UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Veterinária
Programa de Pós-Graduação em Veterinária

Tese

Progesterona injetável de longa ação na indução da ciclicidade e sincronização do ciclo estral em ovelhas

Camila Amaral D'Avila

Pelotas, 2023

Camila Amaral D'Avila

Progesterona injetável de longa ação na indução da ciclicidade e sincronização do ciclo estral em ovelhas

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Ciências (área de concentração: Sanidade Animal).

Orientador: Bernardo Garziera Gasperin

Co-orientador: Arnaldo Diniz Vieira

Pelotas, 2023

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

D111p D'Avila, Camila Amaral

Progesterona injetável de longa ação na indução da ciclicidade e sincronização do ciclo estral em ovelhas / Camila Amaral D'Avila ; Bernardo Garziera Gasperin, orientador. — Pelotas, 2023.

67 f. : il.

Tese (Doutorado) — Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, 2023.

1. Ovelhas. 2. Ciclicidade. 3. Protocolo hormonal. 4. Estro. 5. Progesterona injetável. I. Gasperin, Bernardo Garziera, orient. II. Título.

CDD : 636.30824

Elaborada por Ubirajara Buddin Cruz CRB: 10/901

Camila Amaral D'Avila

Progesterona injetável de longa ação na indução da ciclicidade e sincronização do ciclo estral em ovelhas

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutora em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 16/02/2023

Banca examinadora:

Prof. Dr. Bernardo Garziera Gasperin (Orientador)
Doutor em em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Santa Maria

Prof. Dr. Sérgio Farias Vargas Junior
Doutor em Veterinária pela Universidade Federal de Pelotas

Profª. Drª. Juliana Germano Ferst
Doutora em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Santa Maria

Prof. Dr. Rafael Gianella Mondadori
Doutor em Ciências Biológicas pela Universidade de Brasilia

Aos meus pais que dentre tantos obstáculos sempre me incentivaram e me apoiaram.

Esta é por e para vocês!

Agradecimentos

Agradeço aos meus pais Sandra e Cimarino que nesse último ano de tantas mudanças, idas e vindas, sempre me apoiaram e me ajudaram.

A minha colega de pós-graduação Fabiane, por toda a ajuda de sempre.

Aos professores do Grupo Fibra, especialmente Arnaldo, Bernardo e Monda, obrigada pela oportunidade, conhecimento e ajuda compartilhada.

À FAPERGS e CNPq pelo financiamento dos experimentos, e à CAPES, pela bolsa concedida.

Muito obrigada!

‘’A grandeza de uma nação pode ser julgada pelo modo que seus animais são tratados’’
Mahatma Gandhi

Resumo

D'AVILA, Camila Amaral. **Progesterona de longa ação na indução da ciclicidade e sincronização do ciclo estral em ovelhas**. 2023. 66f. Tese (Doutorado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2023.

O uso de biotécnicas reprodutivas e protocolos hormonais permitem a manipulação do ciclo estral em ovinos, o que é interessante uma vez que esta espécie é poliestrica estacional. Nesse sentido, são amplamente utilizados dispositivos intravaginais (DIV) de progesterona (P4), ou seus análogos, para indução da ciclidade e sincronização do ciclo estral. A busca por alternativas mais aplicáveis, com menor custo e menor impacto ambiental torna-se necessária. Em ovinos existem poucos estudos sobre o uso de progesterona injetável (P4i), especialmente sobre a P4i de longa ação (LA). Desse modo, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da P4i LA na indução de estro e ovulação em ovelhas fora da estação reprodutiva. No experimento 1, para avaliar a concentração sérica de P4i, 39 ovelhas foram alocadas em três grupos: controle (n = 14); 37,5 mg de P4i LA im (P4i 37,5, n = 13) e 75 mg de P4i LA im (P4i 75, n = 12). A dosagem de P4 em um subconjunto de animais (5 por grupo) mostrou o nível mais alto de P4 em 48 h e redução para níveis basais 10 dias após a injeção, quando todas as fêmeas receberam um DIV contendo 60 mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP) que permaneceu por 11 dias. Na retirada, os animais receberam 400 UI de gonadotrofina corionca equina (eCG) intramuscular (im), e os carneiros permaneceram por três dias com as ovelhas. Nos dias 6 e 12 após o estro, amostras de sangue foram coletadas de um subgrupo (n = 5 por grupo) de ovelhas. O grupo P4i 75 apresentou menor concentração sérica de P4 luteal (35 dias após o acasalamento) quando comparado aos outros grupos. No experimento 2, para testar a substituição do DIV por P4i, 36 ovelhas foram distribuidas em dois tratamentos: controle (n = 10), DIV por nove dias e 300 UI de eCG na retirada; e P4i 75 (n = 26) 75 mg de P4i im e, após 9 (n = 13) ou 10 (n = 13) dias, os animais receberam 300 UI de eCG. As taxas de manifestação de estro e concepção foram menores nos grupos tratados com P4i. Onze dias após o estro, um subconjunto de animais (5 do controle e 10 do P4i 75) apresentaram concentrações de P4 acima de 1 ng/mL, indicando ovulação. Coletivamente conclui-se que a aplicação de 75 mg de P4i LA possibilitou concentrações séricas acima de 1 ng/mL por pelo menos sete dias e afetou negativamente a função luteal subsequente e a taxa de concepção após um protocolo de indução de ciclicidade. O tratamento com 75 mg de P4i associado a eCG é adequado para induzir a ovulação, porém inibe a manifestação do estro. Sendo assim, o uso de P4i não é recomendável até que novos estudos sejam realizados para avaliar novas doses e momentos de aplicação.

Palavras-chave: ovelhas; ciclicidade; protocolo hormonal; estro; progesterona injetável

Abstract

D'AVILA, Camila Amaral. **Long-acting progesterone for inducing cyclicity and synchronization of the estrous cycle in ewes**. 2023. 66f. Thesis (Doctor degree in Sciences) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2023.

The use of reproductive biotechniques and hormonal protocols allow the manipulation of the estrous cycle in sheep, which is interesting since this species is seasonally polyestrous. In this sense, progesterone (P4) intravaginal devices (IVD) are widely used to induce cyclicity and synchronization of the estrous cycle. The search for alternatives, with lower cost and less environmental impact is necessary. In sheep there are few studies on the use of injectable progesterone (iP4), specially on long acting (LA) iP4. Thus, the aim of this study was to evaluate the effects of LA iP4 on estrus induction in ewes outside the breeding season. In experiment 1, to evaluate the serum concentration of P4, 39 ewes were allocated into three groups: control (n = 14); 37.5 mg iP4 im (iP4 37.5, n = 13) and 75 mg iP4 im (iP4 75, n = 12). P4 dosing in a subset of animals (5 per group) showed the highest P4 level at 48 h and reduction to baseline levels 10 days after injection, when all females received an IVD containing 60 mg of medroxyprogesterone acetate (MPA) which remained for 11 days. At withdrawal, the animals received 400 IU of equine chorionic gonadotropin (eCG) intramuscularly (im), and the rams remained with the ewes for three days. On days 6 and 12 after estrus, blood samples were collected from a subset (n = 5 per group) of ewes. The iP4 75 group had lower luteal P4 concentration and a lower conception rate (35 days after mating) when compared to the other groups. In experiment 2, to test the replacement of IVD by iP4, 36 ewes were distributed into two treatments: control (n = 10), IVD for nine days and 300 IU of eCG at removal; and iP4 75 (n = 26), in which the animals received 75 mg of iP4 im and, after 9 (n = 13) or 10 (n = 13) days, received 300 IU of eCG. Estrus onset and conception rates were lower in iP4-treated groups. Eleven days after estrus, a subset of animals (5 from the control and 10 from the iP4 75) had P4 concentrations above 1 ng/mL, indicating ovulation. Collectively, it is concluded that the application of 75 mg of long-acting iP4 maintained levels above 1 ng/mL for at least 7 days and negatively affected luteal P4 concentration and conception rate after a subsequent cyclicity induction protocol. Treatment with 75 mg of iP4 associated with eCG is adequate to induce ovulation, but it inhibits the manifestation of estrus. Therefore, the use of iP4 is not recommended until further studies are carried out to evaluate new doses and times of administration.

Keywords: sheep; cyclicity; hormonal protocol; estrus; injectable progesterone

Lista de Figuras

Artigo 2

Figure 1 Experimental design of experiments 1 (A) and 2 (B). D, day; MPA, medroxyprogesterone acetate; eCG, equine chorionic gonadotrophin; P4, progesterone exposure; IVD, intravaginal device. In experiment 1, serum concentrations of P4 were determined on D0, D2, D4, D7, D10, and D15 of the hormonal protocol in a subgroup of animals treated with iP4 (n = 5/group) and on D0 and D10 in animals from control group (n = 5). Afterwards, in the females that displayed estrus between D23 and D25, the concentration of P4 was determined on days 6 and 12 (D+6 and D+12) of the estrous cycle, after estrus confirmation (Day 0 of the cycle; D0 C)…….. 50

Figure 2 Serum concentration of progesterone (P4; ng/mL) on days 0, 2, 4, 7, and 10 after treatments on the following groups (n = 5/group): control, that did not receive injectable progesterone (iP4); group iP4 37.5, that received an intramuscular injection of 37.5 mg of long acting iP4 (Sincrogest®, Ourofino, Brazil); and group iP4 75, that received an IM injection of 75 mg of iP4…… 51

Figure 3 Concentration of serum progesterone (ng/mL) on days 6 (D+6) and 12 (D+12) of the estrous cycle (estrus = day 0 of the cycle). The treatments administered to control, injectable progesterone (iP4) 37.5, and iP4 75 were conducted 10 days before IVD insertion, that was withdrawn 11 days later, simultaneously to the administration of 400 IU of eCG. *The iP4 75 group had lower concentration than control (P<0.001) and iP4 37.5 (P<0.05) groups…… 52

Figure 4 Concentration of endogenous serum progesterone (ng/mL; n=5/group) eleven days after estrus onset in control group. Ewes were randomly allocated in: control group, that received IVD (60 mg MPA) for 9 days and, at the moment of IVD withdrawal, 300 IU if eCG; and iP4 75, that received an IM injection of 75 mg of iP4 and, on D9, the ewes were allocated into two subgroups: iP4 75 D9 and iP4 75 D10, which received an IM injection of 300 IU of eCG on D9 or D10, respectively…….. 53

Lista de Tabelas

Artigo 2

Table 1 Body weight, estrus, pregnancy, and conception rates of ewes treated or non treated with iP4 prior to cyclicity induction protocol during seasonal anestrus (Exp. 1). The proportions in the different groups were compared through the chi-square test…… 54

Table 2 Body weight, estrus, pregnancy, and conception rates of ewes submitted to cyclicity induction protocol during seasonal anestrus with intravaginal device impregnated with 60 mg of MPA or 75 mg of iP4 (Exp. 2). All the ewes received 300IU eCG on D9 (eight days after IVD insertion or iP4 administration) or D10 (10 days after iP4 administration). Considering that there was no significant difference between groups that received iP4 (iP4 75 D9 and iP4 75 D10), results were combined. The proportions in the different groups were compared through the chi-square test…… 55

Lista de Abreviaturas e Siglas

CIDR	*Controlled internal drug release*
CL	Corpo lúteo
CYP11A1	*Cholesterol side-chain cleavage enzyme*
DIB	Dispositivo intravaginal bovino
eCG	Gonadotrofina coriônica equina
E2	Estradiol
ESR1	Receptor de estrógeno
FGA	Acetato de fluorogestona
FSH	Hormônio folículo estimulante
GnRH	Hormônio liberador de gonadotrofinas
HSD3B	*3β-Hydroxysteroid dehydrogenase*
IA	Inseminação artificial
IATF	Inseminação artificial em tempo fixo
IBGE	Instituto brasileiro de geografia e estatística
IM	Intramuscular
LH	Hormônio luteinizante
MGA	Acetato de melengestrol
MAP	Acetato de medroxiprogesterona
OXTR	Receptor de ocitocina
PGF2α	Prostaglandina
PRID	*Progesterone releasing intravaginal device*
P4	Progesterona
P4i	Progesterona injetável
StAR	*Steroidogenic acute regulatory protein*
UI	Unidade internacional

Lista de Símbolos

<	Menor
>	Maior
©	Copyright
Cm	Centimetro
mL	Mililitro
Mg	Miligrama
Ng	Nanograma

Sumário

1 Introdução..... 15
2 Objetivo..... 17
2.1 Objetivo geral..... 17
2.2 Objetivo especifico..... 17
3 Hipótese..... 18
4 Artigos..... 19
4.1 Artigo 1..... 19
4.2 Artigo 2..... 34
5 Considerações Finais..... 56
Referências..... 57
Anexo..... 65

1 Introdução

A criação de ovinos é uma das atividades pecuárias mais antigas da história, pois foi uma das primeiras espécies que sofreram domesticação pelo homem devido a sua dupla aptidão, como produção de alimentos e também para proteção com o uso da lã. A ovinocultura é uma atividade difundida por todo o mundo, além disso é um dos setores da pecuária que apresenta potencial de crescimento. Aliado a isso, observa-se ascensão na produção e comercialização com foco na produção de carne, favorecida pelo aumento do poder aquisitivo e do consumo pela população urbana (ROCHA 2018; SIQUEIRA FILHO, 2012). Sendo assim, no ano de 2020, o rebanho ovino no Brasil apresentou um crescimento de 3,3% em relação ao efetivo registrado em 2019, totalizando 20.628.699 cabeças. Na região Sul do Brasil o rebanho ovino foi de 3.864.369 cabeças, ficando atrás somente da região Nordeste (IBGE, 2021).

Mesmo com o crescimento do rebanho a produção ainda não é suficiente para suprir a demanda. Os ovinos são animais poliéstricos estacionais fotoperíodo negativo, ou seja, a estação reprodutiva ocorre em períodos com menor luminosidade (HAFEZ & HAFEZ, 2004; FONSECA, 2005). Além disso, mercados tradicionais como o Uruguai (VIANA, 2008) acabam enfraquecendo o sistema de produção brasileiro devido a importação de carne ovina, somando-se ainda a oferta sazonal de cordeiros (SOUZA et al., 2016).

Nesse sentido, considerando a fisiologia reprodutiva e pensando em alternativas com objetivo de aumentar a produtividade, o uso de biotecnologias da reprodução possibilita otimizar a produção, uma vez que se torna possível a manipulação do ciclo estral, mesmo fora da estação reprodutiva. Além disso, a concentração de manejos reprodutivos, controle do momento do estro e ovulação, redução de custos com mão de obra e também a possibilidade de indução da ciclicidade, são vantagens importantes. Outro fator importante é que a utilização de biotécnicas como a inseminação artificial (IA) e inseminação artificial em tempo fixo (IATF) possibilita acelerar o melhoramento genético do rebanho (FONSECA, 2005). Atualmente existem métodos capazes de manipular o ciclo estral, como métodos naturais e farmacológicos. Dentre os métodos naturais podemos citar: programas de

manipulação da luz que visam a alteração do fotoperíodo, submetendo as fêmeas a 16 h de luz e 8 h de escuro durante 60 dias; a suplementação energética alimentar denominada *flushing*, objetivando incremento da taxa ovulatória, e também o efeito macho, que consiste em afastar as fêmeas dos machos por um período de 30 a 60 dias (MARTIN et al., 2004; FONSECA, 2005; CONTRERAS-SOLÍS et al., 2009) e, após, reintroduzir os machos no rebanho. Estas alternativas possuem um menor custo, porém demonstram uma falta de precisão no controle do estro e ovulação e não são eficientes isoladamente.

Outra possibilidade de manipulação do ciclo é a utilização de hormonioterapia, podendo-se utilizar melatonina, progestágenos, prostaglandinas e gonadotrofinas. Os implantes intravaginais de progestágenos são amplamente utilizados, associados ou não a gonadotrofinas e prostaglandinas. Tanto protocolos curtos como longos são eficientes (MENCHACA & RUBIANES, 2004; TAKADA, 2004). Os mais utilizados são dispositivos inseridos via vaginal, porém estes podem causar vaginites e alterações na flora vaginal, mais associadas ao uso de esponjas, e que também podem afetar negativamente a atração sexual de ovelhas em estro, porém este efeito foi mitigado quando associado ao uso de antibiótico local (GATTI & UNGERFELD, 2012). Além disso, a adoção de sistemas de produção mais sustentáveis na esfera ambiental torna-se necessário demonstrando a importância da redução de resíduos gerados (MACIEL et al., 2011).

Nesse sentido, formulações comerciais de progesterona injetável (P4i) foram desenvolvidas como alternativas para suplementação desse hormônio. A aplicação de P4i traz como vantagens o manejo, necessitando menos mão de obra, além do menor custo em comparação ao uso de implantes intravaginais. Grande parte dos estudos disponíveis são na espécie bovina, em que a P4i vem sendo aplicada em diferentes momentos em fêmeas. Porém, com base nos resultados às vezes contraditórios, disponíveis na literatura nesta espécie, e no pouco conhecimento sobre as concentrações e metabolização dos produtos disponíveis comercialmente, salienta-se a necessidade de ampliar os estudos em outras espécies como ovinos.

2 Objetivo

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a viabilidade da utilização de progesterona injetável de longa ação comercial em ovinos.

2.2 Objetivos Específicos

- Estabelecer uma curva dose-resposta de progesterona injetável de longa ação em ovelhas fora da estação reprodutiva;
- Determinar o efeito do tratamento com progesterona injetável de longa ação, previamente a um programa de indução de ciclicidade em ovelhas;
- Estabelecer um protocolo de indução de ciclicidade em ovelhas utilizando apenas produtos injetáveis.

3 Hipótese

O tipo de progestágeno utilizado na sincronização e indução do estro não influencia na resposta ovariana em ovelhas fora da estação reprodutiva, sendo possível a utilização de progesterona injetável de longa ação obtendo-se respostas satisfatórias quando comparado a protocolos convencionais com dispositivos intravaginais.

4 Artigos

4.1 Artigo 1

Uso de progestágenos em ruminantes: uma revisão

Camila Amaral D'Avila; Arnaldo Diniz Vieira; Rafael Gianella Mondadori; Bernardo Garziera Gasperin

D'Avila, C. A.; Vieira, A. D.; Mondadori, R. G.; Gasperin, B.G.

Será submetido a Revista Colégio Brasileiro de Reprodução Animal

Uso de progestágenos em ruminantes: uma revisão

Use of progestagens in ruminants: a review

C.A. D'Avila[1], A.D. Veira[1], R.G. Mondadori[1], B.G. Gasperin[1]

*Correspondência: Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Campus Universitário, 96010-900, Capão do Leão, RS, Brasil. E-mail: bggasperin@gmail.com

Resumo

Diversos hormônios podem ser utilizados visando a manipulação do ciclo estral em ruminantes. Dentre eles a progesterona (P4) e outros progestágenos atuam a nível hipotalâmico permitindo o controle da ovulação. Dispositivos intravaginais (DIV) de P4 são amplamente utilizados com resultados satisfatórios, seja induzindo ciclidade ou sincronização da ovulação. Recentemente, formulações comerciais de progesterona injetável (P4i) de longa ação têm possibilitado a facilidade de aplicação e evitado o descarte de DIVs no meio ambiente. A presente revisão tem por objetivo abordar os principais resultados com progestágenos no controle do ciclo estal em ruminantes. A elucidação do uso de P4i em ruminantes possibilitará protocolos mais acessíveis em relação ao custo e mão de obra.

Palavras-chave: progesterona, progestágenos, injetável.

Abstract

Several hormones can be used to manipulate the estrous cycle in ruminants. Among them, progesterone (P4) and other progestogens act at the hypothalamic level, allowing the control of ovulation. Intravaginal devices (IVD) containing P4 are widely used with satisfactory results, whether inducing cyclicity or synchronization of ovulation. Recently, commercial formulations of long-acting injectable progesterone (iP4) have been allowing ease application and avoiding disposal of IVDs in the environment. This review aims to address the main results with progestogens in the control of the state cycle in ruminants. Elucidating the use of iP4 in ruminants will enable more accessible protocols in terms of cost and labor.

Keywords: progesterone, progestins, injectable.

Introdução:

O manejo reprodutivo é um fator imprescindível dentro dos sistemas produtivos, pois afeta diretamente a sua rentabilidade e a sua eficiência. O uso de protocolos hormonais permite manipulação do ciclo estral, otimizando a oferta de cordeiros e terneiros. A progesterona (P4) e outros progestágenos permitem a regulação do ciclo estral e da ovulação (HANSEL & CONVEY, 1983). Este hormônio ocasiona diminuição da frequência dos pulsos do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) através da retroalimentação negativa no hipotálamo, causando uma redução na liberação de hormônio luteinizante (LH), consequentemente inibindo a ovulação (GONÇALVES et al., 2021). A principal forma de aplicação em ruminantes é através de dispositivos intravaginais, sendo seu principal uso para indução da ciclidade e sincronização da ovulação (FERNANDES, et al., 2019; PUGLIESI et al., 2019; CARVALHO et al., 2023). Existem formulações comerciais de progesterona injetável

(P4i) as quais facilitam o manejo pois necessitam de menos mão de obra. Desse modo, a presente revisão tem por objetivo abordar o uso de progestagenos em ruminantes.

Ciclo estral em ruminantes

Os ovinos são animais poliéstricos sazonais e fotoperíodo negativo, ou seja, o estímulo para manifestação das características reprodutivas é decorrente da diminuição da luminosidade (HAFEZ & HAFEZ, 2004). Nessa espécie, a luminosidade é captada através de receptores nas retinas, transmitida pelo sistema nervoso para o hipotálamo e posteriormente para a glândula pineal. A partir daí o sinal nervoso é convertido em sinal hormonal, ou seja, produção de melatonina. Em períodos de baixa luminosidade, observa-se um aumento da secreção de melatonina, o que sensibiliza o eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal ao estímulo positivo do estrogênio, aumentando a amplitude dos pulsos de hormônio luteinizante (LH) (GONÇALVES et al., 2021). As variações de luminosidade controlam então a endocrinologia de ovinos, sendo o efeito proporcional à latitude em que os animais se encontram. Em animais que estão localizados em uma região próxima da linha do Equador, com menor variação nas horas de luz e escuridão ao longo do ano, a estacionalidade reprodutiva é menos evidente (FONSECA, 2005). As fêmeas bovinas não sofrem influencia da luminosidade, sendo consideradas poliéstricas anuais, ou seja, ciclam o ano todo (GONÇALVES et al., 2021).

As fêmeas ovinas atingem puberdade quando alcançam 50 a 70% do peso adulto, entre 6 e 9 meses de idade (FONSECA, 2005). As fêmeas bovinas, *Bos taurus indicus* são consideradas tardias sexualmente, pois atingem puberdade por volta dos 16 a 40 meses, enquanto fêmeas *Bos taurus taurus* atingem a puberdade aproximadamente com cerca de 10 a 15 meses (HAFEZ & HAFEZ, 2004). No que se refere a fisiologia ovariana de ruminantes, o desenvolvimento folicular se dá em ondas de crescimento, a cada ciclo estral (EVANS, 2001). O ciclo estral em ovinos dura aproximadamente 17 dias, sendo quatro dias de fase folicular e treze dias de fase lútea (RUBIANES et al., 2003). O estro dura cerca de 24 a 48 h, sendo a média de 30 h, e a ovulação ocorre próxima ao fim do estro, aproximadamente 24 a 27 h após o início do estro. Em ovinos é comum ocorrer múltiplas ovulações, gerando até nascimento de trigêmeos, dependente de fatores como raça, idade, peso e condição corporal (HAFEZ & HAFEZ, 2004). A cada ciclo, no mínimo um folículo com tamanho $\geq$ 5mm será ovulado (MENCHACA & RUBIANES, 2004). Em fêmeas bovinas, o ciclo estral dura aproximandente 21 dias e o estro dura cerca de 12 a 18h. Esta espécie é mono-ovulatória (HAFEZ & HAFEZ, 2004).

O ciclo estral é controlado pela liberação de hormônios, que estimulam e/ou inibem a produção e liberação de outros. O hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) é secretado pelo hipotálamo e estimula a síntese de outros dois hormônios, o hormônio folículo estimulante (FSH) e o LH, ambos secretados pela adenohipófise ou também chamada de hipófise anterior. O FSH atua sobre os ovários através da estimulação do desenvolvimento folicular, já o LH promove luteinização e ovulação do folículo pré-ovulatório. A produção de FSH é regulada pela ação do estradiol (E2) e inibina, hormônios que atuam em nível hipofisário (BAIRD et al., 1991). Após a ovulação e formação do corpo lúteo (CL) ocorre aumento da secreção de progesterona (P4). Na ausência de gestação, ocorre a luteólise, ou regressão do corpo lúteo, decorrente da ausência de sinalizaçõ do concepto para o reconhecimento materno da gestação. Nesse caso, em um ambiente com ausência de P4, o aumento da concentração plasmática de E2 tem efeito direto sobre o aumento da frequência de GnRH e LH. O pico pré-ovulatório de LH consiste em um aumento da frequência de pulsos de liberação de LH (RAWLINGS & COOK, 1993) e ovulação. Porém, quando

há níveis altos de P4 associados à presença de E2, ocorre inibição da liberação de GnRH, bloqueando todo o eixo hipotalâmico-hipofisiario-gonadal, suprimindo-se a secreção de FSH e LH.

Durante a gestação, o concepto ovino ou bovino sinaliza sua apresença através do interferon-tau, produzido pelas células trofoblasticas inibindo a expressão dos receptores de estrógeno (ESR1) e de ocitocina (OXTR) no endométrio, evitando assim, a liberação de pulsos luteolíticos de PGF2α (TREVISOL et al., 2003), mantendo a funcionalidade do corpo lúteo. Portanto, ressalta-se as relevantes funções da progesterona tanto no controle do ciclo estral, como no estabelecimento e manutenção da gestação em ruminantes.

Síntese e metabolização da progesterona em ruminantes

A progesterona é um hormônio esteroide derivado do colesterol, sendo secretado pelo CL, mas também pelas adrenais e placenta (HAFEZ & HAFEZ, 2004). A principal fonte de P4 endógena durante o ciclo estral é o CL, sendo sintetizada pelas células luteais grandes e pequenas. As células pequenas são derivadas das células da teca e contém receptores de LH, respondendo ao estímulo deste hormônio com aumento da secreção de P4. As células luteais grandes originam-se da granulosa e tem uma resposta menor quando comparadas as células pequenas frente ao LH. As células luteais grandes tem maior produção de P4 que as células pequenas (NISWENDER, 2000). A primeira proteína envolvida na síntese é a enzima de clivagem da cadeia lateral do colesterol (*Cholesterol side-chain cleavage enzyme* - CYP11A1), localizada nas membranas mitocondriais, responsável pela conversão do colesterol em pregnenolona. Após, sob ação da enzima 3B-hidroxiesteroide desidrogenase (*3β-Hydroxysteroid dehydrogenase* - HSD3B), localizada no reticulo endoplasmático, a pregnenolona é convertida em P4. Porém, para o colesterol mover-se através das membranas mitocondriais é necessário a ação da proteína reguladora aguda esteroidogênica (*Steroidogenic acute regulatory protein* - StAR), pois devido a diferenças na constituição da bicamada lipídica da parede mitocondrial e outras membranas celulares, e à própria constituição do colesterol, este transporte torna-se difícil (NASCIMENTO et al., 2013).

O controle da função luteal e a manipulação da concentração de P4 permitem a regulação do ciclo estral e da ovulação (HANSEL & CONVEY, 1983). Este hormônio ocasiona diminuição da frequência dos pulsos de GnRH através da retroalimentação negativa no hipotálamo, causando uma redução na liberação de LH, consequentemente inibindo a ovulação, porém, quando em baixas concentrações, possibilita o crescimento folicular final e ovulação (BARROS & DI STACI, 2012). Outra função da P4 endógena é preparar o endométrio para sustentar uma provável gestação, permitindo o desenvolvimento do concepto (BINELLI et al., 2001). Ainda, está envolvida no crescimento do embrião, inibindo a expressão do estro e bloqueando a ovulação do folículo dominante (CARTER et al., 2008; QUEZADA-CASASOLA et al., 2014).

O que determina a concentração plasmática de P4 é o balanço entre sua produção endógena pelo CL e o catabolismo (WILTBLANK et al., 2012). A metabolização da P4 é realizada no fígado, e trabalhos demonstraram uma relação entre nutrição e concentração de P4 (RODRIGUES et al., 2013; ALVES et al., 2009). Em ovelhas a suplementação alimentar ocasionou aumento das concentrações plasmáticas de P4 (SASA et al., 2011), assim como também em vacas leiteiras (WILTBANK et al., 2006). A maior ingestão de matéria seca em vacas causou aumento do fluxo sanguíneo hepático, o que contribui na metabolização dos hormônios esteroides, reduzindo as concentrações séricas de P4. A concentração de P4 também parece ser regulada de acordo com a frequência em que os alimentos são ingeridos. Em um estudo avaliando diferentes horários e intervalos de fornecimento da dieta,

foi demonstrado que a alimentação de forma aguda reduziu a circulação de P4, enquanto o fornecimento em várias refeições menores eliminou o efeito da alimentação na circulação de P4 (VASCONCELOS et al., 2009).

A fase luteal é a mais longa do ciclo estral, em bovinos tem duração entre 10 a 14 dias. O CL continua seu desenvolvimento e atinge o máximo de seu crescimento e produção de P4 aproximadamente no dia 10 do ciclo (BINELLI, 2000; SENGER, 2003). As concentrações séricas de P4 dos bovinos apresentam variações durante o ciclo estral normal, com concentrações abaixo de 1 ng/mL no estro e elevação até o décimo dia do ciclo estral, quando atingem valores máximos de 4,5 ng/mL em animais zebuínos (ADEYEMO & HEATH, 1980) e 16 ng/mL em vacas da raça holandesa (BADINGA et al., 1994). Em ovinos a fase luteal corresponde a 13 dias (RUBIANES et al., 2003). Borregas de raça deslanada Santa Inês apresentaram valores de P4 que variaram de 0,1 a 7,4 ng/mL ao longo do ciclo estral. Já as raças lanadas Romney Marsh e Suffolk apresentaram valores que variaram de 0,1 a 7,0 ng/mL e de 0,1 a 7,3 ng/mL, respectivamente (SASA et al., 2002).

A progesterona e os progestágenos podem ser administrados de diferentes modos na reprodução: por meio de esponjas impregnadas com acetato de medroxiprogesterona (MAP) ou progesterona natural; no alimento com acetato de melengestrol (MGA); implantes subcutâneos com norgestomet; dispositivos intravaginais de silicone com liberação lenta de progesterona natural ou progesterona injetável (CEREZETTI et al., 2019), que pode ser de curta ou longa ação.

Utilização de progesterona em bovinos

A espécie bovina é a principal referência no que se refere a utilização de P4 no controle dos eventos reprodutivos. Os resultados observados podem, ou não, ser extrapolados para outras espécies, considerando as especificidades da fisiologia reprodutiva. Fêmeas bovinas são poliéstricas anuais e possuem ciclo estral com duração média de 21 dias (GONÇALVES et al., 2021). Nesta espécie, a P4 vem sendo muito utilizada na indução da puberdade em novilhas, e também em protocolos de indução e sincronização de estro no pós-parto (BÓ et al., 1995; VASCONCELOS et al., 2009; RODRIGUES et al., 2013). A suplementação de P4 com objetivo de sincronização de estro é utilizada desde a década de 70.

Atualmente, a forma mais utilizada são os DIV de liberação de progesterona, contendo de 0,5 a 2 g de P4. O primeiro dispositivo disponível comercialmente foi o *Progesterone Releasing Intravaginal Device* (PRID), que continha 1,55 g de P4 (WINKLER et al., 1977). Posteriormente Macmillan e Peterson (1993) descreveram outro modelo de dispositivo, o *Controlled Internal Drug Release* (CIDR), contendo 1,9 g de P4 progesterona. Atualmente a maioria dos DIV comercializados no Brasil possuem 1g de P4. O tempo de permanência dos dispositivos é de cinco a nove dias, variando entre os protocolos.

A maioria dos protocolos visando a sincronização do estro e ovulação inicia com a aplicação de um dispositivo intravaginal de liberação lenta de P4, simulando uma fase luteal, juntamente com uma fonte de estrógeno, para promover regressão folicular e início de uma nova onda de crescimento em, aproximadamente, 4 dias. A administração de E2 associado à P4 induz a atresia do folículo dominante e a emergência de uma nova onda de desenvolvimento folicular, pois essa combinação causa um efeito supressivo na secreção de FSH e LH. Este efeito deve persistir por pelo menos 24 h para provocar a regressão folicular completa (BÓ et al., 1995). Após cinco a nove dias de tratamento, a remoção da fonte exógena de P4 possibilita a ovulação do folículo dominante (BÓ et al., 1995).

Os DIV podem ser monodose ou multiuso, sendo que os implantes conhecidos como multiuso, podem ser utilizados até 3 a 4 vezes, dependendo da subespécie e da categoria animal. A reutilização de DIVs pode tornar mais acessível o valor do protocolo, além de contribuir com a redução no descarte de resíduos no meio rural (MENEGHETTI et al., 2009). Concentrações de P4 acima de 1 ng/mL, são suficientes para inibir o LH (SAVIO et al., 1993), manifestação de estro e ovulação.

Com a utilização de implantes de 1,0 g de P4 (DIB®) novos ou previamente usados, relatou-se 49,5% de gestação com os dispositivos novos e 59,7% após segundo uso, concluindo-se que é possível reutilizar esses dispositivos em tratamentos de sincronização de estros para IATF em vacas mestiças (BÓ & CUTAIA, 1998). Ao avaliar a taxa de gestação de vacas de corte da raça nelore no pós-parto, sincronizadas com implantes contendo 1,9 g de P4 (CIDR®) novos ou reutilizados, não observou-se diferença significativa, relatando 28,8 e 38,7%, de gestação, respectivamente (BARUFI et al., 2002), demonstrando a possibilidade de reutilização sem efeitos negativos. Outro estudo em novilhas demonstrou que a taxa de perda de CIDR foi maior em novilhas que receberam dispositivos reutilizados do que naquelas que receberam novos (COLAZO et al., 2004). Outro estudo em vacas zebuínas, utilizando dispositivos com 1,9 g P4 (CIDR®), demonstrou que é viável a utilização por até três vezes, sendo que as taxas de gestação foram mais baixas no primeiro uso em relação ao segundo e terceiro (MEDALHA et al., 2015).

Tratamento com progestágenos em ovinos

Trabalhos da década de 1960 relatam o uso de dispositivos intravaginais de P4 visando a sincronização do estro em ovinos. Os compostos mais utilizados são esponjas de poliuretano impregnadas com análogos de progesterona como acetato de fluorogestona (FGA), acetato de medroxiprogesterona (MAP) e ainda, dispositivos de silicone contendo progesterona natural. O uso da via intravaginal é muito eficiente, sendo que, a partir da inserção dos implantes, o hormônio difunde-se pelo contato com a mucosa vaginal até chegar na circulação sanguínea (KISER et al., 2012). Os DIV impregnados com progestágenos mimetizam a ação do CL por ser uma fonte artificial de P4, sendo suficiente para inibir a produção de GnRH. A retirada do DIV promove o desbloqueio do eixo hipotalâmico-hipofisário e induz a liberação de GnRH, LH, e a subseqüente ovulação (PADILHA, 2007).

Após a inserção de dispositivos (CIDR) em ovelhas em anestro a concentração de P4 atinge 2,1 ng/mL nas primeiras 24 h, atingindo o pico de 2,4 ng/mL no dia 4 e depois declina gradualmente a uma concentração de 1,5 ng/mL no dia 13 (HAMRA et al., 1989). A utilização de DIV associado ao efeito macho pode estimular a ciclicidade das fêmeas fora da estação reprodutiva (FONSECA, 2005).

A utilização de protocolos a base de progestágenos difere em relação a permanência do dispositivo intravaginal, podendo ser utilizado por períodos mais longos (12-14 dias) ou curtos (5-7 dias) (ABECIA et al., 2012). Protocolos longos simulam um período de permanência fisiológico do CL em um ciclo estral, o que ocorreria após uma ovulação. A utilização de esponjas ou dispositivos impregnados com progestágenos durante 9 ou 14 dias resulta em concentração na manifestação de estro até 72 h após a remoção do dispositivo (CASTILHO et al., 2013). Porém, protocolos curtos também são eficientes na sincronização, não sendo necessário tantos dias de exposição a P4 (MENCHACA & RUBIANES, 2004). Além disso, em protocolos longos, existe a possibilidade de ocorrer ovulações de folículos dominantes persistentes, o que pode influenciar negativamente na fertilidade

(KINDER et al., 1996; VIÑOLES et al., 2001), embora haja um estudo que sugere que a ovulação de folículos mais velhos não influencia na qualidade do embrião em ovinos (EVANS et al., 2001).

Estudos já investigaram o uso de MGA, progestágeno sintético, em ovelhas fora da estação reprodutiva. O MGA foi administrado via oral (0,125 mg) duas vezes ao dia, durante 8 dias, e demonstrou ser eficaz. Porém neste mesmo estudo, o grupo tratado com CIDR obteve maior taxa de nascimentos (DANIEL et al., 2001). Outro estudo em ovelhas cíclicas comparou 6 ou 12 dias de exposição ao MAP, com ou sem aplicação de eCG no final do tratamento. Os autores observaram menor taxa de prenhez após tratamento longo, em comparação ao tratamento curto, sendo esse feito justificado pela ovulação de folículos recém recrutados, diferentemente da exposição prolongada à P4 que culminaria na ovulação de folículos persistentes (VIÑOLES et al., 2001). Em relação a manifestação de estro, ao utilizar protocolos a base de MAP (60 mg) por 6, 9 ou 14 dias, não foi observada diferença, embora os protocolos de 9 ou 14 dias resultaram em maior sincronia quando utilizados no período de transição para anestro estacional (CASTILHO et al., 2013). Takada (2004) observou antecipação na manifestação de estro e ovulação, além de maior sincronia, usando o protocolo de 12 dias, em comparação com protocolos de curta duração, 4 dias.

Ao comparar o uso de dispositivos intravaginais com 0,33 g de P4 (CIDR®), novos ou de primeiro ou segundo uso, em ovelhas na estação de monta, nenhuma diferença significativa foi detectada entre grupos em relação a taxa de prenhez. No entanto, a taxa de detecção de estro foi significativamente maior no grupo que recebeu implantes novos (SWELUM et al, 2019).

Uso de progesterona injetável em bovinos

Os estudos com P4i na espécie bovina são abundantes, avaliando a utilização para indução da ciclicidade, sincronização em protocolos reprodutivos e após IATF (FERNANDES, et al., 2019; PUGLIESI et al., 2019; CARVALHO et al., 2023). Em novilhas de corte demonstrou-se que as concentrações de P4, quando administrada através de microesferas com 625 mg, mantiveram-se elevadas por 12-13 dias, com pico de concentração de até 5 ng/mL (WHISNANT & BURNS, 2002). Em um estudo avaliando diferentes doses e vias de administração, aplicou-se 250 mg via IM (MAD-4, Rio de Janeiro) em um grupo e, no outro, foi administrado 250 mg via subcutânea (SC). No segundo experimento aplicou-se 250 ou 375 mg via SC, e concluiu-se que o tratamento aparentemente mais adequado é o de 250 mg pela via SC, com manutenção de níveis séricos de P4 superiores a 1 ng/mL por quatro dias (ROCHA et al., 2011). A administração de 150 mg de P4i LA (Sincrogest, Ourofino, Brasil) em vacas sem a presença de CL e pré-sincronizadas, foi suficiente para manter as concentrações de progesterona acima de 1 ng/mL, por pelo menos 7 dias (CORREA, 2015). Trabalhos mais recentes demonstraram que a administração de 150 mg de P4 (Sincrogest, Ourofino, Brasil) 10 dias antes do protocolo de IATF aumenta o diâmetro folicular no início do protocolo, sendo que a concentração de P4 manteve-se acima de 1,5 ng/ml por 7 dias (SIMÕES et al., 2018). Porém, outro estudo cujo objetivo era avaliar a curva de concentração em vacas *Bos indicus* revelou que o pico de P4 ocorreu no D1 e D3, em todas as dosagens testadas (60 mg, 105 mg, 150 mg, 195 mg e 240 mg), sendo que todas as doses repercutiram em concentrações séricas abaixo de 1 ng/mL até o final do estudo (D12) (CARVALHO et al., 2023).

Outro estudo avaliou a dinâmica folicular em vacas de corte tratadas com P4i. O grupo controle recebeu protocolo convencional no D0, a base de E2 e dispositivos intravaginais de P4. Outro grupo recebeu também 100

mg de P4 (Sigma) em veículo oleoso IM. Concluiu-se que a aplicação de P4i reduziu a proporção de vacas que ovularam o folículo dominante presente no ovário no início do protocolo, porém, nenhuma diferença foi detectada no tempo de ovulação após a remoção do dispositivo de P4 entre os grupos (PFEIFER et al., 2018).

Alguns autores investigaram a viabilidade de substituição de DIV por P4i. Em um estudo, comparou-se um protocolo de IATF em que animais receberam, no D0, 75 mg de P4i (Sincrogest, Ourofino, Brasil) ou DIV (grupo controle). Os dois grupos receberam 2 mg de BE, no D0 e, no D8, foi retirado o DIV e todos os animais receberam 1 mg de CE, 500 μg de cloprostenol sódico e 300 UI de eCG. A IA ocorreu 48 h após a aplicação do indutor de ovulação (CE). Concluiu-se que a substituição do DIV por P4i afeta negativamente a taxa de concepção de vacas *Bos indicus* submetidas ao protocolo de sincronização da ovulação (CARVALHO et al., 2023). Outro estudo em fêmeas multíparas da raça Nelore, em fase aleatória do ciclo estral, avaliou a substituição de DIV pela P4i em um protocolo de IATF. Os animais foram distribuídos em três grupos: grupo I que recebeu 250 mg de P4i (Progessincro, Laboratorio Campos Ltda, Londrina, Brazil) e 2 mg BE no D0, 500 μg de cloprostenol sódico no D7, 300 UI de eCG e 1 mg de BE no D8 e IATF 36h após; grupo II, que recebeu o mesmo protocolo, exceto pela IATF, que foi realizada 48h após indução da ovulação; e grupo III, que recebeu um protocolo convencional de IATF com dispositivo intravaginal (CIDR) e 2 mg de BE no D0, no D8 foi removido o dispositivo e aplicado 500 μg cloprostenol sódico, 300 UI eCG, 1 mg BE, sendo a IATF realizada 48 h após a remoção dos dispositivos. As vacas do grupo com DIV apresentaram maior taxa de prenhez (60%) do que aquelas submetidas à sincronização da ovulação com P4i e IATF com 36h (33%). Porém, o grupo P4i com IATF 48h demonstrou uma taxa de prenhez (48,9%) que não diferiu do grupo com DIV e do grupo P4i com IATF 36 h. Ainda, em outro estudo, vacas zebuínas, com ou sem CL foram sincronizadas com protocolos convencionais, recebendo no D0 dispositivos de P4 (DIB) junto com 2 mg de BE, além de 500 μg cloprostenol sódico, 300 UI eCG e retirada dos dispositivos no D8 e, 24h após, 1 mg de BE com IATF no D10. Outro grupo recebeu 350 mg (300 mg SC e 50 mg IM) de P4i e 2 mg de BE no D0, 500 μg de cloprostenol sódico e 300 UI de eCG no D6 e, após 24h, 1 mg de BE foi administrado com IATF no D8. As taxas de ovulação e de prenhez foram semelhantes entre os grupos com CL e sem CL, mas foi mais elevada no grupo DIV comparado com o grupo tratado com P4i. Os animais com dispositivo apresentaram maior diâmetro do folículo dominante na IATF e maiores taxas de ovulação e prenhez. No entanto, a porcentagem de folículos ≥ 5 mm no D4, a taxa de crescimento folicular e diâmetro do CL não diferiram, levantando a possibilidade de novas investigações (MOROTTI et al., 2013). Portanto, sugere-se que a P4i é uma potencial ferramenta para o controle do ciclo estral de fêmeas bovinas (CAMPOS et al., 2016), embora os resultados de sua utilização em substituição aos DIV ainda sejam inconsistentes.

Em relação a indução da ciclicidade com P4i, em novilhas taurinas pré-puberes, demonstrou-se que 150 mg de P4 (Sincrogest, Ouro Fino Saúde Animal) foi eficiente para induzir ciclicidade (FERNANDES et al., 2019). Em novilhas Nelore, que foram classificadas como púberes ou pré-puberes, testou-se a dose de 150 mg de P4i (Sincrogest, Ourofino Saude Animal) aplicado no D-31 (IATF = D0). No grupo tratado com P4i, houve aumento no escore uterino e também no diâmetro do maior folículo em novilhas pré-puberes. Houve aumento geral das taxas de prenhez em novilhas tratadas com P4i, demonstrando eficácia em acelerar a puberdade. A indução estimulou o desenvolvimento uterino e o crescimento folicular de novilhas pré-púberes, levando ao sucesso da prenhez semelhante ao das novilhas púberes (DE LIMA et al., 2020).

Além disso, aplicação de P4i também tem sido investigada com objetivo de ressincronização. A aplicação de P4i (Sincrogest®, Ourofino Saude Animal) 12 dias após a IATF aumentou as taxas de prenhez, possibilitando

uma nova estratégia de ressincronização precoce, representando uma alternativa para realizar duas inseminações com intervalo de 22 dias em vacas de corte (PUGLIESI et al., 2019). A utilização de P4i associada ao DIV no dia 14 após IATF, com remoção do DIV no dia 22, com objetivo de ressincronização em novilhas de corte demonstrou ser uma abordagem segura para a gestação em andamento (VIEIRA et al., 2021).

Uso de progesterona injetável em ovinos

Ao contrário da espécie bovina, ainda existem poucas informações a respeito do uso parenteral de progesterona de longa ação em protocolos de sincronização e seus efeitos nas concentrações séricas de P4 na espécie ovina. Em ovelhas ovariectomizadas demonstrou-se que a aplicação intramuscular (im) de P4 LA (Biorelease P4LA-150, BbioRelease Technologies), nas doses de 75 mg e 150 mg, mantem níveis séricos de P4 acima de 1 ng/mL por até cinco dias após aplicação e, quando utilizada na dose de 300 mg, por até nove dias (ALMEIDA et al., 2005). Outro estudo em ovinos na estação reprodutiva avaliou a eficácia de um protocolo de sincronização de estro baseado em tratamento de curto prazo com injeções de P4 (200 mg, Sigma–Aldrich) previamente a injeções de PGF. Concluiu-se que a utilização de duas injeções de P4 representa uma prática de baixo custo e eficiente para sincronizar o estro a fim de reduzir o intervalo entre partos e maximizar a produtividade em raças tropicais de ovelhas (KNIGHTS et al, 2011).

Para indução e sincronização do estro, um estudo avaliou dois protocolos, sendo que em um grupo foi administrado 300 mg de P4i (P4-300, Botupharma) no D0, e no D5 foi aplicado 280 UI de eCG e 0,150 mg de prostaglandina; o segundo grupo diferiu apenas na aplicação de P4i, em que foi feita uma segunda administração (300 mg) no D3. Foi demonstrado que a aplicação exógena de P4i não acarretou indução e sincronização do estro em ovinos da raça Santa Inês (BRETANHA et al., 2019). Em outro trabalho, visando induzir a ciclicidade em fêmeas ovinas pré-púberes e sem raça definida, foi aplicado 225 mg de P4i LA (P4LA – 150 veículo oleoso, manipulada em laboratório próprio). Os autores concluíram que a aplicação de P4i associada com bioestimulação (efeito macho) desencadeia a puberdade em fêmeas jovens de 7 meses de idade (MONTEIRO, 2009).

Ao avaliar-se manifestação de estro em ovelhas fora da estação reprodutiva comparou-se a utilização de P4i nas doses de 15 ou 30 mg em comparação ao uso de CIDR. Concluiu-se que o tratamento com P4i não foi eficiente em aumentar a performance reprodutiva das ovelhas (SILVA, 2021). Outro delineamento que comparou DIV com a aplicação de 10 mg de P4 (Progesterona, Rio de Janeiro), demonstrou que a taxa de prenhez foi menor usando P4i, sendo que o tratamento longo com implantes obteve o melhor resultado (PÉREZ-CLARIGET et al, 2021). Em cabras, em um protocolo livre de dispositivos intravaginais, aplicou-se 20 mg de P4 (Progesterona, Zoetis, Mexico), que foi eficiente para sincronizar o estro e a ovulação em cabras multíparas e nulíparas fora da estação reprodutiva, permitindo taxa de prenhez aceitável com IATF via cervical e com sêmen fresco (ALVARADO-ESPINO et al., 2019). Apesar dos estudos citados, ao nosso conhecimento, o efeito do tratamento com P4i LA, disponível comercialmente no Brasil, sobre a indução de ciclicidade em ovelhas, ainda não foi avaliado.

Resíduos de tratamentos hormonais no meio-ambiente

Transformar sistemas de produção mais sustentáveis na esfera ambiental torna-se necessário. Nesse sentido, em programas reprodutivos é necessário um dispositivo de P4 por animal, sendo que a quantidade de resíduos gerados é preocupante. Aliado a isso, muitas vezes o destino final dos produtos utilizados não é adequado (MACIEL et al., 2011). Ainda assim, além dos resíduos sólidos, resíduos líquidos também podem estar sendo gerados durante os programas reprodutivos, pois muitas vezes os DIV são lavados em água e desinfetados para posterior reutilização (MARTINS et al., 2005). Alterações na flora vaginal associadas às esponjas também podem afetar negativamente a atração sexual de ovelhas em estro (GATTI & UNGERFELD, 2012).

Desse modo, medidas que aumentem o uso racional destes dispositivos, ou que reduzam a quantidade de resíduos oriundos do emprego das biotécnicas da reprodução, devem ser consideradas e estudadas. Portanto, a busca por melhores resultados e manejos mais aplicáveis nos sistemas de produção torna-se algo inovador. O uso da P4i tem sido reportado em estudos como forma alternativa de suplementação exógena de P4 e tem como vantagens o manejo simplificado, necessitando menos mão de obra, além do menor custo em comparação ao uso de implantes intravaginais. Também ocorre redução de descarte de material no meio ambiente, além de não ocorrer problemas relacionados à perda do dispositivo (MOROTTI et al., 2013). Entretanto, diferentemente da espécie bovina, não há protocolos hormonais validados para utilização dos produtos contendo P4 LA disponíveis comercialmente no Brasil.

Considerações Finais

O avanço e conhecimento de novas formulações comerciais que permitam a otimização dos sistemas de produção atuais é uma constante. A utilização de fármacos com menor custo, menos mão de obra é necessária. Além disso, a preocupação com os resíduos ambientais é incessante, o que leva à busca por produtos alternativos. A elucidação de protocolos com progesterona injetável mais eficientes poderá possibilitar um maior controle da ovulação em ruminantes, impactando diretamente nos sistemas de produção.

Referências

ABECIA, J. A.; FORCADA, F.; GONZÁLEZ-BULNES A. Hormonal controlo of reproduction in small ruminants. Animal Reproduction Science, v. 130, p. 173-179, 2012.

ADEYEMO, O.; HEATH, E. Plasma progesterone concentration in Bos Taurus and Bos indicus heifers. Theriogenology, v. 14, n. 6, p. 411-420, 1980.

ALMEIDA, A. K.; MARTINS, L. E. P.; BISCARDE, C. E. A.; NEVES, T. A.; CHALHOUB, M.; RIBEIRO FILHO, A. L.; BRINGEL, B. A.; DOUGLAS, R. H.; GUSMÃO, A. Concentração sérica de progesterona em ovelhas ovariectomizadas tratadas com progesterona de longa ação (P4-LA**). Acta Scientiae Veterinariae**, v. 33, p. 242, 2005.

ALVARADO-ESPINO, A. S.; MENCHACA, A.; MEZA-HERRERA, C. A.; MELLADO, M.; ARELLANO, F.; VÉLIZ, F. Use of injectable progesterone and hCG for fixed-time artificial insemination during the non-breeding season in goats. Theriogenology, v. 127, p. 21-25, 2019.

ALVES, N. G.; PEREIRA, M. N.; COELHO, R. M. Nutrição e reprodução em vacas leiteiras. Revista Brasileira de Reprodução Animal, v. 6, p. 118-124, 2009.

BAIRD, D. T.; CAMPBELL, B. K.; MANN, G. E.; MCNEILLY, A. S. Inhibin and oestradiol in the control of FSH secretion in the sheep. Journal of Reproduction and Fertility, v. 43, p. 125-138, 1991.

BADINGA, L.; THATCHER, W. W.; WILCOX, C. J.; MORRIS, G.; ENTWISTLE, K.; WOLFENSOR, D. Effect of season on follicular dynamics and plasma concentrations of stradiol 17-beta, progesterone and luteinizing hormone in lacting Holstein cows. Theriogenology, v. 42, n. 8, p. 1263-1274, 1994.

BARROS, C. M.; DI STASI, L. C. Farmacologia Veterinária. 1.ed. Barueri: Manole, 2012, 596p.

BARUFI, F. B., MADUREIRA, E. H.; BARBUIO, J. P.; MIZUTA, K.; BINELLI, M.; ROSSA, L. A. F.; BARUSELLI, P. S. Sincronização do estro e da ovulação em bovinos de corte com Crestar, CIDR ou CIDR reutilizado, seguidos ou não pela administração de eCG. Revista Brasileira de Reprodução Animal, v. 26, n. 3, p. 226-229, 2002

BINELLI, M. Estratégias anti-luteolíticas para a melhora da sobrevivência embrionária em bovinos. Controle Farmacológico do Ciclo Estral em Ruminantes. São Paulo: USP, 2000, p. 99-114.

BINELLI, M.; THATCHER, W. W.; MATTOS, R.; BARUSELLI, P. S. Antiluteolytic strategies to improve fertility in cattle. Theriogenology, v. 56, p. 1451-1463, 2001.

BÓ, G. A.; ADAMS, G. P.; PIERSON, R. A.; MAPLETOFT, R. J. Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. Theriogenology, v. 43, p. 31-40, 1995.

BÓ, G. A. L.; CUTAIA, L. Estado del en IATF: factores que afectan SUS resultados. Resúmenes de estúdios de reproducción animal. Instituto de reproducción animal Córdoba (IRAC), Universidad Católica de Córdoba, Agencia Córdoba Ciencia. 1998, 18p.

BRETANHA, I.; CARVALHO, C. V. D.; NASCIMENTO, M. C. Efeito da progesterona exógena injetável em protocolos de sincronização em ovinos. PUBVET, v. 13, n. 153, 2019.

CAMPOS, J. T.; MOROTTI, F.; COSTA, C. B.; BERGAMO, L. Z.; SENEDA, M. M. Evaluation of pregnancy rates of Bos indicus cows subjected to different synchronization ovulation protocols using injectable progesterone or an intravaginal device. Semina: Ciências Agrárias, v. 37, n. 6, p. 4149-4155, 2016.

CARTER, F.; FORDE, N.; DUFFY, P.; WADE, M.; FAIR, T.; CROWE, M. A.; EVANS, A. C.; KENNY, D. A.; ROCHE, J. F.; LONERGAN, P. Effect of increasing progesterone concentration from Day 3 of pregnancy on subsequente embryo survival and development in beef heifers. Reproduction, Fertility and Development, v. 20, p. 368-375, 2008.

CARVALHO, L. R.; SIMÕES, L. M. S.; LEMOS, L. A.; VICENTE, M. P.; SOUZA, S. V.; JUNIOR, W. A. G.; SALES, J. N. S. Use of injectable progesterone to replace the intravaginal progesterone device on the ovulation synchronization protocol reduces the pregnancy rate in Bos indicus cows. Theriogenology, v. 195, p. 55-61, 2023.

CASTILHO, C.; ALMEIDA, M. F. D.; COSTA, M. Z.; DE CESARE, Â. G.; GABRIEL FILHO, L. R. D. A. Protocols of estrus induction and synchronization in ewe. Ciência Animal Brasileira, v. 14, n. 1, p. 91-97, 2013.

CEREZETTI, M. B.; BERGAMO, L. Z.; COSTA, C. B.; DA SILVA, C. B.; SENEDA, M. M. Alternativas para substituição do uso de implantes vaginais de progesterona na inseminação artificial em tempo fixo em bovinos. Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública, v. 6, n. 2, p. 416-433, 2019.

COLAZO, M. G.; KASTELIC, J. P.; WHITTAKER, P. R.; GAVAGA, Q. A.; WILDE, R.; MAPLETOFT, R. J. Fertility in beef cattle given a new or previously used CIDR insert and estradiol, with or without progesterone. Animal Reproduction Science, v. 81, p. 25-34, 2004.

CORRÊA, Rafael Rodrigues. Efeitos da progesterona exógena na produção in vitro de embriões em novilhas Nelore pré-púberes. 2015. 81p. Tese (Doutorado em Reprodução Animal), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2015.

DANIEL, J.; STERLE, S. W.; MCFADIN-BUFF, E.; KEISLER, D. H. Breeding ewes out-of-season using melengestrol acetate, one injection of progesterone, or a controlled internal drug releasing device. Theriogenology, v. 56, n. 1, p. 105-10, 2001.

DE LIMA, R. S.; MARTINS, T.; LEMES, K. M.; BINELLI, M.; MADUREIRA, E. H. Effect of a puberty induction protocol based on injectable long acting progesterone on pregnancy success of beef heifers serviced by TAI. Theriogenology, v. 154, p. 128-134, 2020.

EVANS, A. C. O.; FLYNN, J. D.; QUINN, K. M.; BEARD, A. P. Ovulation of aged follicles does not affect embryo quality or fertility after a 14-day progestogen estrus synchronization protocol in ewes. Theriogenology, v. 56, n. 5, p. 932-936, 2001.

FERNANDES, M. S.; BERTÃO, C. L.; BORTOLUZZI, F. P.; HERCOLANI, C. Z.; SCHOPF, J.; DA SILVEIRA, G. J. M.; GUERREIRO, B. M.; DE FREITAS, B. G.; BUSS, V.; LEIVAS F. G.; MARTINI A.; PESSOA, G. A. Uso da progesterona injetável na indução da ciclicidade em novilhas pré-púberes: Maior escore de trato reprodutivo antecipa a prenhez durante a estação reprodutiva em novilhas de corte submetidas à IATF. Revista Brasileira de Reprodução Animal, v. 43, n. 2, p. 374, 2019.

FONSECA, J. F. Estratégias para o controle do ciclo estral e superovulação em ovinos e caprinos. Anais do Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, Goiânia, 2005.

GATTI, M.; UNGERFELD, R. Intravaginal sponges to synchronize estrus decrease sexual attractiveness in ewes. Theriogenology, v. 78, n. 8, p. 1796-9, 2012.

GONÇALVES, P. B. D.; FIGUEIREDO, J. R.; GASPERIN, B. G. Biotécnicas aplicadas à reprodução animal. 3.ed. São Paulo:Roca, 2021.

HAFEZ, B.; HAFEZ, E. S. E. Reprodução Animal. 7.ed. Barueri: Manole, 2004, 513p.

HAMRA, A. H.; McNALLEY, J. W.; MARCEK, J. M.; CARLSON, K. M.; WHEATON, J. E. Comparison of progesterone sponges, cronolone sponges and controlled internal drug release dispensers on fertility in anestrous ewes. Animal Reproduction Science, v. 18, p. 219-226, 1989.

HANSEL, W.; CONVEY, E. M. Physiology of the estrus cycle. Journal of Animal Science, v. 57, n. 3, p. 404-424, 1983.

KINDER, J. E.; KOJIMA, F. N.; BERGFELD, E. G.; WEHRMAN, M. E.; FIKE, K. E. Progestin and estrogen regulation of pulsatile LH release and development of persistent ovarian follicles in cattle. Journal of Animal Science**,** v. 74, p. 1424-1440, 1996.

KISER, P. F.; JOHNSON, T. J.; CLARK, J. T. State of the art in intravaginal ring technology for topical prophylaxis of HIV infection. AIDS Reviews, v. 14, p. 62-77, 2012.

KNIGHTS, M.; RAMGATTIE, R.; SIEW, N.; SINGH-KNIGHTS, D.; BOURNE, G. Effectiveness of a short-term treatment with progesterone injections on synchrony of lambing and fertility in tropical hair sheep. Animal Reproduction Science**,** v. 126, n. 1-2, p. 70-5, 2011.

MACIEL, C. P.; DE PINEDO JUNIOR, L.; OLIVEIR A, V. de P. Gestão de resíduos domésticos em uma propriedade rural no Município de Varre Sai, RJ. Boletim do Observatório Ambiental Alberto Ribeiro Lamego, v. 5, n. 2, p. 109-123, 2011.

MARTINS, C. M.; CASTRICINI, E. S. C.; SÁ FILHO, M. F.; GIMENES, L. U.; BARUSELLI, P. S. Dinâmica folicular em novilhas e vacas Nelore (*Bos indicus*) tratadas com dispositivo intravaginal de progesterona novo ou reutilizado associado ou não à progesterona injetável. Acta Scientiae Veterinariae, v. 33, p. 227-227, 2005.

MEDALHA, A. G.; SOUZA, M. I. L.; SOUZA, A. S. D.; SÁ FILHO, O. G.; QUEIROZ, V. L. D.; COSTA FILHO, L. C. C. D. Evaluation of intravaginal progesterone device, in until three uses, in fixed-time artificial insemination in" *Bos indicus*" females. Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal, v. 16, p. 458-469, 2015.

MENCHACA, A.; RUBIANES, E. New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. Reproduction, Fertility and Development, v. 16, n. 4, p. 403-413, 2004.

MENEGHETTI, M.; SÁ FILHO, O. G.; PERES, R.F.; LAMB, G. C.; VASCONCELOS, J. L. Fixed-time artificial inseminationwith estradiol andprogesterone for *Bos indicus* cows I: Basis for developmentofprotocols. Theriogenology, v. 72, n. 1, p. 179-189, 2009.

MONTEIRO, Claudia Dias. Bioestimulação em fêmeas ovinas submetidas à administração exógena de acetato de medroxiprogesterona ou progesterona de longa ação na pré-puberdade. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal).

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Botucatu, 2009.

MOROTTI, F.; CAMPOS, J. T.; SENEDA, M. M. Fixed-time artificial insemination using injectable progesterone: ovarian follicular dynamics and pregnancy rates of Nelore cows (Bos indicus) with and without a corpus luteum. Semina: Ciências Agrárias, v. 34, n. 2, p. 3867-3875, 2013.

NASCIMENTO, A. B.; SOUZA, A. H.; SARTORI, R.; WILTBANK, M. C. Produção e metabolismo da progesterona e seu papel antes, durante e depois da inseminação artificial influenciando a fertilidade de vacas leiteiras de alta podução. Acta Scientiae Veterinariae, v. 41, p. 1130, 2013.

NISWENDER, G. D.; JUENGEL, J. L.; SILVA, P. J.; ROLLYSON, M. K.; MCINTUSH, E. W. Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. Physiological reviews, v. 80, n. 1, p. 1-29, 2000.

PADILHA, Rodrigo Tenório. Indução do estro/ovulação e fertilidade em ovelhas deslanadas após tratamento hormonal com diferentes dispositivos intravaginais**.** 2007. 76f. Mestrado, Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Ceará, Ceará, Brasil, 2007.

PÉREZ-CLARIGET, R.; LÓPEZ-PÉREZ, Á.; UNGERFELD, R. Treatments with intravaginal sponges for estrous synchronization in ewes: length of the treatment, amount of medroxyprogesterone, and administration of a long-acting progesterone. Tropical Animal Health Production, v. 5, n. 3, p. 345, 2021.

PFEIFER, L. F. M.; MAPLETOFT, R. J.; DARDAWAL, D.; SINGH, J. Effect of injectable progesterone on follicular development in lactating beef cows treated with estradiol plus a low-concentration progesterone device. Brazilian Journal of Veterinary and Animal Science, v. 55, n. 2, p. 1-8, 2018.

PUGLIESI, G.; BISINOTTO, D. Z.; MELLO, B. P.; LAHR, F. C.; FERREIRA, C. A.; MELO, G. D.; MADUREIRA, E. H. 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, v. 54, n. 8, p. 1149-1154, 2019.

QUEZADA-CASASOLA, A.; AVENDAÑO-REYES, L.; MACÍAS-CRUZ, U.; ALEJANDRO RAMÍREZGODÍNE, J.; CORREA-CALDERÓN, A. Estrus beauvoir, ovarian dynamics, and progesterone secretion in Criollo cattle during estrous cycles with two and three follicular waves. Tropical animal health and production, v. 46, p. 675-684, 2014.

RAWLINGS, N.; COOK, S. LH secretion around the time of the preovulatory gonadotrophin surge in the ewe. Animal Reproduction Science, v. 30, n. 4, p. 289- 299, 1993.

ROCHA, D. C.; BESKOW, A.; PIMENTEL, C. M. M.; MATTOS, R. C.; Gregory, R. M. Níveis séricos de progesterona em vacas ovariectomizadas tratadas com MAD4® com diferentes concentrações e vias de administração. Acta Scientiae Veterinariae, v. 39, n. 3, p. 974, 2011.

RODRIGUES, A. D. P.; PERES, R. F. G.; LEMES, A. P.; MARTINS, T.; PEREIRA, M. H. C.; DAY, M. L.; VASCONCELOS, J. L. M. Progesterone-based strategies to induce ovulation in prepubertal Nellore heifers. Theriogenology, v. 79, n. 1, p. 135-141, 2013.

RUBIANES, E.; MENCHACA, A.; CARBAJAL, B. Response of the 1 to 5-day aged ovine corpus luteum to Prostaglandin F2α. Animal Reproduction Science, v. 78, p. 47-55, 2003.

SASA, A.; TESTON, D. C.; RODRIGUES, P. D. A.; COELHO, L. D. A.; SCHALCH, E. Concentrações plasmáticas de progesterona em borregas lanadas e deslanadas no período de abril a novembro, no Estado de São Paulo. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 31, n. 3, p. 1150-1156, 2002.

SASA, A; NONAKA, K. O; BALIEIRO, J. C. C.; COELHO, L. A Progesterona plasmática de ovelhas submetidas ao efeito-macho e mantidas sob diferentes condições nutricionais. Arquivo Brasileira de Medicina Veterinária e Zootecnia, v. 63, n. 5, p. 1066-1072, 2011.

SAVIO, J. D.; THATCHER, W. W.; MORRIS, G. R.; ENTWISTLE, K.; DROST, M.; MATTIACCI, M. R. Effects of induction of low plasma progesterone concentrations with a progesterone-releasing intravaginal device on follicular turnover and fertility in cattle. Reproduction, v. 98, n. 1, p. 77-84, 1993.

SENGER, P. L. Pathways to pregnancy and parturition. 2.Ed. Washington Current Conceptions, 2003. 368p.

SILVA, Taylon Antonio Sales Da. Comparação entre a progesterona injetável e intravaginal na performance reprodutivas em ovelhas. 2021. 30f. Dissertação (Mestrado em Ciencia Animal) - Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2021.

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

SWELUM, A. A. A.; SAADELDIN, I. M.; MOUMEN, A. F.; ALI, M.; BA-AWADH, H.; ALOWAIMER, A. N. Effects of long-term controlled internal drug release reuse on reproductive performance, hormone profiles, and economic profit of sheep. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 48, 2019.

TAKADA, Luciana. Avaliação da resposta ovariana na sincronização do estro e da ovulação utilizando protocolo de curta duração em ovelhas da raça Suffolk. 2004. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2004.

TREVISOL, E.; FERREIRA, J. C. P.; ACKERMANN, C. L.; DESTRO, F. C.; AMARAL, J. B. D. Luteólise em bovinos: revisão. Revista Brasileira de Reprodução Animal, v. 37, n. 1, p. 29-36, 2013.

VASCONCELOS, J. L. M.; SÁ FILHO, O. G.; SILVA, A. T. Intravaginal progesterone device and/or temporary weaning on reproductive performance of anestrous crossbred Angus × Nelore cows. Animal Reproduction Science, v. 111, n. 2-4, p. 302-311, 2009.

VIEIRA, C. C.; PINTO, H. F.; BUSS, V.; GONZALEZ DE FREITAS, B.; GUERREIRO, B. M.; LEIVAS, F. G.; PUGLIESI, G.; MESQUITA, F. S. Resynchronization of follicular wave using long-acting injectable progesterone or estradiol benzoate at 14 days post-timed AI in Bos taurus x Bos indicus beef heifers. Theriogenology, v. 176, p. 194-199, 2021.

VIÑOLES, L.; FOSBERG, M.; BANCHERO, G.; RUBIANES, E. Effect of long-term and short-term progestagen treatment and pregnancy rate in cyclic ewes. Theriogenology, v. 55, n. 4, p. 993-1004, 2001.

WILTBANK, M.; LOPEZ, H.; SARTORI, R.; SANGSRITAVONG, S.; GÜMEN, A. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. Theriogenology, v. 65, n. 1, p. 17-29, 2006.

WILTBANK, M. C.; SOUZA, A. H.; GIORDANO, J. O.; NASCIMENTO, A. B.; VASCONCELOS, J. M.; PEREIRA, M. H. C.; BENDER, R. W. Positive and negative effects of progesterone during timed AI protocols in lactating dairy cattle. Animal Reproduction, v. 9, n. 3, p. 231-241, 2012.

WINKLER, V. W.; BRORODKIN, S.; WEBEL, S. K.; MANNEBACH, J. T. In vitro and in vivo considerations of a novel matrix-controlled bovine progesterone-releasing intravaginal device. Journal of Pharmacy Science, v. 66, p. 816-818, 1977.

WHISNANT, C. S.; BURNS, P. J. Evaluation of steroid microspheres for control of estrus in cows and induction of puberty in heifers. Theriogenology, v. 58, n. 6, p. 1229-1235, 2002.

4.2 Artigo 2

Injectable progesterone for estrus and ovulation induction in seasonal anestrous ewes

Camila Amaral D'Avila; Fabiane Pereira de Moraes; Andrez Pastorello Bohn; Monique Tomazele Rovani; Arnaldo Diniz Vieira; Rogério Ferreira; José Nélio de Sousa Sales; Hernan Baldassarre; Rafael Gianella Mondadori; Paulo Bayard Dias Gonçalves; Bernardo Garziera Gasperin

Publicado na revista Livestock Science, v. 265, Article 105097, 2022.

Injectable progesterone for estrus and ovulation induction in seasonal anestrous ewes

Camila Amaral D'Avila[1] (https://orcid.org/0000-0002-8390-6216), Fabiane Pereira de Moraes[1] (https://orcid.org/0000-0003-2502-4108), Andrez Pastorello Bohn[1] (https://orcid.org/0000-0003-3816-8725), Monique Tomazele Rovani[2] (https://orcid.org/0000-0001-8257-3635), Arnaldo Diniz Vieira[1] (https://orcid.org/0000-0001-6410-2354), Rogério Ferreira[3] (https://orcid.org/0000-0003-1349-7821), José Nélio de Sousa Sales[4] (https://orcid.org/0000-0002-8217-755X) , Hernan Baldassarre[5] (https://orcid.org/0000-0002-7781-303X), Rafael Gianella Mondadori[1,6] (https://orcid.org/0000-0003-0578-8469), Paulo Bayard Dias Gonçalves[7] (https://orcid.org/0000-0002-0671-1466), Bernardo Garziera Gasperin[1]* (https://orcid.org/0000-0002-3715-2345)

[1] Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Campus Universitário, 96010-900, Capão do Leão, RS, Brasil. [2] Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil, [3] Faculdade de Zootecnia, Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), Chapecó, RS, Brasil, [4] Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG, Brasil, [5] Faculty of Agricultural and Environmental Sciences, McGill University, Sainte-Anne-de-Bellevue, Qc, Canada, [6] Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), [7] Universidade Federal do Pampa, Campus Uruguaiana, RS, Brasil.

*Corresponding author's present address:

Programa de Pós-graduação em Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Veterinária. Postal code: 96160-000

Capão do Leão, RS, Brasil. Tel.: +55 53 3275 7188

E-mail: bernardo.gasperin@ufpel.edu.br

Acknowledgements

The authors are thankful to the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS – Edital PRONEX 12/2014-FAPERGS/CNPq, 16/2551-0000494-3; and Edital FAPERGS 06/2021 – RITEs-RS, 22/2551-0000391-5) for financial support. This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001. The authors also thank Centro Agropecuário da Palma – UFPel for housing the animals.

Abstract

We evaluated, for the first time, the effects of long-acting injectable progesterone (iP4) for estrus induction in ewes during non-breeding season. To evaluate the serum P4 curve induced by the application of iP4 in sheep and the effect of its use prior to the cyclicity induction protocol, for Experiment 1, 39 ewes were allocated into three groups: no-treatment, control (n=14); 37.5 mg of iP4 im (iP4 37.5, n=13), and 75 mg of iP4 im (iP4 75, n=12). Progesterone (P4) dosage in a subset of animals (5 per group) showed the highest progesterone level at 48h and reduction to basal levels 10 days after injection, when all females received an intravaginal device (IVD) containing 60 mg of medroxyprogesterone acetate (MPA) that remained for 11 days. At withdrawal the animals received 400 IU of eCG im, and rams remained for three days with ewes. On days 6 and 12 after IVD removal, blood samples were collected from a subset (n=5 per group) of ewes that manifested estrous. iP4 75 group had lower luteal P4 concentration, and lower conception rate (35 days after mating) when compared to the other

groups. To evaluate the possibility of replacing IVD with iP4, on experiment 2, 36 ewes were allocated into two treatments: control (n=10), IVD for nine days and 300 IU of eCG at withdrawal; and iP4 75 (n=26) 75 mg of iP4 im and, after 9 (n=13) or 10 (n=13) days, animals were injected with 300 IU of eCG. Estrus manifestation and conception rates were lower in groups treated with iP4. Eleven days after estrus, 93.3% of a subset of animals (5 from control and 10 from iP4 75) exhibited P4 concentrations above 1ng/mL, indicating ovulations. In conclusion, the injection of 75 mg of long acting iP4 maintained levels above 1 ng/mL for at least 7 days, and negatively affected P4 luteal concentration and conception rate after a subsequent cyclicity induction protocol. Treatment with 75 mg of iP4 associated to eCG is suitable for inducing ovulations, although inhibits estrus manifestation.

Keywords: anestrus, long-acting progesterone, sheep, ovulation.

1 Introduction

The Brazilian sheep herd has been increasing throughout the years. In 2005, Brazil had an effective population of 15.6 million sheep and, in 2019, the number of animals increased to 19.7 million (IBGE, 2020). Furthermore, there has been an increase in lamb consumption, highlighting the importance of reproductive biotechnologies that allow the manipulation of the estrous cycle and, consequently, maximize meat production for efficient market supply.

In subtropical regions, ewes are seasonal polyestrous, and the reproductive stimulus occurs when day-light hours decrease. Therefore, these animals need hormonal stimulation to restore cyclicity outside the breeding season. The association of progesterone (P4) or other progestogens with gonadotrophins is effective for inducing and synchronizing estrus and ovulation in ewes (Simonetti et al., 1999; Menchaca and Rubianes, 2004). Progesterone controls the secretion of luteinizing hormone (LH) (Hansel and Convey, 1983), suppressing estrus and ovulation during the breeding season. During anestrus or transition period, P4

priming is necessary for the full expression of the positive feedback of estradiol on GnRH secretion (Caraty and Skinner, 1999). The administration of gonadotrophins, such as equine chorionic gonadotrophin (eCG), by the end of the treatment with P4 or progestogens, results in more precise synchronizations, by stimulating follicular development, steroidogenesis, and ovulation (Simonetti et al., 1999).

Progesterone administration is commonly performed through vaginal route by using silicon intravaginal devices (IVD) containing natural progesterone or polyurethane sponges impregnated with medroxyprogesterone acetate (MPA) or fluorogestone acetate (FGA). More recently, commercial formulations of long-acting injectable progesterone (iP4) were available. These injectable progesterone compounds have advantages for consideration including lower cost, the elimination of IVD-loss risks and the avoidance of disposing plastic and silicon materials into the environment. It has been already demonstrated that iP4 is effective in synchronization protocols (Morotti et al., 2013; Campos et al., 2016) and puberty induction in cattle (de Lima et al., 2020); however, there are few reports of its use in ewes (Daniel et al., 2001) and ewe-lambs (Monteiro et al., 2010).

In cattle, the administration of iP4 (150 mg) before IVD insertion for FTAI conventional protocols increased the diameter of the ovulatory follicle in suckling cows (Simoes et al., 2018), and increased uterine score, diameter of the largest follicle and pregnancy rate in prepubertal heifers (de Lima et al., 2020). Considering the scarcity or absence of data regarding the use of iP4 in sheep, the objective of this study was to evaluate the effects of long acting iP4 for estrus and ovulation induction in ewes during non-breeding season. The specific objectives were: 1) to determine the serum concentration curve of long-acting iP4 following injection during seasonal anestrus; 2) to test the hypothesis that a previous exposure to iP4 improves the ewes' response to a conventional cyclicity induction protocol (MPA and eCG); and 3) to test the

efficacy of cyclicity induction in anestrus ewes replacing the currently available IVDs with injectable progesterone.

2 Material and Methods

All procedures involving animals were approved by the Ethics Committee on Animal Experimentation of UFPel (CEEA; n. 31587/2020). The experiments were conducted in an experimental farm (31°48'09.7"S 52°30'56.2"W), from August to December (Winter and Spring in the southern hemisphere).

2.1 Experiment 1

Thirty-nine cross-bred Corriedale and Texel ewes in seasonal anestrus, confirmed by P4 serum concentrations below 1 ng/mL (Minton et al., 1991), were selected ten days before the beginning of treatments (D-10). On the first day of treatment (Day 0 of hormonal protocol), females were allocated into three groups: control (n=14), that did not receive iP4; group iP4 37.5 (n=13), that was treated with 37.5 mg of long acting iP4 (Sincrogest®, Ourofino, Cravinhos, Brazil) im; and group iP4 75 (n=12), that was treated with 75 mg of iP4 im. Ten days later (D10), all animals received an IVD impregnated with 60 mg of MPA, which was inserted for 11 days (until D21). At IVDs withdrawal all animals were treated with 400 IU of eCG (Novormon®, Zoetis, São Paulo, Brazil) im. From D23 to D25, ewes were exposed to sexually mature rams (1 every 10 ewes) with known fertility, to evaluate estrus, conception, and pregnancy rates (Figure 1A). Rams were equipped with marking harnesses. The recording of marked ewes was performed every 12 hours. Serum concentrations of P4 were determined on D0, D2, D4, D7, D10, and D15 of the hormonal protocol in a subgroup of animals treated with iP4 (n = 5/group) and on D0 and D10 in animals from control group (n = 5). Afterwards, in the females that displayed estrus, the concentration of P4 was determined on days 6 and 12 (D+6 and D+12) of the estrous cycle, after estrus confirmation (Day 0 of the cycle; D0 C).

Blood samples were collected by venipuncture of jugular vein by using vacuum tubes, that were centrifuged (1500 x g) to separate serum. Serum concentration of P4 was analyzed through the chemiluminescence method in a private laboratory (ADVIA Centaur Systems Progesterone Kit; Siemens; Ref. 01586287; sensitivity of 0.21 ng/mL) with intra and inter-assay values lower than 12%. Pregnancy diagnosis was performed 30 days after male exposure, through transrectal ultrasound (A5V, SonoScape Medical Corp) coupled to a 5 MHz linear probe. Pregnancy and conception rates were calculated using data of pregnant ewes over total of animals and pregnant ewes over the number of ewes mated by rams, respectively.

2.2 Experiment 2

During non-breeding season, 36 cross-bred Corriedale and Texel ewes were randomly allocated into two treatments: control group (n=10), that received IVD (60 mg MPA) for 9 days and, at the moment of IVD withdrawal, 300 IU of eCG (Novormon® Zoetis, Brazil) im; and iP4 75 (n=26), that received 75 mg of iP4 (Sincrogest®, Ourofino, Brazil) im and, on D9, based on the P4 curve obtained in Experiment 1 (Figure 2), the ewes were allocated into two subgroups (n=13/group): iP4 75 D9 and iP4 75 D10, which were treated with 300 IU of eCG im on D9 or D10, respectively. From D11 to D13, all ewes remained with rams (n=4) (Figure 1B) with known reproductive capacity to evaluate estrus, conception and pregnancy rates, as described in experiment 1. Also, the recording of marked ewes was performed every 12 hours. Eleven days after estrus manifestation in control group (D+11), blood samples were collected from a random subgroup of animals (n=5/group) to evaluate progesterone concentration, as described in Experiment 1. Pregnancy diagnosis was performed around 40 days after mating, as previously described.

2.3 Statistical analysis

The curve of iP4 concentration along the time was analyzed using mixed models for repeated data. Treatment, time and the interaction between both were used as the main effects

of the model. Differences between groups in specific moments were determined by Student's T post-hoc test, using least square corrected means (LSmeans). The banded main diagonal was used as covariance structure due to its lower value of Akaike Information Criterion (AIC) and restricted maximum likelihood (REML) as estimation method. In experiment 1, P4 concentrations after ovulation were analyzed by Student's T test for paired data, using ewe as the experimental unity. Estrus, conception, and pregnancy rates were compared through chi-square test. In the experiment 2, P4 concentrations were compared by ANOVA. Continuous data and residues of each model were tested for normality using Shapiro-Wilk's Test and homoscedasticity was tested by Levene test. The analyses were carried out using the SAS statistics package (SAS Institute Inc., Cary, NC). For all analyses, $P<0.05$ was considered as statistically significant.

3 Results

3.1 *Experiment 1*

The highest concentration of iP4 was observed 48h after administration, which was at 2.5±0.5 and 4.0±0.7 ng/mL for iP4 37.5 and iP4 75, respectively. There was a significant difference between groups on day 4 (1.3±0.2 and 2.1±0.2 ng/mL for iP4 37.5 and iP4 75, respectively). On day 7, the concentrations were 0.75±0.1ng/mL and 1.0±0.1 ng/mL for iP4 37.5 and iP4 75, respectively ($P<0.05$). A reduction to basal concentrations was observed 10 days after treatment (Figure 2). Fifteen days after the administration of treatments, two ewes from iP4 37.5 exhibited P4 concentrations above 2 ng/mL (data not shown), which indicated ovulations between the treatment with iP4 (D0) and IVD insertion (D10).

After IVD withdrawal and estrus manifestation, ewes from iP4 75 exhibited lower concentrations of serum P4 on D+6 and D+12 (6 and 12 days after estrus), which were 6.5±1.4 and 11.5±1.4 ng/mL, respectively, differing from control and iP4 37.5 groups (Figure 3)

(P<0.01). The control and iP4 37.5 groups did not differ on P4 concentration 6 and 12 days after estrus: 10.5 and 16.9±1 for control; and 9.0±1.3 and 14.8±1.3 ng/mL for iP4 37.5. Estrus manifestation and pregnancy rate did not differ among groups; however, the iP4 75 group had lower conception rate when compared to other groups (Table 1; P<0.05).

3.2 Experiment 2

Whereas the statistical analysis revealed no significant difference between groups iP4 75 D9 and iP4 75 D10 regarding estrus, pregnancy and conception rates, results of both groups were combined as single iP4 group. The estrus manifestation rate was lower (P<0.001) in iP4 groups (26.9%; 7/26) when compared to control (90%; 9/10) (Table 2). Conception rate was also lower (P=0.048) in the animals that received iP4. Serum P4 concentration eleven days after estrus, based on estrus manifestation in the control group, revealed no significant difference among groups. The concentrations of P4 observed in ewes treated with IVD (control), iP4 75 D9 and iP4 75 D10 were 7.0±0.8, 8.5±1.2 and 6.2±0.2 ng/mL, respectively (P>0.05). Regardless the group, 14 out of 15 ewes had progesterone concentration above 1ng/mL, indicating that 93.3% of the ewes ovulated (Figure 4).

4 Discussion

The present study assessed, for the first time, the curve of serum concentration of an iP4 formulation in ewes. Our main findings were: 1) treatment with 37.5 or 75 mg of iP4 in anestrous ewes result in serum iP4 concentrations above 1 ng/mL for at least four and seven days, respectively; 2) administration of 75 mg of iP4 prior to the conventional treatment for cyclicity induction negatively impact conception, estrus and pregnancy rates; 3) treatment with 75 mg of iP4 associated to eCG induced ovulations, although estrus manifestation was inhibited.

The iP4 doses used in the present study led to serum iP4 concentrations above 1 ng/mL for at least 4 days, which is enough to prevent estrus and ovulation and suggest a potential alternative use to the IVDs. Interestingly, 48 h after treatment, iP4 concentration was 4.0±0.7 ng/mL in iP4 75 group, which was similar to those reported 48 h after insertion of a new or once-used CIDR in anestrus ewes (Pinna et al., 2012). However, our data suggests that the decrease in iP4 concentration is more abrupt compared to IVD (Pinna et al., 2012). Therefore, it would be necessary to compare the patterns of P4 concentration after iP4 administration and IVD insertion on the same conditions.

The treatment with iP4 prior to the conventional treatment for cyclicity induction negatively impact conception, estrus and pregnancy rates. Although it has been described that a single short-action iP4 injection combined with male exposure is able to induce cyclicity in anestrus ewes (Daniel et al., 2001), to our knowledge, there are no reports in the literature of iP4 administration previous to a conventional estrus induction protocols with IVD in sheep. However, in cattle, when iP4 is used at a dose of 150 mg ten days before IVD insertion for FTAI conventional protocol (IVD with 1g of P4 for 8 days), the circulating concentrations of iP4 observed were above 1.5 ng/mL up to seven days after treatment. Moreover, an increase in the diameter of the ovulatory follicle, without interfering in the ovulation rate, was observed (Simoes et al., 2018). Another study conducted with heifers, in which 150 mg of iP4 was administered and afterward a standard protocol with IVD (1g of P4) was performed, it was observed that there was an increase in the uterine score and the diameter of the largest follicle in the group treated with iP4. Furthermore, there was a general increase in the pregnancy rate, demonstrating the effectiveness of iP4 in hasting puberty (de Lima et al., 2020). Thus, future studies are necessary to evaluate whether iP4 is effective in hastening ewe-lambs puberty.

Interestingly, the treatment with 75 mg of iP4 prior to a conventional protocol of estrus induction led to a decrease in the luteal concentrations of P4 and conception rate. It has been

demonstrated that long periods of treatment with progestogen were associated to an increase in ovulatory follicle diameter, which was negatively associated to pregnancy rate (Vinoles et al., 2001). In short-term treatments with IVD, there is greater ovulation of healthy "young" follicles and, consequently, greater fertility. The opposite occurs with long-term IVD treatments, probably due to the ovulation of aged oocytes with lower viability (Vinoles et al., 2001; Menchaca and Rubianes, 2004). It is proposed that ewes that received the highest dose of iP4 remained for a long time under the effect of P4, considering the exposure to iP4 and IVD combined, which may have negatively affected preovulatory follicle viability. This could explain the lower concentrations of luteal P4 and the lower conception rate.

In a study in which the ewes were treated with two injections of 200 mg iP4 dissolved in corn oil (product not commercially available), prior to prostaglandin injection, it was suggested that iP4 may be used as a low cost and effective method to synchronize estrus and reduce lambing interval (Knights et al., 2011). In the current study, the administration of 75 mg iP4 associated to eCG 8 (data not shown), 9, or 10 days later, was not efficient in inducing and synchronizing estrus. In the last experiment of the current study, in groups treated with 75 mg of iP4, the serum concentrations of P4 were similar to control group eleven days after estrus manifestation, which indicates that, although the females treated with iP4 did not manifest estrus, they have ovulated. These animals may have been submitted to a very long period of P4 exposure, which may have negatively affected preovulatory follicles viability, decreasing estradiol secretion and, consequently, inhibiting estrus behavior. Estrus does not occur up to the moment in which P4 concentrations decline to about 1 ng/mL in plasma (Stabenfeldt et al., 1969; Johnson et al., 1996).

Although the concentration curves of serum P4 after iP4 in Experiment 1 suggested basal concentrations around seven days after treatment, the administrations of iP4 associated to eCG did not enable estrus rates similar to the control group. The association between

progestogen and eCG increases the response of ewes to synchronization of estrus, reducing the interval between implant withdrawal and ovulation (Greyling and Brink, 1987). The action of eCG on follicular development may be influenced by the timing of its administration (Ali, 2007; Murphy, 2012). It was expected that the administration of eCG would reverse eventual inhibitory effects caused by residual iP4 on follicular growth when injected on days 8, 9, or 10 of the protocol. However, it is likely that the animals ovulated without manifestation of estrus, or that estrus and ovulation were delayed due to residual concentrations of iP4. Regrettably, ovulation was not assessed in this study. Thus, future experiments should focus on the best interval between iP4 and eCG administration.

The control group, which received standard IVD + eCG protocol, had better reproductive performance. Several studies have demonstrated that IVDs are effective in synchronizing estrus in ewes. The use of IVDs impregnated with 60 mg of MPA during 14 days and the administration of 375 IU of eCG at withdrawal enabled 92% of females to exhibit estrus in less than 72h (Simonetti et al., 1999). In the current study, similar results in the rate of estrus manifestation were obtained in control group treated with IVD impregnated with 60 mg of MPA.

5 Conclusion

Long-acting injectable progesterone allows obtaining progesterone concentrations above 1 ng/mL for at least four days, suggesting a possible alternative to IVD use in ewes. The administration of 37.5 and 75 mg iP4 to anestrus ewes prior to a standard IVD + eCG protocol did not increase ewe's response, whereas the higher iP4 dose seemed to negatively affect reproductive parameters. The treatment with 75 mg of iP4 associated to eCG was not effective in inducing and synchronizing estrus in the conditions tested in this study, although ovulations occurred. Further studies are necessary to assess different dosages and intervals between

administration of iP4 and eCG and the viability of using iP4 in timed artificial insemination protocols and during the breeding season.

6 Conflict of Interest Statement

The authors declare no conflicts of interest.

7 References

Ali, A., 2007. Effect of time of eCG administration on follicular response and reproductive performance of FGA-treated Ossimi ewes. Small Ruminant Research 72, 33-37.

Campos, J.T., Morotti, F., Costa, C.B., Bergamo, L.Z., Seneda, M.M., 2016. Evaluation of pregnancy rates of Bos indicus cows subjected to different synchronization ovulation protocols using injectable progesterone or an intravaginal device. Semina: Ciências Agrárias 37, 4149-4155.

Caraty, A., Skinner, D.C., 1999. Progesterone Priming Is Essential for the Full Expression of the Positive Feedback Effect of Estradiol in Inducing the Preovulatory Gonadotropin-Releasing Hormone Surge in the Ewe. Endocrinology 140, 165-170.

Daniel, J.A., Sterle, S.W., McFadin-Buff, E.L., Keisler, D.H., 2001. Breeding ewes out-of-season using melengestrol acetate, one injection of progesterone, or a controlled internal drug releasing device. Theriogenology 56, 105-110.

de Lima, R.S., Martins, T., Lemes, K.M., Binelli, M., Madureira, E.H., 2020. Effect of a puberty induction protocol based on injectable long acting progesterone on pregnancy success of beef heifers serviced by TAI. Theriogenology 154, 128-134.

Greyling, J., Brink, W., 1987. Synchronization of oestrus in sheep: The use of controlled internal drug release (CIDR) dispensers. South African Journal of Animal Science 17, 128-132.

Hansel, W., Convey, E.M., 1983. Physiology of the estrous cycle. J Anim Sci 57 Suppl 2, 404-424.

IBGE, 2020. Tabela 3939: Efetivo dos rebanhos, por tipo de rebanho. Pesquisa da Pecuária Municipal. Disponível em:< https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9107-producao-da-pecuaria-municipal.html>. Acesso em: 10 dez. 2020.

Johnson, S.K., Dailey, R.A., Inskeep, E.K., Lewis, P.E., 1996. Effect of peripheral concentrations of progesterone on follicular growth and fertility in ewes. Domest Anim Endocrinol 13, 69-79.

Knights, M., Ramgattie, R., Siew, N., Singh-Knights, D., Bourne, G., 2011. Effectiveness of a short-term treatment with progesterone injections on synchrony of lambing and fertility in tropical hair sheep. Anim Reprod Sci 126, 70-75.

Menchaca, A., Rubianes, E., 2004. New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. Reprod Fertil Dev 16, 403-413.

Minton, J., Coppinger, T., Spaeth, C., Martin, L., 1991. Poor reproductive response of anestrous Suffolk ewes to ram exposure is not due to failure to secrete luteinizing hormone acutely. Journal of Animal Science 69, 3314-3320.

Monteiro, C., Bicudo, S., Toma, H., Biscarde, C., Oliveira, T., Falleiros, M., Bicudo, L., Magalhães, L., 2010. Medroxyprogesterone acetate or long-acting progesterone in the biostimulation of lambs. Italian Journal of Animal Science 9, 344-347.

Morotti, F., Campos, J.T., Seneda, M.M., 2013. Fixed-time artificial insemination using injectable progesterone: ovarian follicular dynamics and pregnancy rates of Nelore cows (Bos indicus) with and without a corpus luteum. Semina: Ciências Agrárias 34, 3867-3875.

Murphy, B., 2012. Equine chorionic gonadotropin: an enigmatic but essential tool. Animal Reproduction (AR) 9, 223-230.

Pinna, A., Brandão, F., Cavalcanti, A., Borges, A., Souza, J., Fonseca, J., 2012. Reproductive parameters of Santa Inês ewes submitted to short-term treatment with re-used progesterone devices. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia 64, 333-340.

Simoes, L.M.S., Orlandi, R.E., Massoneto, J.P.M., Scandiuzzi, L.A., Jr., Freitas, B.G., Bastos, M.R., Souza, J.C., Sales, J.N.S., 2018. Exposure to progesterone previous to the protocol of ovulation synchronization increases the follicular diameter and the fertility of suckled Bos indicus cows. Theriogenology 116, 28-33.

Simonetti, L., Ramos, G., Gardón, J.C., 1999. Estrus presentation and distribution in ewes treated with intravaginal sponges impregnated with medroxyprogesterone acetate (MAP) in combination with pregnant mare serum gonadotropin (PMSG). Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science 36, 00-00.

Stabenfeldt, G.H., Holt, J.A., Ewing, L.L., 1969. Peripheral plasma progesterone levels during the ovine estrous cycle. Endocrinology 85, 11-15.

Vinoles, C., Forsberg, M., Banchero, G., Rubianes, E., 2001. Effect of long-term and short-term progestagen treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. Theriogenology 55, 993-1004.

FIGURE LEGENDS

Fig. 1 Experimental design of experiments 1 (A) and 2 (B). D, day; MPA, medroxyprogesterone acetate; eCG, equine chorionic gonadotrophin; P4, progesterone exposure; IVD, intravaginal device. In experiment 1, serum concentrations of P4 were determined on D0, D2, D4, D7, D10, and D15 of the hormonal protocol in a subgroup of animals treated with iP4 (n = 5/group) and on D0 and D10 in animals from control group (n = 5). Afterwards, in the females that displayed estrus between D23 and D25, the concentration of P4 was determined on days 6 and 12 (D+6 and D+12) of the estrous cycle, after estrus confirmation (Day 0 of the cycle; D0 C).

Fig. 2 Serum concentration of progesterone (P4; ng/mL) on days 0, 2, 4, 7, and 10 after treatments on the following groups (n = 5/group): control, that did not receive injectable progesterone (iP4); group iP4 37.5, that received an intramuscular injection of 37.5 mg of long acting iP4 (Sincrogest®, Ourofino, Brazil); and group iP4 75, that received an IM injection of 75 mg of iP4.

Fig. 3 Concentration of serum progesterone (ng/mL) on days 6 (D+6) and 12 (D+12) of the estrous cycle (estrus = day 0 of the cycle). The treatments administered to control, injectable progesterone (iP4) 37.5, and iP4 75 were conducted 10 days before IVD insertion, that was withdrawn 11 days later, simultaneously to the administration of 400 IU of eCG. *The iP4 75 group had lower concentration than control (P<0.001) and iP4 37.5 (P<0.05) groups.

Fig. 4 Concentration of endogenous serum progesterone (ng/mL; n=5/group) eleven days after estrus onset in control group. Ewes were randomly allocated in: control group, that received IVD (60 mg MPA) for 9 days and, at the moment of IVD withdrawal, 300 IU if eCG; and iP4 75, that received an IM injection of 75 mg of iP4 and, on D9, the ewes were allocated into two

subgroups: iP4 75 D9 and iP4 75 D10, which received an IM injection of 300 IU of eCG on D9 or D10, respectively.

Figure 1

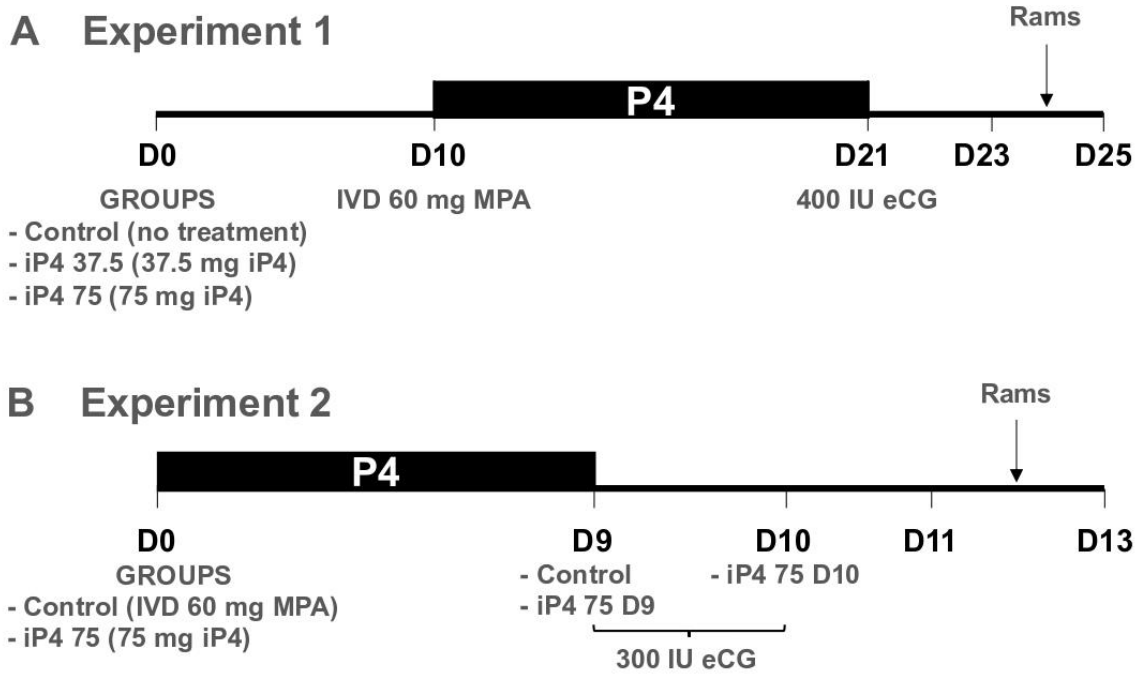
A Experiment 1
Rams
P4
D0
D10
D21
D23
D25
GROUPS
IVD 60 mg MPA
400 IU eCG
- Control (no treatment)
- iP4 37.5 (37.5 mg iP4)
- iP4 75 (75 mg iP4)
B Experiment 2
Rams
P4
D0
D9
D10
D11
D13
GROUPS
- Control
- iP4 75 D10
- Control (IVD 60 mg MPA)
- iP4 75 (75 mg iP4)
- iP4 75 D9
300 IU eCG

Figure 2

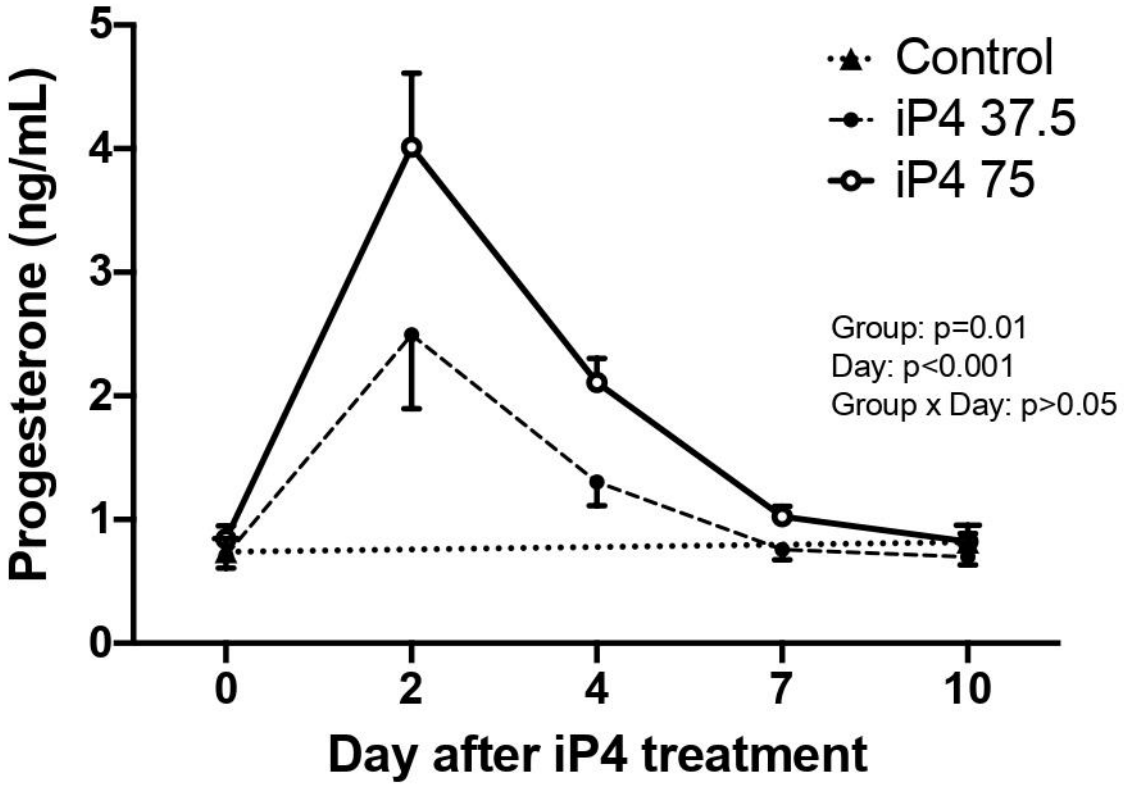
Progesterone (ng/mL)
5
4
3
2
1
0
0
2
4
7
10
Day after iP4 treatment
Control
iP4 37.5
iP4 75
Group: p=0.01
Day: p<0.001
Group x Day: p>0.05

Figure 3

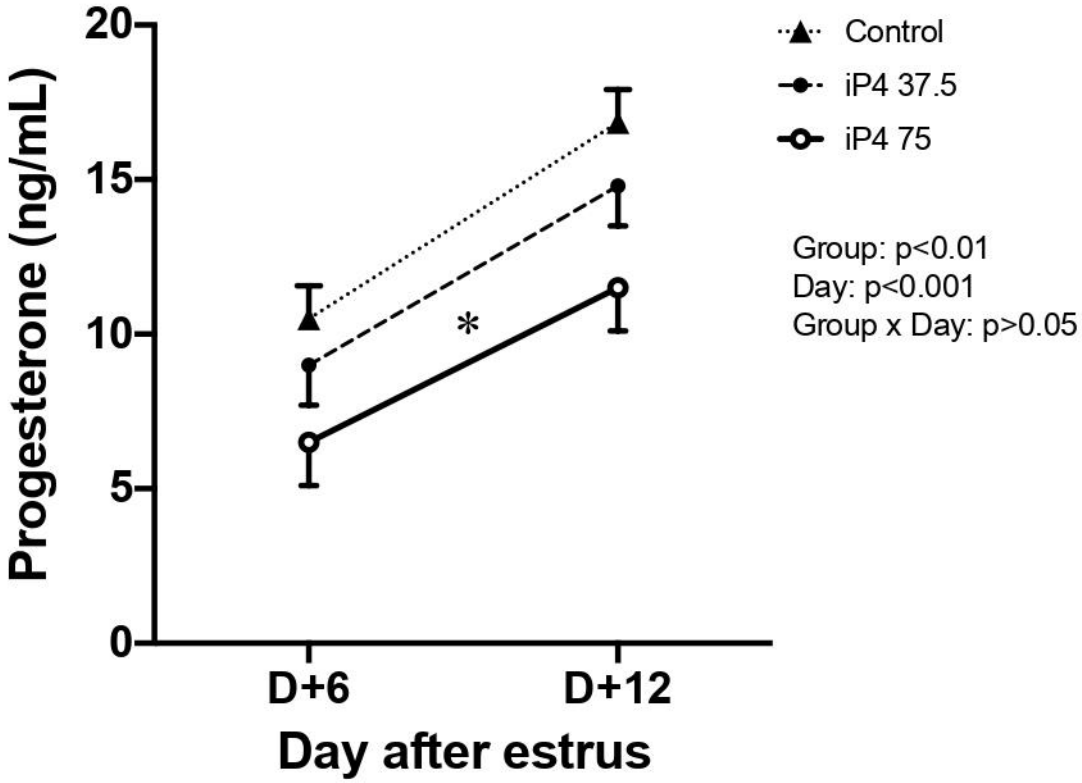
Progesterone (ng/mL)
20
15
10
5
0
D+6
D+12
Day after estrus
*
Control
iP4 37.5
iP4 75
Group: p<0.01
Day: p<0.001
Group x Day: p>0.05

Figure 4

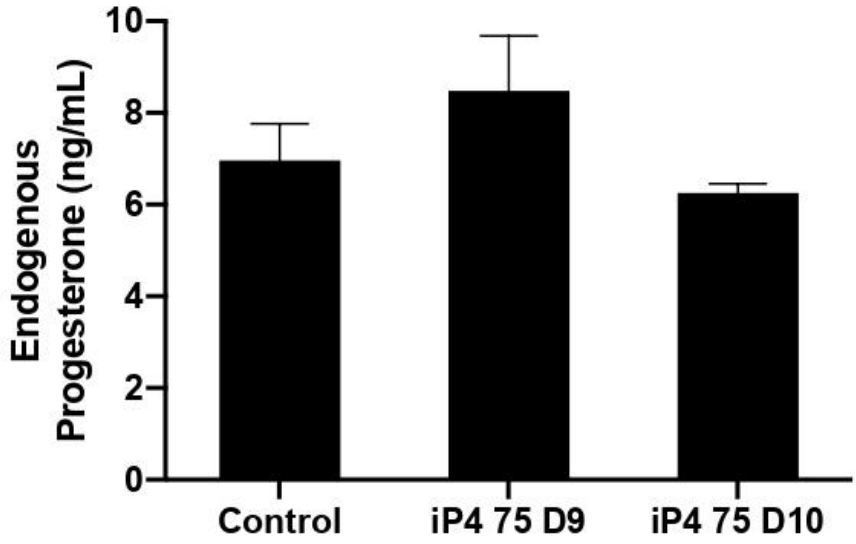
Endogenous Progesterone (ng/mL)
10
8
6
4
2
0
Control
iP4 75 D9
iP4 75 D10

Table 1. Body weight, estrus, pregnancy, and conception rates of ewes treated or non-treated with iP4 prior to cyclicity induction protocol during seasonal anestrus (Exp. 1). The proportions in the different groups were compared through the chi-square test.

Group	**n**	**Body Weight (kg)**	**Estrus rate (%)**	**Pregnancy rate (%)**	**Conception rate (%)**
Control	14	52.1±1.9	78.6	71.4	90.9 [a]
iP4 37.5	13	51±2	69.2	61.5	88.9 [a]
iP4 75	12	49.8±1.8	75.0	33.3	44.4 [b]
***P*-Value**		>0.05	>0.05	>0.05	0.03

Distinct letters indicate a significant difference ($P<0.05$).

Table 2. Body weight, estrus, pregnancy, and conception rates of ewes submitted to cyclicity induction protocol during seasonal anestrus with intravaginal device impregnated with 60 mg of MPA or 75 mg of iP4 (Exp. 2). All the ewes received 300IU eCG on D9 (eight days after IVD insertion or iP4 administration) or D10 (10 days after iP4 administration). Considering that there was no significant difference between groups that received iP4 (iP4 75 D9 and iP4 75 D10), results were combined. The proportions in the different groups were compared through the chi-square test.

Group	**n**	**Body weight (kg)**	**Estrus rate (%)**	**Pregnancy rate (%)**	**Conception rate (%)**
Control	10	48	90	80	88.9
iP4 75	26	46.57	26.9	11.5	42.9
***P*-Value**		>0.05	<0.001	<0.0001	0.05

5 Considerações Finais

A busca por protocolos hormonais inovadores, com menor custo, menos mão de obra e menor impacto ambiental é necessária. A progesterona injetável de ação prolongada permite obter concentrações de progesterona acima de 1 ng/mL por pelo menos quatro dias. Desse modo, sugere-se uma possível alternativa ao uso de dispositivos intravaginais de progesterona em ovelhas, porém a dose utilizada de 75 mg associada ao eCG não foi eficiente na indução e sincronização do estro mesmo tendo ocorrido ovulações. Desta forma, não se recomenda a substituição de implantes intravaginais por progesterona injetável. Porém, devido a elevação de níveis séricos e manutenção por certo período após aplicação, sugere-se a possibilidade de utilização como pré estimulação.

Salienta-se a importância do ajuste aos protocolos atuais, visando sempre o bem-estar animal e os cuidados com o meio ambiente. Os estudos na espécie bovina apresentam-se mais numerosos e avançados. Sendo assim, mais análises associando P4i com dinâmica folicular, inseminação artificial em tempo fixo, e até o uso de outras gonadotrofinas devem ser consideradas. Mais estudos *in vivo* avaliando a dosagem e intervalos de aplicação de P4i são necessários.

Referências

ABECIA, J. A.; FORCADA, F.; GONZÁLEZ-BULNES A. Hormonal controlo of reproduction in small ruminants. **Animal Reproduction Science**, v. 130, p. 173-179, 2012.

ADEYEMO, O.; HEATH, E. Plasma progesterone concentration in Bos Taurus and Bos indicus heifers. **Theriogenology**, v. 14, n. 6, p. 411-420, 1980.

ALMEIDA, A. K.; MARTINS, L. E. P.; BISCARDE, C. E. A.; NEVES, T. A.; CHALHOUB, M.; RIBEIRO FILHO, A. L.; BRINGEL, B. A.; DOUGLAS, R. H.; GUSMÃO, A. Concentração sérica de progesterona em ovelhas ovariectomizadas tratadas com progesterona de longa ação (P4-LA). **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 33, p. 242, 2005.

ALVARADO-ESPINO, A. S.; MENCHACA, A.; MEZA-HERRERA, C. A.; MELLADO, M.; ARELLANO, F.; VÉLIZ, F. Use of injectable progesterone and hCG for fixed-time artificial insemination during the non-breeding season in goats. **Theriogenology**, v. 127, p. 21-25, 2019.

ALVES, N. G.; PEREIRA, M. N.; COELHO, R. M. Nutrição e reprodução em vacas leiteiras. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 6, p. 118-124, 2009.

BAIRD, D. T.; CAMPBELL, B. K.; MANN, G. E.; MCNEILLY, A. S. Inhibin and oestradiol in the control of FSH secretion in the sheep. **Journal of Reproduction and Fertility,** v. 43, p. 125-138, 1991.

BADINGA, L.; THATCHER, W. W.; WILCOX, C. J.; MORRIS, G.; ENTWISTLE, K.; WOLFENSOR, D. Effect of season on follicular dynamics and plasma concentrations of stradiol 17-beta, progesterone and luteinizing hormone in lacting Holstein cows. **Theriogenology**, v. 42, n. 8, p. 1263-1274, 1994.

BARROS, C. M.; DI STASI, L. C. **Farmacologia Veterinária**. 1.ed. Barueri: Manole, 2012, 596p.

BARUFI, F. B., MADUREIRA, E. H.; BARBUIO, J. P.; MIZUTA, K.; BINELLI, M.; ROSSA, L. A. F.; BARUSELLI, P. S. Sincronização do estro e da ovulação em bovinos de corte com Crestar, CIDR ou CIDR reutilizado, seguidos ou não pela administração de eCG. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 26, n. 3, p. 226-229, 2002

BINELLI, M. Estratégias anti-luteolíticas para a melhora da sobrevivência embrionária em bovinos. **Controle Farmacológico do Ciclo Estral em Ruminantes.** São Paulo: USP, 2000, p. 99-114.

BINELLI, M.; THATCHER, W. W.; MATTOS, R.; BARUSELLI, P. S. Antiluteolytic strategies to improve fertility in cattle. **Theriogenology**, v. 56, p. 1451-1463, 2001.

BÓ, G. A.; ADAMS, G. P.; PIERSON, R. A.; MAPLETOFT, R. J. Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. **Theriogenology,** v. 43, p. 31-40, 1995.

BÓ, G. A. L.; CUTAIA, L. Estado del en IATF: factores que afectan SUS resultados. Resúmenes de estúdios de reproducción animal. **Instituto de reproducción animal Córdoba (IRAC), Universidad Católica de Córdoba, Agencia Córdoba Ciencia**. 1998, 18p.

BRETANHA, I.; CARVALHO, C. V. D.; NASCIMENTO, M. C. Efeito da progesterona exógena injetável em protocolos de sincronização em ovinos. **PUBVET**, v. 13, n. 153, 2019.

CAMPOS, J. T.; MOROTTI, F.; COSTA, C. B.; BERGAMO, L. Z.; SENEDA, M. M. Evaluation of pregnancy rates of Bos indicus cows subjected to different synchronization ovulation protocols using injectable progesterone or an intravaginal device. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, n. 6, p. 4149-4155, 2016.

CARTER, F.; FORDE, N.; DUFFY, P.; WADE, M.; FAIR, T.; CROWE, M. A.; EVANS, A. C.; KENNY, D. A.; ROCHE, J. F.; LONERGAN, P. Effect of increasing progesterone concentration from Day 3 of pregnancy on subsequente embryo survival and development in beef heifers. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 20, p. 368-375, 2008.

CARVALHO, L. R.; SIMÕES, L. M. S.; LEMOS, L. A.; VICENTE, M. P.; SOUZA, S. V.; JUNIOR, W. A. G.; SALES, J. N. S. Use of injectable progesterone to replace the intravaginal progesterone device on the ovulation synchronization protocol reduces the pregnancy rate in Bos indicus cows. **Theriogenology**, v. 195, p. 55-61, 2023.

CASTILHO, C.; ALMEIDA, M. F. D.; COSTA, M. Z.; DE CESARE, Â. G.; GABRIEL FILHO, L. R. D. A. Protocols of estrus induction and synchronization in ewe. **Ciência Animal Brasileira**, v. 14, n. 1, p. 91-97, 2013.

CEREZETTI, M. B.; BERGAMO, L. Z.; COSTA, C. B.; DA SILVA, C. B.; SENEDA, M. M. Alternativas para substituição do uso de implantes vaginais de progesterona na inseminação artificial em tempo fixo em bovinos. **Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública**, v. 6, n. 2, p. 416-433, 2019.

COLAZO, M. G.; KASTELIC, J. P.; WHITTAKER, P. R.; GAVAGA, Q. A.; WILDE, R.; MAPLETOFT, R. J. Fertility in beef cattle given a new or previously used CIDR insert and estradiol, with or without progesterone. **Animal Reproduction Science**, v. 81, p. 25-34, 2004.

CONTRERAS-SOLÍS, I.; VASQUEZ, B.; DIAZ, T.; LETELIER, C.; LOPEZ-SEBASTIAN, A.; GONZALEZ-BULNES, A. Efficiency of estrous synchronization in tropical sheep by combining short-interval cloprostenol-based protocols and “male effect”. **Theriogenology**, v. 71, p. 1018-1025, 2009.

CORRÊA, Rafael Rodrigues. **Efeitos da progesterona exógena na produção in vitro de embriões em novilhas Nelore pré-púberes**. 2015. 81p. Tese (Doutorado em Reprodução Animal), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2015.

DANIEL, J.; STERLE, S. W.; MCFADIN-BUFF, E.; KEISLER, D. H. Breeding ewes out-of-season using melengestrol acetate, one injection of progesterone, or a controlled internal drug releasing device. **Theriogenology**, v. 56, n. 1, p. 105-10, 2001.

DE LIMA, R. S.; MARTINS, T.; LEMES, K. M.; BINELLI, M.; MADUREIRA, E. H. Effect of a puberty induction protocol based on injectable long acting progesterone on pregnancy success of beef heifers serviced by TAI. **Theriogenology,** v. 154, p. 128-134, 2020.

EMBRAPA. Embrapa Caprinos e Ovinos. **CNA Brasil**, 2016. Disponível em:<http://www.diadecampo.com.br/arquivos/materias/%7B671913533104D%7D_Ativo_Ovinos_Caprinos.pdf.> Acesso em: 10 dez. 2020.

EVANS, A. C. O.; FLYNN, J. D.; QUINN, K. M.; BEARD, A. P. Ovulation of aged follicles does not affect embryo quality or fertility after a 14-day progestogen estrus synchronization protocol in ewes. **Theriogenology,** v. 56, n. 5, p. 932-936, 2001.

FERNANDES, M. S.; BERTÃO, C. L.; BORTOLUZZI, F. P.; HERCOLANI, C. Z.; SCHOPF, J.; DA SILVEIRA, G. J. M.; GUERREIRO, B. M.; DE FREITAS, B. G.; BUSS, V.; LEIVAS F. G.; MARTINI A.; PESSOA, G. A. Uso da progesterona injetável na indução da ciclicidade em novilhas pré-púberes: Maior escore de trato reprodutivo antecipa a prenhez durante a estação reprodutiva em novilhas de corte submetidas à IATF. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 43, n. 2, p. 374, 2019.

FONSECA, J. F. Estratégias para o controle do ciclo estral e superovulação em ovinos e caprinos. **Anais do Congresso Brasileiro de Reprodução Animal**, Goiânia, 2005.

GATTI, M.; UNGERFELD, R. Intravaginal sponges to synchronize estrus decrease sexual attractiveness in ewes. **Theriogenology**, v. 78, n. 8, p. 1796-9, 2012.

GONÇALVES, P. B. D.; FIGUEIREDO, J. R.; GASPERIN, B. G.; **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. 3.ed. São Paulo:Roca, 2021.

HAFEZ, B.; HAFEZ, E. S. E. **Reprodução Animal**. 7.ed. Barueri: Manole, 2004, 513p.

HAMRA, A. H.; McNALLEY, J. W.; MARCEK, J. M.; CARLSON, K. M.; WHEATON, J. E. Comparison of progesterone sponges, cronolone sponges and controlled internal drug release dispensers on fertility in anestrous ewes. **Animal Reproduction Science**, v. 18, p. 219-226, 1989.

HANSEL, W.; CONVEY, E. M. Physiology of the estrus cycle. **Journal of Animal Science**, v. 57, n. 3, p. 404-424, 1983.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em:<https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/ovino/br>. Acesso em: 20/12/2022.

KINDER, J. E.; KOJIMA, F. N.; BERGFELD, E. G.; WEHRMAN, M. E.; FIKE, K. E. Progestin and estrogen regulation of pulsatile LH release and development of persistent ovarian follicles in cattle. **Journal of Animal Science,** v. 74, p. 1424-1440, 1996.

KISER, P. F.; JOHNSON, T. J.; CLARK, J. T. State of the art in intravaginal ring technology for topical prophylaxis of HIV infection. **AIDS Reviews**, v. 14, p. 62-77, 2012.

KNIGHTS, M.; RAMGATTIE, R.; SIEW, N.; SINGH-KNIGHTS, D.; BOURNE, G. Effectiveness of a short-term treatment with progesterone injections on synchrony of lambing and fertility in tropical hair sheep. **Animal Reproduction Science,** v. 126, n. 1-2, p. 70-5, 2011.

MACIEL, C. P.; DE PINEDO JUNIOR, L.; OLIVEIR A, V. de P. Gestão de resíduos domésticos em uma propriedade rural no Município de Varre Sai, RJ**. Boletim do Observatório Ambiental Alberto Ribeiro Lamego**, v. 5, n. 2, p. 109-123, 2011.

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

MARTIN, G. B.; MILTON, J. T. B.; DAVIDSON, R. H.; HUNZICKER, G. E. B.; LINDSAY, D. R.; BLACHE, D. Natural methods for increasing reproductive efficiency in small ruminants. **Animal Reproduction** Science, v. 82-83, p. 231-245, 2004.

MARTINS, C. M.; CASTRICINI, E. S. C.; SÁ FILHO, M. F.; GIMENES, L. U.; BARUSELLI, P. S. Dinâmica folicular em novilhas e vacas Nelore (*Bos indicus*) tratadas com dispositivo intravaginal de progesterona novo ou reutilizado associado ou não à progesterona injetável. **Acta Scientiae Veterinariae,** v. 33, p. 227-227, 2005.

MEDALHA, A. G.; SOUZA, M. I. L.; SOUZA, A. S. D.; SÁ FILHO, O. G.; QUEIROZ, V. L. D.; COSTA FILHO, L. C. C. D. Evaluation of intravaginal progesterone device, in until three uses, in fixed-time artificial insemination in" *Bos indicus*" females. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 16, p. 458-469, 2015.

MENCHACA, A.; RUBIANES, E. New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 16, n. 4, p. 403-413, 2004.

MENEGHETTI, M.; SÁ FILHO, O. G.; PERES, R.F.; LAMB, G. C.; VASCONCELOS, J. L. Fixed-time artificial inseminationwith estradiol andprogesterone for *Bos indicus* cows I: Basis for developmentofprotocols. **Theriogenology**, v. 72, n. 1, p. 179-189, 2009.

MONTEIRO, Claudia Dias. **Bioestimulação em fêmeas ovinas submetidas à administração exógena de acetato de medroxiprogesterona ou progesterona de longa ação na pré-puberdade**. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Botucatu, 2009.

MOROTTI, F.; CAMPOS, J. T.; SENEDA, M. M. Fixed-time artificial insemination using injectable progesterone: ovarian follicular dynamics and pregnancy rates of Nelore cows (Bos indicus) with and without a corpus luteum. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 2, p. 3867-3875, 2013.

NASCIMENTO, A. B.; SOUZA, A. H.; SARTORI, R.; WILTBANK, M. C. Produção e metabolismo da progesterona e seu papel antes, durante e depois da inseminação artificial influenciando a fertilidade de vacas leiteiras de alta podução. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 41, p. 1130, 2013.

NISWENDER, G. D.; JUENGEL, J. L.; SILVA, P. J.; ROLLYSON, M. K.; MCINTUSH, E. W. Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. **Physiological reviews**, v. 80, n. 1, p. 1-29, 2000.

PADILHA, Rodrigo Tenório. **Indução do estro/ovulação e fertilidade em ovelhas deslanadas após tratamento hormonal com diferentes dispositivos intravaginais.** 2007. 76f. Mestrado, Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Ceará, Ceará, Brasil, 2007.

PÉREZ-CLARIGET, R.; LÓPEZ-PÉREZ, Á.; UNGERFELD, R. Treatments with intravaginal sponges for estrous synchronization in ewes: length of the treatment, amount of medroxyprogesterone, and administration of a long-acting progesterone. **Tropical Animal Health Production**, v. 5, n. 3, p. 345, 2021.

PFEIFER, L. F. M.; MAPLETOFT, R. J.; DARDAWAL, D.; SINGH, J. Effect of injectable progesterone on follicular development in lactating beef cows treated with estradiol plus a low-concentration progesterone device. **Brazilian Journal of Veterinary and Animal Science**, v. 55, n. 2, p. 1-8, 2018.

PUGLIESI, G.; BISINOTTO, D. Z.; MELLO, B. P.; LAHR, F. C.; FERREIRA, C. A.; MELO, G. D.; MADUREIRA, E. H. 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**, v. 54, n. 8, p. 1149-1154, 2019.

QUEZADA-CASASOLA, A.; AVENDAÑO-REYES, L.; MACÍAS-CRUZ, U.; ALEJANDRO RAMÍREZGODÍNE, J.; CORREA-CALDERÓN, A. Estrus beauvoir, ovarian dynamics, and progesterone secretion in Criollo cattle during estrous cycles with two and three follicular waves. **Tropical animal health and production**, v. 46, p. 675-684, 2014.

RAWLINGS, N.; COOK, S. LH secretion around the time of the preovulatory gonadotrophin surge in the ewe. **Animal Reproduction Science**, v. 30, n. 4, p. 289-299, 1993.
ROCHA, D. C.; BESKOW, A.; PIMENTEL, C. M. M.; MATTOS, R. C.; Gregory, R. M. Níveis séricos de progesterona em vacas ovariectomizadas tratadas com MAD4® com diferentes concentrações e vias de administração. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 39, n. 3, p. 974, 2011.

ROCHA, A. Ovinocultura: caminho aberto para a expansão no Mercado. **Revista animal business Brasil,** Rio de Janeiro, 2018.

RODRIGUES, A. D. P.; PERES, R. F. G.; LEMES, A. P.; MARTINS, T.; PEREIRA, M. H. C.; DAY, M. L.; VASCONCELOS, J. L. M. Progesterone-based strategies to induce ovulation in prepubertal Nellore heifers. **Theriogenology**, v. 79, n. 1, p. 135-141, 2013.

RUBIANES, E.; MENCHACA, A.; CARBAJAL, B. Response of the 1 to 5-day aged ovine corpus luteum to Prostaglandin F2α. **Animal Reproduction Science**, v. 78, p. 47-55, 2003.

SASA, A.; TESTON, D. C.; RODRIGUES, P. D. A.; COELHO, L. D. A.; SCHALCH, E. Concentrações plasmáticas de progesterona em borregas lanadas e deslanadas no período de abril a novembro, no Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 3, p. 1150-1156, 2002.

SIQUEIRA FILHO, E. Biotecnologias de reprodução de ovinos. **Casa da agricultura**. São Paulo, n°3, p 37, 2012.

SASA, A; NONAKA, K. O; BALIEIRO, J. C. C.; COELHO, L. A Progesterona plasmática de ovelhas submetidas ao efeito-macho e mantidas sob diferentes condições nutricionais. **Arquivo Brasileira de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n. 5, p. 1066-1072, 2011.

SAVIO, J. D.; THATCHER, W. W.; MORRIS, G. R.; ENTWISTLE, K.; DROST, M.; MATTIACCI, M. R. Effects of induction of low plasma progesterone concentrations with a progesterone-releasing intravaginal device on follicular turnover and fertility in cattle. **Reproduction**, v. 98, n. 1, p. 77-84, 1993.
SENGER, P. L. **Pathways to pregnancy and parturition**. 2.Ed. Washington Current Conceptions, 2003. 368p.

SILVA, Taylon Antonio Sales Da. **Comparação entre a progesterona injetável e intravaginal na performance reprodutivas em ovelhas**. 2021. 30f. Dissertação (Mestrado em Ciencia Animal) - Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2021.

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

SOUZA, J. D. F. D.; GUIMARÃES, V. P.; MAGALHÃES, M. K. A.; MALHADO, M. C.; BARBOSA, P.; MARTINS, E. C.; HOLANDA FILHO, M. Z. F.; MENDES, E. M. E. P. Embrapa Caprinos e Ovinos. **CNA Brasil**, 2016. Disponível em: < http://www.diadecampo.com.br/arquivos/materias/%7B671913533-104D%7D_Ativo_Ovinos_Caprinos.pdf. Acesso em: 10 dez. 2020.

SOUZA, J. M. G.; GOMES, L. M.; MONTEIRO Jr, P.L.J.; BRUSCHI, J. H.; VIANA, J. H. M.; CAMARGO, L. S. A.; FONSECA, J. F. Uso de protocolos curtos para indução de estro em ovelhas Santa Inês. **Anais do Congresso Brasileiro de Reprodução Animal**, Curitiba, 2007. 215p.

SWELUM, A. A. A.; SAADELDIN, I. M.; MOUMEN, A. F.; ALI, M.; BA-AWADH, H.; ALOWAIMER, A. N. Effects of long-term controlled internal drug release reuse on reproductive performance, hormone profiles, and economic profit of sheep. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 48, 2019.

TAKADA, Luciana. **Avaliação da resposta ovariana na sincronização do estro e da ovulação utilizando protocolo de curta duração em ovelhas da raça Suffolk**. 2004. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2004.

TREVISOL, E.; FERREIRA, J. C. P.; ACKERMANN, C. L.; DESTRO, F. C.; AMARAL, J. B. D. Luteólise em bovinos: revisão. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 37, n. 1, p. 29-36, 2013.

VASCONCELOS, J. L. M.; SÁ FILHO, O. G.; SILVA, A. T. Intravaginal progesterone device and/or temporary weaning on reproductive performance of anestrous crossbred Angus × Nelore cows. **Animal Reproduction Science**, v. 111, n. 2-4, p. 302-311, 2009.

VIANA, J.G.A. Panorama geral da ovinocultura no mundo e no Brasil. **Revista Ovinos**, v. 4, n. 12, p. 44-47, 2008.

VIEIRA, C. C.; PINTO, H. F.; BUSS, V.; GONZALEZ DE FREITAS, B.; GUERREIRO, B. M.; LEIVAS, F. G.; PUGLIESI, G.; MESQUITA, F. S. Resynchronization of follicular wave using long-acting injectable progesterone or estradiol benzoate at 14 days post-timed AI in Bos taurus x Bos indicus beef heifers. **Theriogenology**, v. 176, p. 194-199, 2021.

VIÑOLES, L.; FOSBERG, M.; BANCHERO, G.; RUBIANES, E. Effect of long-term and short-term progestagen treatment and pregnancy rate in cyclic ewes. **Theriogenology**, v. 55, n. 4, p. 993-1004, 2001.

WILTBANK, M.; LOPEZ, H.; SARTORI, R.; SANGSRITAVONG, S.; GÜMEN, A. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. **Theriogenology**, v. 65, n. 1, p. 17-29, 2006.

WILTBANK, M. C.; SOUZA, A. H.; GIORDANO, J. O.; NASCIMENTO, A. B.; VASCONCELOS, J. M.; PEREIRA, M. H. C.; BENDER, R. W. Positive and negative effects of progesterone during timed AI protocols in lactating dairy cattle. **Animal Reproduction**, v. 9, n. 3, p. 231-241, 2012.

WINKLER, V. W.; BRORODKIN, S.; WEBEL, S. K.; MANNEBACH, J. T. In vitro and in vivo considerations of a novel matrix-controlled bovine progesterone-releasing intravaginal device. **Journal of Pharmacy Science**, v. 66, p. 816-818, 1977.

WHISNANT, C. S.; BURNS, P. J. Evaluation of steroid microspheres for control of estrus in cows and induction of puberty in heifers. **Theriogenology**, v. 58, n. 6, p. 1229-1235, 2002.

Anexo

Anexo I - Documento da Comissão de Ética e Experimentação Animal

PARECER Nº **160/2020/CEEA/REITORIA**
PROCESSO Nº 23110.031587/2020-17

Certificado

Certificamos que a proposta intitulada **"Alternativas para o controle do ciclo estral de bovinos e ovinos."**, registrada com o nº 23110.031587/2020-17, sob a responsabilidade de **Rafael Gianella Mondadori** - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e recebeu parecer **FAVORÁVEL** a sua execução pela Comissão de Ética em Experimentação Animal, em reunião de **08 de dezembro de 2020**.

Finalidade	(**x**) Pesquisa ( ) Ensino
Vigência da autorização	01/01/2021 a 30/12/2025
Espécie/linhagem/raça	*Ovis aries* – raças comerciais e cruzas *Bos taurus* – raças comerciais e cruzas
Nº de animais	486 ovinos 688 bovinos
Idade	ovinos - 12 a 60 meses bovinos - 12 a 96 meses
Sexo	ovinos - 26 machos e 460 fêmeas bovinos - 688 fêmeas
Origem	Centro Agropecuário da Palma - UFPel Propriedades particulares

Código para cadastro nº CEEA 31587-2020