

Implantes de progesterona de quarto uso associados à progesterona injetável em programa de IATF em Bovinos de corte**Progesterone implants of fourth use associated with injectable progesterone in FTAI program in cattle**

DOI:10.34117/bjdv5n12-125

Recebimento dos originais: 10/11/2019

Aceitação para publicação: 09/12/2019

Edson Carlos Pimenta de Oliveira

Médico Veterinário pelo Centro Universitário de Desenvolvimento do Centro-Oeste

Instituição: Centro Universitário de Desenvolvimento do Centro-Oeste

Endereço: Rodovia BR-040, Jardim Flamboyant, Luziania – GO, Brasil

E-mail: edsonpimenta33@gmail.com

Carolina Gonzales da Silva

Doutora em Reprodução Animal pela Universidade de Brasília

Instituição: Centro Universitário de Desenvolvimento do Centro-Oeste

Endereço: Rodovia BR-040, Jardim Flamboyant, Luziania – GO, Brasil

E-mail: carolgonzaless@gmail.com

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi verificar a eficiência da utilização de implantes de progesterona (P4) de quarto de uso associados ou não a uma aplicação de P4 injetável. Vinte vacas da raça Nelore foram distribuídas nos grupos controle (GC): Dia (D)0 – colocação do implante intravaginal de P4 de quarto uso, aplicação benzoato de estradiol, D6,5 – aplicação cloprostenol sódico, D8 – retirada implante de P4, aplicação eCG e cipionato de estradiol; e grupo experimento (GE): o mesmo protocolo do GC com a adição da P4 injetável no D0. No D8 foi coletado sangue dos animais para dosagem de P4 sérica. A dinâmica folicular foi acompanhada por ultrassonografia (US) na retirada do implante e a cada 12 horas até a ovulação, quando foi realizada a inseminação. O diagnóstico de gestação foi realizado por US após 40 dias da inseminação. A média da dosagem de P4 foi de $0,63 \pm 0,23$ ng/mL para GC e de $2,48 \pm 0,73$ ng/mL para GE, resultados que diferiram significativamente. As médias do diâmetro do folículo pré-ovulatório (FPO) não diferiram estatisticamente e foram de $12,52 \pm 1,50$ mm para GC e $12,78 \pm 3,00$ mm para GE. A maioria dos FPO (70%) do GC situou-se entre 11,1 e 14,4 mm de diâmetro, enquanto que no GE 50% deles apresentaram diâmetro maior que 14,4 mm. Apenas um animal do GC apresentou-se gestante. A associação de implantes de quarto uso à progesterona injetável foi efetiva em evitar as ovulações até o momento adequado do protocolo, entretanto a quantidade excessiva de P4 circulante exerceu influência negativa sobre as taxas de gestação do GE.

Palavras-chave: biotecnologia reprodutiva; bovinocultura; corpo lúteo; inseminação artificial

ABSTRACT

The aim of this work was verify the efficiency of the use of progesterone implants (P4) of 32 days of use associated or not with an injectable P4 application. Twenty Nelore cows were distributed in the control group (CG): Day (D)0 - intravaginal P4 implant collocation, estradiol benzoate application, D6,5 - cloprostenol sodium application, D8 – P4 implant removal, eCG and estradiol cypionate application; and experiment group (EG): the CG protocol with the addition of injectable P4 in D0. In D8 blood was collected from the animals for serum P4 dosage. The follicular dynamics was accompanied by ultrasonography (US) in the removal of the implant and every 12 hours until ovulation, when the insemination was performed. The diagnosis of gestation was performed by US after 40 days of insemination. The mean P4 dosage was 0.63 ± 0.23 ng/mL for CG and 2.48 ± 0.73 ng/mL for EG, results that differed significantly. The averages of preovulatory follicle diameter (PFD) did not differ statistically and were 12.52 ± 1.50 mm for CG and 12.78 ± 3.00 mm for EG. The majority of the PFD (70%) of the CG was between 11.1 and 14.4 mm in diameter, whereas in the EG 50% of them had a diameter greater than 14.4 mm. Only one CG animal was pregnant. The association of fourth use implants with injectable progesterone was effective in avoiding ovulation until the adequate time of the protocol, however, the excessive amount of circulating P4 exerted a negative influence on the gestation rates of the EG.

Keywords: artificial insemination; bovine cattle; corpus luteum; reproductive biotechnology

1 INTRODUÇÃO

A inseminação artificial (IA) consiste em uma biotecnologia antiga e de fácil execução (REICHENBACH et al., 2008), contudo, um dos maiores problemas relacionado ao insucesso da IA nos rebanhos brasileiros está associado às falhas na detecção de estro (cio) e, por consequência, baixas taxas de concepção. Desta forma, torna-se importante considerar a utilização de protocolos de sincronização que permitam realizar a IA sem necessidade de observação do cio (CABRAL et al., 2013).

Assim, surgem os programas de Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) que são amplamente utilizados devido a sua capacidade de aumentar o número de fêmeas inseminadas sem a necessidade de detecção do estro (SÁ FILHO et al., 2011a), eliminando os erros associados ao manejo de detecção do cio.

Em um protocolo de IATF o implante de progesterona (P4) permanece no organismo da fêmea por até oito dias, pois o implante deve liberar lenta e continuamente o princípio ativo na corrente circulatória, mantendo níveis plasmáticos da P4 acima de 1 ng/mL para que seja evitada a ovulação (ERB et al., 1976).

Os implantes de P4 disponíveis no mercado podem ser utilizados em até três protocolos de IATF distintos, a recomendação seguinte é de descartar o material já que a quantidade de P4 impregnada diminui e não é suficiente para manter os níveis plasmáticos satisfatórios para

evitar ovulações do folículo dominante antes da retirada do implante. Assim, os implantes de P4 de quarto uso tornam-se um material que, mesmo possuindo quantidades de P4 impregnada, acaba sendo descartado. Ressalta-se que os hormônios utilizados nos protocolos para a sincronização do estro em bovinos, principalmente os dispositivos de progesterona, correspondem ao maior custo, que muitas vezes inviabiliza a utilização do protocolo (PINTO-NETO et al., 2009).

Existe outra forma de apresentação da P4 para ser usada injetável disponível no mercado e seu uso está descrito para manutenção do conceito (BELTMAN et al., 2009) e, portanto, seria aplicada após a IA, quando já houve a formação do zigoto. Usar essa fonte de P4 no início do protocolo como substituta do implante está descrito em poucos trabalhos (ROCHA et al., 2011; CAMPOS et al., 2016a; 2016b).

O objetivo do trabalho foi verificar a eficiência da utilização de implantes de progesterona de quarto uso (32 dias de uso) associado ou não a uma aplicação de progesterona injetável de liberação lenta em fêmeas bovinas da raça Nelore.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado entre os meses de junho e agosto de 2018, utilizando-se vinte vacas multíparas da raça Nelore de uma propriedade rural do estado de Goiás, localizada no município de Santo Antônio do Descoberto. Todos os animais estavam em escore de condição corporal variando de 2 a 3,5 (escala de 1 a 5) e receberam o mesmo tipo de alimentação baseada em pastagem de *Brachiaria brizantha*, água e sal mineral à vontade. Os animais selecionados estavam ciclando, o que foi comprovado mediante exame ultrassonográfico (CHISON D 600VET) do aparelho reprodutor interno.

Os animais foram alocados aleatoriamente por meio de sorteio em dois grupos: grupo controle (GC) e grupo experimento (GE). Os animais do GC foram submetidos ao seguinte protocolo de IATF:

Dia (D) 0 – colocação do implante intravaginal de P4 (o implante novo contém 1 g de P4) que haviam sido utilizados previamente por 24 dias, ou seja, por três vezes, sendo usados pela quarta vez no experimento, totalizando 32 dias de uso; aplicação de 2 mg de benzoato de estradiol via intramuscular (IM);

D 6,5 – aplicação de 526 µg de cloprostenol sódico;

D 8 – retirada do implante de P4; aplicação de 400 UI de eCG; aplicação de 1 mg de cipionato de estradiol.

Já os animais do GE foram submetidos ao mesmo protocolo acima descrito com a adição de uma aplicação de 525 mg de P4 injetável de longa ação no D0, pela via IM, juntamente com a colocação do implante de quarto uso (Figura 1).

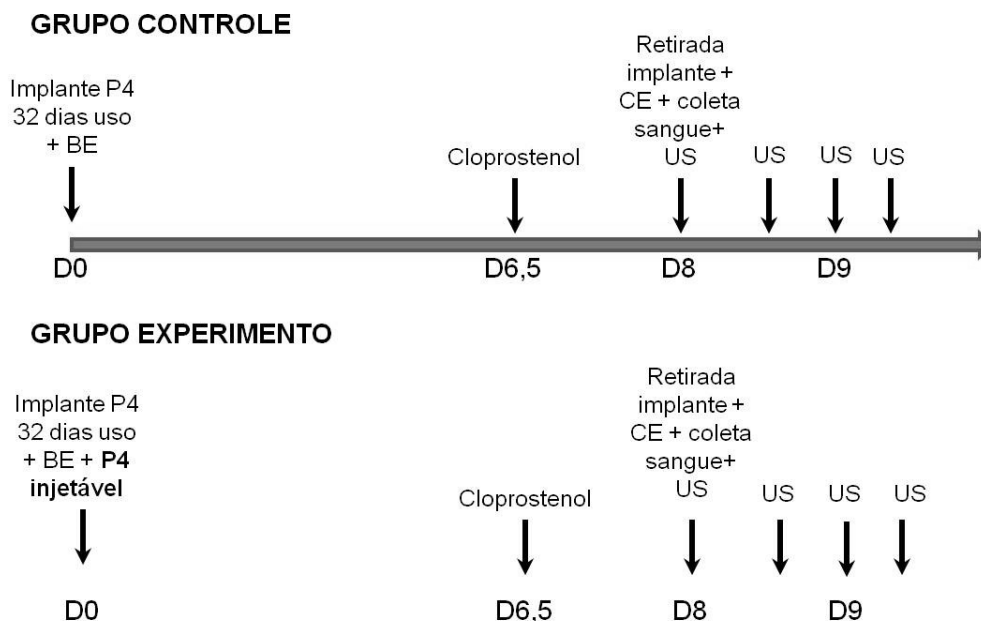


Figura 1 - Representação esquemática dos dois diferentes protocolos de sincronização de vacas Nelore, baseados em implante de progesterona de quarto uso (controle) e implante de progesterona de quarto uso associado à progesterona injetável (experimento).

Após a retirada dos implantes, os mesmos foram higienizados com água e detergente desengordurante à base de quaternário de amônio e acondicionados em embalagens revestidas internamente com alumínio e posteriormente estocadas em temperatura ambiente.

Em cada grupo, no dia da retirada do implante (D8), foram colhidas amostras de sangue de cinco animais para realização de dosagem sérica de progesterona. O sangue foi colhido da veia coccígea média em tubos sem anticoagulante na quantidade de 3 mL. Após a coagulação da amostra o soro foi enviado imediatamente ao laboratório para dosagem de progesterona por quimioluminescência.

Além disso, no momento da retirada do implante e após 12, 24 e 36 horas foi feita a avaliação ultrassonográfica por via transretal dos ovários de todas as vacas dos grupos para acompanhamento da dinâmica folicular, onde foram mensurados os diâmetros dos folículos dominantes e determinado o momento da ovulação.

Os animais foram inseminados com sêmen convencional de touro Sindi por ocasião da ovulação. Após 40 dias das inseminações foi realizado o diagnóstico de gestação por ultrassonografia transretal para determinação do índice de gestação em cada grupo.

Para comparação entre médias, a normalidade dos dados foi testada por meio da estatística Shapiro-Wilk, e após, foi realizado o teste T a um nível de significância de 5% ($P < 0,05$). Todos os testes foram realizados por meio do programa estatístico Prophet 5.0®.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O uso de progesterona injetável associado a implantes de quarto uso em vacas Nelore resultou em uma dosagem sérica de progesterona muito alta no dia 8 do protocolo, mesmo assim os animais ovularam entre 24 a 36 horas após a retirada dos implantes demonstrando que essa quantidade de P4 não exerceu influência negativa sobre a ovulação, como verificado por meio de ultrassonografia. Mesmo sendo observadas ovulações em todos os animais do grupo experimento, nenhum deles encontrou-se gestante após o protocolo aplicado. Um animal do grupo controle apresentou-se gestante, comprovando que a quantidade de P4 neste implante foi suficiente para manter o protocolo de forma adequada.

A reutilização dos implantes de P4 nos programas de IATF tem como objetivo alcançar uma melhor relação custo/benefício (CABRAL et al., 2013), especialmente se estes implantes forem utilizados pela quarta vez, ao invés de serem descartados. PINTO-NETO et al. (2009) ressaltam que a progesterona utilizada em protocolos de IATF é cara, e muitas vezes inviabiliza a utilização do protocolo, o que justifica a realização deste trabalho no sentido de se buscar alternativas que promovam ajustes na relação custo/benefício do programa, neste caso com a reutilização de implantes pela quarta vez.

Diversos autores já atestaram que os protocolos de IATF baseados na administração de estradiol e P4 são altamente eficientes em vacas *Bos indicus* (SÁ FILHO et al., 2011b; SALES et al., 2012). Entretanto, os estudos e possíveis avanços no sentido de minimizar o serviço e reduzir os custos ainda são necessários para que se continue progredindo na biotecnologia reprodutiva (MOROTTI et al., 2013). Neste sentido, a aplicação de uma quantidade menor de P4 injetável associado ao implante de quarto uso aparece como alternativa para reduzir os custos da IATF em propriedades de bovinocultura, já que o implante iria ser descartado, mesmo contendo uma pequena quantidade de P4.

Estudos testando a reutilização de implantes de P4 por até três vezes são consagrados na literatura (PERES et al., 2009; GOTTSCHALL et al., 2012; Medalha et al., 2014), entretanto, ainda são escassos aqueles que verificam sua viabilidade de utilização por até quatro vezes (MENEGHETI et al., 2009).

Os resultados referentes à dosagem de progesterona no momento da retirada do implante e diâmetro do folículo pré-ovulatório encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1 - Dosagem de progesterona sérica (ng/mL) e diâmetro do folículo pré-ovulatório (mm) de vacas Nelore sincronizadas com protocolo baseado em implante de progesterona de quarto uso (controle) e implante de progesterona de quarto uso associado à progesterona injetável (experimento).

Grupos	Progesterona (ng/mL)	Folículo pré-ovulatório (mm)
Controle	0,626 ± 0,227 ^a	12,523 ± 1,498 ^a
Experimento	2,476 ± 0,727 ^b	12,778 ± 2,999 ^a

Nas colunas, letras iguais indicam que não houve diferença significativa ($P < 0,05$).

A Tabela 1 evidencia que a progesterona circulante foi significativamente maior nos animais do grupo experimento e também, que essa quantidade de progesterona sérica, em ambos os grupos, foi suficiente para evitar a ovulação até o momento adequado do protocolo, tal qual descrito por SÁ FILHO et al. (2009) ao trabalhar com implantes de três usos e comprovar que a P4 que permaneceu impregnada foi eficaz em induzir o *feedback* negativo no eixo hipotalâmico-hipofisário.

Não houve diferença estatística no tamanho dos folículos pré-ovulatórios para ambos os grupos, evidenciando que a quantidade de progesterona não exerceu influência neste parâmetro. O fato de os diâmetros dos folículos pré-ovulatórios não diferirem entre si pode ser atribuído ao uso do eCG em ambos os protocolos, pois o mesmo foi observado por MEDALHA et al. (2014) entre seus grupos experimentais e justificado desta forma. Segundo os autores a administração de eCG em protocolos de sincronização com P4, tem sido frequentemente testada e recomendada pela sua ação no desenvolvimento dos folículos.

A grande quantidade de P4 circulante no grupo experimento não exerceu influência negativa sobre a ovulação dos folículos dominantes. A capacidade ovulatória de um folículo maduro parece estar associada ao diâmetro do mesmo, que deve atingir cerca de 9 a 10 mm, pois, nessa fase, também há um aumento nas concentrações circulantes do E2 (MARTINEZ

et al., 1999), o que foi observado em ambos os grupos, com diâmetros de folículos pré-ovulatórios que mensuraram em torno de 12 mm.

ERB et al. (1976) relataram que para evitar a ovulação em bovinos é necessária uma quantidade mínima de P4 de 1 ng/mL no plasma sanguíneo, mimetizando assim a ação secretora do corpo lúteo. No GC, mesmo com uma quantidade menor de P4 circulante ($0,626 \pm 0,227$ ng/mL), a ovulação não foi observada até o dia 8 do protocolo, quando, então, o implante foi retirado. Neste estudo, portanto, uma quantidade menor de P4 foi efetiva em evitar a ovulação.

A alta concentração de P4 observada nos animais do GE ($2,476 \pm 0,727$) evidencia que a aplicação de 525mg de P4 no início do protocolo pode ter sido excessiva, adicionando-se o fato que houve associação com um implante de quarto uso. A literatura cita que a utilização 350mg de P4 injetável em um protocolo de IATF resultou em 18,1% de gestações (MOROTTI et al., 2013), tratando-se do uso de um fármaco preparado em laboratório especificamente para aquele experimento.

No atual artigo, foi utilizada uma progesterona comercial de longa ação (Sincrogest Injetável, Ourofino Saúde Animal) que normalmente é usada para manutenção da gestação em protocolos de IATF. A escolha da dose a ser utilizada foi baseada no experimento de SOUZA (2015) que traçou a curva de meia vida plasmática para este produto comercial, porém utilizando vacas da raça Holandesa (*Bos taurus taurus*). Ficou evidente, que os animais *Bos taurus indicus* são mais sensíveis a este produto e que mais estudos são necessários para que se possa chegar à dose exata em associação com os implantes de quarto uso, para utilização em protocolos de IATF de vacas Nelore.

Observou-se também que grande parte das ovulações em ambos os grupos ocorreram após 36 horas da retirada do implante de P4, sendo 90% para o GC e 80% para o GE neste período de tempo. As demais ovulações aconteceram 24 horas após a retirada do implante.

A Tabela 2 é uma descrição pormenorizada dos diâmetros dos folículos pré-ovulatórios classificados dentro de grupos.

Tabela 2 - Média do diâmetro do folículo pré-ovulatório (FPO) de vacas Nelore sincronizadas com protocolo baseado em implante de progesterona de quarto uso (controle) e implante de progesterona de quarto uso associado à progesterona injetável (experimento).

Variáveis	Grupos	
	Controle	Experimento
Média do diâmetro do FPO (mm)	12,52 ± 1,50	12,78 ± 2,30
Taxa de FPO 8,5-11 mm	20% (2/10)	40% (4/10)
Taxa de FPO 11,1-14,4 mm	70% (7/10)	10% (1/10)
Taxa de FPO >14,4 mm	10% (1/10)	50% (5/10)

Ao analisar a Tabela 2 observa-se que a maioria dos folículos pré-ovulatórios do GC encontrava-se na faixa de 11,1 a 14,4 mm de diâmetro. Já para as fêmeas do GE a maioria dos folículos pré-ovulatórios esteve acima de 14,4 mm.

Embora a literatura cite uma existência de relação inversamente proporcional entre concentração de progesterona e tamanho do folículo dominante (CALLEJAS et al., 2006), neste estudo, uma taxa maior de folículos pré-ovulatórios acima de 14,4 mm de diâmetro foi observada nos animais do GE comparados ao GC. Fato curioso, pois TAYLOR e RAJAMAHENDRAN (1994) já haviam relatado que os folículos dominantes cresceram mais lentamente em animais que receberam P4 injetável comparados aos animais que não receberam, bem como tiveram o dia do estro e da ovulação atrasados, o que também não foi observado no atual experimento.

Apenas um animal do GC apresentou-se gestante aos 40 dias após a inseminação. Esta fêmea foi a que apresentou o menor nível de progesterona plasmática (0,31 ng/mL) dentre todos os animais coletados. Dentre as vacas do GE nenhuma foi detectada gestante ao exame ultrassonográfico.

A grande quantidade de P4 administrada no D0 do experimento, associada com a P4 residual dos implantes e a um protocolo mais curto de IATF provavelmente foram fatores que concorreram para o prejuízo na metabolização da progesterona, resultando em nenhuma gestação no GE. CERRI et al. (2011) afirmaram que é importante que a P4 circulante deva ser reduzida no momento próximo da ovulação e da fecundação, pois existe uma relação inversa entre os níveis circulantes de P4 próximos à IA e a fertilidade. Sob este aspecto, provavelmente a grande quantidade de P4 circulante no momento da retirada do implante tenha exercido influência negativa sobre a ovulação e a taxa de gestação.

O tempo de duração mais curto do protocolo com progesterona injetável também pode ter influenciado negativamente o trabalho de MOROTTI et al. (2013), que teve duração de oito dias e uma taxa de gestação de 18%, quando comparado ao experimento de CAMPOS et

al. (2016b) que obtiveram 48% com um protocolo de dez dias de duração. O fato de o protocolo ter uma duração menor sugere que haja menos tempo para que a P4 seja metabolizada e, desta forma, continua a exercer *feedback* negativo sobre o hipotálamo, afetando negativamente as taxas de gestação.

O presente estudo provou ser capaz a reutilização de implantes de progesterona por até quatro vezes em protocolos de IATF para gado de corte, entretanto ainda são necessários mais estudos para verificação da quantidade adequada de P4 injetável para que o protocolo seja viável economicamente ao mesmo tempo em que traga índices satisfatórios de gestação.

4 CONCLUSÃO

Desta forma, é possível concluir que a aplicação de 525 mg de progesterona injetável associada a um implante de quarto uso em fêmeas bovinas da raça Nelore foi capaz de evitar a ovulação até o dia da retirada do implante, porém a quantidade de progesterona circulante foi muito alta, o que pode ter tido consequência direta na taxa de prenhez, já que nenhum animal do grupo experimento encontrou-se gestante após o protocolo de IATF. Estudos testando quantidades menores de P4 injetável, bem como com um número experimental maior são necessários para verificar-se o efeito da P4 sobre os protocolos de IATF, almejando-se reduzir os gastos despendidos com este hormônio.

AGRADECIMENTOS

Ao Senhor João Ricardo Garcia Annoni e à Fazenda Santa Isabel por concederem o local e os animais para realização do experimento. À professora Gabrielle Sant'Ana por ceder o ultrassom para a realização da avaliação das fêmeas. Ao Núcleo Interdisciplinar de Pesquisa e ao Centro Universitário de Desenvolvimento do Centro-Oeste - UNIDESC pela concessão de Bolsa de Iniciação Científica.

REFERÊNCIAS

BELTMAN, M.E.; LONERGAN, P.; DISKIN, M.G. et al. Effect of progesterone supplementation in the first week postconception on embryo survival in beef heifers.

Theriogenology, v.71, p.1173-1179, 2009. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0093691X0800808X?via%3Dihub>. Acesso em: 09/07/2019.

CABRAL, J.F.; LEÃO, K.M.; SILVA, M.A.P. et al. Indução do estro em novilhas Nelore com implante intravaginal de progesterona de quarto uso. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v.20, n.1, p.49-53, 2013. Disponível em: <http://doi.editoracubo.com.br/10.4322/rbcv.2014.039>. Acesso em: 09/07/2019.

CALLEJAS, S.S.; ALBERIO, R.; CABODEVILA, J. et al. Influence of different doses of progesterone treatments on ovarian follicle status in beef cows. **Animal Reproduction Science**, v.91, p.191-200, 2006. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378432005000904?via%3Dihub>. Acesso em: 09/07/2019.

CAMPOS, J.T.; MOROTTI, F.; BERGAMO, L.Z. et al. Pregnancy rate evaluation in lactating and non-lactating Nelore cows subjected to fixed-time artificial insemination using injectable progesterone. **Semina: Ciências Agrárias**, v.37, n.4, p.1991-1996, 2016a. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2016v37n4p1991>. Acesso em: 09/07/2019.

CAMPOS, J.T.; MOROTTI, F.; COSTA, C.B. et al. 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.4149-4156, 2016b. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2016v37n6p4149>. Acesso em: 19/07/2019.

CERRI, R.L.A.; CHEBEL, R.C.; RIVERA, F. et al. Concentration of progesterone during the development of the ovulatory follicle: I. Ovarian and embryonic responses. **Journal of Dairy Science**, v.94, p.3342-3351, 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030211003286?via%3Dihub>. Acesso em: 17/07/2019.

ERB, R.E.; GARVERICK, H.A.; RANDER, R.D. et al. Profiles of reproductive hormones associated with fertile and nonfertile inseminations of dairy cows. **Theriogenology**, v.5, n.5, p.227-242, 1976. Disponível em: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/0093691X76902351?token=ACE17AB39D520EEF>

[9DF2A6CC7EB1E2004A93DB522491155195040FC9AF55D6B63E31E7B5072076F8873CC46D1AD9710C](#)>. Acesso em: 17/07/2019.

GOTTSCHALL, C.S.; ALMEIDA, M.R.; TOLOTTI, F. et al. Avaliação do desempenho reprodutivo de vacas de corte lactantes submetidas à IATF a partir da aplicação do GnRH, da manifestação estral, da reutilização de dispositivos intravaginais e da condição corporal. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.40, n. 1, p.1012-1022, 2012. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/actavet/40-1/PUB%201012.pdf>>. Acesso em: 16/07/2019.

MARTINEZ, M.F.; ADAMS, G.P.; BERGFELT, D.R. et al. Effect of LH or GnRH on the dominant follicle of the first follicular wave in beef heifers. **Animal Reproduction Science**, v.57, n. 1-2, p.23-33, 1999. Disponível em: <<https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0378432099000573?token=37CADB5C28A06388B846F6406FAA860242E106806FE5614E002AA8E5196C8DF949BAB346792D853D713D1DB1A94FCD40>>. Acesso em: 16/07/2019.

MEDALHA, A.G.; SOUZA, M.I.L.; SOUZA, A.S. et al. Reutilização de dispositivos intravaginais de progesterona, diâmetro folicular e comportamento estral na prenhez de vacas zebuínas. **Enciclopédia Biosfera**, v.10, n.18, p.2723-2734, 2014. Disponível em: <<http://www.conhecer.org.br/enciclop/2014a/AGRARIAS/reutilizacao.pdf>>. Acesso em: 16/07/2019.

MENEGUETTI, M.; SÁ FILHO, O.G.; PERES, R.F.G. et al. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows I: Basis for development of protocols. **Theriogenology**, v.72, n. 2, p.179-189, 2009. Disponível em: <<https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0093691X09000983?token=22A6C2F2DC0D1E543042E59CFAB76624A6A551146322B4ED66A1C778C6AD1759FDADE8566AFB5574B0E7268B7C416C1A>>. Acesso em: 16/07/2019.

MOROTTI, F.; CAMPOS, J.T.; OLIVEIRA, E.R. et al. Ovarian follicular dynamics of Nelore (*Bos indicus*) cows subjected to a fixed-time artificial insemination protocol with injectable progesterone. **Semina: Ciências Agrárias**, v.34, n.6, p.3859-3866, 2013. Disponível em: <<https://pdfs.semanticscholar.org/c177/cc6ae88e17ada5cb29423242f81103648a44.pdf>>. Acesso em: 16/07/2019.

PERES, R.F.G.; CLARO JÚNIOR, I.; SÁ FILHO, O.G. et al. Strategies to improve fertility in *Bos indicus* postpubertal heifers and nonlactating cows submitted to fixed-time artificial insemination. **Theriogenology**, v.72, n. 5, p.681-689, 2009. Disponível em: <

<https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0093691X09002131?token=633D3FF0CAD0398348011AA01A36C02FDE7A9DFB2D03AA779B8EFDD13E36899691E48F60E57D551EC936D8E9DA115E02>>. Acesso em: 16/07/2019.

PINTO-NETO, A.; SILVA, R.Z.; MOTA, M.F. et al. Reutilização de implante intravaginal de progesterona para sincronização de estro em bovinos. **Arquivos de Ciência Veterinária e Zoologia**, v.12, n.2, p.169-174, 2009. Disponível em: <<http://revistas.unipar.br/index.php/veterinaria/article/view/2972>>. Acesso em: 16/07/2019.

REICHENBACH, H.D.; MORAES, J.; NEVES, J.P.; GONÇALVES, P.; FIGUEIREDO, J.; FREITAS, V. Tecnologia de sêmen e inseminação artificial em bovinos. In: GONÇALVES, P.B.D.; FIGUEIREDO, J.R.; FREITAS, V.J.F. **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. São Paulo: Roca, 2008, p.57-82.

ROCHA, D.C.; BESKOW, A.; PIMENTEL, C.M.M. et al. 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. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/actavet/39-3/PUB%20974.pdf>>. Acesso em: 16/07/2019.

SÁ FILHO, O.G.; MENEGHETTI, M.; PERES, R.F.G. et al. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows II: strategies and factors affecting fertility. **Theriogenology**, v.72, n. 2, p.210-218, 2009. Disponível em: <<https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0093691X09001022?token=187D578485FB7DDE17D0FB4C4A95A40D8E7FB459DBF3682B1EF8035EF389B16B462BA55F96A97614061E7FCEC170701A>>. Acesso em: 16/07/2019.

SÁ FILHO, M.F.; BALDRIGHI, J.M.; SALES, J.N.S. et al. Induction of ovarian follicular wave emergence and ovulation in progestin-based timed artificial insemination protocols for *Bos indicus* cattle. **Animal Reproduction Science**, v.129, n. 3-4, p.132-139, 2011a. Disponível em: <<https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0378432011002946?token=950CF1FE39BE492F22B18B1A9AB7528EFC2E02F71F2889BE49DDD4A6245FB67900CB112980E61E6CCD611AE76533AF60>>. Acesso em: 16/07/2019.

SÁ FILHO, M. F.; SANTOS, J. E.; FERREIRA, R. M. et al. Importance of estrus on pregnancy per insemination in suckled *Bos indicus* cows submitted to estradiol/progesterone based timed insemination protocols. **Theriogenology**, v.76, n.3, p.455-63, 2011b. Disponível em: <

<https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0093691X1100104X?token=18315BB58481C0CB C66ED7DF313A985D117CB978E4D3EDC204D14651350D4597F4964D361D78C24CF9 A124480FB64D37>>. Acesso em: 16/07/2019.

SALES, J. N. S.; CARVALHO, J. B. P.; CREPALDI, G. A. et al. Effects of two estradiol esters (benzoate and cypionate) on the induction of synchronized ovulations in *Bos indicus* cows submitted to a timed artificial insemination protocol. **Theriogenology**, v.78, n.3, p.510-516, 2012. Disponível em: <<https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0093691X12001422?token=77BF20EB65737FC5 ECD408135EC8BADF8FD88CEAA13D941B42BEA9BE816472EA11F1B9E629EDB0E1 386988CFFAC882FB>>. Acesso em: 16/07/2019.

SOUZA, E.D.F. **Efeito da progesterona injetável de longa ação na função luteínica e na taxa de concepção de vacas Holandesas de alta produção submetidas à IATF**. 2015. São Paulo, 68 f. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

TAYLOR, C.; RAJAMAHENDRAN, R. Effect of mid-luteal phase progesterone levels on the first wave dominant follicle in cattle. **Canadian Journal of Animal Science**, v.74, n.2, p.281-285, 1994. Disponível em: <<https://www.nrcresearchpress.com/doi/pdf/10.4141/cjas94-039>>. Acesso em: 16/07/2019.