UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

DEPARTAMENTO DE REPRODUÇÃO ANIMAL

GISELE MOURO RAVAGNANI

Avaliação da concentração plasmática de progesterona e eficiência do dispositivo intravaginal de liberação lenta de progesterona na sincronização do estro em marrãs

Pirassununga

2019

GISELE MOURO RAVAGNANI

Avaliação da concentração plasmática de progesterona e eficiência do dispositivo intravaginal de liberação lenta de progesterona na sincronização do estro em marrãs

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Doutora em Ciências.

Departamento:

Reprodução Animal

Área de concentração:

Reprodução Animal

Orientador:

Prof. Dr. André Furugen Cesar de Andrade

De acordo: _____

Orientador

Pirassununga
2019

VERSÃO CORRIGIDA

Obs: A versão original encontra-se disponível na Biblioteca da FMVZ/USP

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T. 3778
FMVZ

Ravagnani, Gisele Mouro
Avaliação da concentração plasmática de progesterona e eficiência do dispositivo intravaginal de liberação lenta de progesterona na sincronização do estro em marrãs / Gisele Mouro Ravagnani. – 2019.
50 f. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Reprodução Animal, Pirassununga, 2019.

Programa de Pós-Graduação: Departamento de Reprodução Animal.

Área de concentração: Departamento de Reprodução Animal.

Orientador: Prof. Dr. André Furugen Cesar de Andrade.

1. Inseminação artificial. 2. Marrã 3. Progesterona. 4. Progestágeno. 5. Sincronização do estro. I. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela bibliotecária Maria Aparecida Laet, CRB 5673-8, da FMVZ/USP.

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE PROGESTERONA E EFICIÊNCIA DO DISPOSITIVO INTRAVAGINAL DE LIBERAÇÃO LENTA DE PROGESTERONA NA SINCRONIZAÇÃO DO ESTRO EM MARRÃS.", protocolada sob o CEUA nº 6292300517 (ID 003701), sob a responsabilidade de **André Furugen César de Andrade** *e equipe; Gisele Mouro Ravagnani* - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) na reunião de 01/06/2017.

We certify that the proposal "EVALUATION OF PROGESTERONE PLASMATIC CONCENTRATION AND EFFICIENCY OF PROGESTERONE INTRAVAGINAL DEVICE IN ESTRUS SYNCHRONIZATION IN GILTS.", utilizing 30 Swines (30 females), protocol number CEUA 6292300517 (ID 003701), under the responsibility of **André Furugen César de Andrade** *and team; Gisele Mouro Ravagnani* - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo) (CEUA/FMVZ) in the meeting of 06/01/2017.

Finalidade da Proposta: Pesquisa

Vigência da Proposta: de 07/2017 a 10/2017 Área: Reprodução Animal

Origem:	Prefeitura do Campus da USP de Pirassununga						
Espécie:	Suínos	sexo:	Fêmeas	idade:	180 a 250 dias	N:	30
Linhagem:	Híbridos			Peso:	100 a 160 kg		

Local do experimento: Laboratório de Pesquisa em Suínos - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, localizado no Campus USP Pirassununga.

São Paulo, 09 de março de 2019

Profa. Dra. Anneliese de Souza Traldi
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

Roseli da Costa Gomes
Secretária
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: RAVAGNANI, Gisele Mouro

Título: **Avaliação da concentração plasmática de progesterona e eficiência do dispositivo intravaginal de liberação lenta de progesterona na sincronização do estro em marrãs**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutora em Ciências

Data: _____/_____/_____

Banca Examinadora

Prof. Dr._____

Instituição:_____ Julgamento:_____

Prof. Dr._____

Instituição:_____ Julgamento:_____

Prof. Dr._____

Instituição:_____ Julgamento:_____

Prof. Dr._____

Instituição:_____ Julgamento:_____

Prof. Dr._____

Instituição:_____ Julgamento:_____

Dedico à minha Mãe,

Às minhas irmãs, Aline e Heloísa

AGRADECIMENTOS

A Deus pela oportunidade de viver, por todas as graças concedidas, por ter me guiado, abençoado e iluminado. E por sempre guardar o melhor para mim.

A minha querida Mãe, Rose, por todo amor, carinho e dedicação. Pelo apoio. Por todos os esforços. Por ser meu porto seguro, meu orgulho, meu melhor e maior exemplo!!

As minhas irmãs e cunhado, Heloísa, Aline e Everton, pelo apoio, incentivo e carinho.

Ao Cristian, primeiramente, por toda a ajuda durante a condução deste trabalho e, segundo, por toda a paciência, carinho, companhia, amizade e motivação para eu querer ser cada dia melhor! Muito obrigada Meu Amor.

Ao meu orientador, Prof. Dr. André Furugen Cesar de Andrade, por todas as oportunidades, conhecimento a mim cedido, compreensão, confiança, ética e por ter acreditado em mim. Serei eternamente grata.

A Dra. Simone, pela paciência, prontidão e fundamental colaboração durante todo o meu Doutorado.

Ao Professor Dr. Carlos Henrique Cabral Viana, pelos ensinamentos, incentivo, amizade, paciência e bom humor. Você é um dos grandes responsáveis por eu estar aqui hoje.

Aos Doutores, **Eneiva Carla Carvalho Celeghini, Maria Emília Oliveira, Mariana Groke Marques e Carlos Henrique Cabral Viana**, por terem aceitado o convite de membro titular da banca de defesa deste trabalho.

Aos Doutores, **Mayra Elena Ortiz D´Avila Assumpção, Guilherme Pugliesi, Jacinta Diva Ferrugem Gomes, Luis Guilherme de Oliveira e Andrea Panzardi**, por terem aceitado o convite de membro suplente da banca de defesa deste trabalho.

Aos meus amigos e colegas de trabalho do Laboratório de Andrologia e Tecnologia de Embriões Suínos, Cristian, Maitê, Marina, Ana, Denis, Mariana, Carol, Bruno, pela convivência e colaboração nos experimentos.

A Rafa Carnevalle, aluna de iniciação científica vinculada a este projeto, por toda a ajuda, apoio, proatividade. Você vai longe!

As estagiárias do Laboratório de Pesquisa em Suínos, Karina, Adriene, Bárbada e Duda, que tanto me auxiliaram durante a condução deste trabalho. Muito obrigada meninas!

Ao Dr. Renato Valentim, da Grascon, pela oportunidade de realização deste estudo.

A **Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo** e ao **Programa de Pós-graduação em Reprodução Animal**, obrigado pela oportunidade.

A Harumi D. Shiraishi e Clayton Costa, por sempre atenderem e sanarem as minhas dúvidas.

A Biblioteca da FMVZ - USP, pela agilidade e qualidade no trabalho.

Ao Serviço de Pós Graduação da FMVZ – USP, por sempre sanar as minhas dúvidas e por todos os serviços prestados.

A Coordernação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, pela bolsa de estudo cedida à mim, durante todo o meu Doutorado.

E por último, mas não menos importantes, às **30 marrãs** e aos **cachaços** que foram a base de todo esse trabalho. Serei eternamente agradecida pelo aprendizado, convivência e paciência. Guardo-os no coração, para sempre!

Há um tempo em que é preciso abandonar
as roupas usadas, que já tem a forma do
nosso corpo, e esquecer os nossos
caminhos, que nos levam sempre aos
mesmos lugares. É o tempo da travessia: e,
se não ousarmos fazê-la, teremos ficado,
para sempre, à margem de nós mesmos.

Fernando Pessoa

RESUMO

RAVAGNANI, G. M. **Avaliação da concentração plasmática de progesterona e eficiência do dispositivo intravaginal de liberação lenta de progesterona na sincronização do estro em marrãs** [Evaluation of progesterone plasma concentration and efficiency of the intravaginal slow release progesterone device in estrus synchronization in gilts] 2019. 50f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

A marrã é uma categoria animal de extrema importância dentro do sistema de produção de suínos, pois se trata das futuras matrizes do plantel. Um método eficaz para o preparo dessas futuras matrizes é a sincronização do estro através da utilização de hormônios o que reduzirá a mão de obra necessária para a detecção do estro e no número de marrãs de reposição, além de facilitar a inseminação artificial e, consequentemente, melhorará a sincronização e homogeneização dos grupos de parição. Apesar da sincronização do estro ser um assunto que vem sendo estudado há muitos anos, a quantidade de métodos disponíveis para tal é muito escassa. O presente estudo teve como objetivo avaliar a utilização de um dispositivo intravaginal de liberação lenta de progesterona desenvolvido para a espécie suína em relação à concentração plasmática de progesterona, sincronização do estro e os parâmetros reprodutivos em marrãs púberes. Neste experimento foram utilizadas 30 marrãs, divididas em 3 grupos, G1 (n=10) Grupo Controle, G2 (n=10) Altrenogest e G3 (n=10) Dispositivo intravaginal de liberação lenta de Progesterona. As marrãs dos grupo G2 e G3 receberam o tratamento por 18 dias consecutivos. Todas as fêmeas, independente do seu tratamento, foram inseminadas no momento 0 (reflexo de tolerância ao homem observado pela primeira vez na presença de um macho adulto) e a cada 24 horas até o fim do estro. No 21º dia após a inseminação artificial foi realizado o diagnóstico de gestação e aos 29 ± 1 dia de gestação as fêmeas foram abatidas. Os três grupos experimentais foram avaliados quanto à sincronização do estro, perfil plasmático de progesterona e parâmetros reprodutivos. O intervalo entre o final do tratamento – início do estro não foi afetado pela utilização do tratamento hormonal, assim como o momento da ovulação. Porém, a taxa de prenhez foi negativamente influenciada pela utilização do dispositivo intravaginal de liberação lenta de progesterona, entretanto, a taxa de fertilidade não foi influenciada pelos tratamentos. Apesar do peso e tamanho do útero, concentração plasmática de progesterona e viabilidade não terem sido influenciados pelos tratamentos, a progesterona do dispositivo intravaginal de liberação lenta de progesterona influenciou no tamanho e peso das vesículas embrionárias, sendo estes maiores do que aos dos demais grupos, evidenciando a influência da progesterona nessa característica.

Palavras-chave: inseminação artificial, marrã, progesterona, progestágeno, sincronização estro.

.

ABSTRACT

RAVAGNANI, G. M. **Evaluation of progesterone plasma concentration and efficiency of the intravaginal slow release progesterone device in estrus synchronization in gilts** [Avaliação da concentração plasmática de progesterona e eficiência do dispositivo intravaginal de liberação lenta de progesterona na sincronização do estro em marrãs] 2019. 50f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

Gilt is an extremely important animal category within the pig production system, since it is the future of the breeding herd. An effective method for the preparation of these future females is the estrus synchronization by the use of hormones, which will reduce the labor necessary for the detection of estrus and the number of gilts, as well as facilitate artificial insemination and, consequently, improve the synchronization and homogenization of the farrowing groups. Although synchronization of estrus is a subject that has been studied for many years, the number of available methods is very low. The objective of the present study was to evaluate the use of a slow release intravaginal progesterone device developed for swine in relation to plasma progesterone concentration, estrus synchronization and reproductive parameters in pubertal gilts. In this experiment 30 gilts were used and divided into 3 groups, G1 (n = 10) Control Group, G2 (n = 10) Altrenogest and G3 (n = 10) slow release intravaginal Progesterone device. G2 and G3 group gilts were treated for 18 consecutive days. All females, regardless of their treatment, were inseminated at time 0 (first tolerance reflex to the man observed in the presence of an adult boar) and every 24 hours until the end of estrus. On the 21st day after the artificial insemination, the diagnosis of gestation was performed and at 29 ± 1 day of gestation the females were slaughtered. The three experimental groups were evaluated for estrus synchronization, plasma progesterone profile and reproductive parameters. The interval between the end of treatment - estrus onset was not affected by the use of hormonal treatment, as well as the time of ovulation. However, the pregnancy rate was negatively influenced by the use of the slow release intravaginal progesterone device, however, the fertility rate was not influenced by the treatments. Despite the weight and size of the uterus, plasma concentration of progesterone and viability were not influenced by the treatments, these being larger than the other groups, evidencing the influence of progesterone on this characteristic.

Keywords: artificial insemination, gilt, progesterone, progestogen, estrus synchronization.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Esquema experimental das análises das amostras. 27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Avaliação do efeito da utilização de diferentes fontes de progesterona/progestágeno sobre o intervalo final tratamento – início do estro (horas) e momento da ovulação (horas).....33
Tabela 2- Avaliação do efeito da utilização de diferentes fontes de progesterona/progestágeno sobre a dinâmica folicular (mm).....33
Tabela 3 – Avaliação do efeito da utilização de diferentes fontes de progesterona/progestágeno sobre a porcentagem de presença de cisto ovariano (mm).....34
Tabela 4 - Avaliação do efeito da utilização do dispositivo intravaginal de liberação lenta de progesterona sobre o número de corpos lúteos, número total de embriões, número de embriões viáveis, taxa de fertilidade e taxa de fertilidade ajustada.....34
Tabela 5 – Avaliação do efeito da utilização de diferentes fontes de progesterona/progestágeno sobre o peso do útero (Kg), tamanho do útero (cm), tamanho do corno direito (cm) e tamanho do corno esquerdo (cm) 35
Tabela 6 - Avaliação do efeito da utilização de diferentes fontes de progesterona/progestágeno sobre o tamanho dos embriões (cm), peso dos embriões (gr) tamanho das vesículas embrionárias (cm).....35
Tabela 7 - Avaliação do efeito da utilização de diferentes fontes de progesterona/progestágeno sobre a quantidade (μm^2)de glândulas endometriais 36
Tabela 8 - Avaliação do efeito da utilização de diferentes fontes de progesterona/progestágeno sobre o tamanho (mm^2) das glândulas endometriais 36
Tabela 9 - Avaliação do efeito da utilização de diferentes fontes de progesterona/progestágeno em relação à concentração plasmática de progesterona (ng/mL) circulante em diferentes momentos 37

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DNP	Dias não produtivos
IA	Inseminação artificial
IATF	Inseminação artificial em tempo fixo
IDE	Intervalo desmame-estro
P4	Progesterona
FSH	Hormônio folículo estimulante
LH	Hormônio luteinizante
RTM	Reflexo de tolerância ao macho
CL	Corpo lúteo
PGF2α	Prostaglandina F 2 alfa
IFN-tau	Interferon-tau
DILLP4	Dispositivo intravaginal de liberação lenta de progesterona
MHz	Mega Hertz

LISTA DE SIMBOLOS

Graus Celsius	°
Por	/
Vezes	x
Nanograma	ng
Mililitro	mL
Mais ou menos	±
Porcentagem	%
Quilograma	kg
Grama	gr
Miligrama	mg
Metro quadrado	m²
Milímetro	mm
Menor	<
Maior	>
Igual	=
Marca registrada	®

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 18

2. REVISÃO DE LITERATURA 20

2.1 CICLO REPRODUTIVO 20

2.2 PUBERDADE E PREPARO DA MARRÃ 21

2.3 PERFIL HORMONAL DA PROGESTERONA 22

2.4 MÉTODOS HORMONAIS PARA SINCRONIZAÇÃO DO ESTRO EM MARRÃS 22

2.5 EFEITOS DA PROGESTERONA NO ENDOMÉTRIO 23

3. OBJETIVOS 25

4. HIPÓTESES 26

5. MATERIAIS E MÉTODOS 27

5.1 LOCAL 27

5.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL 27

5.3 ANIMAIS 27

5.4 PROTOCOLO HORMONAL 28

5.5 COLETAS DE SANGUE E DOSAGEM DE PROGESTERONA 28

5.6 INTERVALO ENTRE O FIM DO TRATAMENTO E INÍCIO DO ESTRO 28

5.7 DETECÇÃO DO ESTRO E INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL 29

5.8 INTERVALO ESTRO-OVULAÇÃO 29

5.9 TAXA DE PRENHEZ 30

5.10 TAXA DE FERTILIDADE 30

5.11 TAMANHO E PESO DO ÚTERO 30

5.12 TAMANHO E PESO DAS VESÍCULAS EMBRIONÁRIAS 31

5.13 TAMANHO E PESO DOS EMBRIÕES 31

5.14 AVALIAÇÃO DAS GLÂNDULAS ENDOMETRIAIS 31

5.15 ANÁLISE ESTATÍSTICA 32

6. RESULTADOS 33

6.1 INTERVALO FINAL DO TRATAMENTO – INÍCIO DO ESTRO, DURAÇÃO DO ESTRO E MOMENTO DA OVULAÇÃO 33

6.2 DINÂMICA FOLICULAR E PRESENÇA DE CISTOS OVARIANOS 33

6.3 TAXA DE PRENHEZ 34

6.4 TAXA DE FERTILIDADE E VIABILIDADE EMBRIONÁRIA 34

6.5 TAMANHO E PESO DO ÚTERO 35

6.6 TAMANHO E PESO DOS EMBRIÕES 35

6.7 ÁREA E QUANTIDADE DAS GLÂNDULAS ENDOMETRIAIS 36

6.8 DOSAGEM DE PROGESTERONA 36

7. DISCUSSÃO 38

8. CONCLUSÕES 42

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 43

1. INTRODUÇÃO

A marrã é uma categoria animal de extrema importância dentro do sistema de produção de suínos, pois se trata da fêmea que será a futura matriz do plantel. A taxa de reposição anual nas granjas comerciais suinícolas, está por volta de 40 – 45%, não sendo raro encontrar taxas ainda mais elevadas, superiores a 50% ao ano. Aproximadamente 18% dos plantéis são compostos por marrãs, as quais são responsáveis por aproximadamente 30% dos DNP (dias não produtivos) das granjas. Diante dessas características, é imprescindível garantir um preparo adequado desses animais (PINHEIRO, 2014).

No contexto reprodutivo, um método eficaz para o preparo dessas marrãs de reposição é a sincronização do estro por meio da utilização de hormônios que levará a redução na mão de obra necessária para a detecção do estro e no número de marrãs de reposição, além de facilitar a inseminação artificial e, consequentemente, melhorará a sincronização e homogeneização dos grupos de parição. Isto só é possível graças ao controle do desenvolvimento folicular a partir da utilização de hormônios que incluem a P4/progestágeno sintético, GnRH, eCG, hCG, e pLH (DE RENSIS e KIRKWOOD, 2016). O desenvolvimento e manejo da marrã representam componentes integrais no desempenho reprodutivo dentro do ciclo de produção e, na ausência dessas, os produtores selecionam fêmeas destinadas ao abate para se tornarem futuras matrizes mesmo sem apresentarem todas as características necessárias (ALMOND, 1997).

Aliado a IA, é possível realizar a inseminação artificial em tempo fixo (IATF), que consiste na manipulação do ciclo estral e/ou do momento da ovulação com o objetivo de utilizar somente uma IA por estro com o auxílio de protocolos hormonais. Porém, para obter uma alta fertilidade e prolificidade nos suínos utilizando a IATF, é necessário garantir que a fêmea receba pelo menos uma IA no período de 24 horas antes da ovulação (SOEDE; KEMP, 1997). A manipulação do ciclo estral e mais precisamente do momento da ovulação requer um amplo conhecimento dos mecanismos hormonais envolvidos, no sentido de usarmos os fármacos apropriados para eventos específicos.

Esta biotecnologia permite concentrar os partos, homogeneizar os lotes para cria e terminação, diminuir o número de coberturas e/ou IA; através do controle da

maturação folicular, ovulação e/ou lise do corpo lúteo com o uso de fármacos exógenos (ANDRADE et al., 2014).

A utilização de progesterona (P4) e seus análogos sintéticos no protocolo de sincronização do estro atuam inibindo a secreção dos hormônios folículo estimulante (FSH) e do luteinizante (LH) pela hipófise. Portanto, uma vez retirado o tratamento, as a concentração das gonadotrofinas aumentam, estimulando rápido e sincrônico crescimento de uma nova onda folicular (ANDRADE et al., 2014).

Atualmente o uso de progestágenos na suinocultura limita-se a progesterona sintética, o altrenogest (Regumate® – MSD Saúde Animal). Este progestágeno é utilizado por via oral durante 14-18 dias, havendo a necessidade de administrar adicionado na ração uma única vez ao dia. (WILLIAMS, 2014, TORRES et al., 2018). A metodologia de uso do produto é um dos principais fatores a serem avaliados, visto que medicamentos orais devem ser fornecidos diariamente durante vários dias, com doses variando de acordo com fins de cada animal (ESTILL, 2000). Enquanto que em bovinos (BARUSELLI et al, 2017), éguas (OLIVERIA FILHO et al., 2012), ovinos e caprinos (MENCHACA et al, 2017) a utilização de P4 para sincronização do estro já é realizada mediante a utilização de dispositivos intravaginais de P4/progestágenos.

Outro fator de grande motivação à condução deste estudo foi justamente o fato de não haver um dispositivo intravaginal no mercado especificamente para a espécie suína, que tem utilizado produto destinado para ovelhas e cabras (EAZI-BREED CIDR®, Zoetis; Primer PR®, Agener União Saúde Animal). Este método intravaginal possui várias vantagens em relação ao altrenogest (Regumate®, MSD - utilizado com esta finalidade em porcas), tais como: facilidade de aplicação com economia de mão-de-obra, visto que o Regumate® necessita ser adicionado diariamente na ração, além da grande diferença que separa os custos de ambos os produtos, entre outras vantagens, que o uso do dispositivo oferece.

Diante do exposto e com base na literatura citada, o presente trabalho tem como objetivo avaliar protocolos de sincronização do estro em marrãs com a utilização de um dispositivo intravaginal de liberação lenta de progesterona (DILLP4) ou com um progestágeno, a fim de avaliar os níveis plasmáticos de progesterona e os parâmetros reprodutivos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 CICLO REPRODUTIVO

O suíno doméstico é considerado uma espécie poliéstrica anual, ou seja, apresenta ciclos estrais durante todo o ano e somente a prenhez ou alguma disfunção endócrina interrompem a ciclicidade (ANDERSON, 2004; MELLAGI et al., 2007; SILVA et al., 2008; FRIES, 2010).

O ciclo estral tem média de 21 dias (com variação de 18-24 dias), é dividido em duas fases, folicular (duração de 4-5 dias) e luteal (duração de 15 a 17 dias) (HUNTER, 1977; PTASZYNSKA, 2001; ANDERSON, 2004; FRIES et al., 2010), e em quatro períodos: pró-estro, estro, metaestro e diestro.

A fase folicular é o período em que há o início da regressão do corpo lúteo. Os folículos ovarianos se formam, desenvolvem-se e secretam quantidades crescentes de estradiol o que resultará no estro, sendo esta fase dividida em pró-estro e estro. Esta fase é controlada pelos hormônios FSH e LH (GORE-LANGTON e ARMSTRONG, 1994; PTASZYNSKA, 2001; SENGER, 2003; MELLAGI et al., 2007; FRIES et al., 2010). O pró-estro tem uma duração de um a três dias e nessa fase, ocorrem não só alterações anatômicas (exemplos: edema e hiperemia vulvar), como também mudanças nos padrões de comportamento (inquietação, monta sobre as outras fêmeas, redução do apetite) (MOREIRA, 2005; MELLAGI et al., 2007; SILVA et al., 2008; FRIES, 2010; FRIES et al., 2010). Essas alterações acontecem devido ao elevado nível de estradiol que está sendo produzido pelos folículos ovarianos, o qual age sobre o sistema nervoso central ocasionando *feedback* positivo sobre as gonadotrofinas (GORE-LANGTON; ARMSTRONG, 1994, MELLAGI et al., 2007).

O estro tem em média uma duração de 50-60 horas, mas com amplitude de 24 a 72 horas (SOEDE, 1994, SOEDE, 1995, ANDERSON, 2004; MELLAGI et al., 2007; SILVEIRA et al., 2008) podendo chegar a 96 horas em alguns casos (WEITZE, 1994). O período de estro puberal normalmente é mais curto, média de 47 horas, do que quando comparado ao cio em porcas adultas que é em média 56 horas (ANDERSON, 2004). E é nesta fase que ocorre a ovulação, ela acontece no terço final do estro, normalmente de 20 a 36 horas após o aparecimento dos primeiros sinais de cio (MOREIRA, 2005; MELLAGI et al., 2007; SILVA et al., 2008; FRIES, 2010)

Após a ovulação, os oócitos permanecem aptos à fecundação por um período de 4 a 8 horas (SCHEID e WENTZ, 1994; BORTOLOZZO et al., 2005) sendo também nesta fase do ciclo menos evidente as alterações anatômicas, quando comparadas ao pró-estro. No entanto as alterações de comportamento continuam sendo perceptíveis, a fêmea além de apresentar reflexo de tolerância ao macho (RTM) sexualmente maduro, ainda tenta montar sobre as outras fêmeas. Esse evento ocorre em consequência do elevado nível de estradiol no pró-estro (MOREIRA, 2005; MELLAGI et al., 2007; FRIES, 2010; FRIES et al., 2010).

A fase luteal é o período entre a ovulação até a regressão do corpo lúteo (CL). A principal estrutura ovariana nesta fase é o CL e a P4 é o hormônio predominante. Mesmo com a produção de P4, os folículos continuam crescendo e, posteriormente, regridem, mas não produzem altas quantidades de estradiol (SENGER, 2003, MELLAGI et al., 2007). A fase luteal ainda é dividida em metaestro e diestro (SENGER, 2003; SILVA et al., 2008; FRIES, 2010; FRIES et al., 2010). No metaestro, que tem duração de dois a três dias, as concentrações de estrógeno chegam a níveis basais e os corpos hemorrágicos (originados dos folículos ovulatórios) começam a produzir P4 (MELLAGI, 2007; SILVA et al., 2008; FRIES, 2010; FRIES et al., 2010). O diestro se mantém por sete a doze dias, podendo durar até 14 dias e é caracterizado pela produção de níveis máximos de P4 nos dias 12 a 15 do ciclo. A regressão luteal tem início no dia 15 a 16 do ciclo com a P4 atingindo níveis basais nos dias 17 a 18 do ciclo, caracterizando o reinício do ciclo (MELLAGI et al., 2003; SILVA et al., 2008; FRIES, 2010; FRIES et al., 2010).

2.2 PUBERDADE E PREPARO DA MARRÃ

A fêmea suína geralmente atinge a puberdade entre 150 e 220 dias de idade, sendo esta variação dependente de muitos fatores, incluindo o tempo de contato com o cachaço, condição corporal, alimentação e ambiente. Posteriormente à puberdade, o ciclo estral varia entre 18-24 dias e a maioria das fêmeas são inseminadas no 2º ou 3º cio após a puberdade, dependendo de sua condição corporal. Após a inseminação, caso haja a fecundação, segue o período gestacional que varia de 114-116 dias de duração. Após o parto, a fase de lactação pode durar de 16 a 40 dias, período este que depende do sistema de produção e da legislação, mas em média essa fase tem duração de 21 dias (FONTES & RODRIGUES, 2014).

2.3 PERFIL HORMONAL DA PROGESTERONA

Há muitos anos o comportamento das variações da concentração plasmática de P4 vem sendo estudada. No início da fase lútea, imediatamente após a ovulação, é possível observar um aumento inicial no dia 3 ou 4 do ciclo estral, sendo o estro considerado o dia 1, ou seja, as concentrações periféricas de P4 são mínimas e os folículos antrais maiores estão praticamente ausentes nos ovários devido a maiores concentrações de estrógeno e inibina antes da ovulação. O pico de LH também inicia as mudanças foliculares que resultam na ovulação e luteinização da parede do folículo, provocando a produção de progesterona (STANBENFELDT et al., 1968; SOEDE et al., 1994).

Com o desenvolvimento do corpo lúteo (após a ovulação) as concentrações periféricas de P4 circulante elevam-se, ocorrendo um rápido aumento até os dias 7-8 e um aumento mais lento até o dia 14-15, considerando um ciclo de 20 dias. Os níveis mais altos de P4 ocorrem durante a fase lútea, por volta de 35ng/mL. Devido à luteólise há uma queda nos níveis de P4 após o dia 15, sendo na maioria dos casos uma queda de 30 vezes em um período de 48 horas. Os níveis de P4 permanecem baixos (cerca de 0-0,5ng/mL) por cerca de 7 dias durante a fase de crescimento folicular e ovulação. Um intervalo de tempo bastante coerente (sete dias) foi observado entre os declínios na concentração de P4 e o início do estro. Os altos níveis de P4 circulante nas marrãs podem suprimir o desenvolvimento folicular de maneira suficiente durante a fase lútea, de modo que seja necessária uma semana entre a regressão do CL e a ovulação (STANBENFELDT et al., 1968; ANDERSON, 2004).

2.4 MÉTODOS HORMONAIS PARA SINCRONIZAÇÃO DO ESTRO EM MARRÃS

No contexto produtivo e reprodutivo, um método eficaz para o preparo dessas futuras matrizes é a sincronização do estro que reduzirá a mão de obra necessária para a detecção do estro, reduzindo o número de marrãs de reposição facilitando a inseminação artificial e, consequentemente, melhorando a sincronização e homogeneização dos grupos de parição. (FOXCROFT, 2002). Este manejo objetiva a formação de lotes contemporâneos de gestação, resultante de fêmeas inseminadas dentro de um determinado período. A utilização de P4 e seus análogos sintéticos no protocolo de sincronização do estro atuam inibindo a secreção das gonadotrofinas (FSH e LH) pela hipófise. Uma vez suspenso o tratamento, as gonadotrofinas voltam a ser liberadas,

estimulando rápido e sincrônico crescimento de uma nova onda folicular (ANDRADE et al., 2014).

Estudos realizados há mais de cinco décadas envolvendo o uso de progestágenos orais não apresentaram resultados satisfatórios, pois houve a formação de cistos foliculares e diminuição da taxa de fertilidade no estro pós-tratamento (FIRST et al., 1963). Alguns anos depois, um novo progestágeno oral (Altrenogest, allyl trenbolone ou RU-2267) hoje comercialmente conhecido como Regumate® (MSD Saúde Animal) mostrou resultados satisfatórios em relação à sincronização do estro sem a formação de cistos foliculares ou queda na taxa de fertilidade (WEBEL, 1978, ROSSETO et al, 2014). Entretanto, quando testadas doses menores que 15 mg/dia por 18 dias houve a estimulação de cistos foliculares após a retirada do Altrenogest. (FOXCROFT, 2002). O estágio em qual o ciclo estral da fêmea se encontra parece não ter afetado a sincronização do estro, mas pode haver uma maior variação na resposta do tratamento quando as marrãs estão em pró-estro ou em estro no início do tratamento do que marrãs em metaestro ou diestro porque o tratamento pode não alterar a duração do ciclo estral (FOXCROFT, 2002).

Pesquisas têm demonstrado a possibilidade da utilização de um dispositivo intravaginal desenvolvido e comercializado para pequenos ruminantes (CIDR®-G, Zoetis). Diante da escassez de trabalhos que embasem qual a concentração de P4 necessária para a sincronização do estro, quando utilizados dispositivos intravaginais de liberação lenta de P4, foram então testados grupos com um e dois dispositivos por 7 dias em porcas e uma aplicação de prostaglandina F2alfa (PGF2 alfa), dois grupos receberam dois e um dispositivos, respectivamente, e uma aplicação de PGF2 alfa na retirada do dispositivo e os animais de um terceiro grupo receberam 2 dispositivos. A partir dos resultados foi mostrado que a utilização do dispositivo por um período de sete dias seguido de uma aplicação de prostaglandina F2 alfa (PGF2α) é efetiva na sincronização do estro em fêmeas suínas (SUGANO et al., 2001).

2.5 EFEITOS DA PROGESTERONA NO ENDOMÉTRIO

O hormônio esteroide P4 desempenha uma importante função em eventos reprodutivos associados ao estabelecimento e manutenção da gestação em diversas

espécies. O crescimento e desenvolvimento do concepto demanda a ação da P4 no útero para a regulação da função endometrial, incluindo interações materno-fetais, reconhecimento da gestação e receptividade uterina para a implantação, apesar dessa importância, paradoxalmente o epitélio endometrial deixa de expressar receptores de P4 antes da implantação em todos os mamíferos estudados (BAZER et al., 2009).

Concentrações elevadas de P4 circulantes imediatamente após o período de concepção estão associadas ao avanço na elongação do concepto, e em bovinos e ovinos há um aumento na produção de interferon-tau (IFN-tau) e maiores taxas de gestação (DISKIN; MORRIS, 2008). A perda dos receptores de P4 no epitélio uterino parece ser um pré-requisito para o reconhecimento materno da gestação e para o desenvolvimento do concepto no início da gestação, assim como para a proliferação de células epiteliais e funções diferenciadas como direcionadas por fatores específicos (progestamedinas) produzidos por células estromais receptoras positivas para de P4 (BAZER et al., 2009).

3. OBJETIVOS

Com base na literatura apresentada, o experimento foi realizado com os seguintes objetivos:

3.1 OBJETIVO GERAL

3.1.1 Avaliar os efeitos do uso do DILLP4 na sincronização do estro, na concentração plasmática de progesterona e no desempenho reprodutivos de marrãs púberes.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar os efeitos do uso do DILLP4 em relação:

3.2.1 Ao intervalo entre final do tratamento e início do estro em marrãs púberes.

3.2.2 Ao momento da ovulação em marrãs púberes

3.2.3 As taxas de prenhez e de fertilidade em marrãs púberes

3.2.4 Ao tamanho e peso do útero aos 28 dias de gestação em marrãs púberes

3.2.5 A concentração plasmática de progesterona em marrãs púberes

3.2.6 A viabilidade embrionária aos 28 dias de gestação em marrãs púberes

3.2.7 Ao tamanho e peso dos corpos lúteos aos 28 dias gestação em marrãs púberes

3.2.8 Ao tamanho e peso das vesículas embrionárias e dos embriões aos 28 dias gestação em marrãs púberes

3.2.9 A quantidade e tamanho das glândulas endometriais aos 28 dias gestação em marrãs púberes

4. HIPÓTESES

Com base na literatura apresentada, o experimento foi realizado com as seguintes hipóteses:

3.1 A utilização do DILLP4 não influencia o intervalo entre final do tratamento e início do estro em marrãs púberes quando comparado aos grupos Controle e Altrenogest.

3.2 O momento da ovulação não é alterado pela utilização do DILLP4 em marrãs púberes.

3.3 As taxas de prenhez e fertilidade não são afetadas negativamente pela utilização do DILLP4 em marrãs púberes.

3.4 O uso do DILLP4 não influencia no tamanho e peso do útero aos 28 dias de gestação em marrãs púberes quando comparados aos grupos Controle e Altrenogest

3.5 A concentração plasmática de progesterona de marrãs tratadas com DILLP4 não difere do grupo controle.

3.6 A viabilidade de embriões aos 28 dias de gestação em marrãs púberes não será afetada negativamente pela utilização do DILLP4.

3.7 O tamanho e peso das vesículas embrionárias e os embriões aos 28 dias de gestação oriundos de marrãs púberes tratadas com DILLP4 é maior do que os referentes aos grupos controle e Altrenogest.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

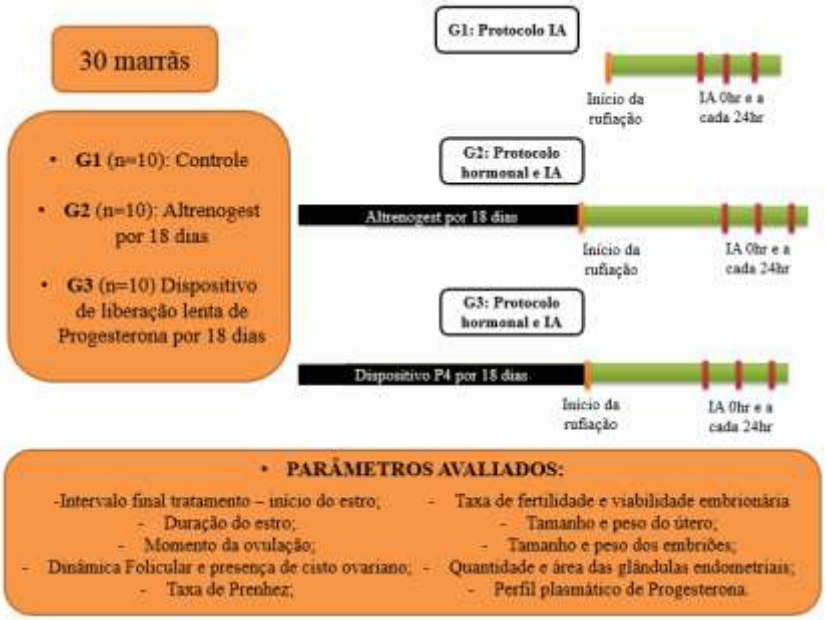
5.1 LOCAL

O experimento foi realizado no Laboratório de Pesquisa em Suínos (LPS) do Departamento de Nutrição Produção Animal pertencente à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ-USP) localizado no *Campus* da USP "Fernando Costa".

5.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado sendo cada marrã considerada a unidade experimental.

Figura 01. Esquema experimental das análises das amostras



5.3 ANIMAIS

Foram utilizadas 30 marrãs com 220 ± 20 dias de idade e 120 quilos, aproximadamente. Estas foram submetidas a manejo nutricional e sanitário idênticos e ficaram alojadas nas dependências do LPS-FMVZ/USP. As marrãs foram alojadas em gaiolas individuais com metragem de 1,32 m²/animal, providas de comedouro, bebedouro tipo chupeta e piso parcialmente ripado. Durante o período experimental os animais receberam uma dieta basal seguindo recomendações do Tabelas Brasileiras

(ROSTAGNO et al, 2017). O consumo estabelecido foi de acordo com o peso do animal variando de 2 a 2,5 kg/animal/dia. O arraçoamento foi realizado duas vezes ao dia, as 7:00 e 13:00 horas.

5.4 PROTOCOLO HORMONAL

As fêmeas nulíparas foram homogeneizadas de acordo com peso e números de estro; a fim de dar origem a três grupos, a saber: GC (n=10) Grupo Controle, GA (n=10) Altrenogest e GD (n=10) Dispositivo intravaginal de Progesterona.

5.5 COLETAS DE SANGUE E DOSAGEM DE PROGESTERONA

Os implantes de progesterona e o Altrenogest foram utilizados por 18 dias seguidos. As amostras de sangue foram coletadas por meio de contenção física e punção da veia jugular externa com uso seringa de 10 mL e agulha (40x12mm) nos momentos: D-1 (1 dias antes do início do tratamento), D0 (início do tratamento), D2, D4, D6, D8, D10, D12, D14, D16, D17 (retirada do tratamento) e D18 (24 horas após o término do tratamento). Após a coleta, o sangue foi transferido para tubos contendo EDTA (vacutainer®) e refrigerados por 40 minutos e depois centrifugado (centrífuga 206/2-BL, Fanem, Brasil) a 1500g por 10 minutos, o plasma foi aliquotado em microtubos plásticos de 1,5mL, em duplicata. O material foi identificado e depois congelado a -20ºC para posterior dosagem de P4.

As amostras de plasma foram submetidas à dosagem das concentrações plasmáticas de progesterona utilizando-se um “kit” comercial de radioimunoensaio em fase sólida, seguindo as recomendações do fabricante (RIE progesterone® - Beckman Coulte) no Laboratório de Dosagens Hormonais, pertencente ao Departamento de Reprodução Animal da FMVZ/USP. A sensibilidade do teste foi de 0,05ng/mL.

5.6 INTERVALO ENTRE O FIM DO TRATAMENTO E INÍCIO DO ESTRO

Após a retirada do tratamento hormonal, iniciou-se o reflexo de tolerância ao macho e ao homem. As fêmeas foram consideradas em estro quando as mesmas apresentaram comportamento característico de estro, com ou sem prévia de edema e

hiperemia vulvar, e o momento no qual esses reflexos não foram mais apresentados. Fêmeas que não apresentaram o estro no período de 7 dias após a retirada do tratamento foram eliminadas do experimento. Três (3) fêmeas foram eliminadas do experimento, uma de cada grupo.

5.7 DETECÇÃO DO ESTRO E INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL

A detecção do estro foi realizada por meio do passeio do macho sexualmente maduro, duas vezes ao dia durante quinze minutos, associado ao exame clínico-comportamental por meio do reflexo de tolerância ao macho e ao homem.

Todas as fêmeas, independente do seu tratamento, foram inseminadas no momento 0 (reflexo de tolerância ao homem observado pela primeira vez na presença de um macho sexualmente maduro) e repetida a cada 24 horas até o final do estro. As inseminações foram realizadas com a pipeta golden gilt (inseminação transcervical) com a dose de 3×10^9 espermatozoides em 100 mL na presença de um macho sexualmente maduro. As doses de sêmem foram avaliadas em todos os momentos antes das inseminações, sendo somente utilizadas doses com motilidade total acima de 70%.

5.8 INTERVALO ESTRO-OVULAÇÃO

Para a determinação do momento da ovulação foi realizada ultrassonografia transabdominal a cada 8 horas (8:00 h, 16:00 h e 00:00 h), esta foi iniciada a partir da observação do estro comportamental. A presença de folículos e a determinação do momento da ovulação foram realizadas através do uso de um aparelho de ultrassonografia Falcon 100® probe convexa 3,5MHz (Pie Medical®, Philipsweg - Bélgica).

No momento do exame a superfície de contato do transdutor foi coberta com gel (carboximetilcelulose) para garantir a propagação do som, e este foi posicionado nos flancos direito e esquerdo, aproximadamente no ponto médio entre a articulação femuro-tíbio-fíbulo-patelar e a última costela, 10 centímetros acima do úbere. Foi considerado como pontos de referência para a localização dos ovários, a bexiga, na posição caudal, e as alças intestinais, na posição cranial (VIANA, et al., 1999).

O momento da ovulação foi definido quando, ao exame ultrassonográfico nenhum folículo em tamanho pré-ovulatório (8 – 10mm) foi encontrado ou quando o

número de folículos foi menor que no exame anterior. O diagnóstico de gestação foi realizado aos 21 dias após a ovulação por meio de exame ultrassonográfico (VIANA, et al., 1999).

5.9 TAXA DE PRENHEZ

Aproximadamente 21 dias após o momento da ovulação foi realizado o diagnóstico de gestação por meio da avaliação ultrassonográfica (Falco100® probe convexa 3,5MHZ, Pie Medical®, Philipsweg – Bélgica) por via transcutânea. A taxa de prenhez se deu pela razão entre o número de fêmeas inseminadas e pelo número de fêmeas gestantes.

5.10 TAXA DE FERTILIDADE

As fêmeas foram abatidas no dia 29 ± 1 de gestação para a realização da taxa de fertilidade. Para tanto, as marrãs inseminadas foram insensibilizadas por meio de eletronarcose com choque elétrico de alta voltagem e baixa amperagem, seguido por sangria de no mínimo três minutos para a coleta do útero no abatedouro escola da Universidade de São Paulo *campus* USP "Fernando Costa". A taxa de fertilidade foi calculada pela proporção de fetos recuperados em relação ao número de corpos lúteos de cada fêmea.

5.11 TAMANHO E PESO DO ÚTERO

Após a retirada dos úteros, estes foram identificados e armazenados individualmente em sacos plásticos e transportados em caixas térmicas para o Laboratório de Patologia da Faculdade de Engenharia de Alimentos e Zootecnia localizado no *Campus* USP Fernando Costa para a realização das análises. Os úteros foram pesados em uma balança e então foi realizada a dissecação dos cornos uterinos. Após a total dissecação de ambos os cornos uterinos foi realizada a mensuração por meio da distância entre uma extremidade do corno à outra com a utilização de fita métrica.

5.12 TAMANHO E PESO DAS VESÍCULAS EMBRIONÁRIAS

O volume e o comprimento das vesículas embrionárias foram analisados individualmente. Para calcular o volume as vesículas, estas foram abertas individualmente sobre uma bandeja e todo o líquido alantoideano foi coletado. Esse líquido foi transferido para um recipiente e então, pesado (Figura 10). O tamanho de uma vesícula foi considerado como a medida entre duas faixas de necrose presentes na parede uterina (WRIGHT et al., 2016).

5.13 TAMANHO E PESO DOS EMBRIÕES

Após a individualização de suas respectivas vesículas embrionárias, os embriões foram pesados e mensurados de forma individual. Para a pesagem, estes foram transferidos para uma placa de Petri e pesados em balança analítica. Para a mensuração do tamanho foi realizada a medida "*crown-to-rump*", que afere o comprimento entre o osso occipital e a base da cauda do embrião por meio da utilização de um paquímetro universal metálico (150mm – leitura de 0,05mm).

5.14 AVALIAÇÃO DAS GLÂNDULAS ENDOMETRIAIS

Foram coletadas amostras para a análise histológica de três regiões do corno uterino, Área 1, 2 e 3 sendo porção proximal, média e distal de um corno uterino, respectivamente. Dentre cada área coletada, três regiões foram avaliadas; região central, central do embrião e lateral. Cada área correspondia ao local com implantação embrionária referente à localização. Para as fêmeas não gestantes, apenas um fragmento de cada área foi coletada. As amostras coletadas tinham aproximadamente as dimensões de 3cm x 3cm. Após as coletas do material, esses foram imediatamente estendidos, mergulhados e armazenados durante 24 horas em solução de formaldeído 10%. Após 24 horas os fragmentos foram transferidos para uma solução de álcool etílico a 70º GL, processo que inicia a fixação das amostras. Após a desidratação foram diafanizados em benzol e incluídas em parafina, de modo a se obter os cortes transversais das regiões coletadas.

Os cortes histológicos foram corados segundo a técnica de hematoxilina de Harris-eosina e examinados sob microscopia de luz, com o auxílio de um microscópio

Nikon modelo Eclipse Ni-U 80i® (Nikon Instruments Inc., Melville NY), acoplado a câmara Nikon DigitalSight DS RI1® (Nikon Instruments Inc., Melville NY). Após a preparação das lâminas foram capturados 3 campos para a contagem das glândulas endometriais, utilizando amostragem aleatória sistemática. A análise das glândulas endometriais foi realizada por meio de um sistema analisador de imagem software ImageJ IJ 1.46r (RASBAND; FERREIRA, 2012) com objetiva de aumento de 10 x.

5.15 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos no presente experimento foram analisados com prévia verificação da normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias. Os dados originais ou transformados foram submetidos à análise de variância (PROC GLM) empregando-se o programa SAS, 2013. A taxa de prenhez foi analisada pelo teste qui-quadrado. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, e cada marrã foi considerada uma unidade experimental. Considerou-se o nível de significância de 5 %. Os resultados estão apresentados como média ± erro padrão da média

6. RESULTADOS

Nesta seção encontram-se descritos os resultados do presente estudo.

6.1 INTERVALO FINAL DO TRATAMENTO – INÍCIO DO ESTRO, DURAÇÃO DO ESTRO E MOMENTO DA OVULAÇÃO

Os resultados referentes ao intervalo entre o final do tratamento e início do estro, duração do estro e momento da ovulação (após o início do estro) estão descritos na Tabela 1. É possível observar que as fêmeas do grupo DILLP4 apresentaram menor intervalo entre o final do tratamento e o início do estro (p<0,0001) em comparação ao grupo Altrenogest. Não houve influência na duração do estro e momento da ovulação entre os diferentes tratamentos estudados (p=0,6910 e p=0,0139, respectivamente).

Tabela 1 - Avaliação do efeito da utilização de diferentes fontes de progesterona/progestágeno sobre o intervalo final tratamento – início do estro (horas), duração de estro (horas) e momento da ovulação (horas)

	Controle	**Altrenogest**	**DILLP4**	**Valor p**
Intervalo final tratamento - estro	.	156 ± 6,32[a]	66 ± 9,67[b]	**<0,0001**
Duração do estro	42 ± 5,07	46,66 ± 5,07	39,42 ± 8,16	0,6910
Momento da ovulação (Após início do estro)	40 ± 3,02[a]	33,77 ± 3,47[a]	22,66 ± 4,34[b]	**0,0139**

Fonte: (RAVAGNANI, G. M., 2019).
Diferentes letras sobrescritas indicam diferenças significativas (P < 0,05).

6.2 DINÂMICA FOLICULAR E PRESENÇA DE CISTOS OVARIANOS

A partir da utilização da ultrassonografia transabdominal que foi realizada com um intervalo de 8 horas desde o início do estro e até o momento da ovulação, foi possível obter os resultados referentes ao tamanho dos folículos (mm) e a porcentagem de presença de cistos ovarianos que estão descritos na Tabela 2. Não houve influência do tratamento em relação ao tamanho dos folículos (p>0,05) e presença de cistos ovarianos (0,9992)

Tabela 2 - Avaliação do efeito da utilização de diferentes fontes de progesterona/progestágeno sobre a dinâmica folicular (mm)

	T1 08:00	**T2 16:00**	**T3 00:00**	**Valor P**
Controle	3,94 ± 0,26	4,14 ± 0,27	4,33 ± 0,24	0,4101
Altrenogest	3,52 ± 0,29	3,51 ± 0,25	4,43 ± 1,90	0,1849
DILLP4	3,51 ± 0,16	4,20 ± 0,35	4,14 ± 0,38	0,8318

Fonte: (RAVAGNANI, G. M., 2019).

Tabela 3 - Avaliação do efeito da utilização de diferentes fontes de progesterona/progestágeno sobre a porcentagem de presença de cisto ovariano

	Controle	Altrenogest	DILLP4	Valor de p
Cisto ovariano	0	0	22,22	0.9992

Fonte: (RAVAGNANI, G. M., 2019).

6.3 TAXA DE PRENHEZ

A característica taxa de prenhez foi avaliada a partir do teste exato de Fisher. O grupo Controle e DILLP4 não diferiram (p = 0.1534) sendo a taxa de prenhez 66,66% (6/9) e 22,22% (2/9), respectivamente. Quando comparados os grupos Altrenogest e Controle, não houve diferença (p=0,2059) onde a taxa de prenhez foi de 100% (9/9) e 66,66% (6/9), respectivamente. Mas, quando analisados os grupos Altrenogest e DILLP4 houve influência do tratamento (p=0,0023) com taxa de prenhez de 100% (9/9) e 22,22% (2/9), respectivamente.

6.4 TAXA DE FERTILIDADE E VIABILIDADE EMBRIONÁRIA

A utilização do DILLP4 não influenciou o número de corpos lúteos (p=0,67), o total de embriões (p=0,0501), os embriões viáveis (p=0,12) e a taxa de fertilidade ajustada (p=0,08). Porém, para a taxa de fertilidade (p=0,03) houve diferença estatística entre os grupos, onde as fêmeas do grupo Altrenogest tiveram uma maior taxa de fertilidade (Tabela 4).

Tabela 4 - Avaliação do efeito da utilização de diferentes fontes de progesterona/progestágeno sobre o número de corpos lúteos, número total de embriões, número de embriões viáveis, taxa de fertilidade e taxa de fertilidade ajustada

	Controle (n=6)	Altrenogest (n=9)	DILLP4 (n=2)	Valor p
Nº Corpos lúteos	16,16 ± 0,98	16,44 ± 0,74	17,50 ± 0,50	0,6702
Total embriões	10,66 ± 1,96	15,00 ± 0,70	16,00 ± 2,65	0,0501
Embriões Viáveis	10,66 ± 1,96	14,00 ± 0,78	15,50 ± 3,12	0,1297
Taxa de Fertilidade	65,15 ± 10,82[a]	91,02 ± 2,81 [ab]	91,45 ± 0,50[a]	0,0317
Taxa de Fertilidade Ajustada	100	96,45 ± 1,26	96,87	0,0881

Fonte: (RAVAGNANI, G. M., 2019)
Diferentes letras sobrescritas indicam diferenças significativas (P < 0,05).

6.5 TAMANHO E PESO DO ÚTERO

A partir da pesagem e mensuração do útero foi possível obter os resultados que estão descritos na Tabela 5. Não foi observado nenhum efeito dos tratamentos em relação ao peso do útero, tamanho total do útero e tamanhos dos cornos uterinos direito e esquerdo.

Tabela 5 - Avaliação do efeito da utilização de diferentes fontes de progesterona/progestágeno sobre o peso do útero (Kg), Tamanho do útero (cm), tamanho do corno direito (cm) e tamanho do corno esquerdo (cm)

Parâmetro	Controle	Altrenogest	DILLP4	Valor P
Peso útero	4,80 ± 0,75	4,54 ± 0,33	5,97 ± 0,15	0,4638
Tamanho útero	276,46 ± 24,30	305, 77 ± 33,99	309 ± 93	0,8852
Tamanho Corno direito	137,98 ± 10,34	154,72 ± 19,36	155,15 ± 54,76	0,8370
Tamanho Corno esquerdo	138,48 ± 14,86	141 ± 12,67	153,75 ± 38,25	0,8882

Fonte: (RAVAGNANI, G. M., 2019)

6.6 TAMANHO E PESO DOS EMBRIÕES

Resultados obtidos a partir da avaliação do tamanho e peso dos embriões estão descritos na Tabela 6. Observou-se uma tendência para o tamanho das vesículas serem maiores nos animais que receberam o DILLP4 (p=0,094), porém nos demais parâmetros foi observado efeito do tratamento. Os embriões do grupo DILLP4 foram maiores e mais pesados (p<0,05) do que os demais grupos. Em relação ao peso das vesículas embrionárias, apesar da diferença estatística, os grupos Controle e Dispositivo foram similares, sendo o grupo Altrenogest com o menor valor.

Tabela 6 - Avaliação do efeito da utilização de diferentes fontes de progesterona/progestágeno sobre o tamanho dos embriões (cm), peso dos embriões (g), peso da vesículas embrionárias (g) e tamanho das vesículas embrionárias (cm)

Parâmetros	Controle	Altrenogest	DILLP4	Valor P
Tamanho Embriões (cm)	2,24 ± 0,01[ab]	2,14 ± 0,008[b]	2,33 ± 0,02 [b]	**<0,0001**
Peso Embriões (g)	1,67 ± 0,05[ab]	1,37 ± 0,02[b]	1,96 ± 0,06 [a]	**<0,0001**
Peso Vesículas (g)	273,71 ± 8,41[a]	218,87 ± 5,32[b]	274,10 ± 9,37[a]	**<0,0001**
Tamanho Vesículas (cm)	19,03 ± 0,60	18,50 ± 0,64	21,20 ± 1,47	0,0942

Fonte: (RAVAGNANI, G. M., 2019)
Diferentes letras sobrescritas indicam diferenças significativas (P < 0,05).

6.7 ÁREA E QUANTIDADE DAS GLÂNDULAS ENDOMETRIAIS

Os resultados obtidos a partir da mensuração da área das glândulas endometriais estão descritos na Tabela 7 e 8. Para as características área glandular e quantidade de glândulas endometriais por mm^2 não houve efeito de tratamento e de interação de tratamento x área, apenas efeito de área.

Tabela 7 - Avaliação do efeito da utilização de diferentes fontes de progesterona/progestágeno sobre a área glandular (μm^2)

Área	Controle	Altrenogest	Dispositivo	Média	Interação		
					Trat.	Área	Tratamento x área
A1	3762548,8 ± 273278,69	423004,89 ± 213066,13	3177835,40 ± 217063,83	3946521.39 ± 15154909[b]			
A2	4349882,68 ± 272894,90	4050099,97 ± 208787,08	4455563,81 ± 403572,10	41996766.18 ± 153329,67[a]	0,1920	**0,0160**	0,0864
A3	4097438,50 ± 222336,25	4907068,35 ± 243473,34	4069196,79 ± 280770,96	4528727.34 ± 157864.42[a]			

Fonte: (RAVAGNANI, G. M., 2019).
Diferentes letras sobrescritas indicam diferenças significativas (P < 0,05).

Tabela 8 - Avaliação do efeito da utilização de diferentes fontes de progesterona/progestágeno sobre a quantidade por mm^2 de glândulas endometriais

Área	Controle	Altrenogest	Dispositivo	Média	Interação		
					Trat	Área	Trat x área
A1	48,36 ± 3,24	45,03 ± 2,16	43,34 ± 1,95	45.86 ± 1.60[a]			
A2	36,95 ± 2,19	44,57 ± 2,36	39,67 ± 3,95	41.45 ± 15.78[bc]	0,7419	**0,0278**	0,1607
A3	41,18 ± 2,78	40,39 ± 1,76	43,71 ± 3,46	41.06 ± 1.39[b]			

Fonte: (RAVAGNANI, G. M., 2019).
Diferentes letras sobrescritas indicam diferenças significativas (P < 0,05).

6.8 DOSAGEM DE PROGESTERONA

Resultados obtidos a partir da dosagem plasmática de progesterona estão apresentados na Tabela 9. No D-1 não houve diferença estatística entre os grupos (p>0,05), porém no dia da colocação do dispositivo (D0) até o D4 a concentração plasmática de P4 foi maior (p<0,05) no grupo DLLP4 apresentando um leve aumento nos níveis até D8 quando atingiu a concentração média máxima, seguido de queda até a última dosagem. No D14 a concentração foi estatisticamente menor (p<0,05) e no dia da retirada do dispositivo também.

Tabela 9 - Avaliação do efeito da utilização de diferentes fontes de progesterona/progestágeno em relação à concentração plasmática de progesterona (ng/mL) circulante em diferentes momentos

Dia	Controle	DILLP4	Valor P
-1	2,55 ± 1,47	8,74 ± 3,02	0,0905
0	1,69 ± 1,36[b]	10,05 ± 2,48[a]	**0,0004**
2	2,97 ± 1,78[b]	15,95 ± 2,98[a]	**0,0002**
4	6,51 ± 1,81[b]	15,01 ± 2,69[a]	**0,0145**
6	10,43 ± 2,58	16,14 ± 3,30	0,1945
8	19,02 ± 3,44	16,03 ± 2,79	0,3847
10	16,94 ± 1,74	13,20 ± 3,06	0,1423
12	13,89 ± 2,43	8,94 ± 2.83	0,2806
14	15,58 ± 1,84[a]	2,48 ± 0,51[b]	**<0,0001**
16	10,78 ± 2,77	3,16 ± 1,27	0,0511
17	7,36 ± 2,11[a]	1,87 ± 0,92[b]	**0,0313**
18	6,33 ± 2,11	1,67 ± 0,83	0,0570

Fonte: (RAVAGNANI, G. M., 2019).
Diferentes letras sobrescritas indicam diferenças significativas (P < 0,05).

7. DISCUSSÃO

A utilização de dispositivo intravaginal de liberação lenta de progesterona é muito utilizado em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo, utilizados em bovinos com a finalidade de proporcionar maior taxa de fertilidade, devido ao tempo de duração do dispositivo, o que pode proporcionar um maior período para o crescimento do folículo dominante, garantindo a ovulação de folículos com maior diâmetro e maior ovulação (MANTOVANI et al., 2005; SÁ FILHO et al., 2010) e, conseqüentemente, gerar corpo lúteo maior e com maior capacidade de síntese de P4 (MANTOVANI et al., 2005).

Neste estudo foi avaliado a utilização do dispositivo intravaginal de liberação lenta de progesterona em marrãs púberes a fim de investigar mais a fundo os efeitos dessa biotecnologia frente a alguns parâmetros não só relacionados à sincronização do estro como também em parâmetros reprodutivos, perfil de liberação da progesterona e alguns aspectos relacionados às glândulas endometriais. Os trabalhos disponíveis na literatura que tenham estudado um dispositivo intravaginal de liberação lenta de progesterona desenvolvido para a espécie suína são praticamente inexistentes.

É possível encontrar estudos que testaram dispositivos desenvolvidos e comercializados para pequenos ruminantes com taxas aceitáveis de sincronização do estro. Sugano et al (2001) estudaram a eficácia de 1 e 2 dispositivos comercial para pequenos ruminantes (CIDR G®, Zoetis) seguido ou não de uma aplicação de PGF2α durante sete dias em marrãs púberes. Os resultados mostraram que o protocolo CIDR G® por sete dias seguido da aplicação de PGF2α na submucosa vulvar foi efetivo na indução do estro em suínos e com um intervalo mais curto entre o final do tratamento e início do estro (2 - 4 dias) quando comparamos com resultados de fêmeas sincronizadas com altrenogest (Regumate®, MSD Saúde Animal) que pode variar de 5 a 7 dias (MARTINATT-BOTTÉ et al., 1995).

Neste estudo, apesar da PGF2α não ter sido utilizada, o grupo DLLP4 também apresentou um menor intervalo entre o final do tratamento e início do estro quando comparado ao grupo Altrenogest ($p<0,0001$).

O papel que a P4 desempenha na maturação de oócitos de mamíferos e o seu potencial impacto na qualidade do oócito ainda não está bem definido. Apesar disso,

observa-se melhora no desempenho reprodutivo, incluindo uma maior taxa de ovulação, melhor sincronização do estro e uma maior taxa de sobrevivência embrionária (LONERGAN, 2011). Porém, quando utilizado dispositivo intravaginal de liberação lenta de P4, não foi possível observar essa influência na duração do estro. Mas quando avaliado o intervalo final do tratamento – início do estro e o momento da ovulação, o grupo DLLP4 apresentou menores valores, o que se pode sugerir uma metabolização mais rápida desse hôrmonio e consequentemente recrutamento e ovulação dos folículos mais rápida.

A concentração de P4 no início do protocolo é importante para diminuir a frequência de pulso de LH e causar regressão folicular que depende das gonadotrofinas para seu desenvolvimento (GOODMAN; KARSH, 1980). Elevadas concentrações de P4 nos primeiros dias pós fertilização foram associadas com um maior elongamento do concepto (CARTER et al., 2008). No entanto, o dispositivo de P4 não foi tão eficaz na regulação da fisiologia e do sistema endócrino, o que resultou em taxas de prenhez menores após o tratamento. Mas quando se analisa os resultados de taxa de fertilidade, pode-se afirmar que tanto o tratamento com dispositivo ou com Altrenogest (p=0,03) foram benéficos quando comparados às marrãs que não receberam nenhum tratamento hormonal.

Alta taxa de ovulação e leitegadas mais numerosas são algumas características das porcas modernas (TOWN et al., 2004). No entanto, leitoas apresentam uma menor taxa de ovulação média em relação às porcas (BELSTRA, 2003), fato este que pode implicar em diferentes relações entre a taxa de ovulação e características embrionárias durante a gestação quando comparadas às porcas. Da Silva et al. (2017) afirmaram que a taxa de ovulação está relacionada significativamente com o total de embriões e que, leitoas com uma maior taxa de ovulação apresentaram uma maior incidência de mortalidade embrionária precoce, e em menor grau, mortalidade tardia embrionária. Este fato não foi identificado quando utilizado o dispositivo intravaginal de liberação lenta de P4, a taxa de ovulação foi numericamente maior no grupo DLLP4 seguido dos grupos Altrenogest e Controle, o que possibilita sugerir que a P4/Análogos podem exercer uma influência nessa característica.

A relação entre o aumento da mortalidade embrionária precoce é provavelmente devido a um aumento na heterogeneidade dos embriões por conta de um aumento da heterogeneidade no *pool* de folículos ovulatórios e oócitos em porcas com maiores taxas de ovulações, o que leva então a um maior número de embriões com capacidade de

desenvolvimento sub-ótima (GEISERT et al., 1982; POPE et al., 1990). Porém, marrãs têm uma menor média de taxa de ovulação do que as porcas multíparas (BELSTRA, 2003), o que poderia acarretar diferentes relações entre a taxa de ovulação e características embrionárias durante a gestação nessas duas diferentes categorias. Nesse caso é possível afirmar que em marrãs não houve influência ($p<0,05$) do DLLP4 em relação ao número de corpos lúteos e no número total de embriões em relação aos demais tratamentos.

Um aumento na taxa de ovulação também foi relacionado com uma diminuição no tamanho da área de implantação e no tamanho das vesículas dos embriões viáveis em porcas multíparas aos 35 dias de gestação (DA SILVA et al., 2016), indicando uma mudança no ambiente uterino já nesta fase de gestação. Além disso, terapias hormonais para a sincronização do estro têm demonstrado melhora no desempenho reprodutivo, incluindo uma maior taxa de ovulação (KOUTSOTHEODOROS et al., 1998), melhor sincronização do estro (MARTINAT-BOTTÉ et al., 1995) e uma maior taxa de sobrevivência embrionária (PATERSON et al., 2004).

Concentrações elevadas de P4 no período imediato pós fertilização foram associadas com um maior elongamento do concepto (CARTER et al., 2008). Essa influência da concentração de P4 no concepto tem sido demonstrada em bovinos e ovinos. Esse efeito provavelmente ocorre como resultados dos efeitos que a P4 induz na expressão gênica no útero (FORDE et al., 2009) resultando em alterações na composição do histotrofo ao qual o embrião em desenvolvimento está exposto. O histotrofo pode ser definido como o fornecimento de nutrientes por meio de secreções glandulares do oviduto ao útero, e representa a forma inicial de nutrição para os conceptos em todas as espécies, antes da placentação (WOODING; BURTON, 2008).

Entretanto, a influência que tratamentos hormonais com P4 desempenham nos embriões suínos ainda é desconhecida, mas fica evidente a diferença no tamanho e peso dos embriões do grupo Dispositivo que consequentemente resultaram em vesículas embrionárias mais pesadas, podendo ser sugerido que há influência. Porém, mais pesquisas seriam necessárias para embasar essa hipótese.

Ainda no ambiente uterino, as glândulas endometriais desempenham uma importante função durante a gestação. Embora elas sejam conhecidas por se proliferarem principalmente durante a fase folicular (GRAY et al., 2001a), também há hiperplasia dessas estruturas durante a gestação em ovelhas, bovinos e suínos (GRAY et al., 2001a), o que pode sugerir a influência da P4 nessa proliferação glandular. Perry e

Rowell (1969) relataram que com o aumento no número de embriões, os localizados na região anterior do final do útero tenderam a crescer mais e foram de 5 – 10% mais pesados que os implantados na região média do útero. O mesmo ocorreu com os embriões localizados mais próximos ao corpo do útero. No entanto, não foi observada influência do tratamento hormonal em relação a quantidade e área das glândulas endometriais.

As glândulas uterinas mostraram-se essenciais para o crescimento e sobrevivência dos embriões em ovinos (GRAY et al., 2001b, c) e no crescimento dos conceptos suínos e poderiam estar diretamente relacionados com a proporção de epitélio glandular em diferentes regiões do útero. Contudo, o tratamento com dispositivo de P4, não influenciou a quantidade e nem a área das glândulas endometriais.

Para a dosagem da concentração de progesterona, foi possível mensurar apenas a dos grupos Controle e DLLP4 visto à dificuldade e ausência de métodos consistentes para identificar o produto gerado a partir da metabolização de uma progesterona sintética. O dispositivo foi efetivo em manter a fase estral do ciclo bloqueada. É possível observar um aumento na concentração plasmática de progesterona nos primeiros dias após a inserção do dispositivo, atingindo o pico máximo no dia 6 com queda significativa a partir do dia 14. A concentração de progesterona liberada pelo DLLP4 durante os tratamentos permitiu que ocorresse o desenvolvimento folicular ovariano de maneira típica sendo efetivo em manter a fase estral do ciclo bloqueada apesar dos níveis plasmáticos de P4 terem sido menores aos encontrados na literatura (STANBENFELDT et al., 1968). Após a retirada do dispositivo, a P4 sérica diminuiu, mas ainda assim em concentrações um pouco mais elevadas do que as fisiológicas detectadas na fase luteal.

Em ovelhas, Dias et al., (2015) sugeriram que menores concentrações de P4 no ciclo estral resultam da falta de influência da P4 advinda de dispositivos. Concluindo que dispositivos intravaginais de P4 podem causar um rápido aumento na concentração de P4 que induz uma rápida regressão folicular ovariana, mas diverge do perfil de P4 em circulação durante o ciclo estral fisiológico, com implicações ainda desconhecidas para os futuros eventos reprodutivos.

8. CONCLUSÕES

- A utilização do dispositivo intravaginal de liberação lenta de progesterona diminui o intervalo entre final do tratamento e início do estro em marrãs púberes quando comparado ao grupo Altrenogest.

- O momento da ovulação diminui pela utilização do dispositivo intravaginal de liberação lenta de progesterona em marrãs púberes.

- A taxa de prenhez é afetada negativamente pela utilização do dispositivo intravaginal de liberação lenta de progesterona em marrãs púberes, porém a taxa de fertilidade não.

- O uso do dispositivo intravaginal de liberação lenta de progesterona não influencia no tamanho e peso do útero aos 29 ± 1 dias de gestação em marrãs púberes quando comparados aos grupos Controle e Altrenogest.

- A concentração plasmática de progesterona de marrãs tratadas com dispositivo intravaginal de liberação lenta de progesterona difere em alguns momentos do grupo controle.

- A utilização do dispositivo intravaginal de liberação lenta de progesterona não afeta negativamente a viabilidade de embriões aos 29 ± 1 dias de gestação em marrãs púberes.

- O tamanho e peso das vesículas embrionárias e os embriões aos 29 ± 1 dias de gestação oriundos de marrãs púberes tratadas com dispositivo intravaginal de liberação lenta de progesterona é maior do que os referentes aos grupos controle e Altrenogest.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSON, L. L. Ciclos reprodutivos. In: Reprodução Animal. 7.ed. Barueri: Manole, 2004. Cap.13, p.183-192.

ANDRADE, A. F. C.; VIANNA, W. L.; MARTINS, S. M. M. K.; MORETTI, A. S. Medicamentos com efeitos no sistema reprodutor suíno. In: Medicamentos em animais de produção. 1.ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2014. Cap.25, p.261-267

BARUSELLI, P. S.; FERREIRA, R. M.; COLLI, M. H. A.; ELLIF, F. M.; SÁ FILHO, M. F.; VIEIRA, L.; FREITAS, B. G. Timed artificial insemination: current challenges and recente advances in reproductive efficiency in beef and dairy herds in Brazil. In: Proceedings of the 31st Annual Meeting of the Brazilian Embryo Technology Society (SBTE); Cabo de Santo Agostinho, PE, Brazil, August 17th to 19th, 2017.

BAZER, F. W.; SPENCER, T. E.; JOHNSON, G. A.; BURGHARDT, R. C.; WU, G. Comparative aspects of implantation. Reproduction, v.138, p.195-209, 2009.

BELSTRA, B. A. Parity associated changes in reproductive performance: physiological basis? https://projects.ncsu.edu/project/swine_extension/swinereports/2003/belstra.htm. (Acessado em 28 de Março 2018.)

BENNEMANN, P. E. Protocolos emergenciais para programas de inseminação artificial em suínos. In: Acta Scientiae Veterinariae, v.36, n.01, p.27-32, 2008.

BORTOLOZZO F. P., UEMOTO D. A., BENNEMANN P. E., POZZOBON M. C., CASTAGNA C. D., PEIXOTO C. H., BARIONI JR W., WENTZ I. Influence of time of insemination relative to ovulation and frequency of insemination on gilt fertility. Theriogenology**,** v. 64 p 1956–1962, 2005.

CANDINI, P. H.; VIANA, C. H. C.; MADUREIRA, E. H.; ARRUDA, R. P.; CELEGHINI, E. C. C.; ASSUMPÇÃO, M. E. O. D.; GUSMÕES, P. P. G.; VALENTIN, R.; VISINTIN, J. A. Comparação dos índices reprodutivos com

inseminação artificial ou cobertura natural sob influências sazonais em suínos. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, v.37, n. 6, 2000.

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 and Fetrility Development, v.20, n.3, p.368 – 375, 2008.

DIAS, L. M. K.; BARROS, M. B. P.; VIAU, P.; SALES, J. N. S.; VALENTIM, R.; SANTOS, F. F.; CUNHA JR., M. C., MARINO, C. T.; OLIVEIRA, A. O. Effect of a new device for sustained progesterone release on the progesteroneconcentration, ovarian follicular diameter, time of ovulation and pregnancy rates if ewes. Animal Reproduction Science, p.56 – 63, 2015.

DISKIN, M. G.; MORRIS, D. G. Embryonic and aerly foetal losses in cattle and other ruminants. Reproduction of Domestic Animals, v. 43, p 260-267, 2008.

ESTILL, C. T. Current concepts in estrus synchronization in swine. Journal of Animal Science, v.77, p.1-9, 2000.

FONTES, D. O.; RODRIGUES, L. A. Curvas de crescimento em leitoas. In: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE SUÍNOS: Produção de Suínos Teoria e Prática. Brasília, Duo Design Comunicação, p.266-271

FORDE, N.; CARTER, F.; FAIR, T.; CROWE, M. A.; EVANS, A. C.; SPENCER, T. E.; BAZER, F. W.; MCBRIDE, R.; BOLAND, M. P.; O'GAORA, P.; LONERGAN, P.; ROCHE, J. F. Progesterone-regulated changes in endometrial gene expression contribute to advanced conceptus development in cattle. Biololgy of Reproduction, v.81, p.784-794, 1994.

FOXCROFT, G.R. Técnicas de indução da puberdade e sincronização para atingir as metas de cobrição do lote de leitoas de reposição. In: Congresso Latino Americano de

Suinocultura, I, Foz do Iguaçu. Anais…, 2002. p.3-13.FRIES, H. C.C.; MELAGGI, A. P. G; BERNARDI, M. L.; WENTZ, I.; BORTOLOZZO, F. P. Inseminação artificial em momento fixo em suínos. In: Acta Scientiae Veterinariae, v.38, p. 83-104, 2010.

GEISERT, R. D., J. W. BROOKBANK, R. MICHAEL ROBERTS, BAZER, F. W. Establishment of pregnancy in the pig: II. Cellular remodeling of the porcine blastocyst during elongation on day 12 of pregnancy. Biology of Reproduction, v.27, p. 941–955, 1982.

GOODMAN, R.L.; KARSH, F.J PULSATILITY SECRETION OF LUTEINIZING HOR-MONE: Differential suppression by ovarian steroids. Endocrinology, v.107, p.1286–1290, 1980.

GORE-LANGTON, R. E.; ARMSTRONG, D.T. Reproductive process and their control. In: The physiology of Reproduction. New York: Raven Press, p. 571-627, 1994.

GRAY, C. A.; BARTOL, F. F.; TARLETON, B. J.; WILEY, A. A.; JOHNSON, G. A.; BAZER, F. W.; SPENCER, T. E. Developmental biology of uterine glands. Biology of Reproduction, v.65, p.1311-1323, 2001a

GRAY, C. A.; BAZER, F. W.; SPENCER, T. E. Effects of neonatal progestin exposure on female reproductive tract structure and function in the adult ewe. Biology of Reproduction, v.64, p.797–804, 2001b.

GRAY CA, TAYLOR KM, RAMSEY WS, HILL JR, BAZER FW, BARTOL FF, SPENCER TE. Endometrial glands are required for pre-implantation conceptus elongation and survival. Biology of Reproduction, v.64, p.1608–1613, 2001c.

HUNTER, R. H. F. Physiological factors influencing ovulation, fertilization, early embryonic development and establishment of pregnancy in pigs. British Veterinary Journal, v. 133, n. 5, p. 461-470, 1977.

KOUTSOTHEODOROS, F.; HUGHES, P.E.; PARR, R. A.; DUNSHEA, F. R.; FRY, R. C.; TILTON, J. E. The effects of post-weaning progestagen treatment (Regumate) of early-weaned primiparous sows on subsequent reproductive performance. Animal Reproduction Science, v.52, p.71-79, 1998.

LONERGAN, P. Influence of progesterone on oocyte quality and embryo development in cows. Theriogenology, v.76, p.1594-1601, 2011.

MANTOVANI, A. P.; REIS, E. L.; GACEK, F, BÓ GA, BINELLI M, BARUSELLI PS. Prolonged use of a progesterone releasing intravaginal device (CIDR®) for induction of persistent follicles in bovine embryo recipients. Animal Reproduction, v.2, p.272-277, 2005.

MARTINAT-BOTTE F. Synchronization of oestrus in gilts with altrenogest: effects on ovulation rate and foetal survival. Animal Reproduction Science; v.39, p.267-274, 1995.

MELLAGI, A. P. G.; BERNARDI, M. L.; WENTZ, I.; BORTOLOZZO, F. P. Ciclo Estral, Dinâminca follicular e manutenção da gestação. In: BORTOLOZZO, F. P.; WENTZ, I.; BERNARDI, M. L.; MELLAGI, A. P. G.; FILHA, W. S. A.; PAKUNZARDI, A.; VARGAS, A. J.; KUMMER, R.; WILLIAMS, N. Suinocultura em Ação: a fêmea suína gestante. Porto Alegre, Gráfica da UFRGS, 2007, p.17-40.

MENCHACA, A.; SANTOS NETO, P. C.; CUADRO, F. Estrous synchronization treatments in sheep: brief update. Revista Brasileira de Reprodução Animal, v. 41, n. 1, p. 340 – 344, 2017

MOREIRA, I. R. R. Efeito nas gonadotrofinas coriônicas equina (eCG) e humana (hCG) na fertilidade pós-desmame em fêmeas suínas primíparas e pluríparas. Dissertação (Mestre em Ciência Animal). Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, 2005.

OLIVEIRA FILHO, L. R.; DANEZE, E. R.; D´AURIA, E.; SCHUTZER, C. G. C. Efeito do implante intravaginal de progesterona sobre a ciclicidade de éguas em anestro da raça quarto de milha. Nucleus Animalium, v.4, n.2, p. 113- 120, 2012.

PATTERSON J, WELLEN A, HAHN M, PASTERNAK A, LOWE J, DEHASS S, KRAUS D, WILLIAMS N, FOXCROFT G. Responses to delayed estrus after weaning in sows using oral progestagen treatment. Journal of Animal Science, v.86, p.1996-2004, 2008.

PELTONIEMI, O. A. T.; EASTON, B. G.; LOVE, R. J.; KLUPIEC, C.; EVANS, G. Effect of chronic treatment with a GnRH agonist (Goserelin) on LH secretion and early pregnancy in gilts. Animal Reproduction Science, v.40, p.121-133, 1995.

PERRY, J. S.; ROWELL, J. G. Variations in foetal weight and vascular supply along the uterine horn of the pig. Journal of Reproduction Fertility, v.19, p.527–534, 1969.

PINHEIRO, R. Manejo da leitoa da fase pré-puberal à cobertura. In: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE SUÍNOS: Produção de Suínos Teoria e Prática. Brasília, Duo Design Comunicação, p.261-265

POPE, W. F.; XIE, S.; BROERMAN, D. M.; NEPHEW, K. P. Causes and consequences of early embryonic diversity in pigs. Journal of Reproduction and Fertility Supplement, v. 40, p.251–260, 1990.

PTASZYNSKA, M. COMPÊNDIO DE REPRODUÇÃO ANIMAL. [S.I.] Intervet International. Cap. 4, n.181-212, 2001.

RASBAND, W. S., AND T. FERREIRA. ImageJ. U. S. National Institutes of Health, Bethesda, MD. http://imagej.nih.gov/ij/. 2012. (Acessado em Agosto 2018.)

ROPPA, L. Panorama da produção de suínos no Brasil e no mundo. In: Produção de Suínos: Teoria e Prática. 1. ed. Associação Brasileira dos Criadores de Suínos, 2014. Cap.01, p.23-37.

ROSSETO, A. C.; BRUNO, D. G.; MARTINS, S. M. M. K.; LAGO, V.; PINESE, M. E.; VIANNA, W. L.; DAGLI, M. L. Z.; BRESSAN, F. F.; ANDRADE, A. F. C.; RAVAGNANI, G. M.; TORRES, M. A.; MORETTI, A. S. Explorando os efeitos da sincronização do segundo estro e flushing alimentar sobre a incidência de cistos

ovarianos em marrãs utilizando gonadotrofinas exógenas. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, v. 50, p. 307, 2014

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; HANNAS, M. I.; DONZELE, J. L.; SAKOMURA, N. K.; PERAZZO, F. G.; SARAIVA, A.; TEIXEIRA, M. L.; RODRIGUES, P. B.; OLIVEIRA, R. F.; BARRETO, S. L. T.; BRITO, C. O. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. 4a Edição, Viçosa/Departamento de Zootecnia, UFV, Viçosa, Brasil, 2017

ROWE, J. D.; TELL, L. A.; WAGNER, D. C. Animal safety report on intravaginal progesterone controlled internal drug releasing devices in sheep and goats. J. vet. Pharmacol. Therap. v.32, p.303–305, 2008.

SÁ FILHO, M. F.; AYRES, H.; FERREIRA, R. M.; MARQUES, M. O.; REIS, E.L.; SILVA, R. C. P.; RODRIGUES, C.A.; MADUREIRA, E. H.; BÓ, G.A.; BARUSELLI P. S. Equine chorionic gonadotropin and gonadotropin-releasing hormone enhance fertility in a norgestomet-based, timed artificial insemination protocol in suckled Nelore (Bos indicus) cows. Theriogenology, v.73, p.651-658, 2010.

SCHEID, I. R.; WENTZ, I. Diagnóstico do cio e manejo da cobertura: tarefas importantes na criação. Suinocultura Dinâmica, n.11, p.1-10, 1994.

SENGER, P. L. Reproductive cyclicity: Terminology and basic concepts. In: Senger, P. L. Pathwas to Pregnancy and Parturition. 2 ed. Pullman: Current Conceptions, p. 150-163, 2003.

SILVA, D. M.; MURGAS, L. D. S.; ALVARENGA, A. L. N. Manejo da cobrição na suinocultura. Boletim técnico Universidade Federal de Lavras, n. 80, p. 1-13, 2008.

SOEDE, N. M., KEMP, B. Expression of oestrus and timing of ovulation in pigs. Journal of Reproduction and Fertility, v. 52, p. 91-103, 1997.

STEVENSON, J. S.; DAVIS, D. L. Estrous synchronization and fertility in gilts after 14 or 18-day feeding of Altrenogest beginning at estrus or diestrus. Journal of Animal Science, v. 55, p.119-123, 1982.

SUGANO, M.; YOSHIKATSU, K.; HONTA, I.; YAMAMOTO, M.; KOIKE, K. Synchronization of the estrous cycle in sows using a controlled intravaginal drug-releasing device. Journal of Mammalian Ova Research, v.18, p.119-122, 2001.

TORRES, M. A.; RAVAGNANI, G. M.; LEAL, D. F.; ANDRADE, A. F. C. Inseminação artificial (IA) e inseminação artificial em tempo fixo (IATF) em suínos. In: Erika S. C. Morani; Lúcia Helena Rodrigues, Marcelo Roncoletta. (Org.). Manual de reprodução nas espécies domésticas – avaliação e empregabilidade do sêmen – volume I. 1 ed. São Paulo: Medvet, 2018, v.I, p. 185-194.

TOWN, S. C.; PUTMAN, C. T. TURCHINSKY, N. J.; DIXON, W. T.; FOXCROFT G. R. Number of conceptuses in utero affects porcine fetal muscle development. Reproduction, v.128, p.443–454, 2004.

VIANA, C.H.C. Relações entre as características intervalo desmame-cio, duração do cio e momento da ovulação pela ultra-sonografia e dosagem de progesterona sérica em fêmeas da espécie suína. Dissertação (Mestre em Reprodução Animal). Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.

VIANA, C.H.C.; SILVEIRA, P.R.S.; MORETTI, A. S.; RODRIGUES, P.H.M. Relações entre as características intervalo desmame-cio, duração do cio e momento da ovulação diagnosticado pela ultra-sonografia em fêmeas da espécie suina. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, São Paulo, v. 36, n. 4, p. 212-218, 1999.

WEITZE, K. F., WAGNER-RIETSCHEL, H., WABERSKI, D., RICHTER, L; KRIETER, J. The onset of heat after weaning, heat duration, and ovulation as major factors in AI timing in sows. Reproduction of Domestic Animals, v. 29, p. 433–443, 1994.

WERVEN, T. V; WALDECK, F.; SOUZA, A. H.; FLOCH, S.; ENGLEBIENNE, M. Comparison of two intravaginal progesterone releasing devices (PRID-Delta vs CIDR) in dairy cows: Blood progesterone profile and field fertility. Animal Reproduction Science, v.138, p.143– 149, 2013.

WILLIAMS, S. Avanços na reprodução suína. Suínos&Cia-Revista Técnica da Suinocultura, ed.51, ano XI, p. 28-34

WOODING, F. B. P.; BURTON, G. J. Comparative Placentation: Structures, Functions and Evolution. Berlin: Springer; 2008.