

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

BENTO MARTINS DE MENEZES BISNETO

**PROGESTERONA INJETÁVEL DE LONGA AÇÃO ASSOCIADA AO GNRH EM
PROTOCOLO DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO EM BOVINOS**

Uruguiana

2022

BENTO MARTINS DE MENEZES BISNETO

**PROGESTERONA INJETÁVEL DE LONGA AÇÃO ASSOCIADA AO GNRH EM
PROTOCOLO DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO EM BOVINOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciência Animal da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Bayard Dias Gonçalves

Coorientador: Prof. Dr. Rogério Ferreira

**Uruguaiiana
2022**

BENTO MARTINS DE MENEZES BISNETO

**PROGESTERONA INJETÁVEL DE LONGA AÇÃO ASSOCIADA AO GNRH EM
PROTOCOLO DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO EM BOVINOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciência Animal da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciência Animal.

Área de concentração: Reprodução e Produção Animal

Trabalho de Conclusão de Curso defendido e aprovado em: 22, fevereiro de 2022.

Banca examinadora:

Prof. Dr. Paulo Bayard Dias Gonçalves
Orientador
UNIPAMPA

Prof. Dr. Rogério Ferreira
Coorientador
UDESC

Prof. Dr. Bernardo Garziera Gasperin
UFPEL

Prof^a. Dr. Monique Tomazele Rovani
UFRGS

Prof. Dr. Fernando Silveira Mesquita
UNIPAMPA

Dedico este trabalho à família abençoada que Deus me deu, que com todo amor do mundo contribuíram para que essa conquista deixasse de ser apenas um sonho.

AGRADECIMENTO

Bom eu não sou muito bom em discursos e agradecimentos, mas vamos tentar!

Primeiramente a Deus, por nos abençoar e nos fazer crer sempre no lado do bem.

À minha mãe por não medir esforços por toda essa caminhada e sempre acreditar em mim, a minha irmã por ser a maior incentivadora do meu trabalho e aos meus animais que estão sempre comigo no meu coração, vocês são a minha família.

Ao professor Bayard, meu orientador, por acreditar na minha pessoa, pelos conselhos e críticas certeiras que só as pessoas de caráter tem.

Ao meu coorientador o professor Rogério, que sempre me apoiou em qualquer dia e hora.

As empresas Brangus Brasil e Renascer e toda a sua equipe, seria injusto da minha parte citar nomes visto que todos deram o seu melhor e com certeza fizeram muito para a conclusão deste trabalho, somente quero fazer um agradecimento em especial a essas 3 pessoas Didi, Paulo Pavin e Cecília Machado Pavin que proporcionam o apoio a pesquisa, tão importante para o desenvolvimento da humanidade.

Aos professores do nosso grupo de pesquisa M.I.N.T, que sempre me ajudaram em tudo que precisei (Fernando Mesquita, Fábio Leivas, Bernardo, Monique, Rafael).

Aos meus colegas de laboratório por me auxiliarem nesses 2 anos (Cecília, Camila e Juliana).

Aos professores da UFPEL (Bernardo, Arnaldo e Rafael) que me receberam de braços abertos desde os primeiros projetos.

A Unipampa que tanto nos orgulha na nossa região.

Em especial aos meus amigos que como uma família estão sempre conosco e fazem parte dessa caminhada (Henrique, Ronan, Juliana, Duda Dode (sem o seu conselho não estaria aqui), Chamorra, Fabrício, Igor, Lenoir, André, e mais alguns que já não estão mais conosco.

As instituições de fomento à pesquisa CNPQ, FAPERGS e CAPES

“O que não me mata, me fortalece”.

Friedrich Nietzsche

RESUMO

O objetivo foi alcançar um procedimento simples e eficaz para IATF, com taxas de prenhez aceitáveis, entre as usadas com os métodos tradicionais com dispositivo intravaginal. No experimento 1, vinte vacas Brangus multíparas, lactantes, com 70 dias pós-parto, foram alocadas em dois grupos. Um grupo recebeu dispositivo intravaginal de progesterona (Grupo P4IVD; n=10; SINCROGEST[®]; 1g) e o outro grupo recebeu uma injeção de progesterona de ação prolongada (Grupo P4i; n=10; SINCROGEST[®]; 30mg/sc). A avaliação ultrassonográfica da dinâmica folicular foi realizada diariamente entre o dia 0 e o dia 10 do protocolo. O sangue foi coletado nos dias 10, 11 e 15 do protocolo para avaliação sérica de P4. No experimento 2, setenta vacas Brangus, multíparas, lactantes, com 70 dias pós-parto, foram alocadas em dois grupos. Um grupo experimental recebeu o dispositivo intravaginal de progesterona (Grupo P4IVD; n= 35; SINCROGEST[®]; 1g) e no outro grupo os animais receberam uma aplicação com progesterona de ação prolongada (Grupo P4i; n= 35; SINCROGEST[®]; 300mg/sc) no dia 0. As taxas de crescimento folicular do D6 até o D9 não diferiram entre os grupos dispositivo vaginal ($1,36 \pm 0,17$ mm/dia) e injetável ($1,47 \pm 0,17$ mm/dia; $P > 0,05$). Da maneira similar, as taxas de ovulação não diferiram entre esses dois grupos (P4IVD 4/10 vacas; P4i 5/10 vacas; $P > 0,05$). Nos dias 10 e 11, as concentrações séricas de progesterona foram maiores nos animais que receberam progesterona injetável (D10: $0,36 \pm 0,15$ e $1,89 \pm 0,15$ ng/mL, para P4IVD e P4i, respectivamente; $P < 0,0001$; D11: $0,41 \pm 0,11$ e $1,59 \pm 0,11$ ng/mL, para P4IVD e P4i, respectivamente; $P < 0,0001$). No D15, essa diferença entre os grupos P4IVD ($2,63 \pm 0,49$ ng/mL) e P4i ($2,52 \pm 0,49$ ng/mL) na concentração sérica de progesterona não foi mais observada ($P > 0,05$). No entanto, as taxas de prenhez aos 30 dias após IATF foram maiores no grupo P4IVD (48%) do que no grupo P4i (2%; $P < 0,05$). Concluímos que as concentrações de progesterona injetável permanecem elevadas no período periovulatório, o que pode ter causado a baixa taxa de prenhez, entretanto, novos experimentos devem ser realizados para confirmar e ajustar a dose de progesterona injetável.

Palavras-Chave: Folículo, Ovulação, Prenhez, IATF, Ultrassonografia.

ABSTRACT

Intense food production has been required to supply the growing consumption all over the world. Therefore, high technology is required for this production, demanding new agricultural management systems and biotechnological alternatives. The objective of this work was to develop a FTAI protocol with long-acting injectable progesterone and control of follicular development and ovulation with eCG and GnRH. The goal was to obtain, at the end of the experiments, a simple, effective procedure for FTAI, with pregnancy rates among those obtained with traditional methods with an intravaginal progesterone device. In experiment 1, twenty multiparous suckling Brangus cows, 70 days postpartum, were allocated in two groups. One group received an intravaginal progesterone device (Group P4IVD; n=10; SINCROGEST®; 1g) and the other group received long-acting progesterone injection (GrupoP4i; n=10; SINCROGEST®; 300mg/SC). The ultrasound evaluation for follicular dynamics was performed daily. Blood was obtained on Day 10, 11 and 15 for P4 evaluation. In experiment 2, seventy multiparous suckling Brangus cows, 70 days postpartum, kept in native field, with a body condition score between 2.5 and 3.5 were allocated in two groups: in one group the cows received an intravaginal progesterone device (Group P4IVD; n=35; SINCROGEST®; 1g) and in the other group the animals were injected a long-acting progesterone (Group P4i; n= 35; SINCROGEST®; 300mg/SC) on day 0. Animals from both groups were inseminated at a fixed time. All statistical analyzes were performed using the JMP statistical package (SAS Institute Inc., Cary, NC), considering a significant level $P \leq 0.05$. Follicular growth rates from D6 to D9 did not differ between the vaginal device (1.36 ± 0.17 mm/day) and injectable P4 (1.47 ± 0.17 mm/day; $P > 0.05$) groups. Similarly, ovulation rates did not differ between these two groups (P4IVD 4/10 cows; P4i 5/10 cows; $P > 0.05$). On days 10 and 11, serum progesterone concentrations were higher in animals that received injectable progesterone (D10: 0.36 ± 0.15 and 1.89 ± 0.15 ng/mL, for P4IVD and P4i, respectively; $P < 0.0001$; D11: 0.41 ± 0.11 and 1.59 ± 0.11 ng/mL, for P4IVD and P4i, respectively; $P < 0.0001$). On D15, this difference between the P4IVD (2.63 ± 0.49 ng/mL) and P4i (2.52 ± 0.49 ng/mL) groups in serum progesterone concentration was no longer observed ($P > 0, 05$). However, pregnancy rates at 30 days after FTAI were higher in cows in the P4IVD group (48%) than in those in the P4i group (2%; $P < 0.05$). We conclude that injectable progesterone concentrations remain high in the periovulatory period, which may have caused the low pregnancy rate; however, further experiments should be performed to confirm and adjust the injectable progesterone dose.

Keywords: Follicle, Ovulation, Pregnancy, FTAI, Ultrasonography.

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO CIENTÍFICO

Figure 1. Experiment 1: Follicular dynamics in cows submitted to a protocol with progesterone device (Group P4IVD; device with 1g progesterone; n=10) or injectable progesterone (Group P4i, 300mg progesterone sc; n=10). Experiment 2: 75 cows were randomly allocated to P4IVD or P4i groups to assess pregnancy rate. PG: 526µg of cloprostenol. eCG: 300IU equine chorionic gonadotropin. GnRH: 10µg of buserelin 36h after removal of the device from the animals in the P4IVD group and at the same time for the cows in the P4i group. TAI: Artificial insemination 16h after GnRH. EB: Estradiol benzoate (2mg). Triangles (▼) represent ultrasound assessment for assessment of follicular diameter, ovulation, or pregnancy diagnosis. Star (★) represents blood collection for serum progesterone measurement.

Figure 2. Follicular growth (FC) of new emerging wave in Brangus cows (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*) during Days 6 and 9, synchronized with injectable progesterone (P4i) and intravaginal progesterone device (P4IVD).

Figure 3. Percentage of ovulation on Day 10 in Brangus cows (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*) after receiving an application of 10µg of buserelin acetate, in the group with intravaginal progesterone device (P4IVD) and in the injectable progesterone group (P4i). Statistical analysis was not performed due to the small sample size in each group.

Figure 4. Mean serum levels and standard error of progesterone (P4) (ng/ml) in Brangus cows (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*) in both injectable progesterone (P4i) and progesterone intravaginal device (P4IVD) groups, on Days 10 (ovulation), 11 and 15, reinforcing that the animals in experiment 1 were not inseminated. Arrows marked with an asterisk represent the statistical difference between groups ($P > 0.05$).

Figure 5. Evaluation of the percentage of pregnancy, performed by ultrasound at 30 days of gestation in Brangus cows (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*). In experiment 2 all animals

from both injectable progesterone (P4i) and progesterone intravaginal device (P4IVD) groups were inseminated. Columns with an asterisk represent the divergence between groups.

LISTA DE ABREVIATURAS

cap.– capítulo
org.– organizador
coord. – coordenador
col.– colaborador
vs.– Versus

LISTA DE SIGLAS

n.– número
p.– página
f.– folha
v.– volume
mm.– milímetros
ng.– nanograma
ml.– mililitro
mg.– miligrama
PIB.– Produto Interno Bruto
IPEA.– Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada
IATF.– Inseminação Artificial em Tempo Fixo
BE.– Benzoato de Estradiol
ECP.– Cipionato de Estradiol
GnRH.– Gonadotropin-releasing hormone
ECG.– Gonadotrofina Coriônica Equina
IBR.– Rinotraqueíte Infecciosa dos Bovinos
BVD.– Diarréia Viral Bovina
LH.– Hormônio Luteinizante
IA.– Inseminação Artificial
E2.– 17 β Estradiol
CL.– Corpo Lúteo
CIDR.– Controlled Internal Drug Release

DIB.– Dispositivo Intravaginal Bovino
RSS.– Resíduo Sólido de Saúde
RS.– Rio Grande do Sul
CYP11A1.– Cytochrome P450 Family 11 Subfamily A Member 1
3 β -HSD.– 3 β - Hidrosterioide Dehydrogenase
StAR.– Steroidogenic Acute Regulatory protein
P4.– Progesterona
FD.– Folículo dominante
FSH.– Hormônio Folículo Estimulante
LH.– Hormônio Luteinizante
PMSG.– Pregnant Mare Serum Gonadotrofin
TP.– Trofoblastina
IFN-t.– Interferon-Tau
ABRELPE.– Associação Brasileira de Empresas de Limpeza Pública e Resíduos Especiais
VE.– Valerato de Estradiol
AMPc.– Adenosina monofosfato cíclica
ECC.– Escore de Condição Corporal
IGF-1.– Insulin-Like Grow Factor
AMH.– Hormônio Anti-Mulleriano
Ovynch.– Protocolo de IATF a base de GnRh e PGF2 α
CGPs.– células germinativas primordiais
COX2.– Ciclooxygenase 2
MAP.– Acetato de Medroxiprogesterona
MGA.– Acetato de Melengestrol
ASBIA.– Associação Brasileira de Inseminação Artificial

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1	Sistema reprodutivo da fêmea bovina	16
2.2	Fisiologia do ciclo estral	17
2.3	Foliculogênese	18
2.4	Maturação Oocitária, transporte de gameta, fertilização e implantação.....	20
2.5	Inseminação artificial em tempo fixo.....	23
2.5.1	Sistemas de IATF	23
2.5.2	Fármacos usados na sincronização folicular e indução da ovulação.....	25
2.5.3	Falhas em protocolos de IATF	27
2.6	Progesterona.....	29
2.6.1	Síntese, metabolismo e ação da Progesterona	29
2.6.2	Progesterona Injetável	31
2.6.3	Dispositivo Intravaginal de Progesterona.....	32
2.7	Legislações, impactos ambientais e sanitários	33
3	OBJETIVOS	35
3.1	Objetivo geral.....	35
3.2	Objetivos específicos.....	35
4	ARTIGO CIENTÍFICO.....	35
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	51
	REFERÊNCIAS.....	52

1 INTRODUÇÃO

De acordo com o IPEA (Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada), o crescimento do PIB em 2022 será fortemente influenciado pelo setor agropecuário com projeção de crescimento de 2,8% e dos serviços com alta para 1,3%, visto que em 2021 tivemos uma queda de 1,8% para 1,1% ocasionado pelo impacto negativo da inflação sobre o poder de compras da família (IPEA, 2022). O agronegócio é responsável por uma parte significativa do Produto Interno Bruto (PIB) do Brasil, sendo a bovinocultura de corte um dos pilares desse resultado (GOMES; GASPERINI, 2020). Mesmo com a crise em todos os setores do mundo, as exportações brasileiras de carne bovina registraram um aumento de 16,3% no ano de 2021 (SEPEC, 2022).

O crescimento da população mundial, fomenta ainda mais o agronegócio a procurar soluções para que seja possível produzir alimentos com qualidade para atender a demanda da população por alimentos. Todavia, os impactos sociais e ambientais gerados pelo aumento da produção demandam que sejam implantados novos sistemas no manejo e alternativas para as biotecnologias já existentes (GOMES; GASPERINI, 2020).

A reprodução é uma das bases da bovinocultura mundial e, quando não atinge suas metas de desempenho, pode representar grandes perdas econômicas (SARTORI; BARROS, 2011). Dentre as técnicas aplicadas à reprodução animal utilizadas na bovinocultura, a Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) tem sido amplamente utilizada (SIMÕES *et al.*, 2018).

A IATF tem o objetivo de promover a sincronização da ovulação das fêmeas bovinas após a administração de hormônios em dias pré-determinados e permitir inseminar um lote de vacas em um dia pré-fixado, sem a necessidade de observação de cio (TAROUCO *et al.*, 2020). O uso dessa ferramenta permite antecipar a concepção em comparação a protocolos de inseminação artificial convencionais e concentrar dessa forma os nascimentos em um único período. Como resultado, tem-se a expectativa de que se eleve a probabilidade de uma nova prenhez na estação subsequente (GOTTSCHALL *et al.*, 2008).

O estudo da fisiologia reprodutiva do bovino, junto com a caracterização e a compreensão da dinâmica folicular, especialmente das ondas foliculares, tem sido essencial para o desenvolvimento dos protocolos de IATF (THATCHER; SANTOS, 2007). Os tratamentos hormonais aplicados a esta biotecnologia têm como objetivo chegar a quatro resultados fisiológicos: 1) sincronizar uma onda folicular ovariana, 2) otimizar as condições

para o desenvolvimento do folículo ovulatório, 3) sincronizar a regressão do corpo lúteo e 4) sincronizar a ovulação (VASCONCELOS, J. L. M. *et al.*, 2018).

Um dos métodos para a sincronização da ovulação dentro de um protocolo de IATF para bovinos é o uso de estrógenos em forma de ésteres de estradiol [benzoato de estradiol (BE) ou cipionato de estradiol (ECP)], juntamente com um progestágeno, principalmente a progesterona, para mimetizar os níveis hormonais do corpo lúteo (CL) fisiológico (BÓ; BARUSELLI, 2014).

A indução da ovulação pode ser realizada através da administração do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) ou de ésteres de estradiol (BE ou ECP) (CIPRIANO *et al.*, 2011). Pesquisadores avaliaram o efeito do GnRH na indução da ovulação e observaram que esse hormônio tem a capacidade de sincronizar o momento da ovulação (MEE *et al.*, 1990).

Entre os dispositivos de liberação de progesterona utilizados na IATF está o intravaginal e um dos maiores obstáculos em utilizá-lo é a possibilidade de induzir vaginites em fêmeas bovinas (ARTHINGTON, 2017). A infecção do epitélio vaginal facilita a contaminação e inflamação do endométrio uterino, podendo ocasionar endometrite nesse animal (WALSH *et al.*, 2008). A reutilização do dispositivo intravaginal também é um aspecto importante, visto que, pode transmitir doenças como Rinotraqueíte Infecciosa dos Bovinos (IBR) e Diarreia Viral Bovina (BVD), as quais levam a consideráveis perdas econômicas (JUNQUEIRA, J. R. C.; ALFIERI, 2006).

Uma alternativa ao dispositivo intravaginal é a progesterona injetável, essa forma apresenta benefícios como manejo e custo reduzido, especialmente em locais com grandes quantidades de fêmeas em idade reprodutiva, vantagens higiênicas e sanitárias quando comparamos, por exemplo, com os dispositivos intravaginais (MOROTTI *et al.*, 2013). Outra vantagem é de não apresentar problemas com o descarte dos dispositivos no meio ambiente e nem problemas relacionados à perda do dispositivo e a não sincronização do estro (MOROTTI *et al.*, 2018).

No entanto o metabolismo completo da progesterona injetável ainda não foi totalmente descrito sendo necessário mais estudos sobre sua ação e metabolização (CAMPOS, J. T. *et al.*, 2016). Essa molécula de progesterona de uso parenteral no início do protocolo como substituta do implante está descrito em poucos trabalhos até o momento (OLIVEIRA; SILVA, 2019).

A nossa hipótese foi que, após uma única injeção de longa ação para manter os níveis de progesterona, o folículo dominante seria estimulado ao crescimento com eCG e a ovulação ocorreria após aplicação de GnRH, permitindo a liberação do oócito e altos índices de fecundação.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Sistema reprodutivo da fêmea bovina

O trato genital de vacas é constituído por ovários, ovidutos, útero, vagina e genitália externa (vestíbulo, lábios vulvares e clitóris) (HAFEZ; HAFEZ, 2004). Se fizéssemos uma observação em uma seção transversal de qualquer um dos tubos componentes do trato reprodutivo feminino, veríamos que a seção transversal é composta por camadas semelhantes em todas as regiões do trato, esses componentes são a serosa, muscular, submucosa e mucosa (SENGER, 2008).

Os ovários são órgãos pares, que se localizam até o terço ventral da cavidade abdominal, cranialmente ao púbis são sustentados pelo mesovário e irrigados pela artéria ovariana, desempenham função endócrina (esteroidogênese) e exócrina (gametogênese) (KÖNIG, 2016). Possuem uma zona medular (estroma) onde se localizam nervos, vasos sanguíneos e linfáticos e uma zona cortical (região parenquimatosa) na qual se desenvolvem os folículos ovarianos e os corpos lúteos (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

O folículo é uma das estruturas morfofuncionais do ovário, é uma unidade altamente organizada e constituída pelo oócito. Sua função é manter um ambiente ideal para o crescimento, maturação oocitária e síntese de hormônios (ALVES *et al.*, 2003).

A população folicular ovariana é heterogênea, de acordo com os aspectos morfológicos, os folículos podem ser classificados em: 1) folículos pré-antrais ou não cavitários, que abrangem os folículos primordiais e primários e 2) folículos antrais ou cavitários, compreendendo os folículos secundários, terciários (subordinados e dominantes), de Graaf ou pré-ovulatório (JUNQUEIRA, L. C. U.; CARNEIRO, 2008).

O corpo lúteo é uma estrutura glandular transitória, que inicia seu desenvolvimento no ovário, logo após a ovulação, sob a ação de um conjunto de fatores mitogênicos, angiogênicos e de crescimento, os quais agem sobre as células da teca e da granulosa remanescentes determinando a luteinização (GORETE; SALLES, 2016).

A artéria ovariana irriga não somente o ovário como também o oviduto e a região anterior dos cornos uterinos e portanto, qualquer substância transferida à partir da veia útero-ovariana irá atingir todos estes tecidos (EINER-JENSEN; HUNTER, 2005).

Os vasos linfáticos que drenam o ovário estão entrelaçados com o pedículo vascular útero-ovariano sendo que o CL tem o fluxo aumentado durante a fase luteal e durante a prenhez (STAPLES; FLEET; HEAP, 1982).

Os ovidutos estão em íntima relação anatômica com os ovários, são divididos em 3 estruturas funcionais. A primeira delas é chamada de infundíbulo, no qual se localizam as fimbrias, que tem por função captar os oócitos liberados pelo ovário. No segmento médio do oviduto, se encontra a ampola, na qual ocorre o processo de fertilização. Conectado a ampola está o istmo, estrutura que se liga ao corno uterino e capta os espermatozóides, realizando contrações para levá-los até a ampola (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

O útero de bovinos é composto por dois cornos uterinos, um corpo e uma cérvix. A morfologia uterina se modifica durante o ciclo estral e é regulada principalmente pelos hormônios ovarianos (WEEMS *et al.*, 1988). É constituído por três camadas: a camada mais interna mucosa (endométrio), camada muscular (miométrio) e a camada externa serosa (perimétrio), é sustentado pelo mesométrio e irrigado pela artéria uterina média (KÖNIG, 2016).

A vagina constitui o órgão copulatório e o canal de parto, bem como fornece uma barreira protetora do trato genital superior (ZHAO *et al.*, 1999). Além disso, é um órgão hormônio-dependente sendo que o epitélio vaginal é alvo da ação dos hormônios esteroides por meio de seus respectivos receptores (RE *et al.*, 1995).

O sistema reprodutivo da vaca é regulado pela interação de vários sistemas: dentre eles estão o eixo hipotalâmico da hipófise, o ovário e o útero (LAMB *et al.*, 2010). O hipotálamo faz parte da base do cérebro e seus neurônios produzem o GnRH, que se espalha para através dos capilares para o sistema pituitário e de lá às células da hipófise anterior, onde sua função é estimular a produção e secreção de hormônios hipofisários FSH e LH (RIPPE, 2009).

2.2 Fisiologia do ciclo estral

A reprodução é regulada pela interação entre o sistema nervoso e o sistema endócrino, esses dois sistemas coordenam e regulam todas as funções reprodutivas (SENGER, 2008).

O processo reprodutivo da vaca é cíclico, tendo o comportamento estral repetido em média a cada 21 dias, sendo o período compreendido entre dois estros seguidos denominado de ciclo estral (BINELLI *et al.*, 2006). Tal controle é exercido pelas ações tecido-específicas de hormônios proteicos e esteróides, fatores de crescimento, citocinas e prostanóides (SENGER, 2008).

O período de proestro começa com a regressão do corpo lúteo do ciclo anterior e termina com a manifestação de cio. Na luteólise, há uma queda nos níveis de progesterona e posteriormente uma perda de tecido luteínico, sendo a $PGF2\alpha$ de origem uterina o principal luteolítico nos animais domésticos e na maioria dos roedores (RIPPE, 2009).

O estro é caracterizado pelo período de atividade e receptividade sexual em que o principal sinal é que o animal permaneça em pé e parado quando montado por outro, de 12 a 24 horas desde o início do cio, o sistema nervoso central do animal torna-se refratário a estrogênios e todas as manifestações de cio desaparecem (RIPPE, 2009).

Após o término do estro inicia-se o metaestro, nesse período ocorre a ovulação na vaca ao contrário das outras espécies que o fazem durante o estro, e inicia a organização celular e desenvolvimento do corpo lúteo, a ovulação ocorre aproximadamente 24 horas após o pico de LH pré-ovulatório (RIPPE, 2009).

Na presença de altas concentrações plasmáticas de progesterona (acima de 5ng/ml) há um decréscimo na frequência de pulsos de LH, desta forma o folículo dominante acaba sofrendo atresia e não ovula (ROBERSON *et al.*, 1989).

A fase de diestro é caracterizada pela presença do corpo lúteo, bem como a síntese de progesterona (RIPPE, 2009). Por volta do dia 18 ocorre a luteólise causando a regressão do CL e a consequente diminuição das concentrações de progesterona plasmática (BINELLI *et al.*, 2006).

2.3 Foliculogênese

Cada onda de crescimento folicular é caracterizada pelas fases de recrutamento, seleção e dominância, o folículo dominante (FD) tem dois destinos possíveis, na presença de P4 o FD entra em atresia ou após a luteólise o FD ovula (HANSEL; CONVEY, 1983).

O crescimento e desenvolvimento dos folículos primordiais para folículos ovulatórios envolvem a diferenciação e proliferação das células foliculares, como também o aumento do diâmetro oocitário (BRAW-TAL; YOSSEFI, 1997).

No início do crescimento folicular ovariano, as células da teca apresentam receptores para LH, e as células da granulosa receptores para FSH, o LH estimula a conversão de pregnenolona em androstenediona nas células da teca, a androstenediona por sua vez é metabolizada em E2 nas células da granulosa (FORTUNE; QUIRK, 1988). Diferentemente do estágio de desenvolvimento dos folículos pré-antrais, que não são dependentes das gonadotrofinas hipofisárias FSH e LH para que ocorra crescimento folicular o desenvolvimento folicular antral

é dependente destas gonadotrofinas por mecanismos endócrinos (GINTHER, O. J. *et al.*, 2001b).

Além da ação das gonadotrofinas, também atuam nos folículos antrais, fatores de crescimento sintetizados localmente constituindo moléculas estimuladoras e reguladoras, atuando por meio de mecanismos autócrinos e parácrinos (FORTUNE; RIVERA; YANG, 2004). De acordo com Dias (2015), a progesterona não afetou a concentração de IGF-1 livre tanto no soro sanguíneo, quanto no líquido folicular, em experimento realizado com baixa vs. alta P4 em protocolo de IATF. Com o aumento dos níveis de FSH os folículos mantêm o seu crescimento e proliferação celular, aumentando gradualmente a sua capacidade de síntese de estradiol (ADAMS *et al.*, 1992).

Aproximadamente 2,5 a 3,0 dias após a emergência folicular quando o folículo atinge o diâmetro de 6,2 a 8,4 mm para *Bos taurus indicus* (GIMENES *et al.*, 2008) e cerca de 8,5 mm para *Bos taurus taurus* (GINTHER, O. J. *et al.*, 1996) ocorre o evento chamado de divergência folicular (GINTHER, O. J. *et al.*, 2001a). O momento da divergência folicular relaciona-se com a aquisição de receptores de LH nas células da granulosa (BODENSTEINER *et al.*, 1996; XU *et al.*, 1995a). Estudos posteriores indicaram que este fato ocorre após o desvio (BAO *et al.*, 1997a; XU *et al.*, 1995b). Trabalhos mais recentes realizados com *Bos taurus indicus*, confirmaram que a expressão de RNAm de receptores de LH ocorreu após o desvio do folículo dominante (ERENO *et al.*, 2015).

Ultrassonograficamente, pode-se definir a seleção folicular pelo momento do “desvio” folicular, que é o momento no qual o folículo dominante passa a ter uma taxa de crescimento (aumento do diâmetro diário) maior que os outros folículos recrutados na mesma onda (GINTHER, J. *et al.*, 1999).

Quando o maior dos folículos alcança um determinado estágio de crescimento, o rápido desenvolvimento do mecanismo da divergência bloqueia o crescimento do segundo maior folículo, antes deste alcançar um diâmetro similar (GINTHER, O. J. *et al.*, 2003).

A dominância folicular é caracterizada pelo folículo selecionado que exerce dominância sobre os demais folículos recrutados na mesma onda folicular ovariana, suprimindo o crescimento dos demais (BARUSELLI *et al.*, 1997). O folículo dominante tem a capacidade de continuar o seu crescimento, mesmo em níveis basais de FSH (AERTS; BOLS, 2008).

Em bovinos os diâmetros máximos do folículo dominante, variam de acordo com o grupo genético (taurinos x zebuínos), sendo maiores em *Bos taurus taurus* 15 a 20 mm (GINTHER, O. J., 2000), do que em *Bos taurus indicus* 10 a 12 mm (BÓ; BARUSELLI; MARTÍNEZ, 2003).

A grande atividade estrogênica do folículo dominante está relacionada à expressão de genes como a aromatase, 3 β -hidroxi-esteróide desidrogenase, e a aquisição de receptores de LH em células da granulosa (BAO *et al.*, 1997a; XU *et al.*, 1995a). O estrógeno endógeno produzido pelos folículos ovarianos acentua a amplitude dos pulsos de LH durante a fase folicular do ciclo estral, através do aumento de receptores do hormônio liberador de LH na pituitária anterior e do consequente aumento da capacidade estrogênica dos folículos pré-ovulatórios (CUPP *et al.*, 1995).

O LH é essencial não somente para a ovulação e luteinização do folículo dominante, como também para o desenvolvimento de um folículo dominante competente, a ação de LH nas células da teca regula o crescimento folicular, estimulando a expressão de enzimas esteroidogênicas, incluindo a StAR e a CYP11A1, que são essenciais para a produção de andrógenos pelas células da teca (IVELL *et al.*, 2000; MAGOFFIN, 1989).

O pico de LH, ativa a adenilato ciclase, para estimular um aumento do AMPc, e também estimular o rápido aumento do cálcio intracelular nas células do cúmulo pela ativação da fosfolipase C, a mobilização do cálcio intracelular é seguida por um influxo de cálcio do meio extracelular; nos animais domésticos, o pico de LH também estimula a síntese de ciclinas e, provavelmente, de outras proteínas do ciclo celular (VAN DEN HURK; ZHAO, 2005). Seguindo o pico de LH, as células da teca interna começam a produzir progesterona em vez de testosterona, a elevação dos níveis de progesterona é essencial para a ovulação porque a mesma estimula a síntese de colagenase pelas células da teca interna, ocasionando o colapso do colágeno, um dos principais componentes do tecido conjuntivo (SENGER, 2008).

As prostaglandinas são responsáveis por induzirem a uma vasodilatação tecidual causando alterações na região apical do folículo pré-ovulatório (KITAI *et al.*, 1985). Após o pico de LH, tanto a PGE2 quanto a PGF2 α são sintetizadas e secretadas localmente pelo ovário, a PGF2 α causa o rompimento das células da granulosa liberando suas enzimas lisossomais causando ainda mais deterioração do tecido conjuntivo no ápice do folículo (SENGER, 2008).

A ovulação é um processo complexo e dinâmico, resultando das interações entre mecanismos endócrinos e vasoativos, proteases, quinases, mensageiros celulares e enzimas ativadoras (ESPEY, 1994).

2.4 Maturação Oocitária, transporte de gameta, fertilização e implantação

Para o desenvolvimento do oócito ser competente e ser capaz de terminar a maturação nuclear, ser fertilizado e realizar a clivagem celular, durante o seu aumento de volume os oócitos

também se diferenciam, sendo necessária uma complexa organização citoplasmática devido à síntese de novos genes e organelas, e à modificação e redistribuição das já existentes (PICTON; BRIGGS; GOSDEN, 1998).

O oócito sofre divisões, passando pelos estágios de leptóteno, zigóteno e paquíteno, da prófase I da meiose, antes do bloqueio na fase de diplóteno, neste estágio os cromossomos são descondensados e envoltos pela membrana nuclear, formando a vesícula germinativa (PICTON; BRIGGS; GOSDEN, 1998).

Os oócitos ficam bloqueados na fase de diplóteno da primeira divisão meiótica até que os folículos entrem em atresia ou que os folículos maduros tenham uma onda de LH, sinalizando que o oócito complete a meiose (na maioria dos mamíferos) e se torne uma célula haploide (VAN DEN HURK; ZHAO, 2005). Os oócitos de bovinos não expressam receptores para LH, sugerindo que a ação desta gonadotrofina é moderada pelas células foliculares (NUTTINCK *et al.*, 2004).

O pico ovulatório de LH finaliza a comunicação (junções intercomunicantes) entre as células da granulosa, provavelmente essa interrupção na comunicação bloqueie a sinalização de fatores inibidores do reinício da meiose produzidos pelas células foliculares (WIESEN; MIDGLEY, 1993). Os esteróides sintetizados pelas células foliculares parecem indispensáveis na retomada da meiose (CHANDRAKANTHAN *et al.*, 2006). O pico ovulatório de LH associado ao aumento na secreção de P4 e expressão de seus receptores, são correlacionados com a elevação na expressão de ciclooxigenase 2 (COX2) e secreção de prostaglandinas (BRIDGES; KOMAR; FORTUNE, 2006).

A estrutura molecular que coordena o processo de maturação do oócito em resposta ao pico de LH envolve várias vias regulatórias, como a alteração da fosforilação de proteínas, o AMPc e os níveis de cálcio (BORNSLAEGER; MATTEI; SCHULTZ, 1986; JACEK RZUCIDLO; GIBBONS; STICE, 2001).

A maturação nuclear é caracterizada pela competência do oócito em retomar a meiose até o estágio de metáfase II, podendo ser caracterizada pela extrusão do segundo corpúsculo polar e pelo aparecimento da segunda placa metafásica (WATSON, 2007). Ela dura, em média, 24 horas nos bovinos e necessita de várias etapas, dentre as quais duas divisões consecutivas (fases M) na ausência de replicação do DNA (fase S); os oócitos então são mantidos em metáfase II até a fertilização, quando a ativação do estímulo realizado pela penetração do espermatozóide desencadeia o término do ciclo da meiose e inicia o desenvolvimento embrionário (VAN DEN HURK; ZHAO, 2005).

A maturação citoplasmática do oócito, inclui sucessivas transformações, como a migração das mitocôndrias para a posição perinuclear, acúmulos de grânulos corticais ao longo do oolema e redistribuição de organelas (BLANCO *et al.*, 2011).

O oviduto não é apenas um canal passivo que serve para o transporte de gametas e embriões, vários mecanismos estão envolvidos no transporte do espermatozóide e do oócito pelo oviduto, tendo como principais eventos os batimentos ciliares do epitélio e as ondas de contração da miosalpinge (HUNTER, 1988). Algumas outras funções não menos importantes, incluem: captação do oócito após a ovulação, capacitação e armazenamento de espermatozoides e controle da migração dos espermatozoides para o local de fertilização (EZZATI *et al.*, 2014). A frequência dos batimentos ciliares na região da fimbria do oviduto, está sob influência de E2 e P4 (NAKAHARI *et al.*, 2011). Assim como o transporte dos oócitos pelo oviduto, são regulados pelos esteróides ovarianos (HUNTER, 1988).

A mesosalpinge tem uma função importante no processo de captação do oócito, durante esse mecanismo, a fimbria porção do oviduto que está mais próxima do folículo rompido, tem ações oscilantes que se acredita serem responsáveis pela recuperação do oócito, após a ovulação (OKAMURA *et al.*, 1977).

Foi demonstrado em experimentos realizados *in vitro* que, a adição de altas concentrações de progesterona na tuba uterina de humanos, diminuiu de 40 a 50% a frequência dos batimentos ciliares em todas as partes desse órgão, à medida que o E2 inibiu a redução da frequência dos batimentos ciliares induzida pela progesterona (MAHMOOD *et al.*, 1998).

A progesterona modula a ação do E2 pela imediata diminuição das concentrações de receptores de estrógeno (EVANS *et al.*, 1980), da mesma forma que reduz a síntese de PGF2 α , causadora de contratilidade no oviduto, através da diminuição da atividade da fosfolipase-A (YOKOYAMA; NAKANO, 1992).

Na via genômica, a progesterona se liga aos seus receptores no núcleo, reduzindo a expressão de genes relacionados à contração, mantendo o relaxamento uterino, porém, na via não-genômica a progesterona se liga a receptores de membrana para modular os níveis de cálcio intracelular e de adenosina monofosfato cíclica (AMPc) causando o relaxamento da musculatura uterina (MESIANO, 2007). A comunicação local é importante para regulação do transporte de espermatozoides e oócitos como também para aspectos macromoleculares das secreções do oviduto, incluindo a passagem de sinais luteotróficos precoces (EINER-JENSEN; HUNTER, 2005).

Como relatado para concentrações hormonais no útero, diferentes ambientes endócrinos (folículo dominante persistente ou novo) também são capazes de alterar o padrão de síntese e

secreção de proteínas nas regiões do oviduto (infundíbulo, istmo e ampola) em vacas nos dias 18 e 19 após o estro (BINELLI *et al.*, 1999). Em um estudo de revisão realizado por Santos *et al.*, (2004), é descrito uma média de 88,0% de fertilização (75-100%) em bovinos. No entanto, Sartori *et al.*, (2002), encontraram em vacas de leite taxas de fertilização variadas, de acordo com a estação do ano com 55% no verão e 87,8% no inverno.

Ocorrendo a fertilização, o zigoto passa por várias divisões celulares (clivagem) permanecendo no oviduto até o dia 3 ou 4, quando adentra o útero (GONÇALVES *et al.*, 2008). Esse estágio de desenvolvimento embrionário é importante para o crescimento e sobrevivência do embrião, onde que o mesmo se moverá para o útero no estágio de 8 a 16 células (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

Entre os dias 9 e 10, o blastocisto expandido eclode da zona pelúcida e continua a sua expansão até iniciar o alongamento por volta do dia 13, o alongamento precede o momento do reconhecimento materno da gestação que é acompanhado pelo crescimento na atividade metabólica e secreção de IFN- τ (MANN; LAMMING, 2001). Ainda assim, o alongamento do concepto que antecede a implantação é dependente das secreções do útero (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

A fixação do embrião no endométrio inicia-se aproximadamente no dia 19 estando à implantação embrionária finalizada por volta do 42º dia de gestação (SENGER, 2008).

2.5 Inseminação artificial em tempo fixo

2.5.1 Sistemas de IATF

Os protocolos de IATF concederam um controle maior sobre os programas de inseminação artificial (IA), removendo a dependência de detecção do estro antes da inseminação (PURSLEY *et al.*, 1997). Programas de sincronização e indução do ciclo estral são eficientes quando apresentam alta repetibilidade e dependem minimamente do ambiente, possibilitando altos índices reprodutivos em locais e situações diferentes (BARUSELLI *et al.*, 2004).

A retomada de reserva do hormônio luteinizante (LH) é o principal obstáculo para o retorno a ciclicidade no pós parto, sendo que a presença da cria ao pé e a baixa condição corporal estão inversamente relacionados ao acúmulo de LH na adenohipófise (YAVAS; WALTON, 2000). Nos sistemas extensivos de criação de gado de corte, tanto no Brasil como nos Estados

Unidos, observa-se que aproximadamente 50% das vacas encontram-se em anestro no início da estação de monta (ALMEIDA *et al.*, 2006).

No protocolo Ovsynch (GnRH-PGF-GnRH) a primeira dose de GnRH é aplicada no dia 0 (D0) do protocolo e tem como objetivo induzir a ovulação de um possível folículo dominante, sete dias após, é administrada a dose de PGF2 α com o objetivo de causar a luteólise, concedendo o crescimento e a maturação final do folículo dominante, após 48 horas da aplicação da PGF2 α é aplicado a segunda dose de GnRH relacionada com o pico do LH, permitindo a ovulação do folículo pré-ovulatório (PURSLEY; MEE; WILTBANK, 1995).

Estudos realizados com o protocolo Ovsynch, relataram que vacas de leite com CL funcional que não baixaram as concentrações de progesterona (P4) para níveis basais tiveram pouca ou nenhuma chance de concepção após uma IATF (GIORDANO *et al.*, 2013). Deste modo, é essencial que vacas com CL funcional tenham regressão luteínica completa após a administração da PGF2 α do protocolo Ovsynch, a qual é caracterizada pela queda da P4 circulante a níveis basais antes da IATF (PURSLEY; MEE; WILTBANK, 1995). Segundo Pursley *et al.*, (1997), não foi encontrada diferença nas taxas de gestação quando comparadas aos resultados do protocolo Ovsynch (38,9%) em relação a inseminação convencional após observação visual do estro (37,8%), em vacas leiteiras de alta produção, sugerindo que, o resultado mostra a possibilidade de inseminar os animais através da IATF, sem a observação de estro.

Os protocolos a base de uma fonte de progesterona e ésteres de estradiol no início do tratamento em vacas de leite ou de corte, tem por objetivo causar atresia dos folículos antrais e iniciar o crescimento de uma nova onda folicular, inibir o desenvolvimento de um possível corpo lúteo ou prevenir a ovulação inicialmente, posteriormente provocar a ovulação sincronizada de todo o lote (BÓ; BARUSELLI, 2014). A administração de um progestágeno por um longo período permite a regressão natural do corpo lúteo (CL) e uma retroalimentação (feedback) negativa na liberação do LH pelo hipotálamo (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

A grande maioria desses protocolos utiliza implante intravaginal de progesterona em dosagens e preparações diversificadas, por um período de sete a dez dias, combinada com aplicação de estrógeno intramuscular, que juntos são responsáveis por induzir o início de uma nova onda folicular (PINTO *et al.*, 2009). Isto assegura a presença de um folículo novo com um oócito viável até finalizar o protocolo (BÓ *et al.*, 1994).

Após permanecer com uma fonte de progesterona por esse período de 7 a 10 dias, no momento da sua remoção é aplicado uma prostaglandina F2 α para luteólise, podendo nesse dia

também ser administrado o eCG, para dar um suporte de LH objetivando o crescimento final do folículo dominante (PESSOA *et al.*, 2015).

Para indução da ovulação tem-se utilizado o BE administrado 24 horas após a retirada do dispositivo (protocolo de quatro manejos) e o ECP aplicado na remoção do dispositivo (protocolo de três manejos) (PESSOA *et al.*, 2015), ou GnRH no momento da IATF (SÁ FILHO *et al.*, 2011b).

O uso da IATF em rebanhos de corte, possibilitou uma melhora nas taxas de prenhez ao final da estação de monta, melhorou a homogeneidade dos bezerros à desmama e aumentou os índices zootécnicos pós desmama (BARUSELLI *et al.*, 2004).

2.5.2 Fármacos usados na sincronização folicular e indução da ovulação

Os hormônios podem ser classificados bioquimicamente em, peptídicos, glicoproteicos, esteróides e prostaglandinas (SENGER, 2008).

Inicialmente os fármacos utilizados para controlar o ciclo estral visando a sincronização do comportamento do cio foram os progestágenos sintéticos, objetivando aumentar o período do diestro (MACMILLAN, 2010).

Os progestágenos são divididos atualmente em dois grandes grupos: progesteronas naturais e seus derivados e progesterona sintética e seus derivados, conhecidos como progestágenos, dos quais existem derivados da progesterona (pregnano ou não pregnano) e os derivados da testosterona (etinilado e não etinilados) (ORIZABA-CHÁVEZ; ALBA-JASSO; OCHARÁN-HERNÁNDEZ, 2013).

A progesterona e os progestágenos podem ser administrados de várias maneiras para fins reprodutivos: sendo por meio de esponjas impregnadas com acetato de medroxiprogesterona (MAP) ou progesterona natural (P4); no alimento com acetato de melengestrol (MGA); implantes subcutâneos com norgestomet; dispositivos intravaginais de silicone com liberação lenta de progesterona natural (P4) ou progesterona injetável (BORTOLETTO *et al.*, 2019).

A partir dos anos 90, com o entendimento dos padrões de ondas foliculares ovarianas juntamente com a utilização da ultrassonografia para acompanhamento da dinâmica folicular, foram desenvolvidos protocolos que utilizavam P4 e associavam seu uso aos estrógenos (MACMILLAN, 2010). Em sequência, pesquisadores observaram que a administração do VE junto a inserção do dispositivo de P4 causava uma redução no diâmetro médio dos maiores folículos por um período de cinco dias; mais tarde, os folículos maiores retornavam a aparecer

nas imagens ecográficas, possivelmente oriundos de uma nova onda folicular (BO; PIERSON; MAPLETOFT, 1991).

Os ésteres de estradiol são esteróides naturais com 18 átomos de C, tendo como principais compostos o 17 β -estradiol, a estrona e o estriol, estes ésteres são largamente usados nos protocolos de IATF para o controle do ciclo estral (MOENTER; CARATY; KARSCH, 1990). Atualmente os ésteres de estradiol disponíveis no Brasil são o 17 β estradiol, BE, ECP e VE, sendo que as suas diferenças estão relacionadas ao tempo de ação entre eles (BÓ *et al.*, 1995).

Tratamentos em estádios aleatórios do ciclo estral, utilizando 1mg de ECP associado a um dispositivo de P4, relataram uma limitada sincronia no surgimento da nova onda folicular (3,4 \pm 2,1 dias) (THUNDATHIL; KASTELIC; MAPLETOFT, 1998). Resultados semelhantes foram observados (COLAZO; KASTELIC; MAPLETOFT, 2003) ao compararem o efeito de 5,0mg de 17 β -estradiol ou 1,0mg de ECP, aplicados junto a inserção do dispositivo de P4, os pesquisadores concluíram que a meia vida prolongada do ECP resultava em uma menor sincronia da onda (4,1 \pm 0,4 dias), em comparação a utilização do 17 β -estradiol (3,3 \pm 0,1 dias).

Na presença de uma fonte de P4, todos esses ésteres de estradiol foram eficazes em provocar a regressão dos folículos antrais e a emergência de uma nova onda de crescimento folicular, porém, o 17 β -estradiol e o BE, apresentam um tempo de meia vida curto, conseguindo sincronizar de forma mais competente à emergência da nova onda de três a quatro dias após o início do protocolo, tanto em fêmeas *Bos taurus taurus* quanto em fêmeas *Bos taurus indicus* (BÓ *et al.*, 2002).

O ácido araquidônico é um ácido graxo essencial, sendo o precursor das prostaglandinas mais intimamente destinadas a reprodução como a PGF2 α (HAFEZ; HAFEZ, 2004). A ação da PGF2 α é exercida sobre as grandes células luteais, pois existe maior concentração de receptores de alta afinidade para a PGF2 α nessas células do que nas pequenas células luteais, embora existam receptores para a PGF2 α nas grandes células luteais, estes somente são responsáveis a partir do quinto dia após a ovulação, elevando a sua sensibilidade até o 12º dia do ciclo estral (WILTBANK *et al.*, 1995). Um dos efeitos da PGF2 α no ovário é a diminuição do fluxo sanguíneo para o corpo lúteo, devido à degeneração dos capilares luteais (PATE, 1994).

Cientistas, há quase 100 anos, relataram que o soro de éguas prenhes estimulava o aumento do peso ovariano e o desenvolvimento sexual em ratas impúberes, a glicoproteína responsável por tal estímulo foi denominada PMSG (Pregnant Mare Serum Gonadotrofin), atualmente chamada de eCG (COLE; HART, 1930).

Em todas as espécies de mamíferos domésticos estudados até o momento, a eCG promove dupla funcionalidade biológica, tendo sua ação semelhante ao do FSH e ao LH, ambos envolvidos na foliculogênese e ovulação (ALI, 2007; ROSSA, 2009).

Os tratamentos hormonais com progestágenos associados à eCG têm apresentado excelentes resultados se tratando de estro, uma vez que essa gonadotrofina atua no recrutamento folicular ovariano de fêmeas cíclicas ou acíclicas (MIES FILHO; ENDLER; MORAES, 1989). A administração de eCG, no momento de retirada do dispositivo, possivelmente diminuiu os efeitos negativos de progesterona na dinâmica do crescimento folicular e na ovulação (NOEL; BISTER; PAQUAY, 1994).

O entendimento e a precisão do momento da ovulação é decisivo sobre os resultados de fertilidade em programas de IATF (PURSLEY; MEE; WILTBANK, 1995). Vários estudos têm demonstrado que o momento para efetuar a inseminação artificial deve estar de acordo com a previsão da ovulação (AYRES *et al.*, 2008).

Para a indução da ovulação no protocolo de IATF, os principais fármacos são: gonadorelina, busarelina, licerelina e fertirelina, que são análogos ao GnRH, e ésteres de estradiol, como o benzoato e o cipionato, cada um possui um intervalo específico entre sua aplicação e a ovulação, e portanto, o momento da realização da IATF é ajustado para cada indutor (D'AVILA *et al.*, 2019).

Quando comparado aos estrógenos, o GnRH possui uma atuação mais rápida sobre a ovulação, pois este atua diretamente sobre a hipófise, liberando assim um pico de LH que será responsável por agir no folículo pré-ovulatório, neste protocolo a inseminação ocorre 16 horas após a aplicação do indutor (FIELDS; PERRY; PERRY, 2009).

A atividade fisiológica de cada hormônio depende de vários fatores, incluindo o padrão e a duração da secreção do hormônio, a meia-vida do hormônio, a densidade do receptor e a afinidade hormônio-receptor (SENGER, 2008).

2.5.3 Falhas em protocolos de IATF

Atualmente busca-se, com os protocolos de IATF, usar de algumas estratégias para ajustar os processos endócrinos do animal, como: controle da concentração de progesterona durante o crescimento folicular, para melhorar a qualidade do ovócito; diminuir a concentração de progesterona antes da inseminação artificial, e possibilitar maior concentração de estrógeno antes da inseminação, ou seja, no proestro, para favorecer a fecundação do ovócito, e reduzir a mortalidade embrionária precoce (BINELLI *et al.*, 2019).

No estudo realizado por SANTOS *et al.*, (2010), foi descrito o efeito da redução no período da dominância do folículo com a taxa de gestação em vacas de aptidão leiteira, sendo observado que o protocolo que aumentava o período do proestro (5dias – CO-Synch) acrescentou em 7% na taxa de gestação, quando comparado com o protocolo de sete dias (COSynch).

Em trabalhos realizados com *Bos taurus indicus* de corte, quando se utilizam os dispositivos intravaginais de P4 associados a estradiol no dia da remoção do dispositivo, estudos de campo comprovaram, que, realmente a administração de GnRH como indutor de ovulação único ou complementar aos ésteres estradióis parece não ser eficiente (SÁ FILHO *et al.*, 2011a).

Esta provável ineficiência pode ser ainda maior, se o pico de GnRH induzir a ovulação antes do clearance endógeno de estradiol produzido pelo folículo dominante (SOUZA *et al.*, 2007). Também foi evidenciado que o estradiol pré-ovulatório é essencial sob alguns aspectos importantes para o estabelecimento da gestação, tais como transporte de gametas, ambiente uterino para a fertilização e desenvolvimento embrionário (SARTORI *et al.*, 2002b).

De acordo com REVAH; BUTLER (1996b), ovócitos provenientes de folículos com maior período de dominância possuem ativação prematura da meiose, propondo que tal fato pode ser um dos responsáveis pela baixa fertilidade encontrada em protocolos de IATF, onde o uso de progestágenos prolongam a vida útil do folículo.

A progesterona foi utilizada por períodos prolongados na década de 60, com o objetivo de causar a regressão espontânea do corpo lúteo, conseqüentemente, cerca de dois a quatro dias após a remoção da fonte de P4 ocorre a sincronização do estro (RATHBONE, M. J. *et al.*, 2001a). No entanto, quando se utiliza dessa metodologia de sincronização, visando a regressão espontânea do corpo lúteo, a fonte de P4 fica atuando por 14 a 21 dias, essa longa ação da P4 é eficiente na sincronização, porém, essa mesma ação ocasiona a formação de folículos persistentes, que são “envelhecidos” e de baixa fertilidade (KINDER *et al.*, 1996).

Próximo ao momento da inseminação artificial, a alta concentração de E2 é responsável pela melhoria na fertilidade dos animais que expressaram estro, visto que, ocasiona uma modulação do pH uterino, reduzindo o metabolismo espermático resultando em um aumento do tempo de viabilidade dos espermatozoides no trato reprodutivo das vacas (PERRY; PERRY, 2008).

Apesar da P4 ser importante para o estabelecimento e manutenção da gestação em mamíferos, paradoxalmente, ocorre o bloqueio da expressão de receptores de progesterona no epitélio endometrial antes da implantação do embrião que parece ser um pré-requisito

indispensável para o reconhecimento materno da gestação e crescimento inicial do embrião em mamíferos (LONERGAN, 2011).

Apesar de todos esses fatores, um dos principais contribuintes para a infertilidade em protocolos de IATF é o anestro pós-parto, causando perdas gestacionais e embrionárias (LAMB; MERCADANTE, 2016). O retorno ao ciclo estral no pós-parto, é dependente do aumento da concentração de LH e da frequência do pulso de secreção de LH, estimulando o desenvolvimento e a ovulação do folículo (MOENTER; CARATY; KARSCH, 1990).

2.6 Progesterona

2.6.1 Síntese, metabolismo e ação da Progesterona

Existem duas principais enzimas e uma proteína carreadora envolvidas na síntese de progesterona a partir do colesterol, a primeira é a P450 de clivagem do colesterol em cadeia (CYP11A1), que se localiza no interior das membranas mitocondriais e convertem o colesterol em pregnenolona, a pregnenolona é então convertida em progesterona pela ação da enzima 3 β -hidroxiesteroide desidrogenase (3 β -HSD), localizada no reticulo endoplasmático das células, para que tudo isso ocorra o colesterol precisa ser levado para dentro da membrana mitocondrial, esse mecanismo de transporte é regulado pela síntese de uma proteína de transporte, a proteína reguladora aguda esteroideogênica (StAR) (SENGER, 2008).

Durante o desenvolvimento folicular inicial, a 3 β -HSD é sintetizada somente nas células da teca, passando a ser expressa nas células da granulosa no estágio de folículo dominante (BAO *et al.*, 1997b).

Os níveis de progesterona no fluido durante o crescimento folicular são baixos, elevando-se após o pico ovulatório de LH (FORTUNE; HANSEL, 1985). Essa elevação da concentração de P4 parece ser devido a uma menor habilidade de conversão de progesterona a andrógenos pelas células foliculares, visto que a expressão das enzimas esteroideogênicas diminui após o pico de LH (BAO *et al.*, 1997b; FORTUNE; HANSEL, 1985).

A concentração circulante de progesterona no organismo é determinada pela razão entre sua produção pelo CL e, por outro lado, pelo seu metabolismo nas células hepáticas (NASCIMENTO *et al.*, 2013).

A presença de baixas concentrações de progesterona no sangue induzem o crescimento prolongado do folículo dominante vindo a se tornar um folículo persistente (FLYNN *et al.*,

2000), que geralmente está associado a retomada meiótica precoce do oócito, resultando em uma menor fertilidade (REVAH; BUTLER, 1996a).

A via de administração usada para aplicação de uma fonte de progesterona pode influenciar consideravelmente o padrão de liberação do fármaco e sua concentração na corrente sanguínea (RATHBONE, M. J. *et al.*, 2001b).

Os esteróides são metabolizados pelo fígado e excretados na urina e nas fezes, o fígado inativa as moléculas de esteróides de duas maneiras; primeiro, qualquer ligação dupla dentro do esteróide a molécula fica saturada, quando ligações duplas são reduzidas, a molécula se torna inativa; a segunda mudança na molécula de esteróide é que um sulfato ou resíduo de glucuronídeo é anexado, o glucuronídeo da molécula de esteróide é solúvel em água e, portanto, pode ser excretado na urina (SENGER, 2008).

Na maioria das vezes o metabolismo da progesterona acontece pela hidroxilação das enzimas CYP-450 (a enzima CYP3A4 é a enzima mais abundante no fígado) ou redução pelo mecanismo 5-alfa redutase (SANGSRITAVONG *et al.*, 2002).

A progesterona é capaz de interferir com os locais de ligação de outros esteróides, portanto, o hormônio natural apresenta atividade antiestrogênica, antiandrogênica e também antimineralocorticóide (ORIZABA-CHÁVEZ; ALBA-JASSO; OCHARÁN-HERNÁNDEZ, 2013).

Esses receptores apresentam similaridade na cadeia principal, no entanto, apresentam conformação espacial diferente e se distribuem diferentemente pelos tecidos, ocasionando ações distintas dependentes do tecido alvo (ROSA E SILVA; LARA, 2011). Este complexo hormônio receptor ativa os receptores células nucleares à adenilciclase nuclear, causando desfosforilação e translocação no núcleo, modificando proteínas de DNA com ativação de RNA polimerase, que inicia o processo de transcrição; o DNA ativado por metilação aciona o comando de modo que o RNA mensageiro mova-se para os ribossomos, produzindo a resposta desejada (ORIZABA-CHÁVEZ; ALBA-JASSO; OCHARÁN-HERNÁNDEZ, 2013).

O mecanismo de ação é semelhante ao de todos esteróides à nível celular; para o transporte no sangue, a molécula se liga a uma globulina transportadora que se liga à receptores específicos da célula alvo (dois tipos de receptores foram descritos: alfa e beta), desencadeando um estímulo no mecanismo da cascata de fosforilação formando um complexo receptor-hormônio (HR) (ORIZABA-CHÁVEZ; ALBA-JASSO; OCHARÁN-HERNÁNDEZ, 2013).

O efeito biológico normalmente ocorre em períodos relativamente longos, devido ao fato de que a transcrição (síntese de RNA mensageiro) e tradução (síntese de proteínas) leva

vários minutos, e até horas para ser concluído (GUTIÉRREZ-GARCÍA; CONTRERAS; DÍAZ-MEZA, 2000).

Após a IA, altos níveis de progesterona são importantes para que haja crescimento embrionário e este produza níveis adequados de intérféron-tau para o reconhecimento materno da gestação (NASCIMENTO *et al.*, 2013). Vários estudos tem demonstrado aumento nas taxas de fertilidade com a suplementação de progesterona após IA, porém isto tem ocorrido apenas em algumas categorias de vacas (MANN; LAMMING, 1999).

A compreensão da exata influência da progesterona sobre esses três momentos relativos a IA ainda não é bem conhecida.

Por isso, as discussões acerca de protocolos mais eficientes de IA em tempo fixo devem considerar a influência da progesterona e de suas ações não apenas durante o protocolo em si ou no momento da inseminação, mas também durante o período pré e pós IATF (NASCIMENTO *et al.*, 2013).

2.6.2 Progesterona Injetável

O uso da progesterona injetável de longa ação tem sido mostrado em vários estudos como forma alternativa de suplementação exógena de P4, pela praticidade e facilidade no manuseio com os animais, acarretando uma demanda para o desenvolvimento de uma formulação de progesterona de longa ação em veículo biodegradável para uso nas espécies domésticas (RATHBONE, M.; BRAYDEN, 2009b).

A administração de 150mg de progesterona 10 dias antes do protocolo de IATF aumentou o diâmetro folicular no início do protocolo, além disso a concentração de progesterona manteve-se acima de 1,5 ng/ml por 7 dias (SIMÕES *et al.*, 2018). Para os autores WHISNANT; BURNS, (2002), em seu estudo realizado com novilhas, as concentrações de P4 em preparação de microesferas mantiveram-se elevadas por 12-13 dias, e o pico de concentração foi de até 5 ng/mL de P4. Nos resultados obtidos por LIMA *et al.*, (2007), em experimento feito com bezerras, foram verificadas as concentrações médias de progesterona circulante de 2,87 ng/mL, após a administração de doses de 450 e 750 mg de P4 injetável, com valores máximos de 5 e 6 ng/mL em bezerras Nelore e mestiças. Em estudos realizados por CORRÊA (2015), utilizando o Sincrogest[®] injetável de longa ação, uma progesterona natural de liberação lenta, na concentração de 150 mg/mL, sua ação em vacas sem a presença de CL e pré-sincronizadas, foi suficiente para manter as concentrações de progesterona acima de 1 ng/mL, por pelo menos 7 dias.

Sendo assim um novo protocolo de IATF livre de implante de progesterona pode ser desenvolvido para induzir e sincronizar o estro e a ovulação, este protocolo consiste de uma única aplicação de progesterona injetável induzindo uma resposta ovariana aceitável e uma fertilidade semelhante ao implante intravaginal de progesterona (ALVARADO-ESPINO *et al.*, 2019).

No entanto, o metabolismo completo da progesterona injetável ainda não foi completamente descrito, sendo necessário mais estudos sobre sua ação e metabolização (CAMPOS, J. T. *et al.*, 2016).

2.6.3 Dispositivo Intravaginal de Progesterona

Os implantes intravaginais são constituídos de polímeros não biodegradáveis como o silicone sendo uma de suas desvantagens a necessidade de remoção posterior (VILLANOVA; ORÉFICE; CUNHA, 2010). Fundamentalmente, a progesterona é dispersa homogeneamente no silicone (RATHBONE, M.; BRAYDEN, 2009a).

Quando o implante é introduzido na vagina, há uma difusão do hormônio que ocorre de forma a ser transferido pelo contato com a mucosa vaginal e chegar a circulação sanguínea (KISER; JOHNSON; CLARK, 2012).

Acrescenta-se que a diminuição da taxa de gestação após a reutilização de implantes de progesterona sugere que a concentração de progesterona sérica dos animais submetidos a sincronização com esses implantes, possivelmente, não deve ser mantida alta durante todo o período do protocolo, diminuindo assim, a eficiência dos mesmos (COLAZO *et al.*, 2007a).

Foi relatado que novilhas submetidas à sincronização de estro e ovulação apresentaram maior taxa de perda do implante, quando o mesmo foi reutilizado em comparação com um implante novo (BRUNORO *et al.*, 2017).

Enfatiza-se a possibilidade da transmissão de doenças sexualmente transmissíveis por intermédio da reutilização de dispositivos intravaginais, para sincronização de estro em bovinos, todavia algumas práticas sanitárias poderiam minimizá-las, tais como reutilização de implantes somente em animais de um mesmo curral, e/ou somente em currais com adequado manejo sanitário (HERNÁNDEZ *et al.*, 2008).

A reutilização do CIDR[®] em vacas da raça Holandesa está condicionada a maior ocorrência de vaginites, inclusive as de maior gravidade (HERRMANN; COLLEGE; WALLACE, 2007). Em um estudo realizado com 60 vacas (antes da introdução e depois da remoção do dispositivo) obteve-se 100% de crescimento bacteriano, sendo que na maioria das

amostras, encontrou-se mais de um isolado (RAMOS, 2016). No trabalho realizado com ovinos, após a remoção do dispositivo todos os animais apresentaram sinais clínicos de vaginite, sendo que os isolados predominantes pertenciam ao grupo de coliformes, principalmente *Escherichia coli* (72,7%) (VASCONCELOS, C. O. P. *et al.*, 2016).

Partículas de plástico desgastadas ou envelhecidas tendem a absorver maiores quantidades de contaminantes quando comparados às partículas virgens devido a superfície de carga (BRENNECKE *et al.*, 2016; HOLMES; TURNER; THOMPSON, 2014). Segundo a fabricante, o uso do CIDR[®] é contra indicado em fêmeas impúberes, debilitadas ou portadoras de patologias genéticas ou adquiridas no sistema genital, como processos infecciosos ou inflamatórios (ZOETISUS, 2019).

Preconiza-se a lavagem e escovação do implante em solução detergente a base de iodo, seguidos por enxágue em água para remoção do detergente e debris. Esses autores acrescentaram que embora esses procedimentos possivelmente diminuam o risco de transmissão de doenças, também contribuem para o aumento da perda da progesterona (COLAZO *et al.*, 2007b).

2.7 Legislações, impactos ambientais e sanitários

As propriedades rurais necessitam e buscam produzir as atividades desenvolvidas em larga escala tanto na agricultura como na pecuária, acarretando um volume elevado na geração de resíduos sólidos derivados de medicamentos veterinários das mais variáveis classificações, entre elas estão os resíduos inorgânicos os quais precisam ser melhor manejados no intuito de evitar impactos ambientais e na saúde pública (MAZZA *et al.*, 2014).

De acordo com a Associação Brasileira de Empresas de Limpeza Pública e Resíduos Especiais (ABRELPE), no ano de 2020, houve um aumento de 10 milhões de toneladas de resíduos em relação a década anterior, passando de 33 milhões de toneladas por ano para 43 milhões de toneladas, por outro lado, a quantidade de resíduos que segue para unidades inadequadas (lixões e aterros controlados) também cresceu, passando de 25 milhões de toneladas por ano para pouco mais 29 milhões de toneladas por ano (ABRELPE, 2020).

A classificação dos resíduos é uma etapa imprescindível e deve-se partir da origem e utilização dos materiais que geraram tal resíduo, para que não ocorram erros na sua destinação, pois os destinos finais diferem para cada classe de resíduo (MARCHESE, 2012).

De acordo com a RDC/ANVISA nº 306/04 os resíduos sólidos de saúde (RSS) podem ser classificados em cinco grupos de A a E, sendo que o grupo B é composto pelos dispositivos intravaginais e auriculares de progesterona, todo o gerador de RSS é responsável pelo correto gerenciamento dos resíduos por ele produzidos, porém no Brasil ainda não há uma normatização específica para os resíduos gerados nas propriedades rurais de bovinocultura (ANVISA, 2017).

Apesar da legislação vigente algumas bulas recomendam enterrar ou queimar os dispositivos e implantes de progesterona sendo que a maioria das bulas não trazem recomendações para o correto destino dos resíduos sólidos gerados (SINDAN, 2020).

O Tratamento térmico dos RSS não é indicado se não forem corretamente instalados, operados e mantidos, pois são fontes potenciais de risco ambiental e de emissão de poluentes perigosos como as Dioxinas, podendo constituir agressão à saúde e ao meio ambiente, Dioxinas são substâncias com alto poder carcinogênico, possuem efeitos negativos no sistema imune e reprodutivo (RABL; SPADARO; MCGAVRAN, 2016).

Polímeros sintéticos de origem petroquímica são inertes ao ataque imediato de microorganismos, gerando desta forma um grande impacto ambiental (LUO; NETRAVALI, 2003). Plásticos convencionais como o polipropileno, poliestireno, polietileno e policloreto de vinila apresentam taxas extremamente baixas de degradação (CHIELLINI; SOLARO, 1996), demorando em média 100 anos para se decomporem totalmente (HUANG; SHETTY; WANG, 1990).

Como já observado, os resíduos de serviço de saúde são classificados como perigosos devido ao risco toxicológico e patológico, e o descarte incorreto destes resíduos pode ocasionar diversos efeitos e impactos negativos tanto aos recursos naturais (água e solo) em que entram em contato, bem como, a saúde humana e dos animais (JUNG, 2018).

Não se tem praticamente estudos no meio rural em relação aos volumes e para as questões de resíduos e rejeitos gerados, muitas vezes não se tem infraestrutura e coleta de resíduos, o que torna o produtor rural sem opções para destinar o material gerado, essa falta de informação e orientações que ocasiona possíveis contaminações do meio ambiente e dos seres vivos (CAMPOS, R.; CAMPOS; BORGA, 2016).

Muitos estudos são realizados para descobrir todos os efeitos do descarte incorreto de medicamentos, entre as preocupações com a saúde humana estão: desenvolvimento de câncer nos testículos, próstata e mama, diminuição na taxa de espermatozoides, deformidades dos órgãos reprodutores e disfunções da tireóide e alterações no sistema neurológico (CAMPOS, A. O.; VITORIANO; MACHADO, 2016).

Fica evidente o inerente risco à saúde pública e ao meio ambiente causados pelo descarte incorreto de RSS, diante deste problema o Brasil deve seguir exemplos de alguns países como Portugal, México, Canadá e Colômbia que possuem programas para recolhimento de medicamentos usados e vencidos (JUNG, 2018).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

O objetivo deste trabalho foi testar uma única injeção de longa ação para manter os níveis de progesterona, sendo que o folículo dominante seria estimulado ao crescimento com eCG e a ovulação ocorreria após aplicação de GnRH, permitindo a liberação do oócito e altos índices de fecundação.

3.2 Objetivos específicos

1. Analisar o nível de concentração de progesterona plasmática durante a dinâmica folicular.
2. Mensurar a taxa de ovulação.
3. Comparar as taxas de prenhez entre os protocolos de IATF.

4 ARTIGO CIENTÍFICO

Fixed-time artificial insemination with long-acting injectable progesterone in cattle

Menezes, BMB¹, Ferreira, R.², Mesquita, FS³, Leivas, FG³, Gasperin, BG⁴, Junior, VVP⁵, Ferst, JG¹, Pavin, CM¹, Oliveira, AM⁶, Rodrigues, ME⁶, Gonçalves, PBD³.

¹ Postgraduate student in Animal Science at Unipampa.

² Prof. Associated. State University of Santa Catarina, Chapecó, SC.

³Prof. Associated. Federal University of Pampa, Uruguaiana, RS.

⁴Prof. Associated. Federal University of Pelotas, Pelotas, RS.

⁵Prof. Associated. Federal University of Santa Maria, Santa Maria, RS.

⁶Graduating from the Veterinary Medicine course at Unipampa.

*Correspondence to the author: Paulo Bayard Dias Gonçalves, Federal University of Pampa, Uruguaiana/RS, Brazil; Email: pbayardg@gmail.com.

Keywords: Follicle, Ovulation, Pregnancy, FTAI, ultrasound

ABSTRACT

The objective was achieved, a simple and effective procedure for FTAI, with pregnancy rates between attempts as continuous methods with intravaginal device. In experiment 1, twenty multiparous, lactating Brangus cows, with 70 days postpartum, were allocated into two groups. One group received an intravaginal progesterone device (Group P4IVD; n=10; SINCROGEST[®]; 1g) and the other group received a long-acting progesterone injection (Group P4i; n=10; SINCROGEST[®]; 30mg/sc). Ultrasound assessment of follicular dynamics was performed daily between day 0 and day 10 of the protocol. Blood was obtained on days 10, 11 and 15 of the protocol for P4 assessment. In experiment 2, seventy Brangus cows, multiparous, lactating, with 70 days postpartum, were allocated in two groups. One experimental group received the intravaginal progesterone device (Group P4IVD; n= 35; SINCROGEST[®]; 1g) and in the other group the animals received an application with long-acting progesterone (Group P4i; n= 35; SINCROGEST[®]; 300mg/sc) on day 0. Follicular growth rates from D6 to D9 did not differ between the vaginal (1.36 ± 0.17 mm/day) and injectable P4 (1.47 ± 0.17 mm/day; $P > 0.05$). Likewise, ovulation rates did not differ between these two groups (P4IVD 4/10 cows; P4i 5/10 cows; $P > 0.05$). days 10 and 11, respectively, in progesterone animals were higher in animals that received progesterone (D10: 0.36 ± 0.15 and 1.89 ± 0.15 ng/mL, para4IVD and P4i, respectively; $P < 0.0001$; D11: 0.41 ± 0.11 and 1.59 ± 0.11 ng/mL, for P4IVD and P4i, respectively; $P < 0.0001$). On D15, this difference between the P4IVD (2.63 ± 0.49 ng/mL) and P4i (2.52 ± 0.49 ng/mL) groups in serum progesterone concentration was no

longer observed ($P>0.05$). However, pregnancy rates at 30 days after FTAI were higher in the P4IVD group (48%) than in the P4Inj group (2%; $P<0.05$). We conclude that injectable progesterone concentrations remain high in the periovulatory period, which may have caused the low pregnancy rate, however, further experiments should be performed to confirm and adjust the injectable progesterone dose.

1. INTRODUCTION

The vast majority of current fixed-time artificial insemination (FTAI) protocols use an intravaginal progesterone device in different dosages and preparations, for a period of seven to ten days, combined with the application of intramuscular estrogen, which together are responsible for inducing the onset of a new follicular wave [1].

The possibility of transmitting sexually transmitted diseases is emphasized through the reuse of intravaginal devices, for estrus synchronization in cattle, however, some sanitary practices could minimize them, such as reuse of devices only in animals from the same pen, and/ or only in corrals with adequate sanitary management [2]. In a study carried out with 60 cows (before introduction and after removal of the device) 100% bacterial growth was obtained, and in most samples, more than one isolate was found [3]. In the work carried out with sheep, after removing the device, all animals showed clinical signs of vaginitis, and the predominant isolates belonged to the coliform group, mainly *Escherichia coli* (72.7%) [4].

According to [5], in studies carried out using FTAI protocol with long-acting injectable progesterone x intravaginal progesterone device on day 0, similar results were obtained in follicular growth rate and ovulatory follicle diameter, however, in the same experiment, cypionate was used of estradiol as an ovulation inducer.

The administration of 150mg of progesterone 10 days before the FTAI protocol increased the follicular diameter at the beginning of the protocol, in addition, the progesterone concentration remained above 1.5 ng/ml for 7 days [6]. As a new progesterone device-free FTAI protocol can be developed to induce and synchronize estrus and ovulation, this protocol consists of a single injection of injectable

progesterone inducing an acceptable ovarian response and a fertility similar to the intravaginal progesterone device [7].

Our hypothesis is that GnRH causes follicle growth dominant and ovulation, resulting in a high pregnancy rate. The aim of this study was to evaluate long-acting injectable progesterone on ovarian follicular dynamics and pregnancy rate in Brangus (Angus x Brahman) cows with calf at foot, submitted to FTAI with intravaginal progesterone device or injectable progesterone.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1. Experiment 1

In order to evaluate the effect of long-acting injectable progesterone on follicular dynamics, 20 multiparous Brangus cows, with calf at foot, were used in a period of 50-70 days postpartum, with a body condition score (BCS) between 2.5 and 3.5 on a scale of 1 to 5 points [8]. All animals received two doses of 526 µg of cloprostenol sodium (synthetic analogue to Prostaglandin $F_{2\alpha}$ - $PGF_{2\alpha}$; Sincrocio[®], Ouro Fino, São Paulo, Brazil) intramuscularly (im), at 06:00 and 18:00 hours three days before (D-3) the application of progesterone (P4; Figure 1). On day 0 (D0) , the 20 animals were allocated into two groups. In the control group (P4IVD), the cows (n=10) received an intravaginal device containing 1g of P4 (Sincrogest Implante[®], Ouro Fino, São Paulo, Brazil) and 2 mg of estradiol benzoate (BE, Sincrodiol[®], Ouro Fino, São Paulo, Brazil) im. In the treatment group (P4i), the animals (n=10) received 300 mg of long-acting P4 subcutaneously (sc) (Sincrogest Injectável[®], Ouro Fino, São Paulo, Brazil) and 2 mg of BE (Sincrodiol[®]) im. On day 6 (D6), animals from both groups received 526 µg of $PGF_{2\alpha}$ (Sincrocio[®]) im and 300 IU of equine chorionic gonadotropin (eCG; Sincro eCG[®], Ouro Fino, São Paulo, Brazil) im. On day 8 (D8), P4 devices were removed from animals in the P4IVD group. After 36 hours of device removal, cows received 10.5µg of buserelin acetate (synthetic analogue of Gonadotropin Releasing Hormone-GnRH; Sincroforte[®], Ouro Fino, São Paulo, Brazil), im in both groups.

All animals were submitted to a blood collection by puncture of the coccygeal vein, in a vacuum collection system [9] on D-3 and, later, every 24h from D0 to D11 and a last collection on D15 for serum evaluation of P4. Blood samples were centrifuged at 800 xg for 5 min, up to a maximum of 30 min after collection [10]. Afterwards, the samples were stored at -20°C, for later laboratory analysis using the chemiluminescence technique [11]. Follicular dynamics, preovulatory follicle size and ovulation rate were evaluated by daily ultrasonography from D0 to D10, using a Sonoscape[®] equipment with a 5.0 MHz linear transducer, according to [12].

2.2. Experiment 2

Considering that follicular growth did not differ and, despite the small number of animals, there was evidence of no difference between ovulation indices, a second experiment was implemented to evaluate pregnancy. A total of 70 cows Brangus breed, multiparous, with calf at foot, in the period of 50-70 days postpartum, in native field, with BCS between 2.5 and 3.5 on a scale of 1 to 5 points [8], were examined by ultrasound transrectal at the beginning of the protocol to rule out the possibility of unwanted pregnancy [13]. The animals were allocated into two groups, a control (P4IVD; n=35) and a treatment (P4i; n=35). The protocols used were the same as in Experiment 1. After 16 hours of GnRH application, the animals of both groups were inseminated (AI). Cows were inseminated by a single trained inseminator using conventional semen from a single bull with known fertility [14]. Pregnancy diagnosis was performed by ultrasound (Sonoscape[®] with 5.0 MHz linear transducer) 30 days after FTAI [13] (Figure 1).

2.3 Statistical Analysis

All continuous variables and residuals for each model were tested for normality using the *Shapiro Wilk test*. The effect of treatments on progesterone concentration and follicular size over time was analyzed using mixed models for repeated data. Different covariance structures were tested for each

model, using the one with the lowest AIC (Akaike information criterion). Differences between groups, on each day, were performed using the Tukey HSD test using corrected means. Ovulation and pregnancy rates were evaluated by chi -square. All analyzes were performed using the JMP statistical package (SAS Institute Inc., Cary, NC) and a significance level of $P \leq 0.05$ was adopted.

3. RESULTS

Experiment 1

There was no group effect or interaction between group and day on new wave follicle diameter ($P > 0.05$; Fig. 2). The follicular growth rate from D6 to D9 also did not differ between the device (1.36 ± 0.17 mm/day) and injectable P4 (1.47 ± 0.17 mm/day; $P > 0.05$) groups. . Ovulation rate did not differ between P4 device (4/10 cows) and P4 injectable (5/10 cows; Fig. 3; $P > 0.05$) groups. There was a group effect ($P < 0.001$), day ($P < 0.001$) and group and day interaction ($P < 0.05$) on serum progesterone concentration on days D10, D11 and D15 (Fig. 4). Serum progesterone concentrations were different between groups at D10 (0.36 ± 0.15 and 1.89 ± 0.15 ng/mL, for P4 device and P4 injectable, respectively; $P < 0.0001$) and D11 (0.41 ± 0.11 and 1.59 ± 0.11 ng/mL, for P4 device and P4 injectable, respectively; $P < 0.0001$). There was no difference between P4 device (2.63 ± 0.49 ng/mL) and P4 injectable (2.52 ± 0.49 ng/mL) in serum progesterone concentration on D15 ($P > 0.05$) .

Experiment 2.

Although no difference between follicular growth was observed in experiment 1 and there was evidence that the ovulation rate did not differ, there was a significant difference in P4 levels on days 10 and 11, time of FTAI and fertilization. The pregnancy rate, 30 days after FTAI, was higher in cows in the P4IVD group (48%) than in the P4i group (2%; Fig. 5; $P < 0.05$).

4. DISCUSSION

Injectable progesterone reached ideal serum levels at the beginning of the protocol, causing ovarian follicular regression and emergence of a new follicular wave. , control and treated, whose progesterone levels remained high above baseline. However, high levels of progesterone at the periovulatory time probably led to failure of fertilization or transport of gametes causing a negative impact on pregnancy.

Progesterone has an effect on follicle development, oocyte maturation [15], as well as ovulation [16]. Studies have shown that treatment with progestogens in postpartum anestrus cows increases the expression of LH receptors in follicular cells [17], optimizing the effects of this gonadotropin and increasing the frequency of LH secretion by the anterior pituitary, presumably by decreasing the negative feedback of E2 on GnRH secretion [18].

In the work carried out by [19], it was observed that, in order to stimulate pulsatile LH secretion, it is essential that circulating progesterone concentrations are between 1 and 2 ng/ml or, according to [20], this concentration must be between 1 and 2 ng/ml. approximately 2.14 ng/ml, resulting in a dominant follicle with a larger diameter. If the serum P4 concentration is around 4.5 ng/ml, LH pulsatility and follicular growth are compromised, especially in *Bos taurus indicus animals* , which have higher circulating P4 concentrations than in *Bos taurus taurus animals*. [21].

LH secretion is, in part, coordinated by the action of steroids, such as E2 and P4, however, essentially, by the positive effect of E2 that induces the LH surge [22]. Researchers have reported that the plasma concentration of P4 at the time of application of GnRH did not affect the ovulation rate, suggesting similar rates in the absence or presence of P4 [23]. The same results were found by [24], who reported high ovulation rates even in animals that received GnRH in the diestrus phase. In the work carried out by [25]the ovulatory response after the application of 100µg of GnRH was similar between the groups with high and low progesterone environments. These findings indicate that follicular status at the time of treatment has considerable importance in the ovulation rate of animals treated with GnRH regardless of serum P4 concentration [23].

The morphology of the uterus changes simultaneously with the estrous cycle, being caused by the action of E2 and P4, in proestrus, an increase in contractility begins with turgidity of its walls caused by high vascularization, at maximum contractility it is in the estrus phase, reducing it is present in metestrus and absent in diestrus [26]. The different mechanisms of action of progesterone demonstrate that this hormone can inhibit or stimulate cell proliferation in the uterus, according to the cell type and endocrine environment [27]. Among the various effects of progesterone on cellular functions, these include the stimulation of glycogenesis, cyclic nucleotide metabolism, protein synthesis and elimination [28], and cell cycle regulation [27].

Results observed by [29], indicate that progestins have a unique and complex binding profile, having several targets in the biological system, which probably affect the response to signals in the CNS. In the present study, the cows that became pregnant in the control group had their basal P4 serum level in the estrus and periovulatory periods. Suprabasal concentrations of P4 can cause incomplete maturation of preovulatory follicles and subsequent final development in an elevated P4 environment [30]. If there is a peripheral increase in progesterone, it can affect estrus expression and hormonal profiles around estrus and ovulation [31].

There are two possibilities for the fall in fertility when progesterone is high at the time of AI, the first is that P4 can change the physiological pattern of gamete transport through changes in the contractility of the uterus and oviduct, reducing the fertilization rate [32]. The other possibility would be that progesterone could cause direct negative effects on embryonic development, when P4 was added to the culture medium reducing the blastocyst rate [33].

Results found by [34] showed that a high level of progesterone produced by cumulus cells was responsible for GVBD in porcine oocytes, anticipating the restart of meiosis. Researchers also performing in vitro experiments with bovine oocytes, found that progesterone in high doses stimulates the restart of meiosis [35]. In primates, The administration of a source progestin induced the resumption of meiosis in oocytes, even in the absence of gonadotropin [36]. For [37], progestins modify the synthesis of cholesterol causing an increase in the levels of steroid activators of meiosis, described as possible mediators of the restart of meiosis induced by gonadotropins in oocytes.

In several sequential experiments carried out by the researchers [32], it was shown that sperm binding and release can be significantly influenced by the local treatment of the isthmus wall with microdrops of progesterone in oil or by progesterone secreted by Graafian follicles that is transferred locally by a countercurrent vascular system to the isthmus wall at high levels just before ovulation.

The use of injectable progesterone is an option for FTAI protocols, since the molecule of this hormone has similar response conditions to intravaginal implants that are currently on the Market.

The protocol used in calved cows with calf at foot synchronized the emergence of a new follicular wave and induced ovulation, reaching a satisfactory percentage of pregnancy in the group with intravaginal device.

5. CONCLUSION

Therefore, we conclude that, although the growth of the dominant follicle and the ovulation rate do not differ from the control, P4 levels remain very high at the time of ovulation and pregnancy rates are extremely low after FTAI.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Pinto AN, Silva RZ, Mota MF, Alberton J. Reutilização de implante intravaginal de progesterona para sincronização de estro em bovinos. *Arq Ciências Veterinárias e Zool Da UNIPAR* 2009;12:169–74.
- [2] Hernández CWS, Mendoza JH, Hidalgo CG, Godoy AV, Avila HRV, García SR. Reutilización de un dispositivo liberador de progesterone (CIDR-B) para sincronizar el estro en un programa de transferencia de embriones bovinos. *Tec Pecu En Mex* 2008;46:119–35.
- [3] Ramos GB. UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA FREQUÊNCIA DE MICRORGANISMOS EM

CONTEÚDO VULVOVAGINAL DE VACAS TRATADAS COM DISPOSITIVOS INTRAVAGINAIS DE PROGESTERONA. 2016.

- [4] Vasconcelos COP, Brandão FZ, Martins G, Penna B, Souza-Fabjan JMG, Lilenbaum W. Análise qualitativa e quantitativa de bactérias da vaginite associadas com implante intravaginal em ovelhas após sincronização de estro. *Cienc Rural* 2016;46:632–6. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20150365>.
- [5] Morotti F, Campos JT, Oliveira ER, Seneda MM. Dinâmica folicular ovariana de vacas Nelore (*Bos indicus*) submetidas a um protocolo de inseminação artificial em tempo fixo com progesterona injetável. *Semin Agrar* 2013;34:3859–66. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2013v34n6Supl2p3859>.
- [6] Simões LMS, Orlandi RE, Massoneto JPM, Scandiuzzi LA, Freitas BG, Bastos MR, et al. Exposure to progesterone previous to the protocol of ovulation synchronization increases the follicular diameter and the fertility of suckled *Bos indicus* cows. *Theriogenology* 2018;116:28–33. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.04.031>.
- [7] Alvarado-Espino AS, Menchaca A, Meza-Herrera CA, Mellado M, Arellano F, Véliz F. Use of injectable progesterone and hCG for fixed-time artificial insemination during the non-breeding season in goats. *Theriogenology* 2019;127:21–5. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.12.035>.
- [8] Houghton PL, Lemenager RP, Horstman LA, Hendrix KS, Moss GE. Effects of body composition, pre- and postpartum energy level and early weaning on reproductive performance of beef cows and preweaning calf gain. *J Anim Sci* 1990;68:1438–46. <https://doi.org/10.2527/1990.6851438x>.
- [9] FONSECA FC DA. Influência da raça, local de punção da veia e experiência do manejador sobre avaliação de diferentes métodos de coleta de sangue em bovinos 2018:41–41.
- [10] Lauritzen M. Quantities and units for centrifugation in the clinical laboratory. *J*

- Automat Chem 1992;14:93–6. <https://doi.org/10.1155/S1463924692000208>.
- [11] Ferreira EC, Rossi AV. A quimiluminescência como ferramenta analítica: Do mecanismo a aplicações da reação do luminol em métodos cinéticos de análise. *Quim Nova* 2002;25:1003–11. <https://doi.org/10.1590/s0100-40422002000600018>.
- [12] Ginther OJ, Knopf L, Kastelic JP. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrous cycles with two and three follicular waves. *J Reprod Fertil* 1989;87:223–30. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0870223>.
- [13] Kastelic JP, Curran S, Pierson RA, Ginther OJ. Ultrasonic evaluation of the bovine conceptus. *Theriogenology* 1988;29:39–54. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(88\)90030-1](https://doi.org/10.1016/0093-691X(88)90030-1).
- [14] Courot M. Physiology of reproduction and artificial insemination of cattle. *Livest Prod Sci* 1980;7:101–2. [https://doi.org/10.1016/0301-6226\(80\)90053-6](https://doi.org/10.1016/0301-6226(80)90053-6).
- [15] Francisco LM, Laurino J, Nunes M. EFEITO DA PROGESTERONA EXÓGENA EM VACAS DOADORAS DE OVÓCITOS SOBRE O DESENVOLVIMENTO FOLICULAR E PRODUÇÃO IN VITRO DE EMBRIÕES n.d.
- [16] T. MORI, A. SUZUKI, T. NISHIMURA and AK. INHIBITION OF OVULATION IN IMMATURE RATS BY ANTI-PROGESTERONE ANTISERUM 1976:0–1. <https://doi.org/https://doi.org/10.1677/joe.0.0730185>.
- [17] Garcia-Winder M, Lewis PE, Townsend EC, Inskeep EK. Effects of norgestomet on follicular development in postpartum beef cows. *J Anim Sci* 1987;64:1099–109. <https://doi.org/10.2527/jas1987.6441099x>.
- [18] Day ML, Anderson LH. Current Concepts on the Control of Puberty in Cattle. *J Anim Sci* 1998;76:1. https://doi.org/10.2527/1998.76suppl_31x.
- [19] Stock AE, Fortune JE. Ovarian follicular dominance in cattle: Relationship

- between prolonged growth of the ovulatory follicle and endocrine parameters. *Endocrinology* 1993;132:1108–14. <https://doi.org/10.1210/endo.132.3.8440173>.
- [20] Roberson MS, Wolfe MW, Stumpf TT, Kittok RJ, Kinder JE. Luteinizing Hormone Secretion and Corpus Luteum Function in Cows Receiving two Levels of Progesterone. *Biol Reprod* 1989;41:997–1003. <https://doi.org/10.1095/BIOLREPROD41.6.997>.
- [21] Cipriano RS, Carvalho BA, Marangoni NR, Nogueira GP. LH and FSH concentration and follicular development in Nellore heifers submitted to fixed-time artificial insemination protocols with different progesterone concentrations. *Anim Reprod Sci* 2011;127:16–22. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2011.06.002>.
- [22] Stagg K, Spicer LJ, Sreenan JM, Roche JF, Diskin MG. Effect of Calf Isolation on Follicular Wave Dynamics, Gonadotropin and Metabolic Hormone Changes, and Interval to First Ovulation in Beef Cows Fed Either of Two Energy Levels Postpartum. *Biol Reprod* 1998;59:777–83. <https://doi.org/10.1095/BIOLREPROD59.4.777>.
- [23] Baruselli PS, Marques M de O, Carvalho NAT de, Berber RC de A, Valentim R, Carvalho Filho AF de, et al. Dinâmica folicular e taxa de prenhez em novilhas receptoras de embrião (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*) tratadas com o protocolo “Ovsynch” para inovulação em tempo fixo. *Brazilian J Vet Res Anim Sci* 2003;40:96–106. <https://doi.org/10.1590/s1413-95962003000800003>.
- [24] Martinez MF, Adams GP, Bergfelt DR, Kastelic JP, Mapletoft RJ. Effect of LH or GnRH on the dominant follicle of the first follicular wave in beef heifers. *Anim Reprod Sci* 1999;57:23–33.
- [25] Giordano JO, Fricke PM, Guenther JN, Lopes G, Herlihy MM, Nascimento AB, et al. Effect of progesterone on magnitude of the luteinizing hormone surge induced by two different doses of gonadotropin-releasing hormone in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 2012;95:3781–93. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-5155>.

- [26] Arthur GH, Noakes DE, Parkinson TJ, England GCW. Arthur's veterinary reproduction and obstetrics. Saunders; 2001.
- [27] Villa A, Diep CH, Lange C, Opreanu R, Graham JD, Clarke CL. Physiological Action of Progesterone in Target Tissues Related papers Progesterone Receptor-Cyclin D1 Complexes Induce Cell Cycle-Dependent Transcriptional P... Progesterone Receptor Regulates Bcl-2 Gene Expression through Direct Binding to Its Pro 1997.
- [28] Demers LM, Feil PD, Bardin CW. OF ENDOMETRIAL GLYCOGENESIS IN ORGAN CULTURE * n.d.
- [29] Liu L, Zhao L, She H, Chen S, Wang JM, Wong C, et al. Clinically relevant progestins regulate neurogenic and neuroprotective responses in vitro and in vivo. *Endocrinology* 2010;151:5782–94. <https://doi.org/10.1210/en.2010-0005>.
- [30] Kim U, Suh G, Hur T, Kang S, Kang H, Park S, et al. Comparison of Two Types of CIDR-based Timed Artificial 2007;53.
- [31] Båge R, Gustafsson H, Larsson B, Forsberg M, Rodríguez-Martínez H. Repeat breeding in dairy heifers: Follicular dynamics and estrous cycle characteristics in relation to sexual hormone patterns. *Theriogenology* 2002;57:2257–69. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(02\)00840-3](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(02)00840-3).
- [32] Hunter RHF. The Fallopian tubes in domestic mammals: How vital is their physiological activity? *Reprod Nutr Dev* 2005;45:281–90. <https://doi.org/10.1051/rnd:2005020>.
- [33] Silva CC, Knight PG. Effects of androgens, progesterone and their antagonists on the developmental competence of in vitro matured bovine oocytes. *J Reprod Fertil* 2000;119:261–9. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.1190261>.
- [34] Yamashita Y, Shimada M, Okazaki T, Maeda T, Terada T. Production of progesterone from de novo-synthesized cholesterol in cumulus cells and its

physiological role during meiotic resumption of porcine oocytes. *Biol Reprod* 2003;68:1193–8. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.102.010934>.

- [35] Sirotkin A V. Involvement of steroid hormones in bovine oocytes maturation in vitro. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1992;41:855–8. [https://doi.org/10.1016/0960-0760\(92\)90438-O](https://doi.org/10.1016/0960-0760(92)90438-O).
- [36] Borman SM, Chaffin CL, Schwinof KM, Stouffer RL, Zelinski-Wooten MB. Progesterone promotes oocyte maturation, but not ovulation, in nonhuman primate follicles without a gonadotropin surge. *Biol Reprod* 2004;71:366–73. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.103.023390>.
- [37] Byskov AG, Andersen CY, Leonardsen L. Role of meiosis activating sterols, MAS, in induced oocyte maturation. *Mol Cell Endocrinol* 2002;187:189–96. [https://doi.org/10.1016/S0303-7207\(01\)00707-9](https://doi.org/10.1016/S0303-7207(01)00707-9).

Legends:

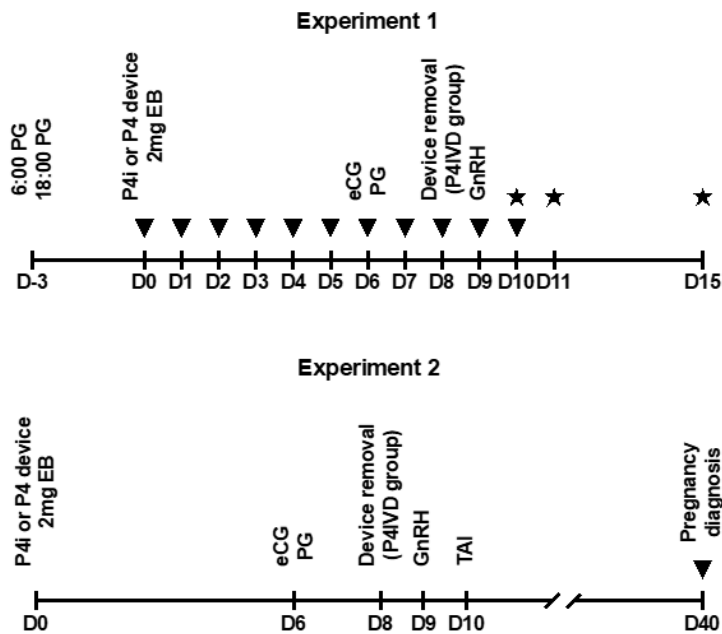
Figure 1. Experiment 1: Follicular dynamics in cows submitted to a protocol with progesterone device (Group P4IVD; device with 1g progesterone; n=10) or injectable progesterone (Group P4i, 300mg progesterone sc; n=10). Experiment 2: 75 cows were randomly allocated to P4IVD or P4i groups to assess pregnancy rate. PG: 526µg of cloprostenol. eCG: 300IU equine chorionic gonadotropin. GnRH: 10µg of buserelin 36h after removal of the device from the animals in the P4IVD group and at the same time for the cows in the P4i group. TAI: Artificial insemination 16h after GnRH. EB: Estradiol benzoate (2mg). Triangles (▼) represent ultrasound assessment for assessment of follicular diameter, ovulation, or pregnancy diagnosis. Star (★) represents blood collection for serum progesterone measurement.

Figure 2. Follicular growth (FC) of new emerging wave in Brangus cows (*Bos taurus indicus x Bos taurus taurus*) during Days 6 and 9, synchronized with injectable progesterone (P4i) and intravaginal progesterone device (P4IVD).

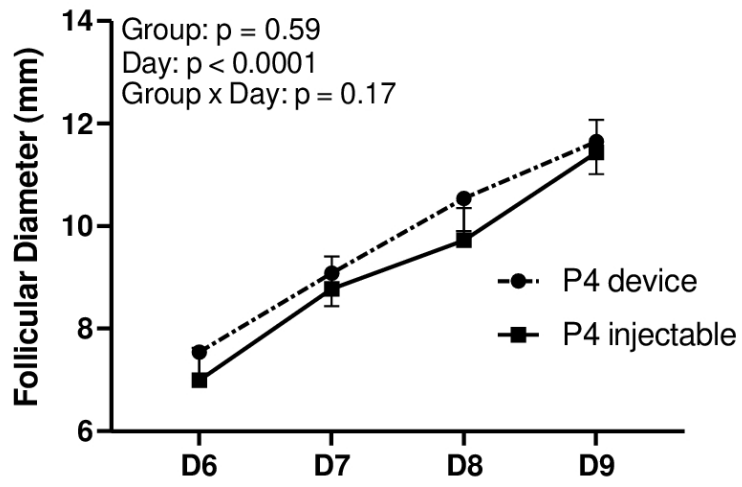
Figure 3. Percentage of ovulation on Day 10 in Brangus cows (*Bos taurus indicus x Bos taurus taurus*) after receiving an application of 10µg of buserelin acetate, in the group with intravaginal progesterone device (P4IVD) and in the injectable progesterone group (P4i). Statistical analysis was not performed due to the small sample size in each group.

Figure 4. Mean serum levels and standard error of progesterone (P4) (ng/ml) in Brangus cows (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*) in both injectable progesterone (P4i) and progesterone intravaginal device (P4IVD) groups, on Days 10 (ovulation), 11 and 15, reinforcing that the animals in experiment 1 were not inseminated. Arrows marked with an asterisk represent the statistical difference between groups ($P > 0.05$).

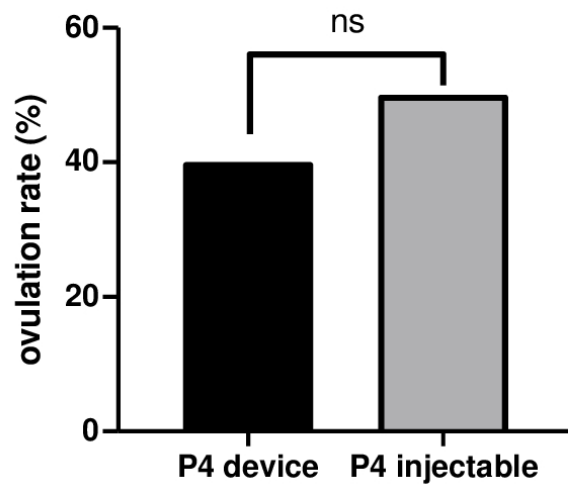
Figure 5. Evaluation of the percentage of pregnancy, performed by ultrasound at 30 days of gestation in Brangus cows (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*). In experiment 2 all animals from both injectable progesterone (P4i) and progesterone intravaginal device (P4IVD) groups were inseminated. Columns with an asterisk represent the divergence between groups.

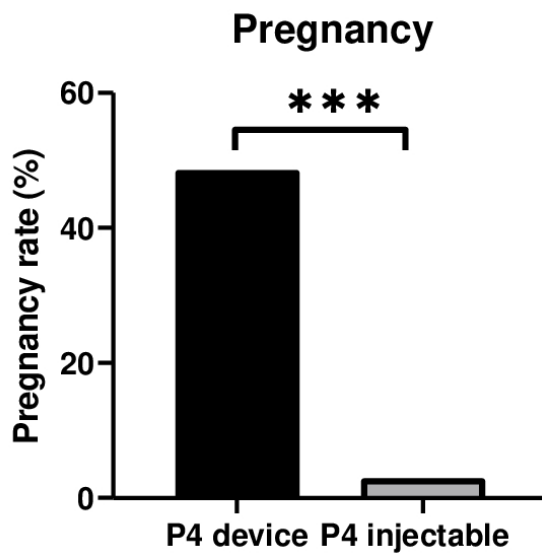
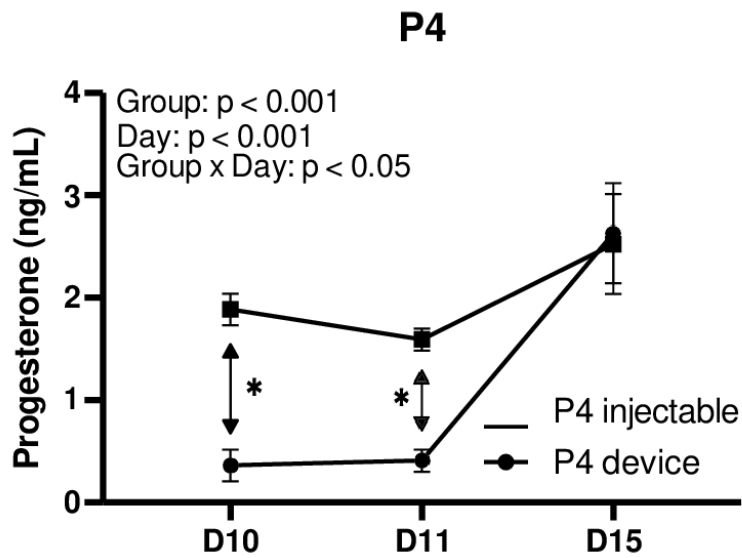


Follicular Growth



Ovulation





5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Há várias alternativas para se escolher na hora de se definir qual é o melhor protocolo de IATF a ser usado no rebanho, sendo totalmente dependente da raça, da categoria animal e do status reprodutivo/nutricional, visto que essas diferenças fisiológicas têm total influência e devem ser adequadamente consideradas ao se tomar decisões. A correta identificação dessas

variáveis e o planejamento no desenvolvimento de um protocolo ‘ideal’ nos levam próximo do “manejo reprodutivo de precisão”, causando êxito na execução desta biotecnologia.

Não menos importante, os fármacos a serem utilizados no tratamento hormonal para o controle das fases luteínica e folicular dentro dos protocolos de IATF, devem ser estudados e adequados, tendo em vista as variações que ocorrem entre as moléculas, podendo causar um efeito negativo na reprodução.

Ressaltamos a importância do ajuste aos protocolos atuais, priorizando sempre o bem-estar animal e os cuidados com o meio ambiente, atividades reprodutivas dentro de uma propriedade rural envolvem toda a cadeia produtiva, incluindo-se os manipuladores dos animais e dos fármacos usados.

REFERÊNCIAS

- ABRELPE. Panorama dos Resíduos Sólidos no Brasil 2020. **Associação Brasileira de Empresas de Limpeza Pública e Resíduos Especiais - ABRELPE**, [s. l.], p. 51, 2020. Disponível em: <https://abrelpe.org.br/panorama-2020/>
- ADAMS, G. P. *et al.* Association between surges of follicle-stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. **Reproduction**, [s. l.], v. 94, n. 1, p. 177–188, 1992. Disponível em: <https://doi.org/10.1530/JRF.0.0940177>. Acesso em: 11 nov. 2021.
- AERTS, Jmj; BOLS, Pej. Ovarian Follicular Dynamics. A review with Emphasis on the Bovine Species. Part II: Antral Development, Exogenous Influence and Future Prospects. [s. l.], 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01298.x>
- ALI, A. Effect of time of eCG administration on follicular response and reproductive performance of FGA-treated Ossimi ewes. **Small Ruminant Research**, [s. l.], v. 72, p. 33–37, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2006.07.017>
- ALMEIDA, Alexandre Barreto *et al.* Avaliação da reutilização de implantes auriculares contendo norgestomet associados ao valerato ou ao benzoato de estradiol em vacas nelore inseminadas em tempo fixo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, [s. l.], v. 43, n. 4, p. 456, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.11606/issn.1678->

4456.bjvras.2006.26460

ALVARADO-ESPINO, A. S. *et al.* Use of injectable progesterone and hCG for fixed-time artificial insemination during the non-breeding season in goats. **Theriogenology**, [s. l.], v. 127, p. 21–25, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.12.035>

ALVES, Aparecida *et al.* Morphometric correlation of the ovary of bovine females on different reproductive stages. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, [s. l.], v. 40, n. 2, p. 126–132, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1413-95962003000200006>. Acesso em: 23 dez. 2021.

ANVISA. **Ministério da Saúde**. [s. l.], 2017. Disponível em: https://bvsm.sau.gov.br/bvs/sau/legis/anvisa/2004/res0306_07_12_2004.html. Acesso em: 11 dez. 2020.

ARTHINGTON, John D. Trace Mineral Supplementation of Grazing Beef Cattle. **Proceedings, Applied Reproductive Strategies in Beef Cattle**, [s. l.], n. August, p. 136–148, 2017.

AYRES, H. *et al.* Effect of timing of estradiol benzoate administration upon synchronization of ovulation in suckling Nelore cows (*Bos indicus*) treated with a progesterone-releasing intravaginal device. **Animal Reproduction Science**, [s. l.], v. 109, n. 1–4, p. 77–87, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2007.12.001>

BAO, Bagna *et al.* Changes in Messenger Ribonucleic Acid Encoding Luteinizing Hormone Receptor, Cytochrome P450-Side Chain Cleavage, and Aromatase are Associated with Recruitment and Selection of Bovine Ovarian Follicles. **Biology of Reproduction**, [s. l.], v. 56, n. 5, p. 1158–1168, 1997a. Disponível em: <https://doi.org/10.1095/BIOLREPROD56.5.1158>. Acesso em: 22 dez. 2021.

BAO, Bagna *et al.* Expression of Messenger Ribonucleic Acid (mRNA) Encoding 3β -Hydroxysteroid Dehydrogenase $\Delta 4, \Delta 5$ Isomerase (3β -HSD) during Recruitment and Selection of Bovine Ovarian Follicles: Identification of Dominant Follicles by Expression of 3β -HSD mRNA within the Granulosa Cell Layer. **Biology of Reproduction**, [s. l.], v. 56, n. 6, p. 1466–1473, 1997b. Disponível em: <https://doi.org/10.1095/BIOLREPROD56.6.1466>. Acesso em: 30

dez. 2021.

BARUSELLI, P S *et al.* OVARIAN FOLLICULAR DYNAMICS DURING THE ESTROUS CYCLE IN BUFFALO (*Bubalus bubalis*). [s. l.], 1997.

BARUSELLI, P. S. *et al.* The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. *In:* , 2004. **Animal Reproduction Science**. [S. l.]: Anim Reprod Sci, 2004. p. 479–486. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.04.025>. Acesso em: 6 out. 2020.

BINELLI, M. *et al.* BASES FISIOLÓGICAS, FARMACOLÓGICAS E ENDÓCRINAS DOS TRATAMENTOS DE SINCRONIZAÇÃO DO CRESCIMENTO FOLICULAR E DA OVULAÇÃO. **Acta Scientiae Veterinariae**, [s. l.], v. 34, p. 2006, 2006.

BINELLI, M. *et al.* Evolution in fixed-time: from synchronization of ovulation to improved fertility. **Bioscientifica Proceedings**, [s. l.], 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1530/biosciproc.8.034>

BINELLI, M. *et al.* Persistent dominant follicle alters pattern of oviductal secretory proteins from cows at estrus. **Biology of Reproduction**, [s. l.], v. 61, n. 1, p. 127–134, 1999. Disponível em: <https://doi.org/10.1095/biolreprod61.1.127>

BLANCO, M. R. *et al.* Developmental competence of in vivo and in vitro matured oocytes: A review. **Biotechnology and Molecular Biology Reviews**, [s. l.], v. 6, n. 7, p. 155–165, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.5897/BMBR2011.0015>. Acesso em: 29 dez. 2021.

BÓ, G A *et al.* EXOGENOUS CONTROL OF FOLLICULAR WAVE EMERGENCE IN CATTLE. [s. l.], 1995.

BÓ, G. A. *et al.* The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. [s. l.], n. 01, p. 1–11, 2002. Disponível em: [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(01\)00657-4](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0093-691X(01)00657-4)

BÓ, G. A. *et al.* Wave Dynamics After Estradiol-17P Treatment. **Theriogenology**, [s. l.], n. 41,

p. 1555–1569, 1994.

BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S. Synchronization of ovulation and fixed-time artificial insemination in beef cattle. **Animal**, [s. l.], v. 8, n. SUPPL. 1, p. 144–150, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S1751731114000822>

BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S.; MARTÍNEZ, M. F. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. **Animal Reproduction Science**, [s. l.], v. 78, n. 3–4, p. 307–326, 2003. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(03\)00097-6](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(03)00097-6)

BO, G. A.; PIERSON, R. A.; MAPLETOFT, R. J. The effect of estradiol valerate on follicular dynamics and superovulatory response in cows with Syncro-Mate-B implants. **Theriogenology**, [s. l.], v. 36, n. 2, p. 169–183, 1991. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(91\)90376-O](https://doi.org/10.1016/0093-691X(91)90376-O)

BODENSTEINER, K. J. *et al.* Alterations in follicular estradiol and gonadotropin receptors during development of bovine antral follicles. **Theriogenology**, [s. l.], v. 45, n. 2, p. 499–512, 1996. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(95\)00386-M](https://doi.org/10.1016/0093-691X(95)00386-M)

BORNSLAEGER, Elayne A.; MATTEI, Peter; SCHULTZ, Richard M. Involvement of cAMP-dependent protein kinase and protein phosphorylation in regulation of mouse oocyte maturation. **Developmental Biology**, [s. l.], v. 114, n. 2, p. 453–462, 1986. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0012-1606\(86\)90209-5](https://doi.org/10.1016/0012-1606(86)90209-5)

BORTOLETTO, Marcela *et al.* ALTERNATIVAS PARA SUBSTITUIÇÃO DO USO DE IMPLANTES VAGINAIS DE PROGESTERONA NA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO EM (Alternatives for replacing the use of vaginal progesterone implants in the Fixed Time Artificial Insemination in cattle) INTRODUÇÃO O. [s. l.], p. 416–433, 2019.

BRAW-TAL, R.; YOSSEFI, S. Studies in vivo and in vitro on the initiation of follicle growth in the bovine ovary. **Reproduction**, [s. l.], v. 109, n. 1, p. 165–171, 1997. Disponível em: <https://doi.org/10.1530/JRF.0.1090165>. Acesso em: 29 dez. 2021.

BRENNECKE, Dennis *et al.* Microplastics as vector for heavy metal contamination from the

marine environment. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, [s. l.], v. 178, p. 189–195, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2015.12.003>

BRIDGES, P. J.; KOMAR, C. M.; FORTUNE, J. E. Gonadotropin-Induced Expression of Messenger Ribonucleic Acid for Cyclooxygenase-2 and Production of Prostaglandins E and F2 α in Bovine Preovulatory Follicles Are Regulated by the Progesterone Receptor. **Endocrinology**, [s. l.], v. 147, n. 10, p. 4713–4722, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1210/EN.2005-1575>. Acesso em: 30 dez. 2021.

BRUNORO, Rodrigo *et al.* Reutilização de implantes de progesterona em vacas Nelore de diferentes categorias submetidas a IATF. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, [s. l.], v. 41, n. 4, p. 716–722, 2017.

CAMPOS, A.O.; VITORIANO, L.G.; MACHADO, S.T.C. Descarte de medicamento doméstico: impacto ambiental. **Revista de Trabalhos Acadêmicos da FAM**, [s. l.], v. 1, n. 1, 2016. Disponível em: <http://faculadadedeamericana.com.br/revista/index.php/TCC/article/view/112>. Acesso em: 11 nov. 2021.

CAMPOS, J. T. *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**, [s. l.], v. 37, n. 6, p. 4149–4156, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2016v37n6p4149>. Acesso em: 6 nov. 2020.

CAMPOS, R.; CAMPOS, R.F.F.; BORGA, T. Análise da geração de resíduos de serviços de saúde em alguns estabelecimentos do município de Caçador-SC. **Revista Monografias Ambientais**, [s. l.], v. 15, n. 1, p. 247–255, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.5902/2236130819982>. Acesso em: 11 nov. 2021.

CHANDRAKANTHAN, Vashe *et al.* Effects of in vitro fertilization and embryo culture on TRP53 and Bax expression in B6 mouse embryos. **Reproductive Biology and Endocrinology**, [s. l.], v. 4, n. 1, p. 1–9, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1477-7827-4-4/TABLES/5>. Acesso em: 30 dez. 2021.

CHIELLINI, Emo; SOLARO, Roberto. Biodegradable polymeric materials. **Advanced**

Materials, [s. l.], v. 8, n. 4, p. 305–313, 1996. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/adma.19960080406>

CIPRIANO, R. S. *et al.* LH and FSH concentration and follicular development in Nellore heifers submitted to fixed-time artificial insemination protocols with different progesterone concentrations. **Animal Reproduction Science**, [s. l.], v. 127, n. 1–2, p. 16–22, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2011.06.002>

COLAZO, M. G. *et al.* Resynchronization of estrus in beef cattle: Ovarian function, estrus and fertility following progestin treatment and treatments to synchronize ovarian follicular development and estrus. **Canadian Veterinary Journal**, [s. l.], v. 48, n. 1, p. 49–56, 2007a.

COLAZO, M. G. *et al.* Resynchronization of estrus in beef cattle: Ovarian function, estrus and fertility following progestin treatment and treatments to synchronize ovarian follicular development and estrus. **Canadian Veterinary Journal**, [s. l.], v. 48, n. 1, p. 49–56, 2007b. Disponível em: [/pmc/articles/PMC1716744/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1716744/). Acesso em: 10 nov. 2020.

COLAZO, M. G.; KASTELIC, J. P.; MAPLETOFT, R. J. Effects of estradiol cypionate (ECP) on ovarian follicular dynamics, synchrony of ovulation, and fertility in CIDR-based, fixed-time AI programs in beef heifers. **Theriogenology**, [s. l.], v. 60, n. 5, p. 855–865, 2003. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(03\)00091-8](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(03)00091-8)

COLE, H H; HART, G H. THE POTENCY OF BLOOD SERUM OF MARES IN PROGRESSIVE STAGES OF PREGNANCY IN EFFECTING THE SEXUAL MATURITY OF THE IMMATURE RAT. [s. l.], 1930. Disponível em: www.physiology.org/journal/ajplegacy. Acesso em: 9 nov. 2021.

CORRÊA, R. R. EFEITOS DA PROGESTERONA EXÓGENA NA PRODUÇÃO IN VITRO DE EMBRIÕES EM NOVILHAS NELORE PRÉ-PÚBERES. 2015. [s. l.], 2015.

CUPP, A. S. *et al.* Secretion of gonadotrophins change during the luteal phase of the bovine oestrous cycle in the absence of corresponding changes in progesterone or 17 β -oestradiol. **Animal Reproduction Science**, [s. l.], v. 37, n. 2, p. 109–119, 1995. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0378-4320\(94\)01333-H](https://doi.org/10.1016/0378-4320(94)01333-H)

D'AVILA, C.A. *et al.* Hormônios utilizados na indução da ovulação em bovinos – Artigo de

revisão. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, [s. l.], p. 797–802, 2019.

DIAS, Henrique. **EFEITO DA PROGESTERONA NA EXPRESSÃO DO RNAm DO RECEPTOR DE LH E ENZIMAS ESTEROIDOGÊNICAS REGULADORAS DO DESENVOLVIMENTO FOLICULAR EM CÉLULAS DA GRANULOSA DE NOVILHAS NELORE**. 2015. [s. l.], 2015.

EINER-JENSEN, N.; HUNTER, R. H.F. Counter-current transfer in reproductive biology. **Reproduction**, [s. l.], v. 129, n. 1, p. 9–18, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1530/rep.1.00278>

ERENO, R. L. *et al.* Expression of mRNA Encoding the LH Receptor (LHR) and LHR Binding Protein in Granulosa Cells from Nelore (*Bos indicus*) Heifers Around Follicle Deviation. **Reproduction in Domestic Animals**, [s. l.], v. 50, n. 6, p. 952–957, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/rda.12614>

ESPEY, L. L. Current Status of the Hypothesis that Mammalian Ovulation is Comparable to an Inflammatory Reaction. **Biology of Reproduction**, [s. l.], v. 50, n. 2, p. 233–238, 1994. Disponível em: <https://doi.org/10.1095/BIOLREPROD50.2.233>. Acesso em: 15 dez. 2021.

EVANS, Rawden W. *et al.* Progesterone regulation of estrogen receptor in the hamster uterus during the estrous cycle. **Endocrinology**, [s. l.], v. 107, n. 2, p. 383–390, 1980. Disponível em: <https://doi.org/10.1210/endo-107-2-383>

EZZATI, Mohammad *et al.* Tubal transport of gametes and embryos: a review of physiology and pathophysiology. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, [s. l.], v. 31, n. 10, p. 1337–1347, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/S10815-014-0309-X>

FIELDS, S. D.; PERRY, B. L.; PERRY, G. A. Effects of GnRH treatment on initiation of pulses of LH, LH release, and subsequent concentrations of progesterone. **Domestic Animal Endocrinology**, [s. l.], v. 37, n. 4, p. 189–195, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2009.04.006>

FLYNN, J. D. *et al.* Progestagen synchronisation in the absence of a corpus luteum results in the ovulation of a persistent follicle in cyclic ewe lambs. **Animal Reproduction Science**, [s.

l.], v. 62, n. 4, p. 285–296, 2000. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(00\)00124-X](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(00)00124-X)

FORTUNE, J. E.; HANSEL, W. Concentrations of Steroids and Gonadotropins in Follicular Fluid from Normal Heifers and Heifers Primed for Superovulation. **Biology of Reproduction**, [*s. l.*], v. 32, n. 5, p. 1069–1079, 1985. Disponível em: <https://doi.org/10.1095/BIOLREPROD32.5.1069>. Acesso em: 30 dez. 2021.

FORTUNE, J. E.; QUIRK, S. M. REGULATION OF STEROIDOGENESIS IN BOVINE PREOVULATORY FOLLICLES. **Journal of Animal Science**, [*s. l.*], v. 66, n. suppl_2, p. 1–8, 1988. Disponível em: https://doi.org/10.1093/ANSCI/66.SUPPL_2.1. Acesso em: 15 dez. 2021.

FORTUNE, J E; RIVERA, G M; YANG, M Y. Follicular development: the role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle. **Animal Reproduction Science**, [*s. l.*], p. 109–126, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.04.031>

GIMENES, L. U. *et al.* Follicle deviation and ovulatory capacity in *Bos indicus* heifers. **Theriogenology**, [*s. l.*], v. 69, n. 7, p. 852–858, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.01.001>

GINTHER, J *et al.* SELECTION OF THE DOMINANT FOLLICLE IN CATTLE: ESTABLISHMENT OF FOLLICLE DEVIATION IN LESS THAN 8 HOURS THROUGH DEPRESSION OF FSH CONCENTRATIONS. [*s. l.*], 1999.

GINTHER, O.J. *et al.* Follicle Selection in Monovular Species. **Biology of Reproduction**, [*s. l.*], v. 65, n. 3, p. 638–647, 2001a. Disponível em: <https://doi.org/10.1095/biolreprod65.3.638>. Acesso em: 9 dez. 2020.

GINTHER, O J *et al.* M i n i rev i ew Follicle Selection in Monovular Species. **BIOLOGY OF REPRODUCTION**, [*s. l.*], v. 65, p. 638–647, 2001b. Disponível em: <http://www.biolreprod.org>. Acesso em: 11 nov. 2021.

GINTHER, O J *et al.* Mechanism of follicle deviation in monovular farm species. **Animal Reproduction Science**, [*s. l.*], v. 78, p. 239–257, 2003. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(03\)00093-9](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(03)00093-9)

GINTHER, O J *et al.* **Minireview Selection of the Dominant Follicle in Cattle**'**BIOLOGY OF REPRODUCTION**. [S. l.: s. n.], 1996.

GINTHER, O. J. Selection of the dominant follicle in cattle and horses. **Animal Reproduction Science**, [s. l.], v. 60–61, p. 61–79, 2000. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(00\)00083-X](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(00)00083-X)

GIORDANO, Julio O. *et al.* Effect of increasing GnRH and PGF2 α dose during Double-Ovsynch on ovulatory response, luteal regression, and fertility of lactating dairy cows. **Theriogenology**, [s. l.], v. 80, n. 7, p. 773–783, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2013.07.003>

GOMES, Magno Federici; GASPERINI, Marina Mendes. Agronegócio, bovinocultura de corte, responsabilidade social e corrupção. **Brazilian Journal of Development**, [s. l.], v. 6, n. 5, p. 28428–28443, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.34117/bjdv6n5-332>

GONÇALVES, PBD *et al.* **Produção in vitro de embriões In: Gonçalves, PBD.; Figueiredo, JRF.; Figueiredo, VJ Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. [S. l.]: ROCA, 2008.

GORETE, Maria; SALLES, Flores. Corpo lúteo cíclico e gestacional: revisão. [s. l.], 2016. Disponível em: www.cbpa.org.br. Acesso em: 9 nov. 2021.

GOTTSCHALL, C *et al.* Perdas reprodutivas e reconcepção em bovinos de corte segundo a idade ao acasalamento. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, [s. l.], v. 60, n. 2, p. 414–418, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0102-09352008000200021>

GUTIÉRREZ-GARCÍA, A. G.; CONTRERAS, C.M.; DÍAZ-MEZA, J.L. Cómo actúa la progesterona sobre el sistema nervioso central. **Salud Mental V**, [s. l.], v. 23, n. 2, 2000. Disponível em: www.medigraphic.org.mx. Acesso em: 6 jan. 2022.

HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. **Reprodução Animal**. [S. l.: s. n.], 2004.

HANSEL, William; CONVEY, Edward M. **PHYSIOLOGY OF THE ESTROUS CYCLE 1**. [s.

l.], 1983.

HERNÁNDEZ, César Wilfredo Solórzano *et al.* Reutilización de un dispositivo liberador de progesterone (CIDR-B) para sincronizar el estro en un programa de transferencia de embriones bovinos. **Técnica Pecuaria en México**, [s. l.], v. 46, n. 2, p. 119–135, 2008. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/26616591_Reutilizacion_de_un_dispositivo_liberador_de_progesterona_CIDR-B_para_sincronizar_el_estro_en_un_programa_de_transferencia_de_embrioes_bovinos. Acesso em: 10 nov. 2020.

HERRMANN, J A; COLLEGE, American; WALLACE, R L. Effect of New and Reused CIDRs on Serum Progesterone Concentrations in Lactating Dairy Cows. [s. l.], p. 41–47, 2007.

HOLMES, Luke A.; TURNER, Andrew; THOMPSON, Richard C. Interactions between trace metals and plastic production pellets under estuarine conditions. **Marine Chemistry**, [s. l.], v. 167, p. 25–32, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.marchem.2014.06.001>

HUANG, Jan-Chan -C; SHETTY, Aditya S.; WANG, Ming-Song -S. Biodegradable plastics: A review. **Advances in Polymer Technology**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 23–30, 1990. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/adv.1990.060100103>

HUNTER, R. H. F. The Fallopian Tubes: Their role in fertility and Infertility. *In*: SPRINGER-VERLAG, BERLIN HEIDELBERG NEW YORK LONDON PARIS TOKYO. [S. l.: s. n.], 1988. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-3-642-73045-0> e-ISBN-13:

IPEA. **Ipea atualiza as projeções do PIB Agropecuário para 2021 e 2022**. [S. l.], 2022. Disponível em: <https://www.ipea.gov.br/portal/>. Acesso em: 5 jan. 2022.

IVELL, R. *et al.* Acute regulation of the bovine gene for the steroidogenic acute regulatory protein in ovarian theca and adrenocortical cells. **Journal of Molecular Endocrinology**, [s. l.], v. 24, n. 1, p. 109–118, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1677/jme.0.0240109>

JACEK RZUCIDLO, S.; GIBBONS, John; STICE, Steven L. Mitogen activated protein kinase plays a significant role in metaphase II arrest, spindle morphology, and maintenance of maturation promoting factor activity in bovine oocytes. **Molecular Reproduction and**

Development, [s. l.], v. 59, n. 1, p. 106–114, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/mrd.1012>

JUNG, Pedro Henrique. **EDUCAÇÃO AMBIENTAL COMO INSTRUMENTO PARA O CORRETO DESCARTE DE RESÍDUOS DE MEDICAMENTOS VETERINÁRIOS DE UMA COOPERATIVA DE ALIMENTOS DA SERRA GAÚCHA/RS**. 2018. - UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA UNIVERSIDADE ABERTA DO BRASIL CENTRO DE TECNOLOGIA CURSO DE ESPECIALIZAÇÃO EM EDUCAÇÃO AMBIENTAL EDUCAÇÃO AMBIENTAL, [s. l.], 2018.

JUNQUEIRA, José R. C.; ALFIERI, Amauri A. Falhas da reprodução na pecuária bovina de corte com ênfase para causas infecciosas. **Semina: Ciências Agrárias**, [s. l.], v. 27, n. 2, p. 289, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2006v27n2p289>

JUNQUEIRA, Luiz Carlos Uchôa; CARNEIRO, José. **Histologia básica texto, atlas**. [S. l.]: Guanabara-Koogan, 2008.

KINDER, J E *et al.* Progesterone and Estrogen Regulation of Pulsatile LH Release and Development of Persistent Ovarian Follicles in Cattle 1,2. **J. Anim. Sci**, [s. l.], v. 74, p. 1424–1440, 1996. Disponível em: <https://academic.oup.com/jas/article-abstract/74/6/1424/4624785>. Acesso em: 20 dez. 2021.

KISER, Patrick F.; JOHNSON, Todd J.; CLARK, Justin T. **State of the art in intravaginal ring technology for topical prophylaxis of HIV infection**. [S. l.: s. n.], 2012. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/221798541_State_of_the_Art_in_Intravaginal_Ring_Technology_for_Topical_Prophylaxis_of_HIV_Infection. Acesso em: 10 nov. 2020.

KITAI, Hirokatsu *et al.* BASIC SCIENCE SECTION Microvasculature of preovulatory follicles: Comparison of in situ and in vitro perfused rabbit ovaries following stimulation of ovulation. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, [s. l.], v. 152, p. 889–895, 1985. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0002-9378\(85\)80087-9](https://doi.org/10.1016/S0002-9378(85)80087-9)

KÖNIG, Horst Erich. **Anatomia dos animais domésticos texto e atlas colorido**. [S. l.: s. n.], 2016.

LAMB, G. C. *et al.* Reproductive Endocrinology and Hormonal Control of the Estrous Cycle. **The Bovine Practitioner**, [s. l.], p. 18–26, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.21423/BOVINE-VOL44NO1P18-26>. Acesso em: 9 nov. 2021.

LAMB, G. C.; MERCADANTE, V. R. G. Synchronization and Artificial Insemination Strategies in Beef Cattle. **Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice**, [s. l.], v. 32, n. 2, p. 335–347, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2016.01.006>

LIMA, F.P.C. *et al.* Concentração sérica de progesterona em bezerras da raça nelore e mestiças tratadas com progesterona em veículo de liberação lenta. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, [s. l.], v. 59, n. 3, p. 600–604, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s0102-09352007000300008>

LONERGAN, Patrick. Influence of progesterone on oocyte quality and embryo development in cows. **Theriogenology**, [s. l.], v. 76, n. 9, p. 1594–1601, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.06.012>

LUO, S.; NETRAVALI, A. N. A study of physical and mechanical properties of poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) during composting. **Polymer Degradation and Stability**, [s. l.], v. 80, n. 1, p. 59–66, 2003. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0141-3910\(02\)00383-X](https://doi.org/10.1016/S0141-3910(02)00383-X)

MACMILLAN, Keith L. Recent advances in the synchronization of estrus and ovulation in dairy cows. **Journal of Reproduction and Development**, [s. l.], v. 56, n. SUPPL., 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1262/JRD.1056S42>

MAGOFFIN, Denis A. Evidence that Luteinizing Hormone-Stimulated Cells Is Mediated by Both Type I and Type II Adenosine. **Endocrinology**, [s. l.], n. July, p. 1464–1472, 1989.

MAHMOOD, T. *et al.* The effect of ovarian steroids on epithelial ciliary beat frequency in the human Fallopian tube. **Human Reproduction**, [s. l.], v. 13, n. 11, p. 2991–2994, 1998. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/HUMREP/13.11.2991>. Acesso em: 17 dez. 2021.

MANN, G. E.; LAMMING, G. E. Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. **Reproduction**, [s. l.],

v. 121, n. 1, p. 175–180, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1530/rep.0.1210175>

MANN, G. E.; LAMMING, G. E. The influence of progesterone during early pregnancy in cattle. **Reproduction in Domestic Animals**, [s. l.], v. 34, n. 3–4, p. 269–274, 1999. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.1999.tb01250.x>

MARCHESE, Letícia De Quadros. Logística reversa das embalagens e sua contribuição para a implantação da Política Nacional de Resíduos Sólidos. [s. l.], 2012. Disponível em: <https://www.univates.br/bdu/handle/10737/292>. Acesso em: 11 nov. 2021.

MAZZA, V.M.S. *et al.* Gestão de Resíduos Sólidos em Propriedades Rurais de Municípios do Interior do Estado do Rio Grande do Sul. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, [s. l.], v. 7, n. 3, p. 513, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.17765/2176-9168.2014V7N3P>. Acesso em: 11 nov. 2021.

MEE, Michael O. *et al.* Influence of Gonadotropin-Releasing Hormone and Timing of Insemination Relative to Estrus on Pregnancy Rates of Dairy Cattle at First Service. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 73, n. 6, p. 1500–1507, 1990. Disponível em: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(90\)78817-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(90)78817-0)

MESIANO, Sam. Myometrial progesterone responsiveness. **Seminars in Reproductive Medicine**, [s. l.], v. 25, n. 1, p. 5–13, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1055/s-2006-956771>

MIES FILHO, A; ENDLER, J. O; MORAES, J. C. F. Indução de estro ovulatório em ovelhas com emprego de estímulos elétricos e/ou hormonais - Nota prévia. **Rev. bras. reprod. anim**, [s. l.], p. 229–238, 1989.

MOENTER, Suzanne M.; CARATY, Alain; KARSCH, Fred J. The estradiol-induced surge of gonadotropin-releasing hormone in the Ewe. **Endocrinology**, [s. l.], v. 127, n. 3, p. 1375–1384, 1990. Disponível em: <https://doi.org/10.1210/endo-127-3-1375>

MOROTTI, F. *et al.* Dinâmica folicular ovariana de vacas Nelore (*Bos indicus*) submetidas a um protocolo de inseminação artificial em tempo fixo com progesterona injetável. **Semina: Ciências Agrárias**, [s. l.], v. 34, n. 6 SUPPL. 2, p. 3859–3866, 2013. Disponível em:

<https://doi.org/10.5433/1679-0359.2013v34n6Supl2p3859>

MOROTTI, F. *et al.* Injectable progesterone in timed artificial insemination programs in beef cows. **Animal Reproduction**, [s. l.], v. 15, n. 1, p. 17–22, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.21451/1984-3143-2017-AR928>. Acesso em: 5 nov. 2020.

NAKAHARI, Takashi *et al.* The regulation of ciliary beat frequency by ovarian steroids in the guinea pig Fallopian tube: interactions between oestradiol and progesterone. **Biomedical Research**, [s. l.], v. 32, n. 5, p. 321–328, 2011.

NASCIMENTO, A. B. *et al.* Produção e metabolismo da progesterona e seu papel antes, durante e depois da inseminação artificial influenciando a fertilidade de vacas leiteiras de alta produção Progesterone Production and Metabolism and Its Role Before, during and after Artificial. [s. l.], 2013.

NOEL, B; BISTER, J L; PAQUAY, R. EFFECTS OF FGA AND PMSG ON FOLLICULAR GROWTH AND LH SECRETION IN SUFFOLK EWES. [s. l.], 1994.

NUTTINCK, F. *et al.* Expression of components of the insulin-like growth factor system and gonadotropin receptors in bovine cumulus-oocyte complexes during oocyte maturation. **Domestic Animal Endocrinology**, [s. l.], v. 27, n. 2, p. 179–195, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2004.03.003>

OKAMURA, H. *et al.* A morphological and physiological study of mesotubarium ovarica in humans. **International Journal of Fertility**, [s. l.], v. 22, n. 3, p. 179–183, 1977. Disponível em: <https://europepmc.org/article/med/24013>. Acesso em: 16 dez. 2021.

OLIVEIRA, Edson Carlos Pimenta; SILVA, Carolina Gonzales. Implantes de progesterona de quarto uso associados à progesterona injetável em programa de IATF em Bovinos de corte. **Brazilian Journal of Development**, [s. l.], v. 5, n. 12, p. 29845–29857, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.34117/bjdv5n12-125>

ORIZABA-CHÁVEZ, B.; ALBA-JASSO, G.A.; OCHARÁN-HERNÁNDEZ, M.E. Farmacocinética de la progesterona. **Rev Hosp Jua Mex**, [s. l.], 2013.

PATE, J. L. Cellular components involved in luteolysis. **Journal of animal science**, [s. l.], v. 72, n. 7, p. 1884–1890, 1994. Disponível em: <https://doi.org/10.2527/1994.7271884x>

PERRY, G. A.; PERRY, B. L. Effect of preovulatory concentrations of estradiol and initiation of standing estrus on uterine pH in beef cows. **Domestic Animal Endocrinology**, [s. l.], v. 34, n. 3, p. 333–338, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2007.09.003>

PESSOA, G. A. *et al.* Accepted Manuscript Different doses of equine chorionic gonadotropin on ovarian follicular growth and pregnancy rate of suckled *Bos taurus* beef cows subjected to timed artificial insemination protocol. **Theriogenology**, [s. l.], 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.09.057>

PICTON, Helen; BRIGGS, David; GOSDEN, Roger. The molecular basis of oocyte growth and development. **Molecular and Cellular Endocrinology**, [s. l.], v. 145, n. 1–2, p. 27–37, 1998. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0303-7207\(98\)00166-X](https://doi.org/10.1016/S0303-7207(98)00166-X)

PINTO, A. N. *et al.* Reutilização de implante intravaginal de progesterona para sincronização de estro em bovinos. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, [s. l.], v. 12, n. 2, p. 169–174, 2009.

PURSLEY, J. R. *et al.* Pregnancy Rates Per Artificial Insemination for Cows and Heifers Inseminated at a Synchronized Ovulation or Synchronized Estrus. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 80, n. 2, p. 295–300, 1997. Disponível em: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(97\)75937-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)75937-X)

PURSLEY, J. R.; MEE, M. O.; WILTBANK, M. C. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF 2α and GnRH. **Theriogenology**, [s. l.], v. 44, n. 7, p. 915–923, 1995. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(95\)00279-H](https://doi.org/10.1016/0093-691X(95)00279-H)

RABL, A.; SPADARO, J. V.; MCGAVRAN, P. D. Health risks of air pollution from incinerators: a perspective. **Waste Management e Research**, [s. l.], v. 16, n. 4, p. 365–388, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/0734242X9801600408>. Acesso em: 5 jan. 2022.

RAMOS, G. B. UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA FREQUÊNCIA DE MICRORGANISMOS EM CONTEÚDO VULVOVAGINAL DE VACAS TRATADAS COM DISPOSITIVOS INTRAVAGINAIS DE PROGESTERONA. 2016. [s. l.], 2016.

RATHBONE, Michael; BRAYDEN, David. Controlled Release Drug Delivery in Farmed Animals: Commercial Challenges and Academic Opportunities. **Current Drug Delivery**, [s. l.], v. 6, p. 383, 2009a.

RATHBONE, Michael; BRAYDEN, David. Controlled Release Drug Delivery in Farmed Animals: Commercial Challenges and Academic Opportunities. **Current Drug Delivery**, [s. l.], v. 6, n. 4, p. 383–390, 2009b. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/156720109789000483>

RATHBONE, Michael J *et al.* Recent advances in bovine reproductive endocrinology and physiology and their impact on drug delivery system design for the control of the estrous cycle in cattle. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [s. l.], v. 50, p. 277–320, 2001a. Disponível em: www.elsevier.com/locate/drugdeliv. Acesso em: 20 dez. 2021.

RATHBONE, Michael J. *et al.* Recent advances in bovine reproductive endocrinology and physiology and their impact on drug delivery system design for the control of the estrous cycle in cattle. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [s. l.], v. 50, n. 3, p. 277–320, 2001b. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(01\)00156-9](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(01)00156-9)

RE, G. *et al.* Distribution of cytosolic oestrogen and progesterone receptors in the genital tract of the mare. **Research in Veterinary Science**, [s. l.], v. 59, n. 3, p. 214–218, 1995. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0034-5288\(95\)90004-7](https://doi.org/10.1016/0034-5288(95)90004-7)

REVAH, I.; BUTLER, W. R. Prolonged dominance of follicles and reduced viability of bovine oocytes. **Journal of Reproduction and Fertility**, [s. l.], v. 106, n. 1, p. 39–47, 1996a. Disponível em: <https://doi.org/10.1530/jrf.0.1060039>

REVAH, I.; BUTLER, W. R. Prolonged dominance of follicles and reduced viability of bovine oocytes. **Reproduction**, [s. l.], v. 106, n. 1, p. 39–47, 1996b. Disponível em: <https://doi.org/10.1530/JRF.0.1060039>. Acesso em: 20 dez. 2021.

RIPPE, C. A. El Ciclo Estral. [s. l.], 2009.

ROBERSON, M. S. *et al.* Luteinizing Hormone Secretion and Corpus Luteum Function in Cows Receiving two Levels of Progesterone¹. **Biology of Reproduction**, [s. l.], v. 41, n. 6, p. 997–1003, 1989. Disponível em: <https://doi.org/10.1095/biolreprod41.6.997>. Acesso em: 9 dez. 2020.

ROSA E SILVA, A.C.J.S.; LARA, L.A.S. Moduladores seletivos dos receptores da progesterona: revisão da literatura. **Femina**, [s. l.], 2011.

ROSSA, Luis Augusto Ferreira. **Purificação da gonadotrofina coriônica eqüina, do plasma sanguíneo de éguas prenhes, por cromatografia de afinidade**. 2009. - Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.11606/T.10.2009.TDE-29072009-111402>. Acesso em: 9 nov. 2021.

SÁ FILHO, M F *et al.* Importance of estrus on pregnancy per insemination in suckled *Bos indicus* cows submitted to estradiol/progesterone-based timed insemination protocols. [s. l.], 2011a. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.02.022>. Acesso em: 4 jan. 2022.

SÁ FILHO, M. F. *et al.* Induction of ovarian follicular wave emergence and ovulation in progestin-based timed artificial insemination protocols for *Bos indicus* cattle. **Animal Reproduction Science**, [s. l.], v. 129, n. 3–4, p. 132–139, 2011b. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2011.12.005>

SANGSRITAVONG, S *et al.* High Feed Intake Increases Liver Blood Flow and Metabolism of Progesterone and Estradiol-17 β in Dairy Cattle. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 85, p. 2831–2842, 2002. Disponível em: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74370-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74370-1)

SANTOS, J E P *et al.* Effect of reducing the period of follicle dominance in a timed artificial insemination protocol on reproduction of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 93, p. 2976–2988, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2870>. Acesso em: 20 dez. 2021.

SANTOS, J. E.P. *et al.* The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. **Animal Reproduction Science**, [s. l.], v. 82–83, p. 513–535, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.04.015>

SARTORI, R *et al.* Fertilization and Early Embryonic Development in Heifers and Lactating Cows in Summer and Lactating and Dry Cows in Winter. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 85, p. 2803–2812, 2002a. Disponível em: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74367-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74367-1)

SARTORI, R. *et al.* Fertilization and Early Embryonic Development in Heifers and Lactating Cows in Summer and Lactating and Dry Cows in Winter. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 85, n. 11, p. 2803–2812, 2002b. Disponível em: [https://doi.org/10.3168/JDS.S0022-0302\(02\)74367-1](https://doi.org/10.3168/JDS.S0022-0302(02)74367-1)

SARTORI, R.; BARROS, C. M. Reproductive cycles in *Bos indicus* cattle. **Animal Reproduction Science**, [s. l.], v. 124, n. 3–4, p. 244–250, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2011.02.006>

SENGER, Phillip L. **Pathways To Pregnancy & Parturition**. [S. l.]: Current Conceptions, Inc., 2008.

SEPEC. **Notícias Secretaria Especial de Comercio Exterior e Assuntos Internacionais**. [S. l.], 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/economia/pt-br/assuntos/noticias/sepec>. Acesso em: 5 jan. 2022.

SIMÕES, L. M.S. *et al.* Exposure to progesterone previous to the protocol of ovulation synchronization increases the follicular diameter and the fertility of suckled *Bos indicus* cows. **Theriogenology**, [s. l.], v. 116, p. 28–33, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.04.031>

SINDAN. **Governo Federal**. [S. l.], 2020. Disponível em: <https://sistemas.sindan.org.br/cpvs/pesquisar.aspx>. Acesso em: 11 dez. 2020.

SOUZA, A H *et al.* Supplementation with Estradiol-17 β Before the Last Gonadotropin-Releasing Hormone Injection of the Ovsynch Protocol in Lactating Dairy Cows. **Journal of**

Dairy Science, [s. l.], v. 90, p. 4623–4634, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0172>

STAPLES, L. D.; FLEET, I. R.; HEAP, R. B. Anatomy of the utero-ovarian lymphatic network and the composition of afferent lymph in relation to the establishment of pregnancy in the sheep and goat. **Journal of Reproduction and Fertility**, [s. l.], v. 64, n. 2, p. 409–420, 1982. Disponível em: <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0640409>

TAROUCO, A. K. *et al.* Efeitos de fatores bioclimáticos no desempenho de fêmeas Brangus e Angus submetidas à Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF). **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, [s. l.], v. 26, n. 1, p. 68–81, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.36812/pag.202026168-81>. Acesso em: 4 nov. 2020.

THATCHER, W. W.; SANTOS, J. E. **Control of ovarian follicular and corpus luteum development for the synchronization of ovulation in cattle**. [S. l.]: Soc Reprod Fertil Suppl, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.5661/rdr-vi-69>. Acesso em: 4 nov. 2020.

THUNDATHIL, Jacob; KASTELIC, John P.; MAPLETOFT, Reuben J. The effect of estradiol cypionate (ECP) on ovarian follicular development and ovulation in dairy cattle. **Canadian Journal of Veterinary Research**, [s. l.], v. 62, n. 4, p. 314, 1998. Disponível em: </pmc/articles/PMC1189501/?report=abstract>. Acesso em: 20 nov. 2021.

VAN DEN HURK, Robert; ZHAO, Jia. Formation of mammalian oocytes and their growth, differentiation and maturation within ovarian follicles. **Theriogenology**, [s. l.], v. 63, n. 6, p. 1717–1751, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2004.08.005>

VASCONCELOS, C.O.P. *et al.* Análise qualitativa e quantitativa de bactérias da vaginite associadas com implante intravaginal em ovelhas após sincronização de estro. **Ciência Rural**, [s. l.], v. 46, n. 4, p. 632–636, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20150365>. Acesso em: 11 dez. 2020.

VASCONCELOS, Jose Luiz Moraes *et al.* Evolution of fixed-time AI in dairy cattle in Brazil. **Animal Reproduction**, [s. l.], v. 15, p. 940–951, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.21451/1984-3143-AR2018-0020>

VILLANOVA, Janaina C.O.; ORÉFICE, Rodrigo L.; CUNHA, Armando S. Aplicações farmacêuticas de polímeros. **Polimeros**, [s. l.], v. 20, n. 1, p. 51–64, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0104-14282010005000009>

WALSH, Robert B. *et al.* Safety of a progesterone-releasing intravaginal device as assessed from vaginal mucosal integrity and indicators of systemic inflammation in postpartum dairy cows. **Canadian Journal of Veterinary Research**, [s. l.], v. 72, n. 1, p. 43, 2008. Disponível em: [/pubmed/articles/PMC2117366/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17366/). Acesso em: 17 nov. 2021.

WATSON, A. J. Oocyte cytoplasmic maturation: a key mediator of oocyte and embryo developmental competence. **Journal of animal science**, [s. l.], v. 85, n. 13 Suppl, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.2527/jas.2006-432>

WEEMS, C. W. *et al.* Distribution of Progesterone to the Uterus and Associated Vasculature of Cattle. **Endocrinologia Japonica**, [s. l.], v. 35, n. 4, p. 625–630, 1988. Disponível em: <https://doi.org/10.1507/endocrj1954.35.625>

WHISNANT, C. S.; BURNS, P. J. Evaluation of steroid microspheres for control of estrus in cows and induction of puberty in heifers. **Theriogenology**, [s. l.], v. 58, n. 6, p. 1229–1235, 2002. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(02\)00942-1](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(02)00942-1)

WIESEN, J. F.; MIDGLEY, A. R. J. Changes in Expression of Connexin 43 Gap Junction Messenger Ribonucleic Acid and Protein during Ovarian Follicular Growth*. **Endocrinology**, [s. l.], v. 133, n. 2, 1993.

WILTBANK, M. C. *et al.* Prostaglandin F₂α Receptors in the Early Bovine Corpus Luteum. **Biology of Reproduction**, [s. l.], v. 52, n. 1, p. 74–78, 1995. Disponível em: <https://doi.org/10.1095/BIOLREPROD52.1.74>. Acesso em: 9 nov. 2021.

XU, Z. *et al.* Expression of Follicle-Stimulating Hormone and Luteinizing Hormone Receptor Messenger Ribonucleic Acids in Bovine Follicles during the First Follicular Wave. **Biology of Reproduction**, [s. l.], v. 53, n. 4, p. 951–957, 1995a. Disponível em: <https://doi.org/10.1095/BIOLREPROD53.4.951>. Acesso em: 22 dez. 2021.

XU, ZHENZHONG *et al.* Expression of Messenger Ribonucleic Acid Encoding Cytochrome P450 Side-Chain Cleavage, Cytochrome P450 17 α -Hydroxylase, and Cytochrome P450 Aromatase in Bovine Follicles during the First Follicular Wave*. **the Endocrine Society**, [s. l.], v. 136, n. 3, 1995b.

YAVAS, Y.; WALTON, J. S. Postpartum acyclicity in suckled beef cows: A review. **Theriogenology**, [s. l.], v. 54, n. 1, p. 25–55, 2000. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(00\)00323-X](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(00)00323-X)

YOKOYAMA, M; NAKANO, H. Changes in Phospholipase. [s. l.], n. November, 1992. Disponível em: [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0952-3278\(93\)90222-I](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0952-3278(93)90222-I)

ZHAO, Y. *et al.* Oestrogen and progesterone receptor immunoreactivity and c-fos expression in the ovine cervix. **Journal of Reproduction and Fertility**, [s. l.], v. 115, n. 2, p. 287–292, 1999. Disponível em: <https://doi.org/10.1530/jrf.0.1150287>

ZOETISUS. **Eazi-Breed™ CIDR®** | **Zoetis US**. [s. l.], 2019. Disponível em: <https://www.zoetisus.com/products/beef/eazi-breed-cidr.aspx>. Acesso em: 11 dez. 2020.