



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

BIANCA GREGÓRIO DE SOUZA

**AVALIAÇÃO DA REUTILIZAÇÃO DE IMPLANTES DE
PROGESTERONA SOBRE A TAXA DE PREENHEZ DE
RECEPTORAS INOVULADAS COM EMBRIÕES IN VITRO**

Londrina
2019

BIANCA GREGÓRIO DE SOUZA

**AVALIAÇÃO DA REUTILIZAÇÃO DE IMPLANTES DE
PROGESTERONA SOBRE A TAXA DE PREENHEZ DE
RECEPTORAS INOVULADAS COM EMBRIÕES IN VITRO**

Dissertação ao Programa de Pós-graduação em Clínicas Veterinárias (Mestrado Profissional) da Universidade Estadual de Londrina como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Clínicas Veterinárias.

Orientação: Prof. Dr. Silvano Cesar da Costa

Londrina
2019

BIANCA GREGÓRIO DE SOUZA

**AVALIAÇÃO DA REUTILIZAÇÃO DE IMPLANTES DE
PROGESTERONA SOBRE A TAXA DE PREENHEZ DE RECEPTORAS
INOVLADAS COM EMBRIÕES IN VITRO**

Dissertação ao Programa de Pós-graduação em Clínicas Veterinárias (Mestrado Profissional) da Universidade Estadual de Londrina como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Clínicas Veterinárias.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Silvano Cesar da Costa
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Profa. Dra. Profa. Dra. Sandra Maria
Simonelli
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Profa. Dra. Andressa Amorim Cestari
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Londrina, 08 de Janeiro de 2019

Dedico este trabalho a todas as pessoas que de alguma forma contribuíram e me incentivaram durante a evolução. Ao meu orientador e aos professores que com toda paciência conduziam as orientações mais importantes dessa pesquisa e compartilharam seus conhecimentos.

AGRADECIMENTOS

A Deus e Nossa Senhora através de infinito amor e bondade, por toda a luz e amparo dedicados a mim em todos os momentos da minha vida.

À minha família e amigos, pelo amor, apoio e incentivo para que eu pudesse continuar meus estudos.

A meu orientador, Silvano Cesar da Costa e a Professora Kátia Cristina Silva Santos, pela paciência e dedicação em suas orientações.

A todos os professores que fizeram parte dessa minha trajetória, contribuindo, significativamente, para minha aprendizagem.

SOUZA, Bianca Gregório. **Avaliação da reutilização de implantes de progesterona sobre a taxa de Prenhez de receptoras inovuladas com embriões *in vitro***. 2019. 28 f. Dissertação (Mestrado em Clínicas Veterinárias) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2019.

RESUMO

A transferência de embriões em tempo fixo (TETF) em bovinos, apresenta uma série de vantagens que incluem desde o manejo dos animais e sua otimização. Protocolos baseiam-se em combinações hormonais capazes de sincronizar o estro e a ovulação. Entre os hormônios utilizados para esse fim, o dispositivo a base de progesterona, conhecido também como CIDR (Releasing Drug Internal Controlled) corresponde ao maior custo, muitas vezes inviabilizando sua utilização. Neste trabalho objetivou-se avaliar o efeito da aplicação de implantes intravaginais de progesterona reutilizado (5º uso) em protocolos de sincronização de estro, sobre a taxa de prenhez em receptoras meio sangue (Nelore x Simental). As novilhas foram divididas em dois grupos: o grupo implante de progesterona de 5º uso (P4 5º uso), com 72 novilhas e o grupo implante de progesterona até 4º uso (P4 sem 5º uso), com 43 novilhas. A taxa de prenhez no grupo P4 5º uso foi de 55,55%, e a do grupo P4 de até 4º uso foi de 44,18%. O teste qui-quadrado para homogeneidade da taxa de prenhez entre os dois grupos foi aplicado, utilizando o nível de significância de 5%. Concluiu-se que não houve diferença significativa entre os grupos (p-valor = 0,3234). Protocolos para TETF com a utilização de implantes intra-vaginais de progesterona reutilizados fornecem um custo benefício satisfatório pois, além da economia, não prejudicam no índice de prenhez do rebanho.

Palavras-chaves: CIDR® Reutilizado. Progesterona. Protocolos. Teste Qui-Quadrado.

SOUZA, Bianca Gregório. **Evaluation of the reuse of progesterone implants on the pregnancy rate of in vitro embryos.** 2019. 28 f. Dissertation (Masters in Veterinary Clinics) - Londrina State University, Londrina, 2019.

ABSTRACT

The embryo transfer in fixed time (TETF) in cattle, presents a series of advantages that include from the handling of the animals and your optimization. Protocols are based on hormonal combinations able to synchronize estrus and ovulation. Between the hormones used for this purpose, the progesterone-based device, also known as CIDR (Releasing Drug Internal Controlled) corresponds to higher cost often precludes your use. In this work the objective to evaluate the effect the application of progesterone pessaries reused implants (5) on estrus synchronization protocols, about the pregnancy rate in half blood receiver (Nellore x Simmental). Heifers were divided into two groups: the implant Group 5 use progesterone (P4 5 use), with 72 heifers and the implant group of progesterone until 4th use (P4 without use), 5 with 43 heifers. The pregnancy rate in Group P4 5 use was 55.55%, and P4 group of up to 4 use was 44.18%. The Chi-square test for homogeneity of pregnancy rate between the two groups was applied, using a significance level of 5%. It was concluded that there was no significant difference between groups (p-value = 0.3234). TETF protocols with the use of intra-vaginal of progesterone implants reused provide a satisfactory cost-benefit because, in addition to the economy, without prejudice in the pregnancy of the herd.

Keywords: Reused CIDR®. Progesterone. Protocols. Chi-Square Test.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

UEL	Universidade Estadual de Londrina
IA	Inseminação Artificial
TE	Transferência de embrião
IATF	Inseminação Artificial em Tempo Fixo
PIVE	Produção de embriões <i>in vitro</i>
FIV	Fertilização <i>in vitro</i>
TETF	Transferência de Embrião em Tempo Fixo
P4	Progesterona
BE	Benzoato de Estradiol
CE	Cipronato de Estradiol
eCG	Gonodotrofina Coriônico equina
CL	Corpo Lúteo

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	10
2	MATERIAL E MÉTODOS	11
2.1	LOCAL DO EXPERIMENTO E ANIMAIS	11
2.2	TRATAMENTO E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	12
2.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA	14
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	14
4	CONCLUSÕES.....	16
	REFERÊNCIAS.....	17

1 - INTRODUÇÃO

O rebanho brasileiro em 2017 ocupou o segundo lugar no *ranking* mundial com aproximadamente 226 milhões de animais (IBGE, 2018), sendo destaque no cenário mundial na produção de proteína animal. Nesse sentido a busca por técnicas que melhoram o crescimento no potencial genético e a elevação da produtividade dos animais, diversas biotecnologias vem sendo desenvolvidas na área da reprodução bovina, com o propósito de cumprir a exigência de um bezerro por vaca por ano, visando resultado em toda cadeia produtiva (GOTTSCHALL et al., 2008; BARROS et al., 1995).

A utilização e o desenvolvimento da biotecnologia na reprodução animal são importantes para o aumento da eficiência produtiva dos rebanhos (REICHENBACH et al., 2002). A inseminação artificial (IA), uma técnica simples e de baixo custo, é uma das primeiras biotecnologias adotadas. Na transferência de embriões (TE), a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) e a produção de embriões *in vitro* (PIVE) são exemplos de biotecnologias da reprodução animal. A fertilização *in vitro* (FIV) vem apresentando avanços consideráveis e está sendo lentamente incorporada aos projetos de reprodução. Com o desenvolvimento do método de punção folicular, tornou-se possível a recuperação de ovócitos de fêmeas vivas para a FIV, abrindo-se novos caminhos para a multiplicação de animais de alto valor zootécnico e de interesse econômico, mesmo em pequena população de animais, superando os atuais índices da TE clássica, no que diz respeito à produção de bezerro/vaca/ano. Essa técnica pode ser utilizada em animais jovens, gestantes ou lactantes e com problemas de infertilidade adquiridos (COLOMBO, A. H. B., 2011). A transferência de embrião em tempo fixo (TETF) associada à FIV auxilia no melhoramento da utilização das receptoras, favorecendo o aumento do índice da taxa de prenhez após o embrião ser transferido. Assim os protocolos hormonais de indução do estro são ferramentas indispensáveis para auxiliar no aumento desses índices reprodutivos.

A reutilização de implantes intravaginais de progesterona (P4) ajuda também na redução de concentrações de progesterona no momento da retirada, tendo vantagens fisiológicas, além de ser uma alternativa na redução de custos nos protocolos (MENEGETTI, et al., 2009; DIAS et al., 2009; MALUF et al., 2010). Em

bovinos de raças leiteiras ou de corte, já foi descrita a reutilização de implantes intravaginais de P4, obtendo-se taxas de concepção semelhantes às aquelas obtidas por implantes novos (BARTOLOMEU, et al., 2003; VALENTIN, et al., 2004; VILELA, et al., 2004). Maluf et al., (2010) utilizaram implantes intravaginais de terceiro uso em vacas de corte sem prejuízo à taxa de prenhez. Em protocolo de transferência de embriões Hernández et al., (2008), relatou que a utilização de implantes de segundo e terceiro uso nas receptoras não afetou a taxa de prenhez dos embriões transferidos.

O uso de receptoras primíparas meio-sangue obtidas pelo cruzamento de animais Nelore com Simental seriam as melhores opções de receptoras para programas de TE (NOGUEIRA, 2017). Em protocolos de larga escala para programas TETF, o tratamento hormonal permite que a taxa de prenhez seja boa durante todo ano, possibilitando que o útero entre a doadora e a receptora se encontrem em condições os mais favorecendo o embrião. De acordo com a Sociedade Internacional de Tecnologia de Embriões (IETS, 2017), o Brasil continua líder na produção de embriões *in vitro*.

Uma das maiores dificuldades nos protocolos de TETF é o custo dos hormônios utilizados na sincronização do estro. Para melhorar a relação custo/benefício dos protocolos, alguns dispositivos de progesterona permitem sua reutilização como uma alternativa para a redução dos custos (Maluf, 2002) além de contribuir com as questões ambientais.

O objetivo desse trabalho foi verificar o efeito de implantes intravaginais de P4 reutilizados (5º uso) na sincronização de estro de receptoras Nelore x Simental de embrião em protocolos de TETF, avaliando o resultado e o custo benefício da reutilização de dispositivos intravaginais.

2 - MATERIAL E MÉTODOS

2.1 – LOCAL DO EXPERIMENTO E ANIMAIS

O experimento foi desenvolvido na propriedade rural, localizada no município de Santa Fé- Paraná, localizado na Mesorregião do Norte Central Paranaense. Foram utilizadas 121 receptoras primíparas mestiças (Nelore x

Simental), com idade média de 24 meses, escore de condição corporal $3,5 \pm 0,5$ (escala de 1 a 5, MARLOWE et al., 1962), com peso médio de 350 kg. Os animais foram mantidos em pastagem de capim mombaça (*Megathyrsus maximus*) de boa qualidade e recebiam complemento de sal mineral e água à vontade, na época das chuvas. No período da seca, nos meses de junho-agosto, as receptoras foram para confinamentos onde receberam alimentação balanceada (composta de silagem de milho, bagaço de laranja, caroço de algodão e bagaço de cana).

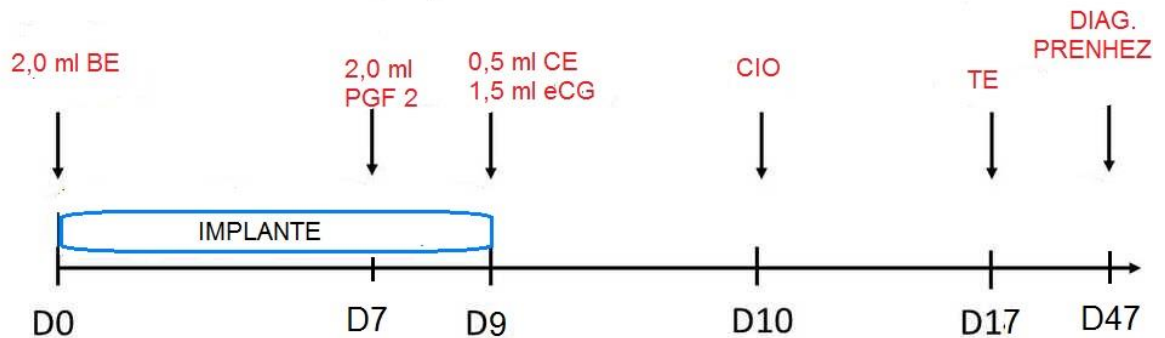
As receptoras foram vacinadas contra leptospirose (Bioleptogen®, Biogénesis Bagó, Curitiba, Paraná, Brasil), rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR-Bioabortogen H® Biogénesis Bagó, Curitiba, Paraná, Brasil®), diarreia viral bovina (BVD - Bioabortogen H®, Biogénesis Bagó, Curitiba, Paraná, Brasil), campilobacteriose (Bioabortogen H® Biogénesis Bagó, Curitiba, Paraná, Brasil), carbúnculo sintomático (Fortress 7®, Pfizer), gangrena gasosa (Fortress 7®, Pfizer) e enterotoxemia (Fortress 7®, Pfizer). A vacinação foi realizada de acordo com o cronograma sanitário para evitar problemas reprodutivos, principalmente ocorrência de aborto.

2.2 - TRATAMENTOS E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

As receptoras foram divididas em dois grupos: receptoras que receberam implantes de progesterona P4 de 5º uso para sincronização de estro (n=76) e receptoras que receberam implantes de progesterona P4 até 4º uso, previamente à TE (n=45). Para o protocolo de sincronização de estro, em dias aleatórios do ciclo estral denominado dia zero (DO), as fêmeas receberam um implante intravaginal de P4 (CIDR® - Pfizer) e aplicação de 2,0 ml de benzoato de estradiol (BE; Estrogin®, Biofarm, Jaboticabal, São Paulo Brasil). No dia sete (D7) procedeu-se a aplicação de 2,0 ml de cloprostenol sódico (Sincrocio®, Ouro Fino, Cravinhos, São Paulo, Brasil). No dia nove (D9) foi retirado o implante intravaginal de P4 e aplicou-se 0,5 ml de cipionato de estradiol (CE, ECP®- Pfizer) e 1,5 ml de gonadotrofina coriônica equina (eCG; Novormon®, Syntex, São Paulo, Brasil). No dia dez (D10) foi observado o estro e no dia dezessete (D17) foi realizada a transferência de embrião em tempo fixo (TETF), conforme mostra a Figura 1. Após retirados os implantes de P4 eram colocados em balde com água e desinfetante (CB-30 TA), para higienização e

lavados com detergente neutro, secados, identificados e guardados em embalagens próprias para evitar contaminação e transmissão de doenças ao lote.

Figura 1: Protocolo de sincronização de estro receptora mestiça (Nelore x Simental).



A observação do estro foi realizada por um funcionário treinado, duas vezes ao dia no período da manhã (9 h) e à tarde (16 h), durante uma hora. O estro foi considerado quando a fêmea aceitava a monta.

Os embriões transferidos foram produzidos *in vitro* em laboratório comercial. O sêmen utilizado na FIV foi proveniente de touro da raça nelore de fertilidade previamente testada e todas as doadoras foram da raça Nelore.

Para a inovulação dos embriões, as receptoras foram avaliadas por palpação transretal e o corpo lúteo (CL) foi classificado como: pequeno (< 1,0 cm; nível 1); médio (1,0-1,5 cm; nível 2) ou grande (> 1,5 cm; nível 3), corpo lúteo incluso (o tecido ocupando apenas a área interior do ovário) ou cavitário (presença de uma cavidade no centro do CL). As inovulações dos embriões foram realizadas sete dias após a FIV pelo método não-cirúrgico, no corno ipsilateral ao CL. No momento da inovulação as fêmeas foram submetidas à anestesia epidural com lidocaína (lidocaína em pó dissolvida em solução fisiológica) na dose de 5 ml. Os embriões foram classificados de acordo com sua qualidade em grau I (bom), grau II (regular) ou grau III (ruim) e quanto ao seu estágio de desenvolvimento: Mórula (cinco dias); Blastocito inicial (seis dias); Blastocito (sete dias); Blastocito expandido (oito dias) ou Blastocito eclodido (nove dias). Um fator que influencia na taxa de prenhez em um programa de transferência de embriões é o estágio de desenvolvimento do embrião. Segundo Bó et al., (2004), que estágio de mórula, blastocisto inicial tiveram uma porcentagem mais elevada de prenhez em relação aos demais estágios.

O diagnóstico de gestação foi realizado por meio da avaliação ultrassonográfica com transdutor retal linear (Aloka SSD 500) 30 e 60 (D47 e D77) dias após a inovulação na receptora.

2.3 - ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a comparação do número de animais prenhe com implantes de P4 de 5º uso com os animais com implantes de P4 de até 4º uso, foi utilizado o teste qui-quadrado para homogeneidade das variáveis, dado por:

$$Q = \sum_{i=1}^2 \sum_{j=1}^2 \frac{(|O_i - e_i| - 0,5)^2}{e_i} \quad (1)$$

em que O_i é o valor observado e e_i é o valor esperado. A estatística Q segue uma distribuição qui-quadrado com um grau de liberdade, sendo o nível de significância adotado de $\alpha = 5\%$ para testar a hipótese de homogeneidade das variáveis, pelo software estatístico R.

3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 são apresentados os resultados do número de animais prenhes e não prenhes para os dois grupos comparados: receptoras que foram sincronizadas utilizando-se implantes de P4 de 5º uso e em receptoras que não receberam implantes previamente a TE.

Tabela 1 – Taxa de prenhez aos 60 dias pós-inovulação de receptoras mestiças (Nelore x Simental) submetidas a protocolo de sincronização de estro após inovulação com embriões produzidos *in vitro*.

Grupos	Nº de Prenhez	Nº de não Prenhez	Total	Taxa de Prenhez (%)
Com implantes de P4 de 5º uso	40	32	72	55,56
Com implantes de P4 até 4º uso	19	24	43	44,19
Total	59	55	115	51,30

Seis receptoras não foram transferidas devido a falta de embriões devido a isso não aparecem nos resultados. Aplicando-se a equação 1 aos dados da Tabela 1, conclui-se que não se rejeita a hipótese nula de homogeneidade entre os grupos na taxa de prenhez (p -valor = 0,3234) aos 60 dias entre receptoras que foram sincronizadas utilizando-se implantes de P4 de 5º uso e em receptoras que não receberam implantes previamente a TE.

A reutilização de implantes intravaginais é uma possibilidade de reduzir custo no programa de IATF e TETF para sincronização de estro. De acordo com Rocha et al., (2007) relatam que os implantes intravaginais de P4 podem ser utilizados até quatro vezes em protocolos de IATF para vacas Nelore, apresentando taxa de prenhez de 52 a 58 %. Colazo et al. (2007) verificaram que a taxa de prenhez em novilhas Angus sincronizadas, foi influenciada apenas quando o CIDR® foi reutilizado pela segunda vez, resultando em 49,6%, 48,0% e 45,6% de prenhez para primeiro, segundo e terceiro usos, respectivamente. Favacho et al., (2009) obteve taxa de prenhez de 54,5% com uso do implante intravaginais CIDR em vacas Nelore.

Os resultados são semelhantes à De La Ossa et al. (2007) avaliando vacas mestiças (Nelore x Simental) utilizando CIDR® novos, reutilizados uma e duas vezes, não observaram diferença significativa na taxa de prenhez. Barufi et al.,

(2002) em vacas zebuínas sincronizadas com CIDR® novo e reutilizado não observou diferença significativa, tendo 28,8 e 38,7% de prenhez.

Hernández et al., (2008) não observou diferença significativa na taxa de prenhez de vacas brangus receptoras de embriões após serem sincronizadas com CIDR® novo (42,1%) e reutilizado uma vez (39,1%) e reutilizado duas vezes (36,1%) em protocolos de TETF, ressaltando que embriões de grau I é um fator que pode se relacionar à gestação, sendo uma alternativa válida para sincronização do estro em receptoras para programas de transferência de embriões porque não interfere na capacidade de manutenção da gestação do embrião transferido. Hasler et al., (2001) relatou que a taxa de prenhez tende a ser maior quando se transfere embriões de qualidade superior.

A sincronização de estro em receptoras em protocolos de transferência de embriões em tempo fixo, utilizando implantes intravaginais de progesterona CIDR reutilizados por mais de duas vezes reduz o custo em todo o programa e não compromete dos resultados, e para que não haja influência secundária, na alteração do ciclo estral, recomendamos que seja utilizada apenas uma vez em cada receptoras de implantes de 5º uso.

4 - CONCLUSÕES

Conclui-se que implantes intravaginais de progesterona de 5º uso pode ser uma alternativa para minimizar gastos em programas de TETF não trazendo prejuízos em relação à taxa de prenhez. Importante mencionar que para a reutilização de implantes é necessário rebanhos com bom estado de saúde e um manejo.

REFERÊNCIAS

BARROS,C.M; FIGUEREDO, R.A; PINHEIROS, O.L. Estro, ovulação e dinâmica folicular em zebuínos. **Ver. Braz. Reprod. Anim.** v.19, p9-22, 1995.

BARTOLOMEU, C.C. et al. Inseminação artificial em tempo fixo de vacas leiteiras mestiças Holando-Zebu no pós-parto com emprego de CIDR reutilizado. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.27, n.3, p.426-427, 2003.

BARUFI, F. B. et al. Sincronização do estro e da ovulação em bovinos de corte com Crestar, CIDR ou CIDR reutilizado, seguidos ou não pela administração de eCG. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 26, n. 3, p. 226-229, 2002.

COLAZO, M.G.; KASTELIC, J.P.; SMALL, J.A.; WILDE, R.E.; WARD, D.R.; MAPLETOFT, R.J. Resynchronization of estrus in beef cattle: Ovarian function, estrus and fertility following progestin treatment and treatments to synchronize ovarian follicular development and estrus. **The Canadian Veterinary Journal**, v.48, p.49-56, 2007.

COLOMBO, A. H. B.; ZANIBONI. L; CAVALIERI, F.L.B.; RIGOLON, L.P; Estimação dos fatores que interferem diretamente e indiretamente nos resultados da fecundação *in vitro* (FIV). **VII Encontro Internacional de Produção Científica**. Disponível em: http://www.cesumar.br/prppge/pesquisa/epcc2011/anais/antonio_hugo_bezerra_colombo1.pdf. Acessado em 05/05/2016.

DE LA OSSA, J. E. P. **Tasa de preñez em vacas com dispositivos intraginales CIDR® nuevos y usados dos o três veces por siete dias, em La Hacienda Santa Elisa, El Paraíso**, Honduras, 2002. 11 p. Proyecto especial (Carrera de ciência YProducción Agropecuaria). Zamorano, Honduras.

FAVACHO, H.G.S. **Taxa de prenhez com uso do protocolo Pfizer em fêmeas Nelore no sudeste Paraense**. Trabalho de Conclusão de Curso em Medicina Veterinária. 2009. 70f. Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) Instituto de Saúde e Produção Animal. Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém.

BÓ, G.A; MORENO, D.; CUTAIA,L.; CACCIA, M.;. “Transferencia de embriones a tiempo fijo: Tratamientos y factores que afectan los índices de preñez”. **Taurus** – Año 4, Nª 21. Pag. 25-45. Abril de 2004.

GOTTSCHALL, C.S.; CANELLAS L.C.; MARQUES P.R.; CRUZ J.K.; MARTINS P, ALMEIDA M.R.; BITTENCOURT H.R. Desempenho bio-econômico de vacas de corte submetidas a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) em diferentes períodos pós parto. In: **35º Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária (CONBRAVET-2008)**. Disponível em: www.sovergs.com.br/conbravet2008/anais/cd/.../R0645-1.pdf. Acesso em 15/12/2018.

HASLER, J. F. Factors affecting frozen and fresh embryo transfer pregnancy rates in cattle. **Theriogenology**, v. 56, p. 1401-1415, 2001.

HERNÁNDEZ, C. W. S. et al. Reutilización de un dispositivo liberador de progesterone (CIDR-B) para sincronizar El estro en un programa de transferencia de embriones bovinos. **Téc. Pecu. Méx.** v. 46, n. 2, p. 119-135, 2008.

IBGE Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <https://ww2.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria>. Acessado em 16/12/2018.

MALUF, D.Z.; PIRES, A.V.; SUSIN, I.; MOREIRA, R.J.C.; MADUREIRA, E.H.; BINELLI, M. Avaliação da reutilização de implantes contendo progestágenos na taxa de prenhez em vacas de corte. **Braz J Vet Res Anim Sci** v. 47(1): p 38-46, 2010.

MARLOWE, T. J.; FREUND, R. J.; GRAHAM, J. B. Influence of age, breed, flesh condition, nursing, and season on weight and grade of beef cattle. **Journal of Animal Science**, v.21, p.346–354, 1962.

MENEGHETTI M, SÁ FILHO OG, PERES RFG, LAMB GC, VASCONCELOS JLM. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows I: Basis for development of protocols. **Theriogenology** v.72:p 179–189,2009.

NOGUEIRA, M.F.G.; ERENO, R.L.; BARROS, C.M.; SENEDA M.M.; Protocolos de sincronização da ovulação para bovinos: customização ou exagero?. **Jornal O embrião** Edição 49 p 06-19, primeiro semestre 2017. Disponível em: <http://www.sbte.org.br/arquivos/jornal/59.pdf> Acessado em 06/07/2017.

REICHENBACH, H.D.; OLIVEIRA, M.A.L.; LIMA, P.F.; FILHO, A.S.S. Transferência e criopreservação de embrião bovinos. In: GOLÇALVES, P.B.D.; FIGUEIREDO, J.R.; FREITAS, V.J.F. **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. São Paulo: Varela, , p.127-177, 2002.

ROCHA, J.M;RABELO,M.C.;SANTOS, M.H.B.; MACHADO, P.P.; BARTOLOMEU, C.C; NEVES, J.P.;LIMA, P.F.; **Medicina Veterinária**, Recife, v.1, n.1, p.40-47, jan-jun, 2007

VALENTIM, R. **Concentrações plasmáticas de progesterona e eficiência reprodutiva de diferentes dispositivos de liberação lenta de progesterona usados em inseminação artificial em tempo fixo**. 2004. 88f. Tese (Doutorado Reprodução Animal). Programa de Pós-Graduação em Reprodução Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

VILELA, E.E. **Utilização de dispositivo de liberação intravaginal de progesterona no protocolo de sincronização (GnRH/PGF2 α / GnRH) associado à remoção temporária de bezerros em vacas Nelore paridas**. 2004. 58 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Produção Animal). Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal, Faculdade de Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho.