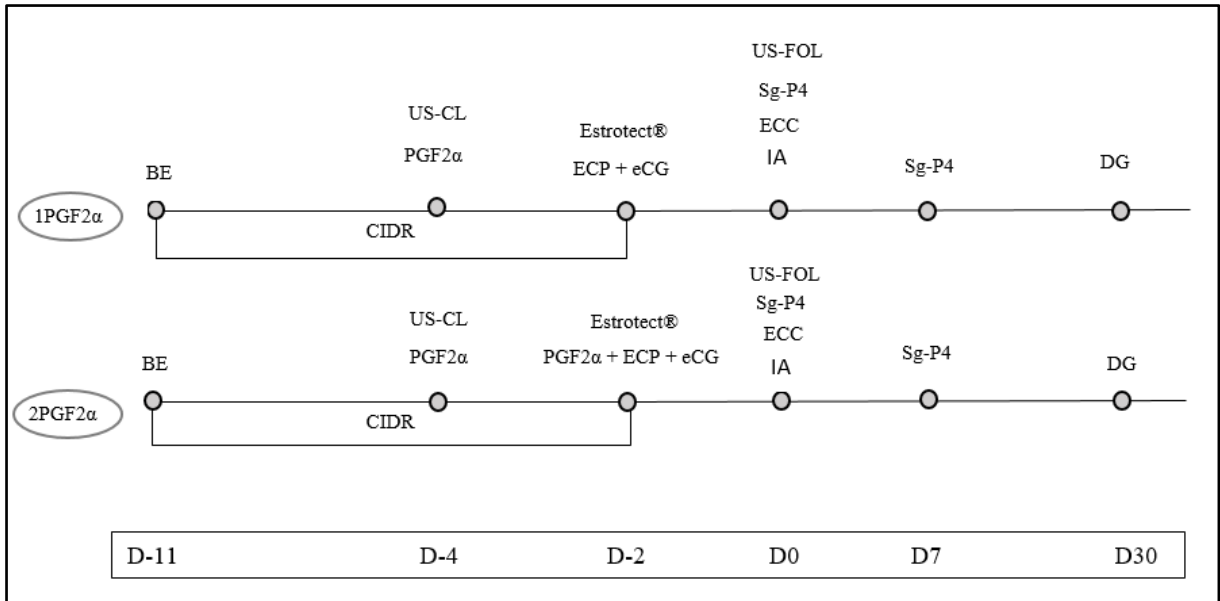


Figura 2 – Diagrama de atividades, experimento 2. Os tratamentos foram: 1PGF2 α = 9 dias de dispositivo de progesterona e apenas uma dose de PGF2 α no D-4; 2PGF2 α = 9 dias de dispositivo de progesterona e duas doses de PGF2 α (D-4 e D-2). ECC= avaliação do escore de condição corporal. US-CL = exame ultrassonográfico para avaliar presença de corpo lúteo; US-Fol = exame ultrassonográfico para avaliar o diâmetro folicular; Sg-P4 = amostra de sangue para dosagem de progesterona.

2.2.3. Avaliação do escore de condição corporal

A avaliação visual do escore de condição corporal (ECC) de cada fêmea foi realizada da mesma forma que descrita no experimento 1.

2.2.4. Ultrassonografia dos ovários

As avaliações ovarianas foram realizadas por ultrassonografia transretal (US; Mindray, modelo DP-10 Vet, com transdutor linear transretal de 7,5 MHz), no D-4 do protocolo para determinar presença de CL e no momento da IA, para medir o diâmetro do maior folículo, que foi determinado pela média da maior medida vertical e horizontal do maior folículo presente no ovário.

2.2.5. Avaliação da expressão de cio

Todos os animais receberam no dia da retirada do dispositivo intravaginal de P4 (D-2), um adesivo para detecção de cio (EstroTECT®), fixado transversalmente à coluna vertebral

próxima à região de transição das vértebras lombo sacrais. O dispositivo tem sua cor cinza inicial alterada por movimentos de fricção e atrito durante a aceitação da monta, assim, quando a cor base fluorescente do adesivo começa ser dominante, é indicativo que o animal aceitou monta várias vezes (BONATO et al., 2012). A interpretação da intensidade do cio foi realizada em uma escala de escore de 0 a 4 (0, perdeu o adesivo; 1, < 25% ativado; 2, < 50% ativado; 3, < 75% ativado; e 4, > 75% ativado) (POHLER et al., 2016). Para as análises, foram consideradas como expressão de cio as avaliações 2,3 e 4 e como ausência de cio 0 e 1.

2.2.6. Colheita de sangue e análises laboratoriais

As amostras de sangue foram colhidas no dia da IA e 7 dias após, para dosagem de P4, da veia coccígea em tubos com vácuo sem anticoagulante. Após a colheita, o sangue foi imediatamente colocado em gelo na posição vertical até completar 24 h, mantido em refrigerador a 4°C. As amostras foram centrifugadas a 1700 X g por 10 minutos à temperatura ambiente, para separação do soro. As amostras de soro foram armazenadas em freezer a -20°C até a realização das dosagens. A concentração sérica de progesterona foi analisada através de radioimunoensaio, como descrito por Pohler et al. (2016). O coeficiente de variação (CV) para dosagem de P4 foi de 5,9% inter ensaio e 5,5% intra ensaio.

2.2.7. Diagnóstico de gestação e cálculo das Taxas de sincronização, concepção e prenhez

O diagnóstico de gestação foi realizado por ultrassonografia transretal (US; Mindray, modelo DP-10 Vet, com transdutor linear transretal de 7,5 MHz) 30 dias após a IA. Foi considerada gestante a fêmea que apresentou vesícula amniótica contendo um embrião com batimentos cardíacos.

A taxa de sincronização foi calculada dividindo o número de vacas que tinham concentrações de progesterona $\leq 1,5$ ng/ml no momento da IA e $> 1,5$ ng/ml 7 dias após a IA pelo número total de vacas que foram submetidas ao protocolo de sincronização da ovulação.

A taxa de concepção foi calculada dividindo o número de vacas diagnosticadas prenhas aos 30 dias pelo número total de vacas que ovularam em resposta ao protocolo de sincronização da ovulação.

A taxa de prenhez foi calculada dividindo o número de vacas diagnosticadas prenhas aos 30 dias pelo número de vacas inseminadas de cada grupo de tratamento.

2.2.8. Análise de dados

Dados de ambos experimentos foram analisados usando vaca como unidade experimental, utilizando o PROC MIXED para dados quantitativos e o PROC GLIMMIX para dados binários (SAS Inst. Inc., Cary, NC, EUA). No experimento 1, os modelos usados continham o efeito fixo de tratamento (1PG e 2PG). No experimento 2, os modelos usados para análise de dados quantitativos continham os efeitos fixos de tratamento, paridade, a interação tratamento \times paridade. Os modelos usados para análise de dados binários continham os efeitos fixos de tratamento, paridade, ECC ($< 5,0$ ou $\geq 5,0$), e todas as interações resultantes. Para avaliar o efeito do tratamento na taxa de sincronização, concepção e prenhez de acordo com o diâmetro folicular e a concentração de P4 no momento da IATF, os valores foram divididos pela mediana. As variáveis aleatórias foram vaca (tratamento \times GM) para todos os modelos, além de touro e inseminador para taxa de concepção e prenhez. Resultados são reportados como média dos quadrados mínimos, e separados através do teste de LSD. Significância estatística foi determinada quando $P \leq 0,05$.

3. Resultados

3.1. Experimento 1

A administração de duas doses de $\text{PGF2}\alpha$ aumentou a taxa de prenhez à IATF ($P=0,01$; Tabela 1), independente de ECC ($P=0,45$) e DPP ($P= 0,60$) que foram semelhantes entre os grupos. Não houve interação entre o tratamento e o ECC ($P=0,25$) ou DPP ($P= 0,23$) sobre a taxa de prenhez.

Tabela 1. Dias pós-parto, escore de condição corporal (ECC) e taxa de prenhez de vacas Nelore recebendo uma (1PG) ou duas (2PG) injeções de PGF2 α durante o protocolo de sincronização da ovulação no Experimento 1.¹

Item	1PG	2PG	EPM	Valor de P
Dias pós-parto na IATF, d	67,6	68,3	1,0	0,60
ECC na IATF ²	3,79	3,82	0,03	0,45
Taxa de prenhez na IATF, ³ %	46,6 (236/507)	54,5 (290/532)	2,6	0,01

¹ A sincronização do estro + IATF inclui um dispositivo intravaginal (CIDR) contendo 1,90 g de progesterona (Meneghetti et al, 2009). As vacas receberam 12,5 mg de dinoprost trometamina (i.m., Lutalyse; Zoetis, São Paulo, SP, Brazil) 48 h antes da retirada do CIDR (1PG) ou 48 h antes e no momento da retirada do CIDR (2PG).

²Escala de 1 a 9 (WAGNER et al., 1988)

³Os valores em parênteses representam o número de vacas prenhas dividido pelo total de vacas.

3.2. Experimento 2

Das vacas avaliadas inicialmente neste experimento, 88,87% (934/1.051) não apresentaram um CL no momento de aplicação da primeira dose de PGF2 α . Analisando apenas estes animais, não foram observadas diferenças entre os grupos, nos dias pós-parto ($P=0,56$) e ECC ($P=0,44$) das vacas no momento da IATF.

Houve interação ($P=0,04$) entre o tratamento e o ECC das vacas, sobre a taxa de sincronização, que foi maior ($P= 0,01$) nas vacas 2PG com ECC < 5,0, mas, foi similar ($P=0,40$) entre vacas 2PG e 1PG com ECC $\geq 5,0$. Foi detectada interação ($P=0,02$) entre o tratamento e o ECC das vacas, sobre a taxa de prenhez, que foi maior ($P=0,04$) nas vacas do grupo 2PG com ECC < 5,0, mas, foi similar ($P= 0,47$) entre 2PG e 1PG em vacas com ECC $\geq 5,0$ (Tabela 2). Não houve interação entre o tratamento e DPP sobre a taxa de sincronização ($P= 0,95$) e prenhez ($P= 0,80$).

Tabela 2. Dias pós-parto, escore de condição corporal (ECC), e dados reprodutivos de vacas Nelore que receberam uma (1PG) ou duas (2PG) injeções de PGF2 α durante o protocolo de sincronização da ovulação no Experimento 2. ^{1,2}

Item	1PG	2PG	EPM	Valor de P
Dias pós-parto na IATF, d	53,9	54,4	0,5	0,56
ECC na IATF ³	5,16	5,11	0,04	0,44
Taxa de sincronização, ⁴ %				
ECC < 5,0	72,1 (124/177)	81,4 (159/203)	3,2	0,01
ECC \geq 5,0	87,5 (249/282)	90,0 (246/272)	2,9	0,40
Taxa de prenhez na IATF, ⁵ %				
ECC < 5,0	45,6 (77/177)	55,5 (105/203)	3,8	0,04
ECC \geq 5,0	61,2 (176/282)	58,2 (162/272)	3,3	0,47

¹ A sincronização do estro + IATF inclui um dispositivo intravaginal (CIDR) contendo 1,90 g de progesterona (Meneghetti et al, 2009). As vacas receberam 12,5 mg de dinoprost trometamina (i.m., Lutalyse; Zoetis, São Paulo, SP, Brazil) 48 h antes da retirada do CIDR (1PG) ou 48 h antes e no momento da retirada do CIDR (2PG).

² Foram analisados somente dados de vacas sem corpo lúteo durante o protocolo.

³ Escala de 1 a 9 (WAGNER et al., 1988)

⁴ Vacas com concentrações plasmática de progesterona \leq 1,5 ng/ml no momento da IATF e $>$ 1,5 ng/ml 7 dias após a IATF. Foi detectada interação ($P = 0,04$) tratamento (1PG ou 2PG) x ECC (ECC < 5,0 ou \geq 5,0 na IA). Os valores em parênteses representam o número de vacas sincronizadas dividida pelo total de vacas.

⁵ Foi detectada interação ($P=0,02$) tratamento (1PG ou 2PG) x ECC (ECC < 5,0 ou \geq 5,0 na IA). Os valores em parênteses representam o número de vacas prenhas dividida pelo total de vacas.

Houve interação ($P = 0,004$) entre o tratamento e o diâmetro folicular sobre a taxa de sincronização, a mesma não foi observada sobre a taxa de concepção ($P = 0,49$) e prenhez ($P = 0,47$) (Tabela 3). Foi possível observar associação positiva ($P < 0,01$) entre o maior folículo ovariano no momento da IATF e a probabilidade de sincronização, em ambos os tratamentos (Figura 3). Não houve associação entre a concentração de P4 no momento da IA com a probabilidade de sincronização ($P \geq 0,17$) (Figura 4). Não houve interação entre o tratamento e a concentração de P4 no momento da IATF sobre a taxa de sincronização ($P = 0,24$), concepção ($P = 0,69$) e prenhez ($P = 0,37$) (Tabela 4).

Tabela 3. Taxa de sincronização, concepção e prenhez, e concentração de P4 no d7 de acordo com o diâmetro do folículo no momento da IATF de vacas Nelore que receberam uma (1PG) ou duas (2PG) injeções de PGF2 α durante o protocolo de sincronização da ovulação no Experimento 2. ^{1,2}

	< 13,1		\geq 13,1 ³		Valor de P ⁴		
	PG1	PG2	PG1	PG2	Trat	DF	Trat x DF
Média DF (mm) ⁵	10,7 \pm 1,8	11,1 \pm 1,5	14,9 \pm 1,3	15,0 \pm 1,3	-	-	-
Taxa de sincronização ⁶	70,6% ^a (144/204)	81,9% ^b (177/216)	97,6% (204/209)	96,0% (194/202)	0,03	<0,0001	0,004
Taxa de concepção ⁷	68,7% (99/144)	64,4% (114/177)	69,6% (142/204)	70,1% (136/194)	0,58	0,35	0,49
Taxa de prenhez ⁸	48,5% (99/204)	52,8% (114/216)	67,9% (142/209)	67,3% (136/202)	0,58	<0,0001	0,47
Concentração de P4 d7 (ng/ml) ⁹	2,8 \pm 2,4	2,4 \pm 1,5	3,7 \pm 4,1	3,6 \pm 3,9	0,89	<0,0001	0,75

¹ A sincronização do estro + IATF inclui um dispositivo intravaginal (CIDR) contendo 1,90 g de progesterona (Meneghetti et al, 2009). As vacas receberam 12,5 mg de dinoprost trometamina (i.m., Lutalyse; Zoetis, São Paulo, SP, Brazil) 48 h antes da retirada do CIDR (1PG) ou 48 h antes e no momento da retirada do CIDR (2PG).

² Foram analisados somente dados de vacas sem corpo lúteo durante o protocolo.

³ Diâmetro folicular (mm) dividido pela mediana.

⁴ Trat = efeito do tratamento (1PG ou 2PG); DF = diâmetro folicular no momento da IATF (mm); Trat x DF = interação entre o tratamento e o diâmetro folicular no momento da IATF.

⁵ Média do diâmetro folicular em cada tratamento, a partir da divisão pela mediana.

⁶ Vacas com concentrações plasmática de progesterona \leq 1,5 ng/ml no momento da IATF e $>$ 1,5 ng/ml 7 dias após a IATF.

⁷ Taxa de prenhez das vacas que ovularam em resposta ao protocolo de sincronização. Os valores em parênteses representam o número de vacas prenhas dividido pelo total de vacas.

⁸ Os valores em parênteses representam o número de vacas prenhas dividida pelo total de vacas.

^{a, b} Valores com diferentes sobrescritos diferiram ($P \leq 0,05$).

⁹ Para calcular a média da concentração de P4 no d7, foi considerado apenas animais que ovularam.

Figura 3. Probabilidade de sincronização de vacas Nelore (n=934) de acordo com o tratamento utilizado [1PG (n=413) ou 2PG (n= 418)] e o diâmetro do maior folículo no momento da IATF.

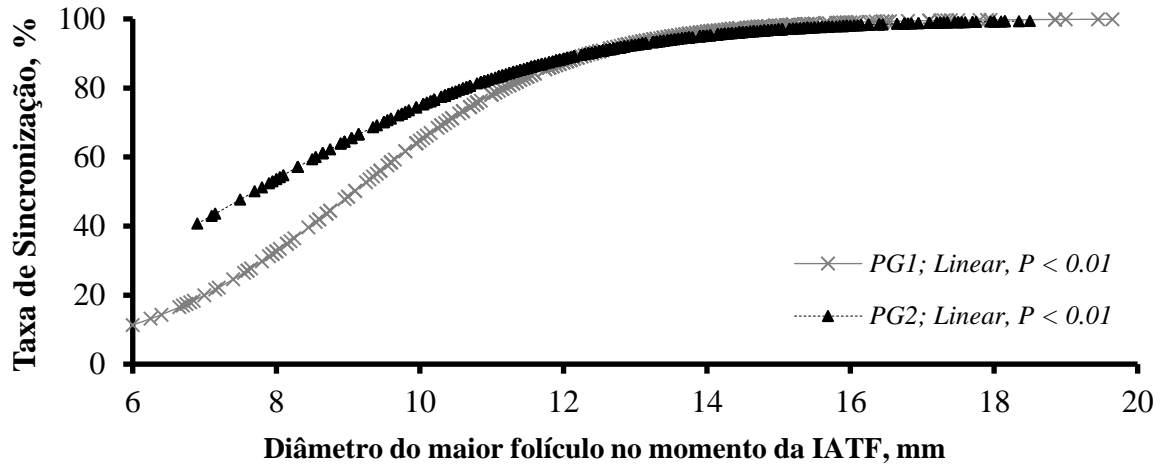


Figura 4. Probabilidade de sincronização de vacas Nelore (n= 934) de acordo com o tratamento utilizado [1PG (n=457) ou 2PG (n= 472)] e a concentração sérica de P4 no momento da IA.

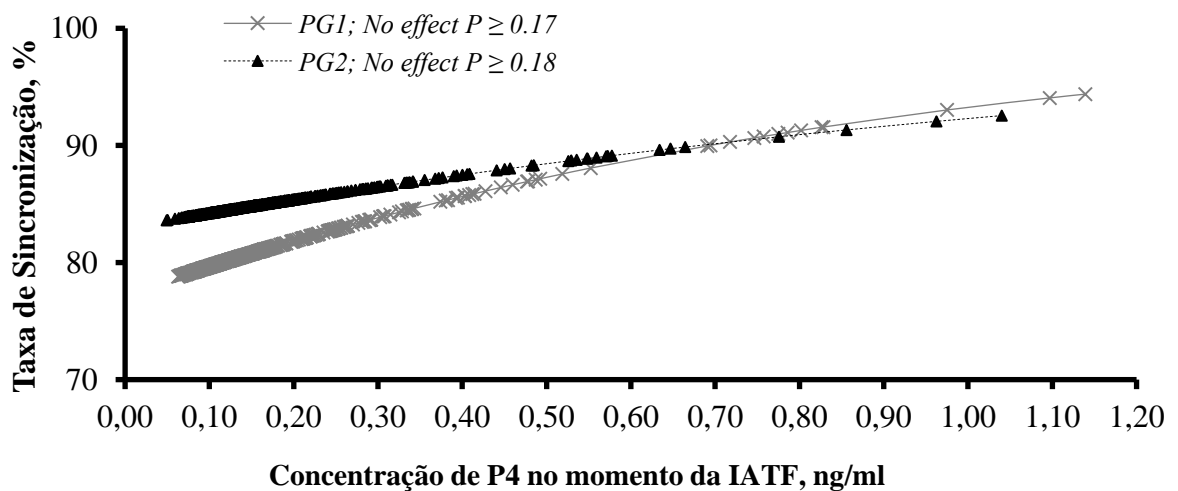


Tabela 4. Efeito do tratamento utilizado [1PG (n=457) ou 2PG (n=472)], na taxa de sincronização, concepção e prenhez, de acordo com a concentração de P4 (ng/ml) no momento da IATF.

	< 0,14		≥ 0,14 ¹		Valor de P ²		
	1PG	2PG	1PG	2PG	Trat	P4	Trat x P4
Taxa de sincronização ³	80,0% ^b (188/235)	82,7% ^{a, b} (191/231)	82,9% ^b (184/222)	87,5% ^a (211/241)	0,02	0,29	0,24
Taxa de concepção ⁴	69,7% (131/188)	67,5% (129/191)	66,3% (122/184)	64,5% (136/211)	0,82	0,79	0,69
Taxa de prenhez ⁵	55,7% (131/235)	55,8% (129/231)	54,9% (122/222)	56,4% (136/241)	0,41	0,82	0,37

¹ Concentração de P4 no momento da IATF dividida pela mediana.

² Trat = efeito do tratamento (1PG ou 2PG); P4 = concentração de P4 no momento da IATF (ng/ml); Trat x P4 = interação entre o tratamento e a concentração de P4 no momento da IATF.

³ Vacas com concentrações plasmática de progesterona ≤ 1,5 ng/ml no momento da IATF e > 1,5 ng/ml 7 dias após a IATF.

⁴ Taxa de prenhez das vacas que ovularam em resposta ao protocolo de sincronização. Os valores em parênteses representam o número de vacas prenhas dividido pelo total de vacas.

⁵ Os valores em parênteses representam o número de vacas prenhas dividida pelo total de vacas.

^{a, b} Valores com diferentes sobrescritos diferiram ($P \leq 0,05$).

Das vacas que não apresentaram um CL no momento de aplicação da primeira dose de PGF2 α , 83,29% (778/934) ovularam em resposta ao protocolo de sincronização da ovulação. Analisando apenas esses animais, não foram observadas diferenças entre os grupos, nos dias pós-parto ($P= 0,73$) e ECC ($P= 0,13$) das vacas na IATF. Também não foram observadas diferenças entre os tratamentos para o diâmetro do maior folículo no momento da IATF ($P= 0,75$), nas concentrações plasmáticas de progesterona na IATF ($P= 0,98$) e 7 dias após a IATF ($P= 0,26$), na expressão de estro ($P= 0,13$) e nas taxas de concepção ($P= 0,91$) (Tabela 4). Não houve interação entre o tratamento e o ECC ($P= 0,41$) ou DPP ($P= 0,79$) sobre a taxa de concepção. Não houve interação entre o tratamento e o diâmetro folicular sobre a taxa de concepção ($P= 0,13$).

Tabela 5. Dias pós-parto, escore de condição corporal (ECC) e dados reprodutivos de vacas Nelore que receberam uma (1PG; n=373) ou duas (2PG; n=405) injeções de prostaglandina F2 α durante o protocolo de sincronização da ovulação, que ovularam em resposta ao protocolo no Experimento 2.^{1,2}

Item	1PG	2PG	EPM	Valor de P
Dias pós-parto na IATF, d	54,5	54,8	0,60	0,73
ECC na IATF ³	5,25	5,15	0,05	0,13
Maior folículo na IATF, mm	13,1	13,1	0,1	0,75
Concentrações plasmáticas de progesterona				
Na IATF, ng/ml	0,187	0,188	0,011	0,98
7 d após a IATF, ng/ml	3,45	3,12	0,21	0,26
Expressão de cio, ⁴ %	50,3 (191/349)	44,6 (174/373)	2,6	0,13
Taxa de concepção, ⁵ %	65,1 (253/373)	65,5 (267/405)	2,5	0,91
ECC < 5,0	60,7 (77/124)	66,6 (105/159)	3,9	0,29
ECC \geq 5,0	69,6 (176/249)	64,4 (162/246)	3,0	0,23

¹ A sincronização do estro + IATF inclui um dispositivo intravaginal (CIDR) contendo 1,90 g de progesterona (Meneghetti et al, 2009). As vacas receberam 12,5 mg de dinoprost trometamina (i.m., Lutalyse; Zoetis, São Paulo, SP, Brazil) 48 h antes da retirada do CIDR (1PG) ou 48 h antes e no momento da retirada do CIDR (2PG).

² Foram analisados somente dados de vacas sem corpo lúteo durante o protocolo e com concentração de progesterona \leq 1,5 ng/ml no momento da IATF e $>$ 1,5 ng/ml 7 d após a IATF.

³ Escala de 1 a 9 (WAGNER et al., 1988)

⁴ De acordo com o adesivo de detecção de cio. Os valores em parênteses representam o número de vacas que expressaram cio dividido pelo total de vacas.

⁵ Taxa de prenhez das vacas que ovularam em resposta ao protocolo de sincronização. Os valores em parênteses representam o número de vacas prenhas dividido pelo total de vacas.

4. Discussão

Neste estudo observou-se efeito positivo da adição da segunda dose de PGF2 α ao protocolo de sincronização da ovulação a base de E2 /P4 sobre a taxa de P/IA de fêmeas Nelore. No experimento 1, foi possível observar aumento na taxa de prenhez do grupo 2PG independente do ECC, entretanto, no experimento 2 houve interação entre tratamento e ECC sobre a taxa de prenhez. É importante ressaltar que no experimento 1, 98,03% das vacas 1PG (497/507) e 96,80% das vacas 2PG (515/532) tinham ECC < 5,0 na IATF (escala 1 a 9). Isto não ocorreu no experimento 2, no qual apenas 37,91% das vacas 1PG (196/517) e 41,38% das

vacas 2PG (221/534) tinham $ECC < 5,0$ na IATF (escala 1 a 9). Animais com menor ECC são frequentemente associados a maiores taxas de anestro pós-parto (WETTEMANN & BOSSIS, 2000; YAVAS & WALTON, 2000; SCHILLO, 1992), desta forma, embora não tenha sido avaliada a ciclicidade das vacas no experimento 1, o menor ECC dos animais deste estudo pode justificar o efeito positivo geral da adição da segunda $PGF2\alpha$.

No Experimento 2, foi observado aumento na taxa de sincronização e prenhez das vacas 2PG com $ECC < 5,0$ (escala 1 a 9). No entanto, não houve efeito do tratamento sobre a taxa de concepção, independente do ECC. Sendo assim, em animais sem CL, os benefícios reprodutivos da utilização de duas doses de $PGF2\alpha$, parecem estar associados a resposta ao protocolo de sincronização em termos de taxa de sincronização do que com o aumento da fertilidade. Estes dados corroboram com os estudos de Sauls et al (2018) que testaram a administração de $PGF2\alpha$ simultaneamente a IATF em vacas de leite. Os autores não observaram efeito positivo nem na melhoraria da taxa de prenhez nem na redução da mortalidade embrionária.

As prostaglandinas impactam de diversas formas na reprodução das fêmeas (WEEMS et al., 2006). A principal função da $PGF2\alpha$ nos protocolos de sincronização da ovulação é a luteólise. Uma única injeção intramuscular de $PGF2\alpha$ é altamente eficaz em induzir a regressão do CL (ROCHE, 1974), entretanto, são mais eficazes quando administradas a partir do dia 5 do ciclo estral (LAUDERDALE, 1975). Alguns estudos para aumentar a probabilidade de luteólise, utilizaram duas doses de $PGF2\alpha$, em protocolos Ovsynch (BRUSVEEN et al., 2009; SANTOS et al., 2010) e em protocolos a base de E2/P4 onde, Pereira et al (2015) relataram que mesmo em fêmeas leiteiras que não apresentaram CL no D -11 e D -4 do protocolo de sincronização, os animais que receberam duas doses de $PGF2\alpha$ tiveram melhor taxa de prenhez do que o grupo controle. Tal efeito sobre a taxa de prenhez sugere que a $PGF2\alpha$ pode atuar por outros mecanismos nos protocolos de sincronização, além da luteólise.

Um possível mecanismo que explicaria os resultados deste estudo e dos encontrados por Pereira et al (2015) é a ação da $PGF2\alpha$ na liberação de LH. Existem diversos relatos de que a $PGF2\alpha$ pode agir estimulando a liberação de LH, em ovelhas (CARLSON et al., 1973), ratos (WARBERG et al., 1976) e em vacas (RANDEL et al., 1996; CRUZ et al., 1997). Este efeito pode ter sido mais acentuado nas vacas com $ECC < 5,0$, uma vez que, a menor condição corporal reduz a secreção de LH, (WETTEMANN & BOSSIS, 2000; KURZ et al., 1990; YELICH et al., 1996).

A capacidade ovulatória de vacas e novilhas está associada a concentração de LH e ao diâmetro folicular (GIMENES et al., 2008). Em vacas holandesas, foi observado que a taxa de

ovulação de folículos menores que 10 mm aumentou de 7,7% (1/13) para 69,2% (9/13) com o aumento da dose de LH de 4 mg para 24 mg (SARTORI et al., 2001). Em vacas Nelore, os folículos maiores que 10 mm foram capazes de ovular com doses mínimas de LH (SIMÕES et al., 2012). Neste estudo a utilização de duas doses de PGF2 α aumentou a taxa de sincronização de folículos menores (< 13,1 mm), este efeito pode estar correlacionado com o aumento de LH induzido pela PGF2 α . Já foi verificado em vacas de leite, maior duração do pico de LH em vacas que receberam duas doses de PGF2 α (LOPES Jr., 2017).

O tratamento com PGF2 α foi associado à ovulação em novilhas pré-púberes (LEONARDI et al., 2012). Pfeifer et al (2009), utilizando novilhas cruzadas Hereford, sem presença de CL, afirmaram que o uso de PGF2 α com ou sem tratamento exógeno com progesterona aumentou a porcentagem de ovulação das novilhas pré-púberes. Também foi sugerido por Pfeifer et al (2014) que a PGF2 α pode ser usada para induzir e sincronizar a ovulação em bovinos submetidos a IATF. Neste estudo, os autores relatam taxas de prenhez similares em fêmeas cíclicas quando comparadas com outros estímulos ovulatório (ECP e BE). Uma vez que a concentração circulante de progesterona modula a frequência de liberação de pulsos de LH (BERGFELD et al., 1995), vale questionar qual seria o mecanismo pelo qual a PGF2 α está associada a ovulação. Tal efeito poderia ser decorrente pela diminuição da concentração de progesterona devido a luteólise, ou por estimulação direta do pico de LH pela PGF2 α . Por esta razão, no experimento 2, permaneceram somente vacas que não apresentaram CL durante o protocolo e verificada a concentração de P4 no momento da IATF, que foi semelhante ($P = 0,98$) entre os grupos, excluindo efeito de luteólise.

Esperava-se aumento no diâmetro folicular das vacas 2PG, semelhante ao observado em bovinos de leite por Lopes Jr. (2017), em decorrência do possível aumento de LH. Após a dominância, o folículo passa a ser dependente de LH para continuar o seu crescimento (GINTHER et al., 1996) e o aumento da frequência de pulsos de LH durante a fase folicular do ciclo estral é um fator primário no desenvolvimento de folículos ovarianos dominantes até o momento de ovulação (KINDER et al., 1996).

Outro fator envolvido na capacidade ovulatória é o processo de remodelação da matriz extracelular da parede folicular, que ocorre após o pico de LH. As metaloproteinases promovem degradação da parede folicular, causando expansão das células do cumulus, quebra da membrana que separa as células da granulosa das células da teca e afinamento da membrana da parede folicular (TSAFRIRI et al., 1995; CURRY & SMITH., 2006; SAYASITH et al., 2013). Já foi observado que as prostaglandinas atuam na liberação dessas metaloproteinases no folículo pré ovulatório de bovinos (LI et al., 2006). Mais especificamente foi observado que PGF2 α

pode induzir aumento de um tipo (ADAMST1) de metaloproteinase, em células foliculares (WILLIS et al., 2017). Este efeito justificaria o aumento da taxa de sincronização dos folículos menores das vacas 2PG.

Em resumo a utilização de uma dose adicional de $\text{PGF2}\alpha$ em vacas Nelore aumentou a taxa de sincronização e prenhez de animais com $\text{ECC} < 5,0$ e foi possível confirmar que este efeito não está correlacionado com a luteólise. Mais estudos se fazem necessários para identificar de que forma a $\text{PGF2}\alpha$ pode aumentar a taxa de sincronização e prenhez, mesmo em vacas sem CL.

5. Conclusão

A utilização de uma segunda dose de $\text{PGF2}\alpha$ aumentou a taxa de sincronização e prenhez dos animais com $\text{ECC} < 5,0$. Os resultados deste estudo, confirmam que a $\text{PGF2}\alpha$ atua além da luteólise nos protocolos de sincronização da ovulação a base de E_2/P_4 .

Referências

- Bergfeld, E.G., Kojima, F.N., Wehrman, M.E., Cupp, A.S., Peters, K.E., Mariscal, V., Sanchez, T., Kittok, R.J., Garcia-Winder, M., Kinder, J.E., 1995. Frequency of luteinizing hormone pulses and circulating 17β -oestradiol concentration in cows is related to concentration of progesterone in circulation when the progesterone comes from either an endogenous or exogenous source. *Anim. Reprod. Sci.* 37, 257–265.
- Bonato, G.L., Cunha, M.O., Santos, R.M., Carneiro, L.C., 2012. Eficiência do Estroject® na identificação de estros em vacas leiteiras mestiças. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 49, 19–23.
- Brusveen, D.J., Souza, A.H., Wiltbank, M.C., 2009. Effects of additional prostaglandin $F2\alpha$ and estradiol- 17β during Ovsynch in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 92, 1412–1422.
- Carlson, J.C., Barcikowski, B., McCracken, J.A., 1973. Prostaglandin $F2\alpha$ and the release of LH in sheep. *J. Reprod. Fertil.* 34, 357–361.
- Cruz, L.C., DoValle, E.R., Kesler, D.J., 1997. Effect of prostaglandin $F(2\alpha)$ - and gonadotropin releasing hormone-induced luteinizing hormone releases on ovulation and corpus luteum function of beef cows. *Anim. Reprod. Sci.* 49, 135–142.
- Curry, T.E., Smith, M.F., 2006. Impact of extracellular matrix remodeling on ovulation and the folliculo-luteal transition. *Semin. Reprod. Med.* 24, 228-241.
- Gimenes, L.U., Sá Filho, M.F., Carvalho, N.A.T., Torres-Júnior, J.R.S., Souza, A.H., Madureira, E.H., Trinca, L.A., Sartorelli, E.S., Barros, C.M., Carvalho, J.B.P., Mapletoft, R.J., Baruselli, P.S., 2008. Follicle deviation and ovulatory capacity in *Bos indicus* heifers. *Theriogenology* 69, 852-858.
- Ginther, O.J., Wiltbank, M.C., Fricke, P.M., Gibbons, J.R., Kot, K., 1996. Selection of the Dominant follicle in Cattle. *Biol. Reprod.* 55, 1187–1194.
- Kinder, J.E., Kojima, F.N., Bergfeld, E.G.M., Wehrman, M.E., Fike, K.E., 1996. Progestin and Estrogen Regulation of Pulsatile LH Release and Development of Persistent Ovarian Follicles in Cattle. *J. Anim. Sci.* 74, 1424–1440.
- Kurz, S.G., Dyer, R.M., Hu, Y., Wright, M.D., Day, M.L., 1990. Regulation of Luteinizing Hormone Secretion in Prepubertal Heifers Fed an Energy-Deficient Diet. *Biol. Reprod.* 43, 450–456.
- Lauderdale, J.W., 1975. The use of prostaglandins in cattle. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.* 15, 419–425.
- Leonardi, C.E.P., Pfeifer, L.F.M., Rubin, M.I.B., Singh, J., Mapletoft, R.J., Pessoa, G.A., Bairy, A.M., Silva, C.A.M., 2012. Prostaglandin $F2\alpha$ promotes ovulation in prepubertal heifers. *Theriogenology* 78, 1578–1582.
- Li, Q., Jimenez-Krassel, F., Kobayashi, Y., Ireland, J.J., Smith, G.W., 2006. Effect of intrafollicular indomethacin injection on gonadotropin surge-induced expression of select

extracellular matrix degrading enzymes and their inhibitors in bovine preovulatory follicle. *Reproduction* 131, 533-543.

Lopes Jr, F.R. Efeito do uso de uma dose adicional de prostaglandina F2 α durante o protocolo de IATF à base de estradiol e progesterona na fertilidade de vacas holandesas em lactação em anestro. 88 f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2017.

Meneghetti, M., Filho, O.G.S., Peres, R.F.G., Lamb, G.C., Vasconcelos, J.L.M., 2009. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows I: Basis for development of protocols. *Theriogenology* 72, 179–189.

Pereira, M.H.C., Wiltbank, M.C., Barbosa, L.F.S.P., Costa, W.M., Carvalho, M.A.P., Vasconcelos, J.L.M., 2015. Effect of adding a gonadotropin-releasing-hormone treatment at the beginning and a second prostaglandin F2 α treatment at the end of an estradiol-based protocol for timed artificial insemination in lactating dairy cows during cool or hot seasons of the year. *J. Dairy Sci.* 98, 947–959.

Perry, R.C., Corah, L.R., Cochran, R.C., Beal, W.E., Stevenson, J.S., Minton, J.E., Simms, D.D., Brethour, J.R., 1991. Influence of dietary energy on follicular development, serum gonadotropins, and first postpartum ovulation in suckled beef cows. *J. Anim. Sci.* 69, 3762–3773.

Pfeifer, L.F.M., Leonardi, C.E.P., Castro, N.A., Viana, J.H.M., Siqueira, L.G.B., Castilho, E.M., Singh, J., Krusser, R.H., Rubin, M.I.B., 2014. The use of PGF2 α as ovulatory stimulus for timed artificial insemination in cattle. *Theriogenology* 81, 689–695.

Pfeifer, L.F.M., Rodrigues, W.B., Silva, K.C., Anache, N.A., Castro, N.Á., Castilho, E.M., Nogueira, E., 2018. Theriogenology Different protocols using PGF2 α as ovulation inducer in Nelore cows subjected to estradiol-progesterone timed AI based protocols. *Theriogenology* 120, 56–60.

Pfeifer, L.F.M., Siqueira, L.G., Mapletoft, R.J., Kastelic, L.P., Adams, G.P., Colazo, M.G., Singh, J., 2009. Effects of exogenous progesterone and cloprostenol on ovarian follicular development and first ovulation in prepubertal heifers. *Theriogenology* 72, 1054–1064.

Pohler, K.G., Peres, R.F.G., Green, J.A., Graff, H., Martins, T., Vasconcelos, J.L.M., Smith, M.F., 2016. Use of bovine pregnancy-associated glycoproteins to predict late embryonic mortality in postpartum Nelore beef cows. *Theriogenology* 85, 1652–1659.

Pohler, K.G., Pereira, M.H.C., Lopes, F.R., Lawrence, J.C., Keisler, D.H., Smith, M.F., Vasconcelos, J.L.M., Green, J.A. 2016. Circulating concentrations of bovine pregnancy associated glycoproteins and late embryonic mortality in lactating dairy herds. *J. Dairy Sci.* 99, 1584–1594.

Randel, R.D., Lammoglia, M.A., Lewis, A.W., Neuendorff, D.A., Guthrie, M.J., 1996. Exogenous PGF2 α enhanced GnRH-induced LH release in postpartum cows. *Theriogenology* 45, 643–654.

- Roche, J.F., 1974. Synchronization of oestrus and fertility following artificial insemination in heifers given Prostaglandin F2 α . *J Reprod Fertil* 37, 135–138.
- Santos, J.E.P., Narciso, C.D., Rivera, F., Thatcher, W.W., Chebel, R.C., 2010. Effect of reducing the period of follicle dominance in a timed artificial insemination protocol on reproduction of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 93, 2976–2988.
- Sartori, R., Fricke, P.M., Ferreira, J.C.P., Ginther, O.J., Wiltbank, M.C., 2001. Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. *Biol. Reprod.* 65, 1403-1409.
- Sauls, J.A., Voelz, B.E., Mendonça, L.G.D., Stevenson, J.S., 2018. Additional small dose of prostaglandin F2a at timed artificial insemination failed to improve pregnancy risk of lactating dairy cows. *Theriogenology* 110, 27–33.
- Sayasith, K., Lussier, J., Sirois, J., 2013. Molecular characterization and transcriptional regulation of a desintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motif 1 (ADAMTS1) in bovine preovulatory follicles. *Endocrinology* 154, 2857-2869.
- Schams, D., Berisha, B., 2004. Regulation of corpus luteum function in cattle - na Overview. *Reprod. Dom. Anim.* 39, 241-251.
- Schillo, K.K., 1992. Effects of dietary energy on control of luteinizing hormone secretion in cattle and sheep. *J. Anim. Sci.* 70, 1271–1282.
- Short, R.E., Bellows, R.A., Staigmiller, R.B., Berardinelli, J.G., Custer, E.E., 1990. Physiological mechanisms controlling anestrus and infertility in postpartum beef cattle. *J. Anim. Sci.* 68, 799–816.
- Simões, R.A.L., Satrapa, R.A., Rosa, F.S., Piagentini, M., Castilho, A.C.S., Ereno, R.L., Trinca, L.A., Nogueira, M.F.G., Buratini Jr, J., Barros, C.M., 2012. Ovulation rate and its relationship with follicle diameter and gene expression of the LH receptor (LHR) in Nelore cows. *Theriogenology* 77, 139-147.
- Tsafiriri, A., 1995. Ovulation as a tissue remodelling process. Proteolysis and cumulus expansion. *Adv. Exp. Med. Biol.* 377, 121-140.
- Wagner, J.J., Lusby, K.S., Oltjen, J.W., Rakestraw, J., Wettemann, R.P., Walters, L.E., 1988. Carcass composition in mature hereford cows: Estimation and effect on daily metabolizable energy requirement during winter. *J. Anim. Sci.* 66, 603–612.
- Warberg, J., Eskay, R.L., Porter, J.C., 1976. Prostaglandin-Induced Release of Anterior Pituitary Hormones: Structure-Activity Relationships. *Endocrinology* 98, 1135–1141.
- Weems, C.W., Weems, Y.S., Randel, R.D., 2006. Prostaglandins and reproduction in female farm animals. *Vet. J.* 171, 206–228.
- Wettemann, R.P., Bossis, I., 2000. Energy Intake Regulates Ovarian Function in Beef Cattle. *J. Anim. Sci.* 77, 1–10.
- Willis, E.L., Bridges, P.J., Fortune, J.E., 2017. Progesterone receptor and prostaglandins

mediate luteinizing hormone-induced changes in messenger RNAs for ADAMTS proteases in theca cells of bovine periovulatory follicles. *Mol. Reprod. Dev.* 84, 55-66.

Yavas, Y., Walton, J.S., 2000. Postpartum acyclicity in suckled beef cows: A review. *Theriogenology* 54, 25–55.

Yelich, J. V., Wettemann, R.P., Marston, T.T., Spicer, L.J., 1996. Luteinizing hormone, growth hormone, insulin-like growth factor-I, insulin and metabolites before puberty in heifers fed to gain at two rates. *Domest. Anim. Endocrinol.* 13, 325–338.

IMPLICAÇÕES

O presente estudo trará contribuições para os pecuaristas e pesquisadores da área de reprodução animal, já que demonstrou que a utilização de duas doses de $\text{PGF}2\alpha$, em protocolos de IATF a base de estradiol e progesterona, aumenta a taxa de sincronização e prenhez dos animais com menor ECC ($< 5,0$), mesmo nas vacas que não apresentaram um CL no momento da primeira $\text{PGF}2\alpha$, sugerindo que a $\text{PGF}2\alpha$ pode estar atuando por outros mecanismos, além da luteólise.