



Sincronização da ovulação: como mimetizar ainda mais a fisiologia da reprodução para obter melhores resultados?

Synchronization of ovulation: how to mimic the reproductive physiology for best outcomes?

Gustavo Guerino Macedo¹, Mayara Oliveira, Carina Diniz Rocha

Laboratório de Reprodução Animal, Faculdade de Medicina Veterinária,
Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, Brasil.

¹Correspondência: gmacedo@famev.ufu.br

Resumo

Na última década, um grande número de terapias tem sido desenvolvidas para manipular o crescimento e ovulação do folículo ovariano e aumentar a taxa de concepção em inseminação artificial (IA) em bovinos. Várias estratégias têm sido propostas para melhorar a resposta a biotecnologias reprodutivas. Quando se obtém 50% de concepção em uma IA em tempo fixo (IATF), automaticamente se pergunta onde estão os outros 50%. Da mesma forma, a variação de resultados em função das raças, categorias, condição corporal, medicamentos e manejos fazem surgir mais perguntas que respostas. Este artigo discute fatores chave na manipulação do crescimento folicular ovariano e ovulação para melhorar a taxa de concepção em bovinos.

Palavras-chave: fertilidade, IATF, prenhez, reprodução.

Abstract

Over the last decade, a number of therapies have been developed to manipulate ovarian follicle growth and ovulation to improve conception rates for artificial insemination (AI) in cattle. Various strategies have been proposed to improve the responses to reproductive biotechnologies. When timed AI (TAI) results in 50% of conception, automatically a question is made about where are the other 50%. Variations in results depending on breed, category, body condition and drugs make rise more questions than answers. This article discusses some key points related to the manipulation of ovarian follicular growth and ovulation to improve conception rates following TAI in cattle.

Keywords: fertility, pregnancy, reproduction, TAI.

Introdução

Com o crescente aumento da população humana mundial, há uma busca constante por produção de alimentos em quantidade e qualidade suficiente, para satisfazer a demanda em médio e principalmente longo prazo. Para isso, distintos países investem fortemente em pesquisas para geração de patentes e tecnologias que maximizem a produtividade de diferentes sistemas. No caso da bovinocultura, reprodução mais especificamente, alguns procedimentos de multiplicação de material genético e produção de bezerras, ainda tem eficiência baixa. Como exemplo pode-se citar a Inseminação Artificial por Tempo Fixo (IATF), com índice de prenhez em torno de 50% (Torres-Júnior et al., 2014). Assim, a identificação e entendimento de mecanismos fisiológicos básicos que atuem positivamente neste tipo de tecnologia, poderia resultar na elaboração de novos produtos e estratégias de manejo que maximizem a eficiência e lucratividade não só do produtor, mas da cadeia como um todo.

O uso de tratamento hormonal para controlar o desenvolvimento folicular e a ovulação é comumente conhecido como protocolo de IATF. Dentre várias vantagens do uso da IATF, destacam-se o fato de se proporcionar a aplicação de biotecnologias da reprodução sem a necessidade de detecção de estro. Os tratamentos são práticos, de fácil execução em fazendas, eficientes e com resultados repetíveis. Desta maneira, a IATF é a melhor forma de se introduzir genética apurada no rebanho através da IA.

Existem três princípios básicos para a manipulação hormonal da dinâmica folicular, controle luteínico e da ovulação nesses programas de sincronização da ovulação: 1) Sincronização da emergência de uma nova onda de crescimento folicular. Para isto, pode-se induzir a ovulação do folículo dominante presente no momento do tratamento com uso de hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH ou análogos sintéticos; Pursley et al., 1995), hormônio luteinizante (LH; Ambrose et al., 2005) ou gonadotrofina coriônica equina (hCG; Nascimento et al., 2013a). Já a associação de progesterona (P4) e ésteres de estradiol (E2) causam a atresia folicular e sincronização da nova onda (Sá Filho et al., 2014); 2) Controlar a duração da fase prostestacional, pelo uso de agentes luteolíticos (prostaglandina F2 α e E2), ou pela administração exógena de P4 e análogos por meio de dispositivos/implantes intravaginais/auriculares de liberação lenta (Sales et al., 2012); 3) Indução da ovulação sincronizada do folículo dominante ao final do tratamento com GnRH, LH, hCG ou E2 (Pursley et al., 1995;



Souza et al., 2007; Ayres et al., 2008).

Embora bem estabelecida, a IATF apresenta alguns resultados variáveis em função da categoria, origem genética, condição corporal, e ambiente em geral (Rodrigues et al., 2013; Sá Filho et al., 2013). A taxa de sucesso implica em realizar-se uma manipulação hormonal que se assemelhe ao máximo o que ocorre naturalmente em uma fêmea fértil. O avanço em conhecimento da fisiologia da reprodução proporcionou novas estratégias de controle hormonal. Dentre elas, destacam-se protocolos direcionados a distintas categorias, aptidões e épocas do ano; manipulação com progesterona antes (Bisinotto et al., 2013, 2015) ou após (Nascimento et al., 2013a, b; Monteiro Jr et al., 2014; Pugliesi et al., 2014a, b) a IA, assim como a administração de somatotropina bovina (bST; Ribeiro et al., 2014). Este trabalho tem por objetivo apresentar propostas hormonais e estratégias de manejo que se assemelhem ainda mais à fisiologia reprodutiva de fêmeas bovinas férteis.

Semelhanças e diferenças no uso dos ativos na sincronização

Atualmente existem no mercado ésteres de E2 com funções distintas dependendo do momento da sincronização que são administrados. Os mais comuns são o Benzoato de E2 (BE) e o Cipionato de E2 (CE). Muitas dúvidas surgem quanto à qual análogo de E2 teria melhor eficiência na indução do pico pré-ovulatório de LH e consequentemente ovulação/prenhez. Resultados adequados ($\cong 50\%$ de concepção) são obtidos utilizando-se BE como agente indutor de ovulação em protocolos de IATF em *Bos taurus* (Martínez et al., 2002) e *Bos indicus* (Baruselli et al., 2004). Porém, geralmente é necessário manejar o gado uma vez a mais, sendo a aplicação mais próxima a IA. Por outro lado, o CE por possuir farmacocinética diferente, necessita ser administrado com maior antecedência, o que permite apenas três manejos em um protocolo. Isso em gado de corte possibilitaria melhor resultado financeiro ao produtor, desde que a gestação seja a mesma, uma vez que diminuiria acidentes com vacas, bezerros, funcionários assim como deslocamento de técnicos. O pico de LH induzido ocorre em 19,6 h após a aplicação de BE e 50,5 h após o CE, por isso a aplicação do primeiro um dia antes da IA. Também, o pico de LH em função do BE possui menor duração e área sobre a curva (Sales et al., 2012). Em vacas de corte, considerando o uso do BE 24 h após a remoção do dispositivo de P4 ou CE no momento da remoção, é igual o tamanho do folículo ovulatório, o momento e a taxa de ovulação. Por fim, a taxa de concepção é semelhante quando se usa BE (57,5%; 277/482) ou CE (61,8%; 291/471; $P = 0,22$; Sales et al., 2012). Portanto, a opção de utilizar-se BE ou CE em um protocolo em vacas de corte deve se pautar na quantidade de manejos que se deseja efetuar. Porém, em vacas de leite Holandesas de alta produção, o CE proporciona maior prenhez (42,0%, $n = 299$) que o BE (31,7%, $n = 312$; $P < 0,01$; Melo et al., 2014).

Algumas empresas sugerem em gado de corte, uma redução na dose de CE de 1 mg para 0,5 mg. Faz sentido a ideia, pois Torres-Júnior et al. (2014) mostraram que nem o tipo de éster (BE vs. CE) nem a dose (0,5 vs. 1,0 mg) alteram a taxa de ovulação de um protocolo de IATF. Embora o BE antecipe o momento da ovulação (66,0 h) com relação ao uso de 0,5 (78,0 h) ou 1,0 mg de CE (71,1 h; $P = 0,04$). Considerando a prenhez em vacas de corte ($n = 660$), o tipo de éster realmente não influencia o resultado (BE - 43,0% vs. CE - 44,6%; $P = 0,57$) embora a redução da dose de CE promova redução da prenhez (0,5 mg - 38,6% vs. 1 mg - 55,7%; $P = 0,03$; Torres-Júnior et al., 2014). Por outro lado, uma vez que vacas de leite possuam uma elevada ingestão de matéria seca e consequentemente alto metabolismo hepático dos hormônios esteroides (Vasconcelos et al., 2003), faz sentido a ideia do aumento da dose de CE de 1 mg para 2 mg no momento da retirada do implante de P4. Na verdade, em vacas Holandesas ($n = 643$), há uma interação dose vs. escore de condição corporal (ECC), onde 1 mg proporciona maior prenhez aos 60 dias em vacas com ECC de 2,75-3,25 e 2 mg resulta em maior prenhez em vacas com escore menor que 2,5 ou maior que 3,5 (Lopes et al., 2014). Portanto, a recomendação a técnicos que trabalham com gado leiteiro de alta produção é que a decisão seja pautada na condição corporal.

Outro ponto de discussão é o uso de diferentes análogos de PGF₂ α como fatores luteolíticos em protocolos de IATF a base de P4-E2 ou GnRH. Os análogos D-cloprostenol sódico e dinoprost trometamina não deveriam apresentar diferenças em fertilidade uma vez que foram desenhados para ter a mesma farmacocinética. Debates em eventos científicos são estabelecidos em defesa de um ou outro análogo e estudos são controversos. Como mostra o estudo de Stevenson e Phatak (2010) em vacas de leite ($n = 1269$), com taxas de concepção iguais para cloprostenol (36,7%) e dinoprost (37,6%). No mesmo sentido, Pérez-Marín et al. (2015) observaram que cloprostenol ($n = 192$) e dinoprost ($n = 187$) quando administrados em vacas de leite 35-42 dias pós-parto proporcionam mesma ($P > 0,05$) expressão de estro avaliado por pedômetro (73,4 vs. 73,1%), prenhez (19,8 vs. 15,6%) período de serviço (92,2 vs. 99,4%) e serviço por concepção (2,1 vs. 2,2), portanto resultando em mesma eficiência reprodutiva (Pérez-Marín et al., 2015). Por outro lado, Pursley et al. (2012), trabalhando com um número maior de vacas de leite ($n = 4549$) observaram que o cloprostenol proporcionou maiores taxas de detecção de cio em vacas primíparas (42,4%), concepção geral (38,3%) e prenhez (14,4%) que o grupo dinoprost (34,0, 34,4 e 12,2%; $P < 0,05$). Quando se analisa a eficácia do análogo em protocolos a base de P4-E2 em vacas Holandesas ($n = 817$), observa-se que ambos proporcionam exatamente a mesma concentração de P4 no dia da



IA (0,14 ng/ml) e 10 dias após (2,90 ng/ml). Embora aos 32 dias haja uma tendência ($P = 0,08$) à maior prenhez de animais tratados com dinoprost (36,2%) comparado ao cloprostenol (31,6%), esta provável tendência desaparece aos 60 dias pós-IA (dinoprost - 30,3%; cloprostenol - 27,9%; $P < 0,1$) o que indica inclusive uma maior perda embrionária do grupo dinoprost (Albuquerque et al., 2014). Portanto, em vacas Holandesas de alta produção sob manejos a base de PGF + observação de estro, tomando por base um n experimental elevado, parece haver maior eficiência do cloprostenol na taxa de serviço. Por outro lado em protocolos a base de E2-P4 tanto o cloprostenol como o dinoprost se comportam da mesma forma inclusive na prenhez final. Salienta-se e sugere-se estudos em bovinos cruzados, cuja população é a maioria do rebanho brasileiro.

Progesterona e proestro

A alta concentração de P4 influi negativamente na expressão de receptores de LH nas células da granulosa (Dias et al., 2014). A concentração circulante de P4 no momento da IA tem efeito fundamental na prenhez. Vacas Holandesas com $P4 < 0,1$ ng/ml apresentam mais prenhez em protocolos de IATF convencionais (Pereira et al., 2013). Considerando que 20 a 30% de vacas leiteiras que recebem PGF sob protocolo *ovsynch* (Martins et al., 2011) e 25% de vacas de corte, recebendo PGF no dia 7 do ciclo estral (Ferraz Junior et al., 2012), não apresentam luteólise completa. Desta maneira, o aumento da massa hormonal administrada, a alteração do momento de aplicação da PGF e/ou número de doses (normalmente aplicada um dia antes ou no momento da retirada da P4 exógena) seriam alternativas interessantes.

Em vacas de leite sob protocolo *ovsynch*, o aumento da dose de 500 µg para 750 µg proporciona maior regressão luteal em múltiparas (500 µg = 79,2% vs. 750 µg = 87,7%), no entanto este efeito não se observa em primíparas. (Giordano et al., 2013). O mesmo estudo mostra que a fertilidade é maior nos animais que recebem maior dose (500 µg; 221/540 = 40,9% vs. 750 µg; 247/544 = 45,4%; $P = 0,05$). Por outro lado, em gado de corte sob sincronização baseada em P4-E2, uma redução da dose de cloprostenol de 500 µg para 375 µg ou 250 µg não afeta a prenhez tanto em vacas [375 µg = 55,1% (173/314); 250 µg = 59,3% (185/312), $P = 0,88$] como em novilhas cíclicas [500 µg = 60,8% (93/153); 375 µg = 50,2% (76/151); 250 µg = 59,5% (91/153), $P = 0,14$]; Silva et al., 2012). Portanto, a recomendação em gado de leite é aumentar a dose, e ao contrário, em gado de corte pode-se reduzir pela metade a dose de bula.

Considerando o momento de aplicação da PGF, em fêmeas Girolando retirando-se a P4 no dia 9, tanto a aplicação de meia dose de PGF (12,5 mg de dinoprost) no dia 0 e dia 9, quanto a dose completa (2,5 mg no dia 7) não alteram a prenhez [dia 0/dia 9 40,3% (n = 228) vs. dia 7 42,1% (n = 223)]; Mendanha et al., 2012). Em vacas Holandesas sob protocolo a base de P4-E2 retirando-se a P4 no dia 8 e efetuando-se a IA no dia 10 ou transferência de embriões (TETF) no dia 17, a antecipação da aplicação da PGF para o dia 7 proporciona maior prenhez aos 28 dias para IA [32,9% (n = 238) vs. 20,6% (n = 168)] e TETF [47,0% (243) vs. 40,7% (244)]. Este efeito se confirma na prenhez aos 60 dias para IA [30,0% (238) vs. 19,2% (168)] e TETF [37,9% (243) vs. 33,5% (244)]; Pereira et al., 2013).

Com relação ao período que o animal fica exposto à P4 exógena (8 vs. 9 dias), há muita discussão sobre qual a quantidade de dias ideal. Em gado de leite (n = 759) os dois períodos apresentam a mesma prenhez tanto aos 30 (8 dias = 45%; 9 dias = 42%) com 60 dias pós-IA (8 dias = 38%; 9 dias = 40%). Porém, um protocolo de 9 dias resulta em menor perda embrionária (8 dias = 14,7%; 9 dias = 7,6%; Pereira et al., 2014). Em novilhas Nelore (n = 723), o implante de P4 por 7 dias apresenta menor prenhez que por 9 dias (37,6 vs. 45,3%; $P = 0,04$; Martins et al., 2014). Embora hajam resumos em congressos mostrando a eficiência divergente de cada uma das estratégias em gado de corte, estudos consistentes com grande número de animais, considerando categoria, parição, condição corporal e período pós-parto fazem-se necessários.

Uso de novos produtos nos protocolos a base de P4-E2

A somatotropina bovina (bST) é um hormônio produzido pela hipófise e atua em processos metabólicos do organismo. A bST é muito utilizada para aumentar a produção de leite. Geralmente em fazendas leiteiras é efetuada a aplicação de 500 mg de bST recombinante a cada 14 dias. Uma vez que a bST estimula a liberação pelo fígado de fator de crescimento semelhante a insulina tipo-1 (IGF-1) e esta aumenta a qualidade do ovócito em formação (Velazquez et al., 2009), especula-se que vacas tratadas sistematicamente com bST, ou mesmo durante os processos de recrutamento e desenvolvimento folicular, tenham maior fertilidade. O principal problema encontrado é que estas vacas apresentam menor taxa de detecção de cio, embora apresentem maior taxa de concepção (Santos et al., 2004). Quando não há observação de cio e sim uma IATF (*ovsynch*), a prenhez é a mesma entre animais que recebem bST a cada 10 dias e animais que não recebem, sendo a diferença apenas a produção de leite (Rivera et al., 2010). Por fim, em um estudo recente com um número grande de vacas (n = 1483), fêmeas detectadas em cio e inseminadas recebendo menor dose de bST (325 mg) no momento da IA e após 10 dias, apresentam maior prenhez (Ribeiro et al., 2014). Os resultados apontam para o desenvolvimento de estudos com o uso do bST em programas de IATF em gado de corte (embora o zebu já tenha naturalmente concentração



elevada de IGF-1) e antes de IA em gado de leite.

Estudos de prenhez com a suplementação de P4 pós-IA ou mesmo a formação de corpo lúteo acessório são controversos (Baruselli et al., 2004; Marques et al., 2014). Em um recente trabalho de Monteiro Jr et al. (2014), 1498 vacas Holandesas foram envolvidas e inseminadas por IATF ou observação de cio recebendo dispositivo intravaginal de P4 pós-IA (dia 4 ou dia 4/dia 7). Os autores observaram que vacas suplementadas com P4 tiveram maior luteólise no dia 19. Também, para fêmeas sob IATF, um dispositivo adicional no dia 7 pós-IA proporciona menor prenhez (CIDR4 = 39,2%; CIDR4+7 = 27,5%). Porém, vacas observadas em cio inseminadas tem maior prenhez quando recebem um segundo dispositivo no dia 7 pós-IA (CIDR4 = 26,9%; CIDR4+7 = 31,5%).

Em gado de corte, Pugliesi et al. (2014b) recentemente obtiveram resultados de aplicação prática em fazendas. Os autores suplementaram vacas Nelore no dia 4 pós-IA com 150 mg de P4 de longa ação e observaram um aumento da taxa de concepção de vacas em anestro [Placebo = 46,0% (86/187) vs. P4 = 55,6% (105/189), P = 0,05] assim como das que ovularam [Placebo = 49,1% (86/173) vs. P4 = 59,0% (105/178), P = 0,08]. Desta maneira, recomenda-se o uso de P4 de longa ação no D4 pós-IA em vacas de corte em anestro.

Considerações finais

Algumas estratégias de manipulação hormonal devem ser pautadas na quantidade de manejos, categoria e condição corporal do animal como o uso de ésteres de E2 na indução de ovulação. Também, a ciclicidade das vacas deve ser levada em conta quanto ao momento da aplicação da PGF e suplementação com P4 pós-IA. O acompanhamento da evolução dos protocolos é o que resultará a campo o maior uso das biotecnologias e lucratividade pelo produtor.

Referências

- Albuquerque JP, Vasconcelos JLM, Dias HP, Barbosa LFSP.** Evaluation of two types of prostaglandin (Dinoprost vs Cloprostenol) during an E2 and P4 based estrus synchronization protocol. *Anim Reprod*, v.11, p.371-371, 2014.
- Ambrose JD, Kastelic JP, Rajamahendran R, Aali M, Dinn N.** Progesterone (CIDR)-based timed AI protocols using GnRH, porcine LH or estradiol cypionate for dairy heifers: Ovarian and endocrine responses and pregnancy rates. *Theriogenology*, v.64, p.1457-1474, 2005.
- Ayres H, Martins CM, Ferreira RM, Mello JE, Dominguez JH, Souza AH, Valentin R, Santos ICC, Baruselli PS.** Effect of timing of estradiol benzoate administration upon synchronization of ovulation in suckling Nelore cows (*Bos indicus*) treated with a progesterone-releasing intravaginal device. *Anim Reprod Sci*, v.109, p.77-87, 2008.
- Baruselli PS, Reis EL, Marques MO, Nasser LF, Bó GA.** The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrous beef cattle in tropical climates. *Anim Reprod Sci*, v.82/83, p.479-486, 2004.
- Bisinotto RS, Castro LO, Pansani MB, Narciso CD, Martinez N, Sinedino LDP, Pinto TLC, Van de Burgwal NS, Bosman HM, Surjus RS, Thatcher WW, Santos JEP.** Progesterone supplementation to lactating dairy cows without a corpus luteum at initiation of the ovsynch protocol. *J Dairy Sci*, 2015. doi: 10.3168/jds.2014-9058.
- Bisinotto RS, Ribeiro ES, Lima FS, Martinez N, Greco LF, Barbosa LFSP, Bueno PP, Scagion LFS, Thatcher WW, Santos JEP.** Targeted progesterone supplementation improves fertility in lactating dairy cows without a corpus luteum at the initiation of the timed artificial insemination protocol. *J Dairy Sci*, v.96, p.2214-2225, 2013.
- Dias HP, Albuquerque JP, Castilho ACS, Vasconcelos JLM.** High progesterone concentration has a negative effect on the expression of LH receptors in granulosa cells from Nelore heifers. *Anim Reprod*, v.11, p.365, 2014.
- Ferraz Junior MVC, Pires AV, Sartori R, Biehl MV, Nepomuceno DD, Susin I, Ferreira EM, Rocha FM, Gonsalves JR, Cruppe LH, Day ML.** Different luteolytic doses of PGF2 α in Nelore cows on days 5 and 7 of the estrous cycle. *J Anim Sci*, v.90, p.325-325, 2012.
- Giordano JO, Wiltbank MC, Fricke PM, Bas S, Pawlisch R, Guenther JN, Nascimento AB.** Effect of increasing GnRH and PGF2 α dose during Double-Ovsynch on ovulatory response, luteal regression, and fertility of lactating dairy cows. *Theriogenology*, v.80, p.773-783, 2013.
- Lopes FR, Pereira MHC, Munhoz AK, Vasconcelos JLM.** Effects of different doses of estradiol cypionate in E2/P4 based protocols at TAI and FTET in lactating cows. *Anim Reprod*, v.11, p.354, 2014. Resumo.
- Marques T, Leão K, Oliveira Viu M, Sartori R.** The effects of progesterone treatment following artificial insemination on the reproductive performance of dairy cows. *Trop Anim Health Prod*, v.46, p.405-410, 2014.
- Martinez MF, Kastelic JP, Adams GP, Mapletoft RJ.** The use of a progesterone-releasing device (CIDR-B) or melengestrol acetate with GnRH, LH, or estradiol benzoate for fixed-time AI in beef heifers. *J Anim Sci*,



v.80, p.1746-1751, 2002.

Martins JPN, Policelli RK, Neuder LM, Raphael W, Pursley JR. Effects of cloprostenol sodium at final prostaglandin F_{2α} of Ovsynch on complete luteolysis and pregnancy per artificial insemination in lactating dairy cows. *J Dairy Sci*, v.94, p.2815-2824, 2011.

Martins T, Peres RFG, Rodrigues ADP, Pohler KG, Pereira MHC, Day ML, Vasconcelos JLM. Effect of progesterone concentrations, follicle diameter, timing of artificial insemination, and ovulatory stimulus on pregnancy rate to synchronized artificial insemination in postpubertal Nelore heifers. *Theriogenology*, v.81, p.446-453, 2014.

Melo LF, Drum JN, Monteiro Jr PLJ, Wiltbank MC, Sartori R. Fertility of Holstein cows submitted to GnRH- or estradiol-based FTAI protocols. *Anim Reprod*, v.11, p.377, 2014. Resumo.

Mendanha MF, Sala RV, Reis TANPS, Carvalho FJ, Guimarães LHC, Macedo GG, Sá Filho MF, Baruselli PS. Timing of prostaglandin administration and the number of uses of the progesterone devices in the efficiency of TAI protocol in Girolando heifers. *Anim Reprod*, v.9, p.516, 2012. Resumo.

Monteiro Jr PLJ, Ribeiro ES, Maciel RP, Dias ALG, Solé Jr E, Lima FS, Bisinotto RS, Thatcher WW, Sartori R, Santos JEP. Effects of supplemental progesterone after artificial insemination on expression of interferon-stimulated genes and fertility in dairy cows. *J Dairy Sci*, v.97, p.4907-4921, 2014.

Nascimento AB, Bender RW, Souza AH, Ayres H, Araujo RR, Guenther JN, Sartori R, Wiltbank MC. 2013a. Effect of treatment with human chorionic gonadotropin on day 5 after timed artificial insemination on fertility of lactating dairy cows. *J Dairy Sci*, v.96, p.2873-2882,

Nascimento AB, Souza AH, Guenther JN, Costa FPD, Sartori R, Wiltbank MC. 2013b. Effects of treatment with human chorionic gonadotrophin or intravaginal progesterone-releasing device after AI on circulating progesterone concentrations in lactating dairy cows. *Reprod Fertil Dev*, v.25, p.818-824,

PereiraMHC, Rodrigues ADP, Carvalho RJ, Wiltbank MC, Vasconcelos, JLM. Increasing length of an estradiol and progesterone timed artificial insemination protocol decreases pregnancy losses in lactating dairy cows. *J Dairy Sci*, v.97, p.1454-1464, 2014.

Pereira MHC, Sanches CP, Guida TG, Rodrigues ADP, Aragon FL, Veras MB, Borges PT, Wiltbank MC, Vasconcelos JLM. Timing of prostaglandin F_{2α} treatment in an estrogen-based protocol for timed artificial insemination or timed embryo transfer in lactating dairy cows. *J Dairy Sci*, v.96, p.2837-2846, 2013.

Pérez-Marín C, Sánchez J, Vizuete G, Quintela L, Molina L. Oestrus synchronisation in postpartum dairy cows using repetitive prostaglandin doses: Comparison between D-cloprostenol and dinoprost. *Acta Vet Hung*, v.63, p.79-88, 2015.

Pugliesi G, Oliveria ML, Scolari SC, Lopes E, Pinaffi FV, Miagawa BT, Paiva YN, Maio JRG, Nogueira GP, Binelli M. Corpus luteum development and function after supplementation of long-acting progesterone during the early luteal phase in beef cattle. *Reprod Domest Anim*, v.49, p.85-91, 2014a.

Pugliesi G, Santos FB, Lopes E, Madureira EH, Nogueira E, Maio JRG, Silva LA, Binelli M. Impact of supplementation with long-acting progesterone during early diestrus on fertility of Nelore cows submitted to TAI. *Anim Reprod*, v.11, p.360, 2014b. Resumo.

Pursley JR, Martins JPN, Wright C, Stewart ND. Compared to dinoprost tromethamine, cloprostenol sodium increased rates of estrus detection, conception and pregnancy in lactating dairy cows on a large commercial dairy. *Theriogenology*, v.78, p.823-829, 2012.

Pursley JR, Mee MO, Wiltbank MC. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF_{2α} and GnRH. *Theriogenology*, v.44, p.915-923, 1995.

Ribeiro ES, Bruno RGS, Farias AM, Hernández-Rivera JA, Gomes GC, Surjus R, Becker LFV, Birt A, Ott TL, Branen JR, Sasser RG, Keisler DH, Thatcher WW, Bilby TR, Santos JEP. Low doses of bovine somatotropin enhance conceptus development and fertility in lactating dairy cows. *Biol Reprod*, v.90, p.10, 2014.

Rivera FA, Mendonca LGD, Lopes G, Santos JEP, Perez RV, Amstalden M, Correa-Calderon A, Chebel RC. Reduced progesterone concentration during growth of the first follicular wave affects embryo quality but has no effect on embryo survival post transfer in lactating dairy cows. *Reproduction*, v.141, p.333-342, 2010.

Rodrigues ADP, Peres RFG, Lemes AP, Martins T, Pereira MHC, Day ML, Vasconcelos JLM. Progesterone-based strategies to induce ovulation in prepubertal Nelore heifers. *Theriogenology* 79, 135-141, 2013.

Sá Filho MF, Marques MO, Giroto R, Santos FA, Sala RV, Barbuio JP, Baruselli PS. Resynchronization with unknown pregnancy status using progestin-based timed artificial insemination protocol in beef cattle. *Theriogenology*, v.81, p.284-290, 2014.

Sá Filho MF, Penteado L, Reis EL, Reis TANPS, Galvão KN, Baruselli PS. Timed artificial insemination early in the breeding season improves the reproductive performance of suckled beef cows. *Theriogenology*, v.79, p.625-632, 2013.

Sales JNS, Carvalho JBP, Crepaldi GA, Cipriano RS, Jacomini JO, Maio JRG, Souza JC, Nogueira GP, Baruselli PS. Effects of two estradiol esters (benzoate and cypionate) on the induction of synchronized



ovulations in *Bos indicus* cows submitted to a timed artificial insemination protocol. *Theriogenology*, v.78, p.510-516, 2012.

Santos JEP, Juchem SO, Cerri RLA, Galvão KN, Chebel RC, Thatcher WW, Dei CS, Bilby CR. Effect of bST and reproductive management on reproductive performance of holstein dairy cows. *J Dairy Sci*, v.87, p.868-881, 2004.

Silva RCP, Marques MO, Ribeiro Júnior M, Sala RV, Sá Filho MF, Baruselli PS. Reduction of prostaglandin (Ciosin®) dose during timed artificial insemination protocols in cyclic Nelore heifers and suckled Nelore cows. *Anim Reprod*, v.9, p.532, 2012. Resumo.

Souza AH, Gümen A, Silva EPB, Cunha AP, Guenther JN, Peto CM, Caraviello DZ, Wiltbank MC. Supplementation with estradiol-17 β before the last gonadotropin-releasing hormone injection of the ovsynch protocol in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.90, p.4623-4634, 2007.

Stevenson JS, Phatak AP. Rates of luteolysis and pregnancy in dairy cows after treatment with cloprostenol or dinoprost. *Theriogenology*, v.73, p.1127-1138, 2010.

Torres-Júnior JRS, Penteado L, Sales JNS, Sá Filho MF, Ayres H, Baruselli PS. A comparison of two different esters of estradiol for the induction of ovulation in an estradiol plus progestin-based timed artificial insemination protocol for suckled *Bos indicus* beef cows. *Anim Reprod Sci*, v.151, p.9-14, 2014.

Vasconcelos JLM, Sangsritavong S, Tsai SJ, Wiltbank MC. Acute reduction in serum progesterone concentrations after feed intake in dairy cows. *Theriogenology*, v.60, p.795-807, 2003.

Velazquez MA, Zaraza J, Oropeza A, Webb R, Niemann H. The role of IGF1 in the in vivo production of bovine embryos from superovulated donors. *Reproduction*, v.137, p.161-180, 2009.
