

REVISTA BRASILEIRA DE  
**BUIATRIA**



Volume I - 2022






REPRODUÇÃO



Associação Brasileira  
de Buiatria

# BIOTÉCNICAS DA REPRODUÇÃO EM BOVINOS: APLICAÇÕES PRÁTICAS

## BIOTECHNIQUES OF REPRODUCTION IN CATTLE: PRACTICAL APPLICATIONS

Marcelo Marcondes Seneda<sup>1</sup>, Deborah Nakayama Yokomizo<sup>1</sup>, Fernanda Amarante Mendes de Oliveira<sup>1,2</sup>,  
Mariana Moreira dos Anjos<sup>1</sup> e Fabio Morotti<sup>1</sup>

### RESUMO

O uso das biotecnologias reprodutivas como forma de amplificar os resultados e aumentar a eficiência reprodutiva vem ganhando espaço na pecuária. A inseminação artificial em tempo fixo (IATF) é uma ferramenta associada ao uso dos protocolos hormonais que possibilita o controle do momento da inseminação artificial, facilitando o manejo e resultando em lucratividade para o produtor. Visando ampliar ainda mais a produtividade e eficiência do rebanho, a ressincronização possibilita a redução no tempo entre as inseminações, menor número de touros de repasse e maior concepção por inseminação ao final da estação reprodutiva. Dentre as biotécnicas reprodutivas a transferência de embrião (TE) também tem se beneficiado com a utilização de protocolos hormonais. Atualmente a maioria das transferências ocorrem sem a necessidade de detecção de estro, sendo realizada em tempo fixo (TETF) de forma semelhante ao que é realizado em programas de IATF. O aumento na implantação destas biotecnologias reprodutivas em rebanhos comerciais, deve-se ao amplo estudo realizado nos últimos anos e aos avanços dos protocolos hormonais. O objetivo desta revisão é abordar as principais estratégias reprodutivas baseadas em protocolos hormonais de IATF, ressincronização e TE em bovinos.

**Palavras-chave:** protocolos hormonais, receptoras, ressincronização, sincronização, transferência de embrião.

### ABSTRACT

The use of reproductive biotechnologies to amplify results and increase reproductive efficiency has been increasing in livestock. Fixed time artificial insemination (FTAI) is a tool associated with the use of hormonal protocols that makes it possible to control the timing of artificial insemination, facilitating management and resulting in profitability for the producer. Aiming to further increase the productivity and efficiency of the herd, resynchronization makes it possible to reduce the time between inseminations, reduce the number of clean-up bulls and a greater conception by insemination at the end of the breeding season. Among reproductive biotechnologies, embryo transfer has also benefited from the use of hormonal protocols. Currently most transfers occur without the need for estrus detection, being performed at fixed time (FTET) in a similar way to what is performed in FTAI programs. The increase in the implementation of these reproductive biotechnologies in commercial herds is due to the extensive study carried out in recent years and advances in hormonal protocols. This review aims to discuss reproductive strategies based on TAI protocols, resynchronization and embryo transfer in cattle and their fundamentals.

**Keywords:** hormonal protocols, recipient cows, resynchronization, synchronization, embryo transfer.

**1** Laboratório de Biotecnologia de Reprodução Animal, DCV, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, Paraná, Brasil.

**2** Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas, Campus Tabatinga (IFAM - CTBT), Tabatinga, Amazonas, Brasil.



Autor para correspondência:  
marcelo.seneda@uel.br

Revista Brasileira de Buiatria  
Reprodução,  
Volume 1, Número 1, 2022

ISSN 2763-955X

DOI:10.4322/2763-955X.2022.003



Associação Brasileira  
de Buiatria



## INTRODUÇÃO

Atualmente a pecuária dispõe de uma série de biotecnologias reprodutivas que se implementadas adequadamente permitem maior desempenho comparado a reprodução natural, melhorando a eficiência reprodutiva e o ganho genético, tanto nos rebanhos de corte quanto de leite<sup>1</sup>. Dentre as biotecnologias existentes, a inseminação artificial (IA) e a transferência de embriões (TE) são as mais utilizadas no mundo, sendo na maioria das vezes associadas a protocolos de sincronização da ovulação, ferramenta que possibilita a execução destas técnicas em um tempo pré-estabelecido e sem a necessidade de observação de estro, chamado de tempo fixo. A IA também permite o uso do sêmen congelado e descongelado, enquanto na TE as receptoras são sincronizadas para receber embriões produzidos *in vivo*, por superovulação seguida de coleta dos embriões por lavagem uterina, ou mesmo produzidos *in vitro* (PIVE)<sup>2</sup>.

Quanto ao uso da inseminação artificial por tempo fixo (IATF), esta possibilita a inseminação de grandes plantéis de forma otimizada por permitir o controle do estro e da ovulação, facilitando o manejo dos animais e melhorando os índices reprodutivos na fazenda<sup>3,4</sup>. Os protocolos de IATF associam hormônios como a progesterona/progestágenos, prostaglandina F2 $\alpha$  (PGF2 $\alpha$ ), ésteres de estradiol, hormônio liberador de gonadotrofina, entre outros, e objetivam o controle do crescimento folicular, regulação da fase lútea e a indução da ovulação em um tempo fixo. Além disso, os programas de IATF são alternativas eficientes em casos de anestro pós-parto, visto que programas de IA apresentam baixa eficiência em rebanhos com intenso anestro pós-parto<sup>5,3</sup>. Neste contexto, a sincronização do estro para a IA otimiza o manejo reprodutivo, do mesmo modo o uso da ressincronização de forma adequada é uma ferramenta útil para melhorar a taxa de concepção. Sem o auxílio do diagnóstico precoce de gestação e os protocolos de ressincronização os

intervalos entre estros podem ser prolongados<sup>2,6,7</sup>.

O uso dos protocolos hormonais também tem facilitado o manejo de doadoras e receptoras em programas de TE, com o controle da emergência da onda folicular e da ovulação em horários pré-determinados, sem detecção de estro<sup>8</sup>. Os protocolos utilizados na TE por tempo fixo (TETF) são, basicamente, os desenvolvidos para IATF<sup>9,10</sup>. A utilização de TETF tem evitado perdas associadas à detecção de estro proporcionado maior praticidade na técnica<sup>11</sup>, aumentado o número de receptoras transferidas e taxa de prenhez, além de reduzir a mão de obra e manejo dos animais<sup>12</sup>.

A disseminação de procedimentos reprodutivos eficientes, como os programas de IATF, ressincronização e a TETF<sup>2</sup> tem contribuído no aumento do número de animais de capacidade genética superior e de alta produtividade<sup>13</sup>, proporcionando melhor lucratividade na pecuária. Portanto, o objetivo da revisão foi discorrer sobre as biotecnologias da IATF, ressincronização e TETF presentes no cenário da pecuária bovina e seus fundamentos.

## INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO

Durante o ciclo estral bovino, geralmente ocorre de duas a três ondas de crescimento folicular e cada onda resulta no desenvolvimento de um único folículo dominante anovulatório ou ovulatório. A interação entre os hormônios ao decorrer da formação da onda folicular promove o recrutamento, desenvolvimento, seleção e regressão/ovulação do folículo<sup>14</sup> (Figura 1). O controle do ciclo estral e da ovulação por meio de protocolo hormonal ocorre em três sequências principais:

- Sincronização da emergência da onda de crescimento folicular,
- Controle da fase progesterônica,
- Indução da ovulação em um tempo fixo.

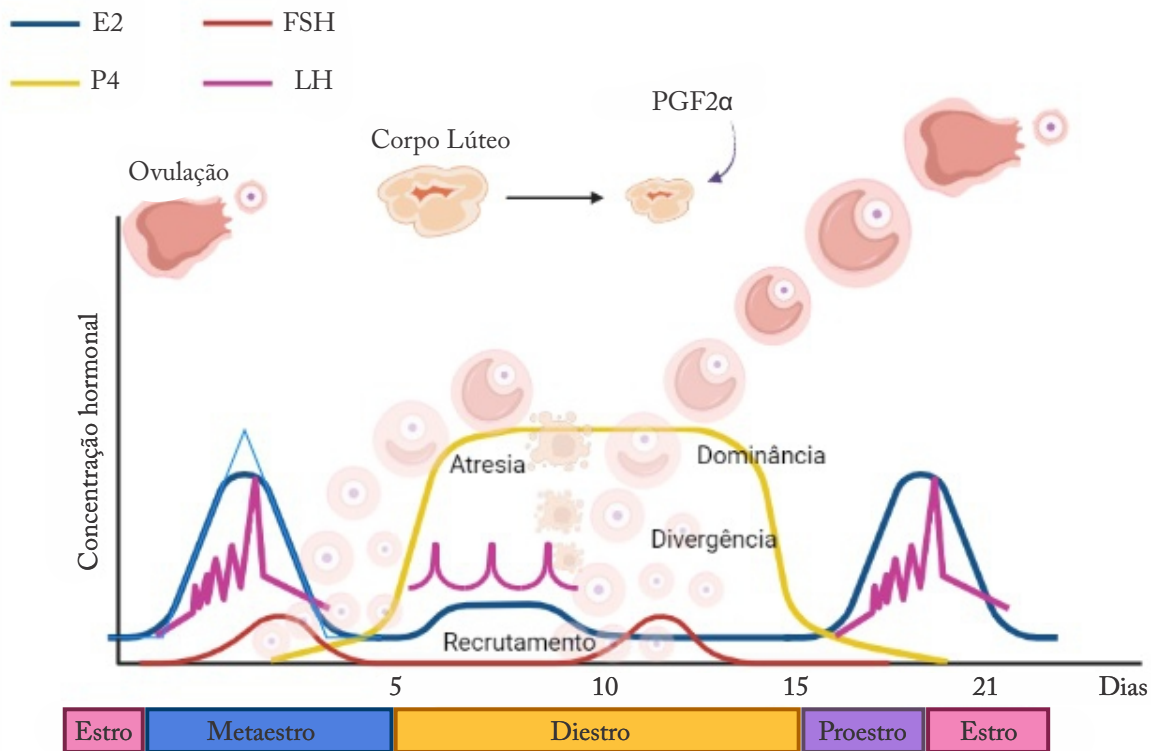


Figura 1. Desenvolvimento folicular em bovinos (Fonte: Adaptado de Ireland et al.<sup>14</sup>).

## ■ Sincronização na emergência da onda folicular

O emprego de protocolo hormonal do programa de IATF tem por objetivo, em uma fase dispersa do ciclo estral, sincronizar o início de uma nova onda folicular, no qual é dado como dia zero (D0)<sup>15</sup>. A combinação hormonal mais utilizada para esta finalidade é a base de progesterona (P4) e estrógeno (E2) e/ou hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH). A P4 suprime a elevação da concentração de hormônio luteinizante (LH), mimetizando o corpo lúteo (CL), e assim inibe a atividade dos folículos grandes. Já o E2 diminui a liberação do hormônio folículo estimulante (FSH) e como consequência, impede o desenvolvimento de folículos menores, sendo possível observar nova onda emergir após quatro dias<sup>5,15-17</sup>. Neste contexto, não há diferenças consideráveis entre o intervalo da sincronização da onda em *Bos indicus* e *Bos taurus*, observado após a aplicação do protocolo com dispositi-

vo intravaginal de P4 e 2 mg de benzoato de estradiol (BE) ( $3,3 \pm 0,6$  versus  $4,3 \pm 0,2$  dias)<sup>5</sup>.

Os análogos do GnRH associados a P4 são alternativas para a sincronização das ondas foliculares em vacas de alta produção leiteira. Em vacas *Bos taurus* com aptidão leiteira, o uso de 100µg de GnRH resultou em emergência de ondas foliculares mais precoce, cerca de dois dias antes em relação às vacas tratadas com 2 mg de BE e 50 mg P4 intramuscular (IM)<sup>18</sup>.

## ■ Controle da fase progesterônica

A fase progesterônica é controlada de forma eficaz pela associação do dispositivo de P4 e agente luteolítico, como a PGF2α e seus análogos sintéticos, podendo também ser utilizados de forma isolada. O objetivo da utilização do dispositivo de P4 é mimetizar o efeito do CL e a sua remoção pode ser realizada entre os dias cinco e nove (D5 a D9) do protocolo<sup>15,19,20</sup>. Já a PGF2α e seus análogos objetivam a luteólise, na qual a



regressão é observada no ultrassom de maneira gradual 24 a 48 horas após sua aplicação. O agente luteolítico é capaz de reduzir a concentração plasmática de P4 no animal, de 80 a 100% após a sua aplicação<sup>21</sup>.

A PGF2 $\alpha$  garante que ocorra a luteólise e controle da fase progesterônica<sup>22</sup>. Sua aplicação pode ser realizada em três momentos: na retirada do dispositivo de P4, em até 48 horas antes da remoção do dispositivo ou no início do protocolo (dia da inserção)<sup>9,23</sup>. Foi observado em vacas tratadas com dinoprost trometamina 48 horas antes da retirada do dispositivo uma menor concentração plasmática de P4 e melhor taxa de ovulação em comparação com a aplicação na mesma hora da retirada do dispositivo de P4 ( $4,58 \pm 0,21\text{ng/mL}$  versus  $3,05 \pm 0,21\text{ng/mL}$ )<sup>24</sup>.

### ■ Sincronização da ovulação

Os hormônios mais utilizados para induzir e melhorar a taxa de ovulação podem ser indutores indiretos como os ésteres de estradiol, ou indutores diretos como análogos do GnRH e LH. O mais usual de melhor custo-benefício em rebanhos *Bos indicus* é o BE aplicado 24 horas após a retirada do dispositivo de P4 ou cipionato de estradiol (CE) aplicado no dia da retirada do dispositivo<sup>25</sup>. Em 75% das vacas tratadas com BE ou CE ao final do tratamento com P4, a ovulação ocorreu de 72 a 84 horas após a retirada do implante<sup>16,26,27</sup>.

Os indutores diretos possuem um alto custo e são mais utilizados em outras biotécnicas, como na superovulação, ou em outras situações mais específicas. Apesar disso, análogos do GnRH apresentam ótima aplicabilidade em fêmeas de baixa ou nenhuma expressão de estro durante os programas de IATF, sendo utilizado sozinho ou em associação com CE ou BE<sup>28</sup>.

Existem variados protocolos hormonais para IATF, diferindo-se em dosagens, manejos e hormônios utilizados (Figura 2), que se adequam em determinadas categorias e situações reprodutivas do rebanho. No

entanto, assemelham-se no objetivo principal de sincronizar a emergência da onda de crescimento folicular, controlar a fase progesterônica e induzir a ovulação em um tempo fixo<sup>15</sup>.

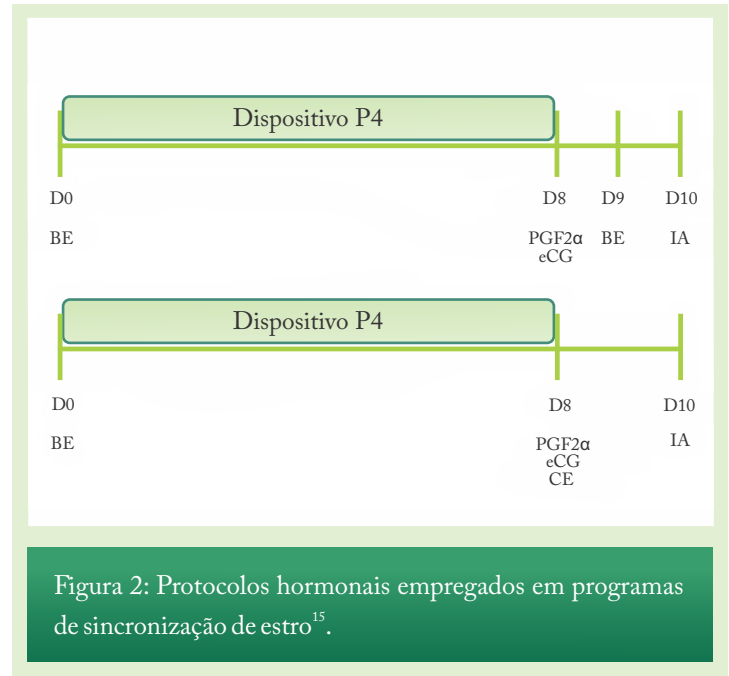


Figura 2: Protocolos hormonais empregados em programas de sincronização de estro<sup>15</sup>.

### ■ Aprimoramentos na IATF

A IATF aumenta a eficiência reprodutiva do rebanho com a taxa de serviço em 100%, contribuindo com a economia da propriedade<sup>2</sup>. Apesar dos programas de sincronização possuírem diversas vantagens, para resultados satisfatórios são necessárias boas práticas nutricionais, qualidade de sêmen e mão de obra qualificada.

O anestro pós-parto representa um dos principais fatores que afetam os programas reprodutivos, sendo resultante de desequilíbrio na secreção de LH muito frequente em animais *Bos indicus*<sup>3</sup>. Sua ocorrência resulta em redução de 15 a 20% da taxa de concepção, e é agravada principalmente pelas restrições nutricionais que ocorrem dependendo da sazonalidade das forrageiras<sup>3,29</sup>.

Neste contexto, um hormônio que tem auxiliado os programas reprodutivos de animais com certos desafios nutricionais é a gonadotrofina coriônica

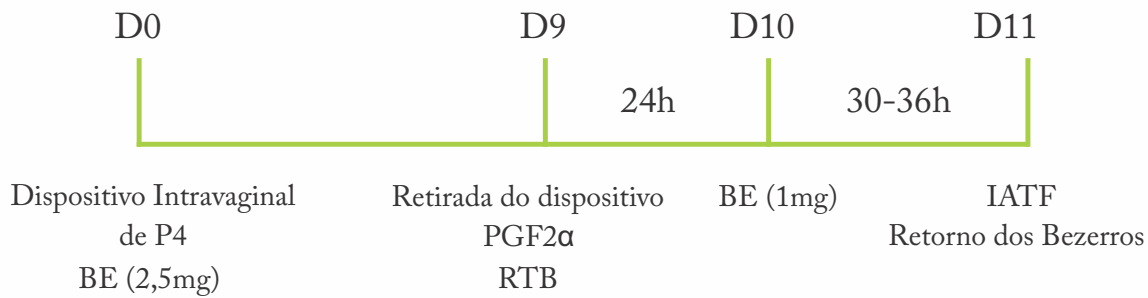


Figura 3. Esquema da estratégia de retirada temporária do bezerro (RTB) em um programa de IATF<sup>33</sup>.

equina (eCG). A eCG é um hormônio glicoproteico utilizado como um excelente suporte gonadotrófico em um programa de IATF, devido a sua capacidade de auxiliar no crescimento do folículo dominante com a sua bioatividade mista (2/3 FSH e 1/3 LH, aproximadamente)<sup>30-32</sup>. Seu uso é recomendado principalmente em fêmeas com intenso anestro e/ou de escore de condição corporal (ECC) menor que três<sup>17</sup>. Outra estratégia aliada aos protocolos de IATF é a retirada temporária do bezerro (RTB) (Figura 3). Essa prática aumentou em 22% a taxa de concepção em vacas *Bos indicus*, retirando o bezerro no D9<sup>33</sup>. Em vacas Nelore tratadas com GnRH e com a técnica de RTB ocorreu aumento no diâmetro do folículo dominante e na taxa de ovulação em 85%, em comparação às vacas com GnRH sem RTB<sup>34</sup>. Todas estas práticas (tratamento com eCG ou RTB) melhoram a liberação de LH para o folículo dominante e resultam em maior resposta ovulatória.

### ■ Programas de ressincronização da ovulação

A IA é uma biotécnica estabelecida no mundo todo por proporcionar retorno econômico, melhorar a taxa de produção de bezerros, além de ganhos genéticos e produtivos. No entanto, este retorno está ligado às estratégias que possam auxiliar o uso da técnica, com foco na melhoria da taxa de serviço e no intervalo entre

as inseminações. Deste modo, a ressincronização da ovulação é uma estratégia reprodutiva desenvolvida para fêmeas que falharam após receber o procedimento de IA, sem, no entanto, comprometer a viabilidade das fêmeas com gestação previamente estabelecida<sup>1</sup>.

A ressincronização permite em curto período diagnosticar as fêmeas não prenhes, sincronizar a ovulação e proceder a IA reduzindo o período de serviço e encurtando a estação de nascimento. É, portanto, uma estratégia reprodutiva interessante por associar as altas taxas de prenhez por IA, a eliminação da observação de estro com o uso de protocolos hormonais, a redução do número de touros de repasse após programas de IA e IATF, além de concentrar o período de nascimento com benefícios no manejo de bezerros<sup>2,7</sup>.

Os tratamentos hormonais utilizados para a ressincronização da ovulação em fêmeas bovinas são semelhantes aos protocolos utilizados na IATF e descritos anteriormente. Um dos tratamentos mais utilizados para a ressincronização envolve o uso de dispositivo intravaginal de P4 e BE, combinado com a aplicação de PGF2α, CE e/ou GnRH<sup>38</sup>, esta combinação de hormônios permite a sincronização do surgimento de nova onda de crescimento folicular em fêmeas não prenhes.

Além dos hormônios já citados, o uso de eCG ou RTB (de 48 a 72 horas) tem sido recomendado para estimular o crescimento final do folículo dominante



em protocolos de ressincronização de fêmeas pós-parto<sup>37</sup>. Considerando a já citada redução de 15 a 20% da taxa de concepção para fêmeas com alta taxa de anestro<sup>3,38</sup>. Neste contexto a administração de eCG em vacas lactantes em anestro tem sido recomendada por melhorar a taxa de prenhez em aproximadamente 50%, semelhante ao observado em vacas cíclicas<sup>22,52</sup>.

A ressincronização da ovulação pode ser iniciada no dia do diagnóstico de gestação após a confirmação de que a fêmea não está prenhe, sendo essa a ressin-

cronização tradicional/convencional, realizada de 28 a trinta dias após a 1ª IATF<sup>7,39</sup> ou antes mesmo de conhecer o estado gestacional da fêmea, a chamada ressincronização precoce, realizada de 22 a 23 dias após a 1ª IATF em todas as fêmeas<sup>37,40</sup>. Ainda, com a recente implementação da ultrassonografia Doppler na avaliação ovariana, possibilitou-se a ressincronização superprecoce, realizada de doze a catorze dias após a 1ª IATF<sup>1,41</sup> (Figura 4).

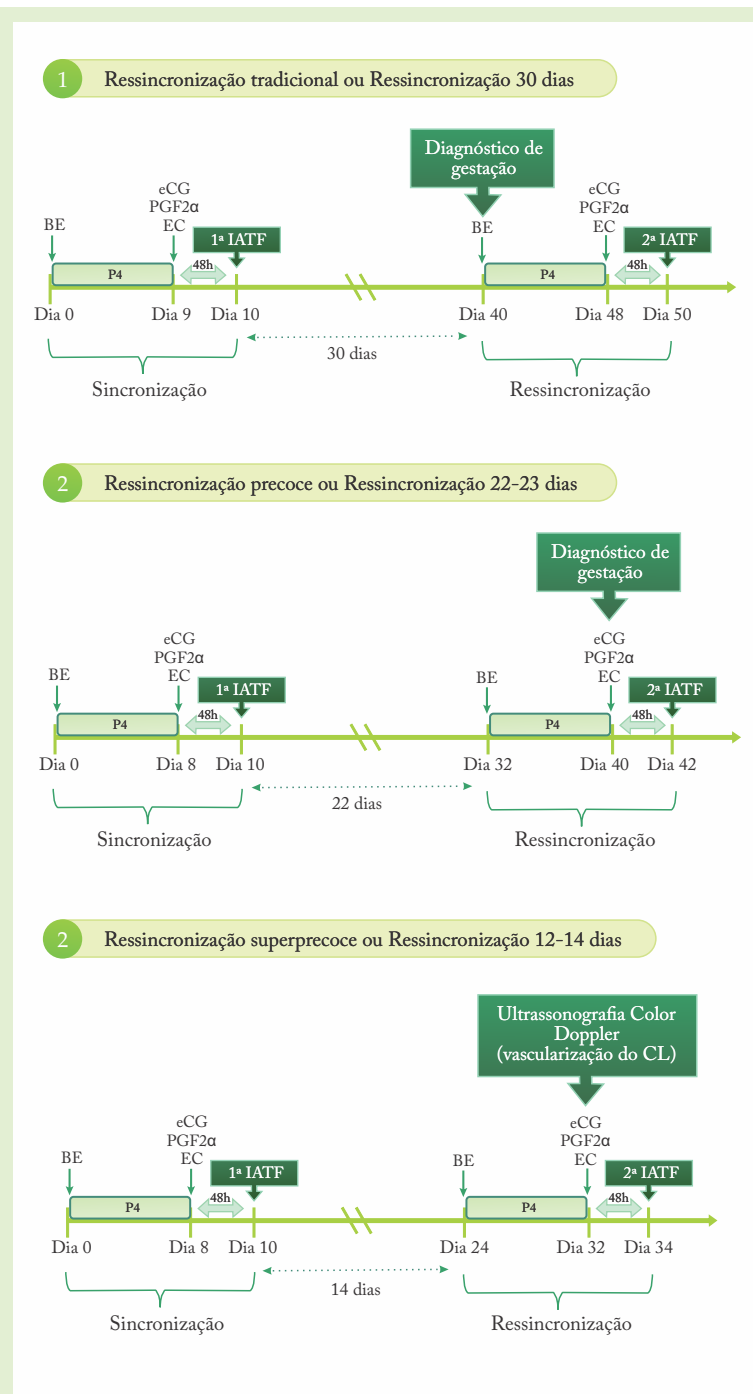


Figura 4. Diagrama dos três programas de ressincronização da ovulação para inseminação artificial em tempo fixo (IATF): (A) Ressincronização tradicional, o protocolo hormonal inicia no dia do diagnóstico de gestação (28 a 32 dias após a 1ª IATF) em vacas não prenhes. (B) Ressincronização precoce, o protocolo hormonal é iniciado em todas as fêmeas entre 22 e 23 dias após a 1ª IATF, oito dias após é retirado o dispositivo de P4 e realizado o diagnóstico de gestação, apenas fêmeas não prenhes dão continuidade ao protocolo. (C) Ressincronização superprecoce, o protocolo hormonal a base de P4 (implante + injetável) é iniciado em todas as fêmeas aos doze a quatorze dias após a 1ª IATF, oito dias após é realizada a ultrassonografia Color Doppler para avaliação da perfusão sanguínea do corpo lúteo, apenas fêmeas com vascularização ausente ou baixa (<25%) dão continuidade no protocolo. Legenda: P4= progesterona, BE= benzoato de estradiol, eCG= gonadotrofina coriônica equina, PGF2α= prostaglandina F2α, CE= cipionato de estradiol e IATF= inseminação artificial em tempo fixo (Adaptado de Baruselli et al.<sup>47</sup>).



A ressinchronização aos trinta dias foi uma das primeiras estratégias de ressinchronização utilizadas, consiste em realizar o diagnóstico de gestação de 28 a 32 dias após a IATF. Assim, apenas as fêmeas não prenhes são submetidas ao segundo protocolo hormonal, resultando em um intervalo de quarenta dias entre as IATF<sup>7,42</sup>. Esta ressinchronização resulta em uma taxa de concepção de 50 a 60% para cada IATF, com a taxa de prenhez final podendo ser superior a 80% e permitindo a realização de até três IA em um intervalo de oitenta dias<sup>1</sup>.

Com o uso da ressinchronização precoce é possível iniciar um segundo protocolo hormonal aos 22 a 23 dias após a IATF, porém sem diagnóstico prévio de gestação. Portanto, todas as fêmeas inicialmente tratadas no protocolo de IATF recebem o dispositivo intravaginal de P4 e injeção de BE aos 22 a 23 dias após a 1ª IATF, independente do estado gestacional<sup>37,43</sup>. Após a remoção do dispositivo de P4, entre oito e nove dias após sua inserção, é feito o diagnóstico de gestação por ultrassonografia e as fêmeas não prenhes recebem injeção de PGF2 $\alpha$  e um indutor de ovulação<sup>37,40,47</sup>.

Já o programa de ressinchronização superprecoce é realizado dos doze a catorze dias após a IATF. Todas as fêmeas recebem o protocolo hormonal com uso do dispositivo intravaginal de P4 e 50 a 100 mg de P4 injetável, via intramuscular. O diagnóstico de gestação é feito no dia 22 com uso de ultrassonografia Color Doppler pela avaliação da perfusão sanguínea luteal (Figura 5). Em caso de vascularização ausente ou baixa

(< 25% da perfusão sanguínea e área < 2cm<sup>2</sup>) as fêmeas são consideradas não prenhes e o protocolo de ressinchronização tem continuidade com a remoção do dispositivo intravaginal, aplicação de PGF2 $\alpha$ , CE, eCG e inseminação após 48 horas (dia 24). Se a perfusão sanguínea luteal for moderada a forte, com escores de 2, 3 ou 4, as fêmeas são consideradas prenhes e não recebem nenhum tratamento hormonal, apenas a reavaliação com ultrassom modo B para confirmação de prenhez no dia trinta. Comparado ao protocolo precoce (22 a 23 dias após a 1ª IATF), a ressinchronização superprecoce antecipa em oito dias a segunda inseminação e em trinta dias quando comparado ao protocolo tradicional (aos 28 a trinta dias após a 1ª IATF), tornando a estação reprodutiva extremamente curta e com intervalo de 24 dias entre as IATF<sup>2,41,44</sup>.

Após o período de reconhecimento materno da gestação, há uma manutenção de alta vascularização do CL, permitindo, portanto, a avaliação indireta do estado gestacional da fêmea, através da avaliação do escore de vascularização do CL por ultrassonografia Color Doppler. Esta técnica permite um diagnóstico de gestação mais precoce do que a identificação por ultrassonografia modo B. No entanto, as fêmeas com CL vascularizado precisam ser reavaliadas oito a dez dias depois com ultrassonografia modo B para visualizar a vesícula gestacional e descartar falsos positivos (fêmeas classificadas como prenhes pela vascularização do CL, porém sem vesícula gestacional), o que não está relacionado necessariamente com o erro no diagnóstico gesta-



Figura 5. Imagens ultrassonográficas de corpo lúteo bovino, representando os escores 0, 1, 2, 3 e 4 para perfusão sanguínea luteal. Imagens 0 e 1 são referentes a vacas não gestantes e as 2, 3 e 4 de vacas gestantes<sup>45</sup>.





cional e sim por ciclos estrais longos (> 22 dias), perdas gestacionais e ineficiência da sincronização no primeiro protocolo de IATF<sup>45-48</sup>. Assim, o uso da ultrassonografia Color Doppler para a avaliação da vascularização do CL é essencial para classificar o estado gestacional dos animais em programa de ressinchronização superprecoce<sup>49</sup>.

Programas reprodutivos que permitissem a inseminação a cada 21 dias seriam os ideais, pois teriam taxa de serviço de 100% (21/21). Neste contexto, a ressinchronização com catorze dias é a estratégia que mais se aproxima desta taxa de serviço ideal, sendo:

- 87,5% (24/21) para a ressinchronização aos 14 dias,
- 66% (32/21) para a ressinchronização aos 22 a 23 dias e
- 52,5% (40/21) para a ressinchronização aos 30 dias<sup>2</sup>.

Os programas de ressinchronização em bovinos tem obtido resultados satisfatórios, os dados demonstram aproximadamente 50% de prenhez após cada IATF. Estratégias que resultam em 80 a 90% de prenhez durante os 24 a quarenta dias de estação de monta, conforme o protocolo de ressinchronização adotado, contribuindo para o maior ganho genético do rebanho, além de reduzir o número de touros na fazenda. A monta natural com touros, em algumas situações pode ser associada a ressinchronização por dez a quinze dias após a 2ª e 3ª IATF até o final da estação de monta<sup>2,7</sup>.

Variações nos resultados são observadas, como na concepção de acordo com o número de partos das fêmeas. Vacas primíparas e secundíparas apresentaram redução na taxa de concepção na 1ª e 2ª IATF (20%) em relação às novilhas e vacas múltiparas. Esta redução é possivelmente associada a limitações nutricionais e não à própria fertilidade da categoria. As taxas de concepção entre as diferentes categorias de fêmeas Nelore foram diferentes em um estudo avaliando performance<sup>7</sup>. Ao final da estação de monta as novilhas apresenta-

ram maior taxa de concepção (85%), comparada às primíparas (76%) e múltiparas (78%). Neste estudo todos os animais receberam uma fonte de P4, no caso, dispositivo intravaginal para vacas e implante auricular para novilhas, em combinação com 2 mg de BE no D0. Todas as fêmeas receberam 250 µg de cloprostenol, 300 UI de eCG e CE (1 mg para vacas e 0,5 mg para novilhas), com retirada de P4 no oitavo dia. A IATF foi realizada 48 horas após a retirada da fonte de P4. Trinta dias após a 1ª IATF todas as fêmeas foram avaliadas por ultrassonografia, e as fêmeas não prenhes foram ressinchronizadas utilizando o mesmo tratamento hormonal, e a taxa de prenhez avaliada por ultrassonografia trinta dias após a 2ª IATF.

A ressinchronização precoce antecipa a 2ª IATF em oito a nove dias, todas as fêmeas recebem os hormônios iniciais do protocolo, dispositivo de P4 e 1 a 2 mg de BE, entre dezoito e 23 dias após a 1ª IATF, independente de seu estado gestacional. Além de promoverem a atresia folicular e sincronizar o crescimento folicular, os ésteres de estradiol podem induzir a luteólise<sup>50,51</sup>. No entanto, estudos com fêmeas *Bos taurus*<sup>35,43</sup> e *Bos indicus*<sup>37,40</sup> não relataram interrupção da gestação obtidas na 1ª IATF com o uso de GnRH ou BE na ressinchronização precoce. Não houve redução nas taxas de concepção em vacas Nelore tratadas (54%) ou não (47,8%) com 2 mg de BE em 23 dias após a IATF<sup>37</sup>. As perdas gestacionais foram semelhantes em fêmeas Nelore tratadas com 1 mg de BE (4,1%) em comparação às não tratadas (2%) e mantidas com touro para monta natural<sup>40</sup>. As taxas de concepção são semelhantes às obtidas com ressinchronização de trinta dias, conforme demonstrado anteriormente, resultando em aproximadamente 50% de prenhez na 2ª IATF, e um total de 75% de concepção em 32 a 33 dias de serviço<sup>37,40</sup>.

Taxas de prenhez semelhantes foram obtidas utilizando a ressinchronização precoce (22 dias) versus ressinchronização superprecoce (quatorze dias), na 1ª sincronização as taxas foram de 48% versus 53%, e na



ressincronização de 56% versus 51%, respectivamente. As taxas cumulativas de prenhez após 32 e 24 dias de estação reprodutiva também foram semelhantes para ressincronização precoce (77%, 97/126) e ressincronização superprecoce (75%, 89/118). No entanto a ressincronização aos quatorze dias melhorou a taxa de serviço a cada 21 dias com 87,5% comparado a 66% para ressincronização aos 22 a 23 dias<sup>47</sup>.

Em geral, taxas de concepção reduzidas são observadas na 2ª e 3ª IATF. Além do número de partos, deve-se considerar outros fatores, como ECC e estado de saúde do rebanho. A redução do tempo de serviço de 62 a 80 dias com três IATF proporciona um intervalo entre partos curto e uma melhora considerável na eficiência reprodutiva (intervalo médio entre partos inferior a doze meses).

Após a utilização de um protocolo de sincronização da ovulação, é esperado que as fêmeas que não conceberam retornem ao estro de maneira síncrona. O comportamento de estro comumente se concentra após dezoito a 23 dias da IATF e as práticas reprodutivas podem ser combinadas estrategicamente neste momento para maior otimização no manejo dos animais<sup>17,52</sup>.

Finalmente, outro benefício associado à ressincronização está relacionado à maior concentração na estação de nascimentos e ganhos produtivos. Ao concentrar o período de nascimento considera-se que o desempenho produtivo de bezerros até o desmame sofre interação entre o mês de nascimento e a localização geográfica. Por exemplo, em países tropicais têm sido observado variações no peso do bezerro ao desmame, sendo que bezerros nascidos de agosto a outubro foram os mais pesados ao desmame. Isso ocorre possivelmente devido à alta concentração de partos no final do inverno e início da primavera após a concepção durante os meses de alta disponibilidade de alimento. Portanto, uma estação reprodutiva curta visa melhorar o desempenho da progênie. Além disso, bezerros cujas concepções ocorreram na primeira metade da estação

de monta apresentaram aumento nas taxas de produção, como abate precoce, precocidade reprodutiva, e suas mães tiveram maiores taxas de prenhez ao final da estação de monta<sup>53</sup>.

## TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÃO (TE)

A técnica de TE consiste em depositar o embrião, oriundo de genitores geneticamente selecionados, no trato reprodutivo de uma fêmea receptora, visando aumentar o número de animais de capacidade genética superior e de alta produtividade<sup>13</sup>, encurtando o intervalo de geração, estimulando o uso de testes genéticos de touros, além de proporcionar maior controle de doenças e melhora da fertilidade das doadoras<sup>54,55</sup>. Os embriões para TE originam-se tanto de produção *in vivo* quanto de produção *in vitro* (PIV), dos quais para auxílio da produção podem contar com o emprego das técnicas de superovulação (SOV), aspiração folicular (OPU), sexagem e criopreservação. Assim, o conjunto destas biotecnologias têm contribuído para um melhor desempenho dos rebanhos bovinos por favorecer a seleção e a propagação de animais de alto mérito genético<sup>56,57</sup>.

Embriões produzidos *in vivo* e *in vitro* podem ser transferidos as receptoras como embriões frescos ou congelados e descongelados<sup>58,59</sup>. Neste contexto, é válido destacar que os métodos de criopreservação de embriões bovinos vêm tornando a técnica de TE mais eficiente, não dependendo da disponibilidade imediata de receptoras<sup>60</sup>. Porém taxas de prenhez oriundas de embriões criopreservados são ligeiramente menores do que as alcançadas em embriões frescos<sup>61</sup>. Embriões produzidos *in vitro*, também apresentam menores taxas de prenhez comparados aos de produção *in vivo*<sup>61,58,57</sup>.

Na implementação do programa de TE é de extrema importância analisar aspectos relacionados à nutrição, manejo<sup>54,63</sup>, estágio de desenvolvimento



embrionário, sincronia do embrião-doadora-receptora e qualidade do embrião e do CL<sup>64-67</sup> pois, são fatores que afetam diretamente a taxa de prenhez e o uso desta tecnologia. Amplos estudos vêm sendo realizados para identificar e solucionar os pontos críticos que ainda limitam a técnica.

A ineficiência da detecção do estro em receptoras é um fator que limita a ampla aplicação dos programas de TE<sup>10</sup>. No intuito de evitar perdas associadas à detecção de estro e maior praticidade na técnica, utiliza-se protocolos hormonais para sincronização da ovulação em receptoras<sup>11</sup>, caracterizando a transferência de embrião em tempo fixo (TETF). Uma alternativa útil para aumentar o número de receptoras aptas ao programa de transferência<sup>10</sup>.

## TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÃO EM TEMPO FIXO (TETF)

A utilização de protocolos de sincronização da ovulação em bovinos, permitem a TE em período pré-determinado sem a necessidade de detecção de estro<sup>68</sup>. Os protocolos utilizados na TETF são basicamente, os desenvolvidos originalmente para IATF<sup>9,10</sup>, geralmente baseados em análogos do GnRH<sup>69</sup> e E2<sup>9</sup>, incluindo o uso por sete ou oito dias de dispositivo de P4<sup>63,70,71</sup>. Vários protocolos vêm sendo desenvolvidos, no intuito de melhorar as taxas de prenhez após a TETF<sup>72</sup>.

Atualmente os protocolos de TETF utilizados em receptoras baseiam-se no uso de dispositivo de P4 associado a aplicações de eCG, PGF2 $\alpha$ , E2 e análogos do GnRH<sup>11,73</sup>. Mudanças como, a administração de eCG, resultaram em aumento das taxas de prenhez e facilidade de execução<sup>10</sup>. Os avanços nos protocolos têm melhorado o manejo de doadoras e receptoras<sup>8</sup>. O protocolo mais comum, consiste na inserção de dispositivo de P4 e aplicação de 2 mg de BE no dia zero e retirada do dispositivo no dia sete ou oito, acompanhada da aplicação de PGF2 $\alpha$ , 300 a 400 UI de eCG e 0,5 ou 1 mg de CE. Após nove dias as receptoras com CL

recebem um embrião<sup>68</sup>. Protocolos baseados na redução do tempo de permanência do dispositivo de P4 e prolongamento do proestro com altos níveis de estrogênio, vem ganhando atenção<sup>74</sup> como o Co-Synch de cinco dias e J-Synch.

O protocolo Co-Synch de cinco dias (Quadro 1) é um tratamento baseado em GnRH e tem apresentado maiores taxas de prenhez do que os de protocolo Co-Synch de sete dias (tradicional)<sup>75</sup>. Tem se levantado hipóteses da necessidade de aumentar a dose de PGF2 $\alpha$  no protocolo<sup>76-78</sup>, no entanto, ainda não é estabelecida a real necessidade do aumento, podendo não ser necessária em determinadas circunstâncias<sup>74</sup>. Bons resultados foram obtidos com o uso do eCG no protocolo de Co-Synch de cinco dias, em vacas em anestro pós-parto e baixo ECC<sup>74,79</sup>.

O protocolo denominado J-Synch (Quadro 1) é baseado na redução para seis dias no período de exposição do dispositivo de P4 e prolongamento do proestro pela administração de GnRH 72 horas após a remoção do dispositivo P4, em vez de CE na remoção do dispositivo<sup>80</sup>. Recomenda-se a administração de eCG ao utilizar protocolo J-Synch em animais em anestro, baixo ECC e receptoras de embriões<sup>74</sup>. Ao comparar com protocolo tradicional, tem se obtido melhor taxa de prenhez em TETF em novilhas de corte com protocolo J-Synch<sup>81-83</sup>.

O uso de protocolos que permitam a transferência de embriões sem a necessidade de detecção de estro, ou seja TETF, tem se apresentado como uma alternativa útil na transferência comerciais de embriões bovinos<sup>85</sup>, auxiliando na otimização da técnica. No entanto, a efetividade da TETF pode sofrer influência de outros fatores relacionados aos embriões, animais e seu manejo<sup>12,86-89</sup>.

**Quadro 1.** Protocolo Co-Synch de cinco dias e protocolo J-Synch.

Nome	Esquema	Recomendações
Convencional		<p>Em novilhas recomenda-se a aplicação de 300 UI de eCG e 1 mg de BE após a retirada do dispositivo intravaginal de P4.</p>
CO-Synch de 5 dias		<p>Intervalo de 60 a 66 horas entre a retirada do dispositivo de P4 e o GnRH em novilhas e 72 horas em vacas.</p> <p>Indica-se realizar eCG em fêmeas em anestro e escore corporal baixo e uma segunda dose de PGF2α na retirada do implante ou seis a doze horas após.</p>
Protocolo J-Synch		<p>Intervalo de 60 a 72 horas entre a retirada do dispositivo de P4 e o GnRH em novilhas de corte. Indica-se realizar eCG (300 UI em novilhas e 360 UI em vacas) em fêmeas em anestro, escore corporal baixo e receptoras de embrião.</p>

GnRH: Hormônio liberador de gonadotrofina, P4: Progesterona, PGF2α: prostaglandina F2α (0,50 mg cloprostenol sódico ou 0,25 mg de dinoprost trometamina), BE: Benzoato de estradiol, eCG: Gonadotrofina Coriônica Equina, TETF: Transferência de embrião em tempo fixo. (Fonte: Adaptado de Pérez-Mora et al.<sup>57</sup>, Pontes et al.<sup>62</sup>, Bó et al.<sup>74</sup>, Menchaca et al.<sup>81-83</sup>, Cruppe et al.<sup>84</sup>).



## ■ Fatores que influenciam na taxa de prenhez

Após a obtenção dos embriões é necessário avaliar as receptoras aptas a receberem os embriões para alcançar o maior número de gestações<sup>85</sup>. Além da seleção de receptoras com CL, uma alternativa que vem sendo utilizada na avaliação de receptoras é a perfusão sanguínea luteal no momento da transferência, através da ultrassonografia Doppler<sup>90-93</sup> nos modos Color e Power-Doppler (Figura 6) através de mensurações subjetivas ou objetivas<sup>45</sup>, permitindo a seleção de receptoras com maior perfusão sanguínea luteal, aumentando a chance de sucesso na TETF<sup>48</sup>.

Normalmente as taxas de concepção observadas após a transferência em receptoras de boa qualidade, variam entre 30 e 60%<sup>54,94,95</sup>. Maiores taxas de gestação são associadas à qualidade dos embriões transferidos, sendo de excelente e boa qualidade<sup>58,96</sup>. Diversos fatores contribuem para o sucesso na concepção da receptora na TE e para manutenção do embrião/feto a termo, dos quais, estão associados ao embrião, à receptora e ao técnico da TE, ou de interação entre esses fatores<sup>85</sup>. Aspectos relacionados à nutrição e manejo, categoria e aptidão da receptora, estágio de desenvolvimento, qualidade e tipo de produção do embrião, uso de

embrião congelado ou fresco, local de depósito do embrião no útero, sincronia embrião-doadora-receptora, qualidade do corpo lúteo, nível de dificuldade da transferência e a experiência do operador, refletem na taxa de prenhez em TETF<sup>55,97</sup>.

A habilidade e experiência do operador com a técnica de transferência é de extrema importância para bons resultados. Quanto mais tempo o inovidador de transferência permanece no útero, maior a tendência de redução das taxas de gestação<sup>98</sup>, associada a possíveis traumas e inflamação no endométrio<sup>99</sup>. Fatores nutricionais, também podem interferir nos resultados<sup>85</sup>. As melhores taxas de prenhez na TETF são obtidas em receptoras com melhores ECC<sup>100</sup> e bem nutridas, pois à má nutrição compromete a função reprodutiva pela priorização do uso metabólico da energia disponível<sup>85,101</sup>. Portanto é importante que receptoras não estejam em balanço energético negativo (vacas de leite) e com baixo ECC (ECC < 2, na escala de 1 a 5), principalmente nos primeiros 45 dias após a transferência<sup>57,100</sup>.

Os embriões classificados com índice de qualidade Código I e Código II (Figura 7) são considerados transferíveis, podendo haver variações nas taxas de gestação após a transferência<sup>5</sup>. Embriões de melhor qualidade estão associados a menor morte embrionária, neste contexto, maiores taxas de concepção são relata-

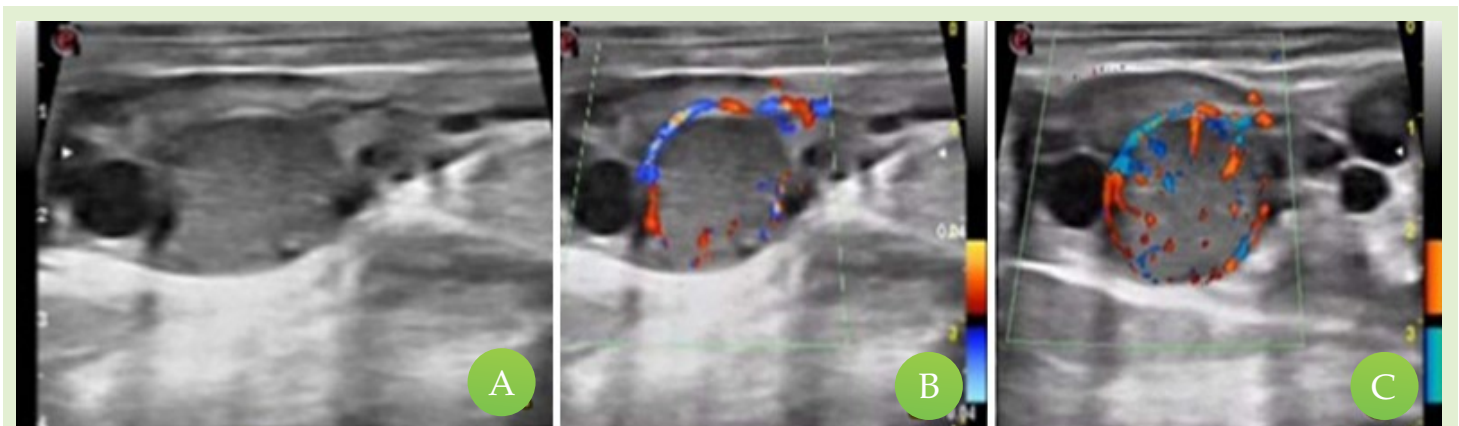


Figura 6. Imagens ultrassonográficas de ovário bovino apresentando corpo lúteo e folículos. (A) Imagem em modo B (brilho e escala de cinza) e (B e C) imagem em modo Doppler<sup>45</sup>.

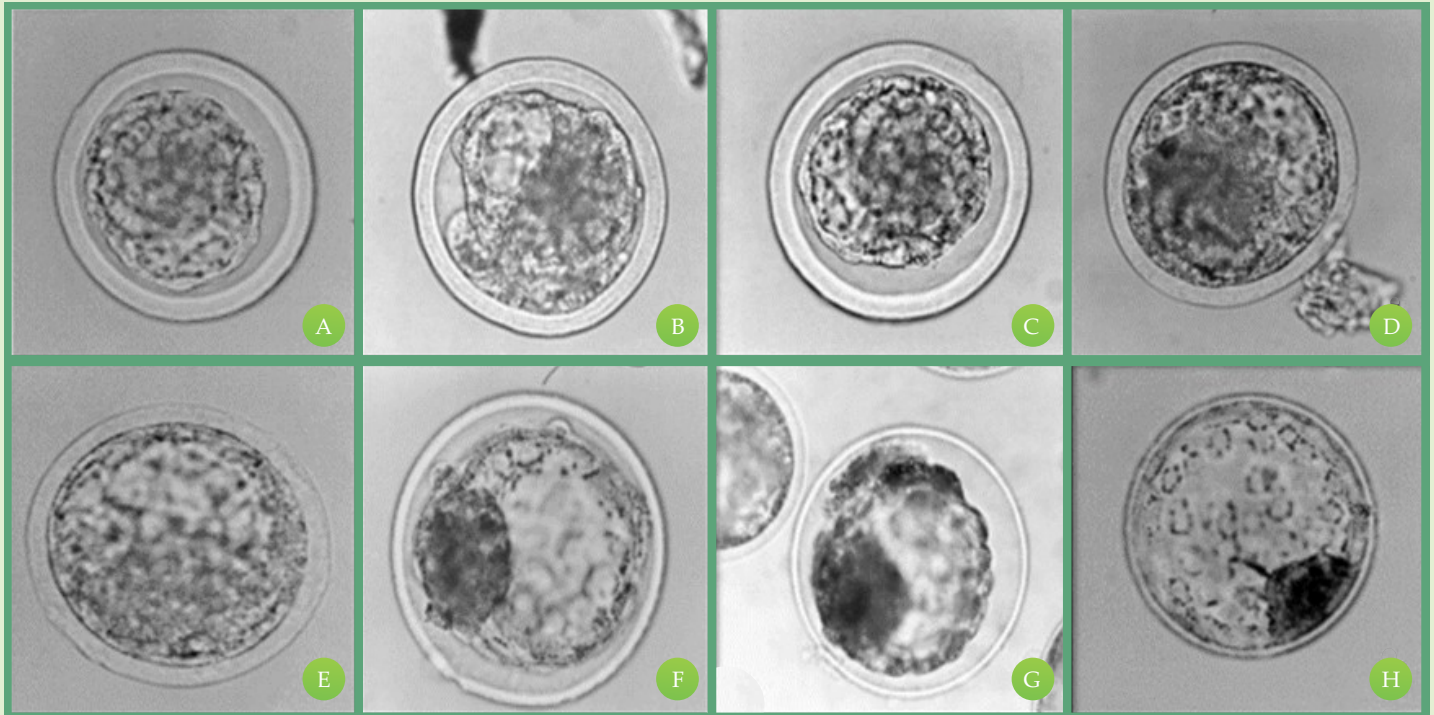


Figura 7. Embriões classificados com índice de qualidade código I e II. (A) D7, E5 e Q1, (B) D7, E5 e Q2, (C) D7,5, E5 e Q1 (D) D7,5, E6 e Q1, (E) D7,5, E6 e Q1, (F) D7,5, E7 e Q1, (G) D7,5, E7 e Q2 e (H) D7,5, E7 e Q2. Legenda: Dia= D, Estágio= E e Qualidade= Q (Fonte: Adaptado de Bó & Mapletoft<sup>5</sup>).

das em transferência de embriões Código I que em embriões Código II<sup>55</sup>. Ainda, embriões congelados apresentam menor prenhez que embriões frescos<sup>102</sup>.

O amplo estudo realizado nos últimos anos e avanços nos protocolos de sincronização, proporcionaram aumento na utilização de receptoras e TETF<sup>68</sup>, maior implantação em rebanhos comerciais de corte e de leite e auxílio em problemas reprodutivos, como redução de fertilidade por estresse térmico<sup>63</sup>. Ainda, têm sido fundamentais para o desenvolvimento da indústria de embriões produzidos *in vitro*<sup>68</sup>.



## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O aumento da eficiência na utilização dos protocolos hormonais permitiu o avanço do uso de biotecnologias reprodutivas, com destaque à IATF, TETF e nos programas de ressincronização, nos rebanhos de corte e leite. A diversidade de protocolos e biotécnicas disponíveis atualmente, permite a implantação destas nos mais diferentes contextos e realidades, resultando em melhora na eficiência reprodutiva das fêmeas, no ganho genético e na produtividade do rebanho. Assim espera-se que haja uma intensificação da utilização destas biotécnicas de modo a mudar o cenário atual, uma vez que a maior parte dos rebanhos ainda se utilizam de manejo reprodutivo com monta natural.

## REFERÊNCIAS

1. BARUSELLI, P.S. et al. Challenges to increase the AI e ET markets in Brazil. *Animal Reproduction*, v.16, n.3, p.364-375, 2019.
2. BARUSELLI, P.S. et al. Genetic market in cattle (Bull, AI, FTAI, MOET and IV) financial payback based on reproductive efficiency in beef and dairy herds in Brazil. *Animal Reproduction*, v.15, n.3, p.247-255, 2018.
3. BARUSELLI, P.S. et al. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. *Animal Reproduction Science*, v.82, p.479-486, 2004.
4. LAMB, G.C.; MERCADANTE, V.R.G. Synchronization and artificial insemination strategies in beef cattle. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, v.32, n.2, p.335-334, 2016.
5. BÓ, G.A.; MAPLETOFT, R.J. Evaluation and classification of bovine embryos. *Animal Reproduction*, v.10, n.3, p.344-348, 2013.
6. SHAHZAD, A.H. et al. Synchronization and resynchronization as a novel approach for improving reproductive performance of postpartum dairy cows. *Pakistan Journal of Zoology*, v.51, n.2, p.511-520, 2019.
7. MARQUES, M.O. et al. Influence of category-heifers, primiparous and multiparous lactating cows-in a large-scale resynchronization fixed-time artificial insemination program. *Journal of Veterinary Science*, v.16, n.3, p.367-371, 2015.
8. BARUSELLI, P.S. Timed embryo transfer programs for management of donor and recipient cattle. *Theriogenology*, v.76, n.9, p.1583-1593, 2011.
9. BÓ, G.A. et al. The control of follicular wave development for self-pointed embryo transfer programs in cattle. *Theriogenology*, v.57, n.1, p.53-72, 2002.
10. BÓ, G.A. et al. Treatments for the synchronization of bovine recipients for fixed-time embryo transfer and improvement of pregnancy rates. *Reproduction, Fertility and Development*, v.24, n.1, p.272-7, 2012.
11. MEDEIROS, M.N. et al. Estratégia de protocolo hormonal baseado na antecipação de PGF2 $\alpha$  para melhorar a eficiência reprodutiva em vacas leiteiras submetidas a transferência de embriões em tempo fixo (TETF). *Research, Society and Development*, v.10, n.6, e10510615382, 2021.



12. BARUSELLI, R.M. et al. Bovine embryo transfer recipient synchronization and management in tropical environments. *Reproduction, Fertility and Development*, v.22, n.1, p.67-74, 2010.
13. HASLER, J.F. Forty years of embryo transfer in cattle: a review focusing on the journal *Theriogenology*, the growth of the industry in North America, and personal reminiscences. *Theriogenology*, v.81, n.1, p.152-69, 2014.
14. IRELAND, J.J. et al. Historical perspective of turnover of dominant follicles during the bovine estrous cycle: key concepts, studies, advancements and terms. *Journal Dairy Science*, v.83, n.7, p.1648-1658, 2000.
15. BÓ, G.A.; BARUSELLI, P.S. Synchronization of ovulation and fixed-time artificial insemination in beef cattle. *Animal*, v.8, Supl.1, p.144-150, 2014.
16. BÓ, G.A. et al. Ovarian follicular wave emergence after treatment with progestogen and estradiol in cattle. *Animal Reproduction Science*, v.39, n.3, p.193-204, 1995.
17. BARUSELLI, P.S. et al. Manipulação hormonal do estro e da ovulação. In: CURSO À DISTÂNCIA DE MANIPULAÇÃO DO CICLO ESTRAL EM BOVINOS DE CORTE, 1, Módulo 3, 2004, Lavras. *Anais...* Lavras: Universidade Federal de Lavras, p.6-9, 2004.
18. KIM, I.H.; KIM, U.H. Comparison of the effect of estradiol benzoate plus progesterone and GnRH on the follicular wave emergence and subsequent follicular development in CIDR-treated, lactating dairy cows with follicular cysts. *Animal Reproduction Science*, v.98, n.3-4, p.197-203, 2007.
19. SÁ FILHO, M.F. et al. Strategies to improve pregnancy per insemination using sex-sorted semen in dairy heifers detected in estrus. *Theriogenology*, v.74, n.9, p.1636-1642, 2010.
20. 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*, v.129, n.3-4, p.132-139, 2011.
21. KASTELIC, J.P. et al. Effect of day of prostaglandin F2 $\alpha$  treatment on selection and development of the ovulatory follicle in heifers. *Animal Reproduction Science*, v.23, n.3, p.169-180, 1990.
22. KASTELIC, J.P. et al. Synchronization of estrus in beef cattle with norgestomet and estradiol valerate. *Canadian Veterinary Journal*, v.40, n.3, p.173-178, 1999.
23. MACMILLAN, K.L.; PETERSON, A.J. A new intravaginal progesterone releasing device for cattle (CIDR-B) for oestrous synchronisation, increasing pregnancy rates and the treatment of post-partum anoestrus. *Animal Reproduction Science*, v.33, n.1-4, p.1-25, 1993.
24. PERES, R.F. et al. Strategies to improve fertility in *Bos indicus* postpubertal heifers and nonlactating cows submitted to fixed-time artificial insemination. *Theriogenology*, v.72, n.5, p.681-689, 2009.
25. TORRES, J.R. et al. 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. *Animal Reproduction Science*, v.151, n.1-2, p.9-14, 2014.
26. MOROTTI, F. et al. Fixed-time artificial insemination using injectable progesterone: ovarian follicular





- dynamics and pregnancy rates of Nelore cows (*Bos indicus*) with and without a corpus luteum. *Semina: Ciências Agrárias*, v.34, n.2, p.3867-3875, 2013.
27. MOROTTI, F. et al. Ovarian follicular dynamics of Nelore (*Bos indicus*) cows subjected to a fixed-time artificial insemination protocol with injectable progesterone. *Semina: Ciências Agrárias*, v.34, n.2, p.3859-3866, 2013.
28. RODRIGUES, W.B. et al. Timed artificial insemination plus heat II: gonadorelin injection in cows with low estrus expression scores increased pregnancy in progesterone/estradiol-based protocol. *Animal*, v.13, n.10, p.2313-2318, 2019.
29. FERNANDES, P. et al. Timed artificial insemination in beef cattle using GnRH agonist, PGF2alpha and estradiol benzoate (EB). *Theriogenology*, v.55, n.7, p.1521-1532, 2001.
30. MURPHY, B.D.; MARTINUK, S.D. Equine chorionic gonadotropin. *Endocrine Reviews*, v.12, n.1, p.27-44, 1991.
31. SOUMANO, K. et al. Follicular 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase and cytochromes P450 17 alpha-hydroxylase and aromatase messenger ribonucleic acids in cattle undergoing superovulation. *Biology of Reproduction*, v.55, n.6, p.1419-26, 1996.
32. BARREIROS, T.R. et al. Dynamics of follicular growth and progesterone concentrations in cyclic and anestrous suckling Nelore cows (*Bos indicus*) treated with progesterone, equine chorionic gonadotropin, or temporary calf removal. *Theriogenology*, v.81, n.5, p.651-656, 2014.
33. ERENO R.L. et al. Taxa de prenhez de vacas Nelore lactantes tratadas com progesterona associada à remoção temporária de bezerros ou aplicação de gonadotrofina coriônica equina. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.36, n.5, p.1288-1294, 2007.
34. MENEGHETTI, M.V.E.R.; VASCONCELOS, J.L.M. Efeito da remoção temporária dos bezerros nos folículos dominantes e na taxa de ovulação ao primeiro GnRH em protocolos de sincronização em vacas Nelore em anestros. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.25, p.286-288, 2001.
35. EL-ZARKOUNY, S.Z.S.J. S. Resynchronizing estrus with progesterone or progesterone plus estrogen in cows of unknown pregnancy status. *Journal of Dairy Science*, v.87, n.10, p.3306-3321, 2004.
36. GALVÃO, K.N. et al. Evaluation of methods of resynchronization for insemination in cows of unknown pregnancy status. *Journal of Dairy Science*, v.90, n.9, p.4240-4252, 2007.
37. CAMPOS, J.T. et al. Resynchronization of estrous cycle with eCG and temporary calf removal in lactating *Bos indicus* cows. *Theriogenology*, v.80, n.6, p.619-23, 2013.
38. 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*, v.109, n.1-4, p.77-87, 2008.
39. STEVENSON, J.S. et al. Resynchronization of estrus in cattle of unknown pregnancy status using estrogen, progesterone, or both. *Journal of Animal Science*, v.81, n.7, p.1681-1692, 2003.
40. SÁ FILHO, M.F. et al. Resynchronization with unknown pregnancy status using progestin-based timed artificial insemination protocol in beef cattle.



*Theriogenology*, v.81, n.2, p.284-290, 2014.

41. PUGLIESI, G. et al. A novel strategy for resynchronization of ovulation in Nelore cows using injectable progesterone (P4) and P4 releasing devices to perform two time inseminations within 22 days. *Reproduction Domestic Animal*, v.54, n.8, p.1149-1154, 2019.

42. BARTOLOME, J.A. et al. Resynchronization of ovulation and timed insemination in lactating dairy cows, II: assigning protocols according to stages of the estrous cycle, or presence of ovarian cysts or anestrus. *Theriogenology*, v.63, n.6, p.1628-42, 2005.

43. CHEBEL, R.C. et al. Effect of resynchronization with GnRH on day 21 after artificial insemination on pregnancy rate and pregnancy loss in lactating dairy cows. *Theriogenology*, v.60, n.8, p.1389-1399, 2003.

44. ATAIDE JUNIOR, G.A. et al. Early synchronization of follicular wave emergence among Nelore cattle using injectable and intravaginal progesterone for three timed artificial inseminations. *Animal Reproduction Science*, v.229, 106759, 2021.

45. PUGLIESI, G. et al. Uso da ultrassonografia Doppler em programa de IATF e TETF em bovinos. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.41, n.1, p.140-150, 2017.

46. SIQUEIRA, L.G.B. et al. Color Doppler flow imaging for the early detection of nonpregnant cattle at 20 days after timed artificial insemination. *Journal of Dairy Science*, v.96, p.6461-6472, 2013.

47. BARUSELLI, P.S. et al. Timed artificial insemination: current challenges and recent advances in reproductive efficiency in beef and dairy herds in Brazil. *Animal Reproduction*, v.14, n.3, p.558-571, 2017.

48. PUGLIESI, G. et al. Use of Doppler ultrasonography in embryo transfer programs: feasibility and field results. *Animal Reproduction*, v.15, n.3, p.239-246, 2018.

49. HASSAN, M. et al. Luteal blood flow measured by Doppler ultrasonography during the first three weeks after artificial insemination in pregnant and non-pregnant *Bos indicus* dairy cows. *Journal of Reproduction and Development*, v.65, n.1, p.29-36, 2018.

50. PINHEIRO, O.L. et al. Estrous behavior and the estrus-to-ovulation interval in Nelore cattle (*Bos indicus*) with natural estrus or estrus induced with prostaglandin F<sub>2</sub> or norgestomet and estradiol valerate. *Theriogenology*, v.49, n.3, p.667-681, 1998.

51. VIEIRA, L.M. et al. Resynchronization in dairy cows 13 days after TAI followed by pregnancy diagnosis based on corpus luteum vascularization by color doppler. *Animal Reproduction*, v.11, n.3, p.378, 2014.

52. CAVALIERI, J. et al. Comparison of two estrus synchronization and resynchronization treatments in lactating dairy cows. *Theriogenology*, v.62, n.3-4, p.729-47, 2004.

53. BOCCHI, A.L.T.R.A.; ALABUQUERQUE, L.G. Idade da vaca e mês de nascimento sobre o peso ao desmame de bezerros nelore nas diferentes regiões brasileiras. *Acta Scientiarum Animal Sciences*, v.26, n.4, p.475-482, 2004.

54. MAPLETOFT, R.J.; BO, G. Bovine embryo transfer. *International Veterinary Information Service Reviews in Veterinary Medicine*, v.9, p.1-66, 2016.

55. ERDEM, H. et al. Effect of embryo quality and developmental stages on pregnancy rate during fresh embryo transfer in beef heifers. *Tropical Animal Health*



and *Production*, v.52, n.5, p.2541-2547, 2020.

56. HANSEN, P.J. The incompletely fulfilled promise of embryo transfer in cattle-why aren't pregnancy rates greater and what can we do about it? *Journal of Dairy Science*, v.98, n.11, p.2888-2893, 2020.

57. PÉREZ-MORA, A. et al. Factors associated with pregnancy rate in fixed-time embryo transfer in cattle under humid-tropical conditions of México. *Animal Reproduction*, v.17, n.2, e20200007, 2020.

58. FERRAZ, P.A. et al. Factors affecting the success of a large embryo transfer program in Holstein cattle in a commercial herd in the southeast region of the United States. *Theriogenology*, v.86, n.7, p.1834-41, 2016.

59. JULON, D. et al. Factors affecting the pregnancy rate in transfers of embryos in crossbreed Brown Swiss. *Anatomy & Physiology*, v.5, n.2, p.101-104, 2018.

60. LEIBO, S.P.; MAPLETOFT, R.J. Direct transfer of cryopreserved cattle embryos in North America. In: PROCEEDINGS OF THE ANNUAL CONVENTION OF AMERICAN EMBRYO TRANSFER ASSOCIATION, 17, 1998, San Antonio. *Anais...* San Antonio: AETA, p.91-98, 1998.

61. MAPLETOFT, R.J. History and perspectives on bovine embryo transfer. *Animal Reproduction*, v.10, n.3, p.168-173, 2013.

62. PONTES, J.H.F. et al. Comparison of embryo yield and pregnancy rate between in vivo and in vitro methods in the same Nelore (*Bos indicus*) donor cows. *Theriogenology*, v.71, n.4, p.690-697, 2009.

63. BÓ, G.A. et al. Strategies to increment in vivo and in vitro embryo production and transfer in cattle. *Animal Reproduction*, v.16, n.3, p.411-422, 2019.

64. PEIXOTO, M.G.C.D. et al. Logistic regression analysis of pregnancy rate following transfer of *Bos indicus* embryos into *Bos indicus* and *Bos Taurus* heifers. *Theriogenology*, v.67, n.2, p.287-292, 2007.

65. LEAL, L.S. et al. Avaliação do corpo lúteo, contratilidade uterina e concentrações plasmáticas de progesterona e estradiol em receptoras de embriões bovinos. *Ciência Animal Brasileira*, v.10, n.1, p.174-183, 2009.

66. ANDRADE, G.A. et al. Fatores que afetam a taxa de gestação de receptoras de embriões bovinos produzidos in vitro. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.36, n.1, p.66-69, 2012.

67. SOUZA, N.S.; ABADE, C.C. Produção in vitro de embriões bovinos: etapas de produção e histórico no Brasil. *Ciência Veterinária UniFil.*, v.1, n.3, p.95-108, 2019.

68. BÓ, G.A.; CEDEÑO, A. Expression of estrus as a relevant factor in fixed-time embryo transfer programs using estradiol/progesterone-based protocols in cattle. *Animal Reproduction*, v.15, n.3, p.224-30, 2018.

69. AMBROSE, J.D. et al. Efficacy of timed embryo transfer with fresh and frozen in vitro produced embryos to increase pregnancy rates in heat-stressed dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, v.82, n.11, p.2369-2376, 1999.

70. HINSHAW, R.H. Formulating ET contracts. In: ANNUAL MEETING SOCIETY FOR THERIOGENOLOGY, 1999, Nashville. *Anais...* Nashville: Society for Theriogenology, p.399-404, 1999.

71. BÓ, G.A. et al. Tratamientos hormonales para inseminación artificial a tiempo fijo en bovinos para carne: algunas experiencias realizadas en Argentina. Segunda



parte. *Taurus*, v.15, p.17-32, 2002.

72. LUEDKE, F.E. et al. Aspectos da produção in vitro de embriões bovinos no Brasil - Revisão. *Pesquisa Agropecuária Gaúcha*, v.25, n.1-2, p.120-132, 2019.

73. MEDALHA, A.G. et al. Evaluation of intravaginal progesterone device, in until three uses, in fixed-time artificial insemination in "*Bos indicus*" females. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v.16, n.2, p.458-469, 2015.

74. BÓ, G.A. et al. Alternative programs for synchronizing and resynchronizing ovulation in beef cattle. *Theriogenology*, v.86, n.1, p.388-396, 2016.

75. WHITTIER, J.F. et al. Fertility in Angus cross beef cows following 5-day CO-Synch + CIDR or 7-day CO-Synch + CIDR estrus synchronization and timed artificial insemination. *Theriogenology*, v.80, n.9, p.963-969, 2013.

76. RABAGLINO, M.B. et al. Application of one injection of prostaglandin F2alpha in the five-day Co-Synch+CIDR protocol for estrous synchronization and resynchronization of dairy heifers. *Journal of Dairy Science*, v.93, n.3, p.1050-1058, 2010.

77. PETERSON, C. et al. Effects of one versus two doses of prostaglandin F2alpha on AI pregnancy rates in a 5-day progesterone-based, CO-Synch protocol in crossbred beef heifers. *Theriogenology*, v.75, n.8, p.1536-1542, 2011.

78. KASIMANICKAM, R. et al. Effect of the first GnRH and two doses of PGF2 in a 5-day progesterone-based CO-Synch protocol on heifer pregnancy. *Theriogenology*, v.81, n.6, p.797-804, 2014.

79. HUGUENINE, E. et al. Efeito da utilização de

protocolos CO-Synch de cinco dias combinados ou não com eCG em vacas amamentadas em anestro pós-parto. In: SIMPÓSIO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 10, 2013, Córdoba. *Anais... Córdoba: IRAC*, p.313, 2013.

80. DE LA MATA, J.J.; BÓ, G.A. Estrus synchronization and ovulation using protocols with estradiol benzoate and GnRH and reduced periods of insertion of a progesterone releasing device in beef heifers. *Taurus*, a.14, n.55, p.17-23, 2012.

81. MENCHACA, A. et al. Improvement of pregnancy rates by using the 6-day J-Synch protocol in recipient cows transferred with in vitro produced embryos. In: ANNUAL MEETING OF THE BRAZILIAN EMBRYO TECHNOLOGY SOCIETY, 29, 2015, Gramado. *Anais... Animal Reproduction*, v.12, n.3, p.653, 2015.

82. MENCHACA, A. et al. Improvements of the new J-Synch protocol used for fixed-time embryo transfer (FTET) in recipients transferred with in vitro produced embryos. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION, 18, 2016, Tours. *Anais... Tours: ICAR*, p.506, 2016.

83. MENCHACA, A. et al. Efecto de la prolongación del proestro en la fertilidad de los programas de IATF. In: SIMPOSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCIÓN ANIMAL, 12, 2017, Córdoba. *Anais... Córdoba: IRAC*, 2017.

84. CRUPPE, L.H. et al. The requirement of GnRH at the beginning of the 5-d CO-Synch + CIDR protocol in beef heifers. *Journal of Animal Science*, v.92, n.9, p.4198-4203, 2014.

85. JONES, A.L.; LAMB, G.C. Nutrition, synchronization, and management of beef embryo transfer recip-



- ients. *Theriogenology*, v.69, n.1, p.107-115, 2008.
86. MAPLETOFT, R.J. et al. Recent advances in the superovulation in cattle. *Reproduction Nutrition Development*, v.42, n.6, p.601-611, 2002.
87. BÓ, G.A. et al. The timing of ovulation and insemination schedules in superstimulated cattle. *Theriogenology*, v.65, n.1, p.89-101, 2006.
88. BARUSELLI, P.S. et al. Superovulation and embryo transfer in *Bos Indicus* cattle. *Theriogenology*, v.65, n.1, p.77-88, 2006.
89. VASCONCELOS, D.G.B. et al. Factors potentially affecting fertility of lactating dairy cow recipients. *Theriogenology*, v.65, n.1, p.192-200, 2006.
90. ACOSTA, T.J. et al. Changes in follicular vascularity during the first follicular wave in lactating cows. *Journal of Reproduction and Development*, v.51, n.2, p.273-280, 2005.
91. SIDDIQUI, M.A.R. et al. Blood flow in the wall of the preovulatory follicle and its relationship to pregnancy establishment in heifers. *Animal Reproduction*, v.113, n.1-4, p.287-292, 2009.
92. HERZOG, K. et al. Luteal blood flow is a more appropriate indicator for luteal function during the bovine estrous cycle than luteal size. *Theriogenology*, v.73, n.5, p.691-697, 2010.
93. GINTHER, O.J. et al. Blood flow to follicles and CL during development of the periovulatory follicular wave in heifers. *Theriogenology*, v.82, n.2, p.304-311, 2014.
94. SPELL, A.R. et al. Evaluating recipient and embryo factors that affect pregnancy rates of embryo transfer in beef cattle. *Theriogenology*, v.56, n.2, p.287-97, 2001.
95. SMITH, A.K.; GRIMMER, S.P. Pregnancy rates for Grade 2 embryos following administration of synthetic GnRH at the time of transfer in embryo-recipient cattle. *Theriogenology*, v.57, n.8, p.2083-2091, 2002.
96. BÉNYE, B. et al. The effect of internal and external factors on bovine embryo transfer results in a tropical environment. *Animal reproduction Science*, v.93, n.3-4, p.268-279, 2006.
97. JAGUSZESKI, M.Z. et al. Desempenho de receptoras de embriões Nelore produzidos in vitro. *Revista Caatinga*, v.32, n.4, p.1087-1091, 2019.
98. ROWE, R.F. et al. Embryo transfer in cattle: nonsurgical transfer. *American Journal of Veterinary Research*, v.41, n.7, p.1024-1028, 1980.
99. ODENSVIK, K. et al. Does mechanical manipulation of the reproductive organs cause a prostaglandin release in the heifer during embryo transfer? *Acta Veterinaria Scandinavica*, v.34, n.2, p.219-22, 1993.
100. MAPLETOFT, R.J. et al. Effects of clenbuterol, body condition and non-surgical embryo transfer equipment on pregnancy rates in bovine recipients. *Theriogenology*, v.25, n.1, p.172, 1986.
101. SHORT, R.E.; ADAMS, D.C. Nutritional and hormonal interrelationships in beef cattle reproduction. *Canadian Journal of Animal Science*, v.68, n.1, p.29-39, 1988.
102. ESTRADA-CORTÉS, E. et al. Fatores de embriões e vacas que afetam a gravidez por transferência de embriões para receptoras Holandesas lactantes



de múltiplos serviços. *Ciência animal translacional*, v.3, n.1,p.60-65,2019.