

Influência da progesterona injetável na taxa de prenhez e perda gestacional de fêmeas nelore de distintas categorias reprodutivas submetidas a inseminação artificial em tempo fixo*

Influence of Injectable Progesterone on the Pregnancy Rate and Gestational Loss of Nellore Females of Different Reproductive Categories Undergoing Fixed-Time Artificial Insemination

Jefferson Viana Alves Diniz¹, José Antonio Dell'Aqua Junior¹, Eunice Oba¹,
Rosano Ramos de Freitas², Renato Mesquita Peixoto³, Laine Oliveira Silva²,
Gerbson Francisco Nogueira Maia², Bruno Pena Carvalho⁴, Bárbara Loureiro⁵ & Rafael Augusto Satrapa²

ABSTRACT

Background: Progesterone (P4) is essential for embryonic development and maintenance of pregnancy when deficiency causes early embryonic loss. In this study, we investigated the ability of hormonal supplementation to improve the fertility of Nellore females subjected to fixed-time artificial insemination (IATF) protocols. Here, we evaluated the effect of long-acting injectable progesterone (iP4) supplementation in the D4 after IATF on pregnancy rate and pregnancy loss in Nellore females (*Bos taurus indicus*) from different reproductive categories in Western Amazonia.

Materials, Methods & Results: Eight hundred thirteen Nellore females from 5 farms were selected and distributed into 2 groups: control [GC; administration of 0.5 mL of 0.9% saline solution, intramuscularly - IM] (n = 407) and a group that received injectable progesterone (iP4) that was long-acting [GiP4; administration of 0.5 mL of iP4, 300 mg, via IM four days after IATF] (n = 406). Each group contained 3 subgroups: heifers, primiparous cows, and multiparous cows. Of the 407 animals in the CG, 103 were heifers, 107 primiparous, and 197 multiparous. Of the 406 animals in the GiP4 group, there were 101 heifers, 107 primiparous, and 198 multiparous. On a random day of the estrous cycle (D0), an intravaginal device containing 1 g of P4 and 2 mg of estradiol benzoate (BE) was inserted by intramuscular injection. On D8, the P4 device was removed and 150 µg of D-cloprostenol (PGF2α), 300 IU eCG, and 1 mg BE were administered IM. Cows were inseminated at D10, 48-52 h after procedure on D8. Pregnancy diagnosis was made between 35 and 40 days after insemination through ultrasound examination. Between 80 and 90 days after insemination, a new ultrasound examination was performed to assess early pregnancy loss. The data were processed using the SAS 9.2. The conception rate, pregnancy loss, and final conception rate were analyzed using PROC GLIMMIX according to groups (CG and GiP4), categories (heifers, primiparous and multiparous), and their interactions as variables. The differences in the means of least squares were adjusted using the Tukey-Kramer method. Statistical significance was defined as $P < 0.05$. The general conception rate was 46% (375/816). Regardless of the animal class, GiP4 animals (51.97%) had higher conception rates ($P < 0.05$) than CG (40.29%). In the subgroups (heifers, primiparous and multiparous cows), there was a difference ($P < 0.05$) between animals treated with iP4 (52.48%, 57.94%, and 48.48%, respectively) and those who were not (39.81%, 41.12%, and 40.10%, respectively). Gestational losses, regardless of the animal class, were higher in females in the CG (7.93%) [$P < 0.05$] compared to those in the GiP4 group (2.84%). Regardless of treatment with iP4, the percentage of gestational loss in heifers was significantly higher (10.64%) than that in primiparous and multiparous cows (3.77% and 2.86%, respectively). The final conception rates were higher in animals that received long-acting iP4, which increased the final pregnancy in all parity categories.

Discussion: In the present study, the use of iP4 increased the pregnancy rate in Nellore females, regardless of the category. Although there has been no consensus on the use of iP4, there is an agreement that increases in the pregnancy rate are related to the moment of exogenous P4 application. In addition to influencing the pregnancy rate, reduction in pregnancy losses is also attributed to iP4 treatment, a fact demonstrated in the present study, where animals treated with iP4 had a lower pregnancy loss rate than normally occurs in beef cattle. Supplementation with long-acting iP4 increased the pregnancy rate at D35-40, reduced pregnancy losses, and increased the conception rate on D80-90 days in Nellore females reared in the Western Amazon, regardless of the animal category.

Keywords: abortion, reproductive biotechnologies, *Bos taurus indicus*, pregnancy, progesterone supplementation.

Descritores: aborto, biotecnologias reprodutivas, *Bos taurus indicus*, gestação, suplementação de progesterona.

DOI: 10.22456/1679-9216.113632

Received: 6 May 2021

Accepted: 19 August 2021

Published: 2021

*Article based on a Dissertation submitted by the senior author in partial fulfillment of requirements for the Doctor's Degree. ¹Universidade Estadual Paulista "Julio Mesquita Filho" (UNESP), Botucatu, SP, Brazil. ²Universidade Federal do Acre (UFAC), Rio Branco, AC, Brazil. ³EMBRAPA Caprinos e Ovinos (CNPCO), Sobral, CE, Brazil. ⁴EMBRAPA Acre, Rio Branco, AC, Brazil. ⁵Universidade de Vila Velha (UVV), Vila Velha, ES, Brazil. CORRESPONDENCE: R.M. Peixoto [renatomiraima@gmail.com]. EMBRAPA Caprinos e Ovinos (CNPCO). Estrada Sobral - Groafrás. CEP 62010-970 Sobral, CE, Brazil.

INTRODUÇÃO

Estudos têm utilizado a suplementação hormonal para melhorar a fertilidade de vacas submetidas a protocolos de IATF [1,10,20,23]. Deficiências de P4 costumam ser uma das principais causas de perda embrionária precoce [12]. Além disso, ela atua controlando o ambiente uterino e é essencial no desenvolvimento embrionário e manutenção da gravidez [16,27].

Todavia, o uso de suplementação de progesterona injetável (iP4) de ação prolongada após a ovulação e fertilização é controverso, uma vez que incrementos nas taxas gestacionais atribuídas ao seu uso dependerá do momento da aplicação da progesterona após a ovulação [36]. Seu uso precoce (D3 após a ovulação), antes da formação completa do corpo lúteo (CL) pode ser prejudicial para os resultados da gestação, causando um CL menor e perda embrionária [8,18,19,35], se utilizado entre os D3 a D7 pós período de inseminação acarreta aumentos na taxa de gestação; por outro lado, se a suplementação ocorrer após o D7 não terá efeito [36].

Ressalta-se que o reconhecimento da gestação ocorre por volta do 15º ao 17º dia do ciclo estral. Esse processo é dependente da capacidade do conceito em produzir interferon-tau (IFNT), que também depende da concentração de P4 e da estimulação uterina [4]. Sabe-se ainda que novilhas podem ser mais férteis que outras categorias [9], vacas primíparas costumam apresentar maior dificuldade de emprenhar [13,17], e gestação em múltiparas é bastante variável [11,28].

Assim, objetivou-se avaliar o efeito da suplementação com progesterona injetável (iP4) de longa ação no D4 após a IATF na taxa de concepção e perda gestacional em fêmeas Nelore de distintas categorias reprodutivas na Amazônia Ocidental.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais e desenho experimental

Oitocentos e treze animais Nelore (*Bos taurus indicus*) de 5 fazendas foram utilizados no experimento, sendo 204 novilhas, 214 vacas primíparas e 395 vacas múltiparas. Os animais tinham entre 2 e 6 anos, não lactantes, em regime de pasto, com água e mineral (fósforo 60%) *ad libitum*. Eles foram pesados por meio de uma balança¹ sob a rampa. No geral, os animais apresentavam uma pontuação de condição corporal de $3,9 \pm 1,5$ (de 0-5 Escala 15) [29].

As fêmeas foram distribuídos em 2 grupos experimentais: grupo controle [GC; administração de 0,5 mL de solução fisiológica a 0,9%, via IM] com 407 animais, e grupo que recebeu progesterona injetável (iP4)² de longa ação [GiP4; administração de 0,5 mL de iP4², 300 mg, via IM 4 dias após a IATF] composto por 406 animais. Cada grupo continha 3 subgrupos (novilhas, vacas primíparas e vacas múltiparas), assim, dos 407 animais do grupo controle (GC), 103 eram novilhas, 107 primíparas e 197 vacas múltiparas; já os 406 animais do grupo que recebeu progesterona injetável (GiP4) continha 101 novilhas, 107 primíparas e 198 vacas múltiparas. A distribuição dos animais nos respectivos subgrupos ocorreu de forma homogênea levando em consideração a presença de corpo lúteo (CL) e o escore corporal.

O protocolo foi iniciado em dia aleatório do ciclo estral (D0) com a inserção de dispositivo intravaginal de primeiro uso contendo 1 g de P4² e 2 mg de benzoato de estradiol [BE - Bioestrogen^{®3} - IM]. No D8, o dispositivo P4² foi removido e 150 µg de D-Cloprostenol [PGF2α - Croniben^{®3}], 300 UI de gonadotrofina coriônica equina [eCG - Ecegon^{®3}] e 1 mg de BE3 foram administrados IM. As vacas foram inseminadas no D10, 48 a 52 h após o manejo do D8. No D14 os animais foram divididos nos 2 grupos experimentais.

Foram utilizados 3 touros (Aberdeen Angus de 4 a 8 anos de idade) com uso igualitário nas fazendas que compuseram o presente estudo e um único inseminador realizou todas as IATF. No D14 as fêmeas foram divididas aleatoriamente para receber 300 mg de iP4² de ação prolongada ou para estar no grupo de controle (sem suplementação).

O manejo sanitário do rebanho foi composto por protocolo vacinal para doenças reprodutivas, primeira dose no D0 (Fertiguard^{®4}), acompanhada de aplicação mineral injetável (Fosforal^{®5}); no D21 foi aplicado o reforço da vacina e realização do exame ginecológico por avaliação ultrassonográfica. O diagnóstico de gestação foi realizado entre os dias 35 e 40 (D35-40) pós inseminação por meio de exame ultrassonográfico (US, transdutor retal de 5,0 a 8,0 MHz, SSD 500)⁶. Entre 80 e 90 dias após a inseminação foi realizado um novo exame ultrassonográfico para avaliar a perda gestacional precoce.

Análise estatística

Os dados foram processados usando SAS 9.27. O efeito do peso corporal na gravidez dentro dos grupos em cada categoria foi analisado usando o procedimento GLM do SAS. As comparações individuais foram feitas usando a diferença de probabilidade (PDIF). A taxa de concepção, perda gestacional e a prenhez final foram analisadas usando PROC GLIMMIX⁷ com grupos (Controle e iP4), categorias (novilhas, primíparas e multíparas) e suas interações como variáveis. A matriz de variância foi bloqueada por fazenda (sujeito). As diferenças das médias dos mínimos quadrados foram ajustadas por Tukey-Kramer. Os resultados foram apresentados em tabelas de frequência. A significância foi definida em $P < 0,05$.

RESULTADOS

Não houve diferença significativa quando o peso médio dos animais dos grupos controle e iP4 foram comparados (Tabela 1). De forma semelhante, não foi observada diferença ($P > 0,05$) no peso médio dos animais dos subgrupos estudados (novilha, vacas primíparas e multíparas; Tabela 1).

Quando a taxa total de concepção dos animais foi analisada (Tabela 2), detectou um percentual de 46%. Ao efetuar a avaliação por grupo experimental, independente da classe animal estudada, observou-se que os animais do grupo iP4 (51,97%) apresentaram maiores taxas ($P < 0,05$), quando comparadas às do grupo controle (40,29%). Além disso, quando as fêmeas dos subgrupos foram

comparadas (novilhas, vacas primíparas e multíparas), foi observada diferença significativa entre as fêmeas tratadas (52,48, 57,94% e 48,48%, respectivamente) ou não (39,81%, 41,12% e 40,10%, respectivamente; Tabela 2) com iP4. Entretanto, esta diferença não foi observada ($P > 0,05$) quando as fêmeas dos subgrupos foram comparadas entre si, independente do tratamento (46,08%, 49,53% e 44,30%, respectivamente; Tabela 2).

Por sua vez, quando a perda gestacional total dos animais foi analisada (Tabela 3), independente da categoria animal, observou-se que as fêmeas do grupo controle (7,93%) apresentaram maiores taxas ($P < 0,05$), quando comparadas às do grupo iP4 (2,84%). De forma similar, quando as fêmeas dos subgrupos foram comparadas (novilhas, vacas primíparas e multíparas), foi observada menores taxas de perdas gestacionais entre as fêmeas tratadas (7,55%, 1,61% e 1,04%, respectivamente), em relação às do grupo controle (14,63%, 6,82% e 5,06 %, respectivamente), porém sem diferir estatisticamente ($P > 0,05$). Não obstante, independente do tratamento com iP4, a taxa de perda gestacional das novilhas foi significativamente maior (10,64%), quando comparada às das vacas primíparas e multíparas (3,77% e 2,86%, respectivamente; Tabela 3).

Ademais, as taxas de concepção final foram maiores nas fêmeas que receberam iP4 de longa ação. Quando as fêmeas foram divididas em categorias, a iP4 aumentou a prenhez final em todas as categorias de paridade (Tabela 4).

Tabela 1. Peso (kg) e escore de condição corporal (ECC) de fêmeas Nelore (*Bos taurus indicus*) de distintas categorias animal com prenhez diagnosticada ou não por avaliação ultrassonográfica nos D35-40 após inseminação artificial em tempo fixo (IATF) tratadas (iP4) ou não (controle) com 300 mg de progesterona injetável (iP4) de longa ação 4 dias após a IATF.

Categoria	Tratamento	Diagnóstico no D35-40	Peso Médio (kg)	ECC
Novilhas	GC	NP	296,27 ± 2.91	3,17 ± 0.28
Novilhas	GC	P	297,73 ± 3.58	3,16 ± 0.27
Novilhas	GiP4	NP	294,52 ± 3.31	3,17 ± 0.28
Novilhas	GiP4	P	297,07 ± 3.15	3,16 ± 0.27
Primíparas	GC	NP	405,53 ± 2.88	3,07 ± 0.43
Primíparas	GC	P	410,20 ± 3.45	3,08 ± 0.44
Primíparas	GiP4	NP	408,62 ± 3.41	3,08 ± 0.44
Primíparas	GiP4	P	413,17 ± 2.91	3,07 ± 0.43
Multíparas	GC	NP	584,33 ± 2.11	4,03 ± 0.40
Multíparas	GC	P	584,69 ± 2.58	4,04 ± 0.41
Multíparas	GiP4	NP	576,47 ± 2.27	4,03 ± 0.39
Multíparas	GiP4	P	586,82 ± 2.34	4,04 ± 0.40

ECC: Escore de Condição Corporal. GC: Grupo controle. GiP4: Grupo tratado com 300 mg de progesterona injetável após 4 dias da IATF. D35-40: dias após IATF. NP: Fêmeas não prenhas no D35-40 após IATF. P: Fêmeas prenhas no D35-40 pós IATF.

Tabela 2. Taxas de prenhez (%) nos D35-40 de fêmeas Nelore (*Bos taurus indicus*) de diferentes categorias animal, tratadas (iP4) ou não (controle) com 300 mg de progesterona injetável (iP4) de longa ação 4 dias após a inseminação artificial em tempo fixo (IATF).

	Total	Novilhas	Primíparas	Múltiparas
GC	40,29% ^a (164/407)	39,81% ^c (41/103)	41,12% ^e (44/107)	40,10% ^s (79/197)
GiP4	51,97% ^b (211/406)	52,48% ^d (53/101)	57,94% ^f (62/107)	48,48% ^b (96/198)
Total	46,12% (375/813)	46,08% (94/204)	49,53% (106/214)	44,30% (175/395)

GC: Grupo controle. GiP4: Grupo tratado com 300 mg de progesterona injetável após 4 dias da IATF. Letras minúsculas distintas na mesma coluna diferem ($P < 0,05$).

Tabela 3. Taxas de perda gestacional (%) entre os D80-90 após a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) de diferentes categorias animal, tratadas (iP4) ou não (controle) com 300 mg de progesterona injetável (iP4) de longa ação 4 dias após a IATF.

	Total	Novilhas	Primíparas	Múltiparas
GC	7,93% ^a (13/164)	14,63% (6/41)	6,82% (03/44)	5,06 % (04/79)
GiP4	2,84% ^b (06/211)	7,55% (04/53)	1,61% (01/62)	1,04 % (01/96)
Total	5,00% (19/375)	10,64% ^A (10/94)	3,77% ^B (4/106)	2,86% ^B (05/175)

GC: Grupo controle. GiP4: Grupo tratado com 300 mg de progesterona injetável após quatro dias da IATF. Letras maiúsculas distintas na mesma coluna diferem ($P < 0,05$). Letras minúsculas na mesma linha diferem ($P < 0,05$).

Tabela 4. Taxas de diagnóstico final de gestação (%) nos D80-90 após a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) em fêmeas Nelore (*Bos taurus indicus*) de distintas categorias animal recebendo (iP4) ou não (controle) 300 mg de progesterona injetável (iP4) de longa ação 4 dias após a IATF.

	Total	Novilhas	Primíparas	Múltiparas
GC	37,10% ^a (151/407)	33,98% ^c (35/103)	38,32% ^e (41/107)	38,07% ^s (75/197)
GiP4	50,49% ^b (205/406)	48,51% ^d (49/101)	57,01% ^f (61/107)	47,98% ^b (95/198)
Total	43,79% (356/813)	41,18% (84/204)	47,66% (102/214)	43,04% (170/395)

GC: Grupo controle. GiP4: Grupo tratado com 300 mg de progesterona injetável após 4 dias da IATF. Letras minúsculas distintas na mesma coluna diferem ($P < 0,05$).

DISCUSSÃO

Apesar da utilização de progesterona injetável (iP4) em protocolos de IATF com fins de otimizar a eficiência reprodutiva em um rebanho demonstrar resultados distintos [10,14,18,24,26], na presente pesquisa, embora a taxa de gestação encontrada seja considerada de baixa fertilidade, a utilização de iP4 aumentou a taxa de gestação, independente da categoria estudada. Esse achado pode ser atribuído à expressão de genes que favorecem o desenvolvimento embrionário e a produção de INFT quando níveis de P4 se elevam no momento propício para o estabelecimento da prenhez [34]. Ademais, mudanças no transcriptoma endometrial também são atuantes nesse processo de evolução embrionária [19].

Embora não se tenha um consenso sobre uso de iP4, há concordância que incrementos na taxa de gestação estão diretamente relacionados ao momento da aplicação de P4 exógena [36]. Ademais, ao se efetuar a suplementação de fêmeas Nelore no D5 após IATF com

iP4, consegue-se elevar a taxa de gestação em 8% [10]. Outros autores relataram que, ao administrarem iP4 no D4 pós inseminação conseguiu melhorar a fertilidade em bovinos de corte [25]. Ressalta-se ainda que, além do momento, o método e a duração do tratamento com iP4 são fatores que influenciam a fertilidade [32].

Entretanto, alguns estudos têm relatado que a administração precoce (D3) de iP4 tem desencadeado uma antecipação da luteólise, a qual é prejudicial a fertilidade do animal [3,22,24]. Pulsos precoces de prostaglandina endometrial que ocorrem por ativação de mecanismos uterinos e a formação de CL subfuncional propenso a regressão potencialmente são os responsáveis por essa antecipação luteolítica [3].

Salienta-se que o incremento nas taxas de gestação está relacionado à capacidade feminina em sintetizar e elevar a concentração plasmática de P4 [5]. No presente estudo, embora tenha-se trabalhado com distintas categorias reprodutivas que naturalmente

tendem a apresentar peculiaridades no âmbito da fertilidade [17], o uso de iP4 possibilitou aumentos na taxa de gestação, independente da categoria animal estudada. Neste sentido, o uso da iP4 passa a ser uma estratégia eficaz para incrementar a taxa de gestação, principalmente em animais com balanço energético negativo, seja no pós parto ou em função de manejo inadequado, o que influencia diretamente à reserva de hormônio luteinizante (LH), interferindo na ovulação e na formação de um CL saudável [7,13,17,30].

Além de influenciar a taxa de gestação, redução de perdas gestacionais também são atribuídas ao tratamento de iP4 [10], fato demonstrando no presente estudo, onde os animais tratados com iP4 tiveram uma taxa de perda gestacional inferior aos 5,8% que normalmente ocorre em bovinos de corte [28]. Como a P4 é essencial na manutenção da gestação [33], altas concentrações desse hormônio durante o reconhecimento materno possibilita o estabelecimento da gestação [15]. Dessa forma, a implementação no momento correto, de iP4 em protocolos de IATF melhora o ambiente uterino, permitindo o estabelecimento e a manutenção da gestação inicial, fase esta onde ocorre a maioria da mortalidade embrionária [29], causando prejuízos produtivos e econômicos. Mas salienta-se que na presente pesquisa a perda de gestação nos dias 80-90 foi reduzida pelo uso de iP4 de longa ação apenas quando as fêmeas foram analisadas como um total, pois quando separadas em cada categoria, este efeito positivo não foi observado.

Ao avaliar o fator paridade as maiores perdas gestacionais observadas em novilhas possivelmente devem-se a perdas embrionárias fetais, as quais podem ocorrer de forma precoce ou tardia [29]. Adicionalmente, sabe-se que o aumento da paridade tende a causar distúrbios reprodutivos capazes de afetar a fertilidade [31], porém nesse trabalho o uso de iP4 possibilitou perdas gestacionais reduzidas em vacas primíparas e multíparas, as quais apresentam distintas atividade lútea e funções ovarianas [6].

Na avaliação do diagnóstico final de gestação os resultados positivos advindo da suplementação com iP4 foi evidente, independente do fator paridade. Todavia, na literatura há relatos que benefícios do aumento da progesterona na fertilidade tendem a ocorrer somente em primíparas [21], pois os ciclos reprodutivos tendem naturalmente a reduzir a reserva de folículos primordiais de uma fêmea, os quais não aumentam após o nascimento e com o tempo ocorrem irregularidades na atividade

ovariana culminando com a possível falência [2]. E desse modo, infere-se que mesmo com fornecimento de iP4 fêmeas multíparas possam vir a apresentar menores índices de fertilidade em comparação com nulíparas e primíparas, mas no presente estudo isso não foi observado. Salienta-se que efeitos benéficos da suplementação com iP4 depende de alguns fatores como por exemplo, o escore de condição corporal (ECC) [10,25], assim o bom escore corporal dos animais que compuseram o presente estudo pode ter potencializado a ação de iP4.

Melhorar a fertilidade de novilhas e primíparas por meio do uso de iP4 de longa ação pode ser uma estratégia viável economicamente, pois novilhas quando não atingem a meta ideal de peso corporal adulto podem ter frequência de pulso de LH inadequada e comprometimento no desenvolvimento do corpo lúteo [11]. Enquanto, animais primíparas com maturação corporal ineficiente antes da primeira gestação, associada à produção de ordenha para o crescimento dos bezerras tendem a ter comprometimento de parâmetros férteis [9,12]. E nesta pesquisa, iP4 de ação prolongada potencialmente atuou aumentando a progesterona plasmática em animais com CL mal formado, devido à reserva insuficiente de LH.

CONCLUSÃO

A suplementação com iP4 de longa ação nas condições do presente estudo aumentou a taxa de gestação no dia 30, reduziu perdas gestacionais e elevou a taxa de gestação nos dias 80 a 90 em fêmeas Nelore criadas na Amazônia Ocidental, independente da categoria animal, a qual apenas teve relação com as perdas gestacionais, que de forma geral, foram maiores em novilhas.

MANUFACTURERS

¹Senagro Pecuária. Rio Verde, GO, Brazil.

²Botupharma Biotecnologia Animal. Botucatu, SP, Brazil.

³Biogénesis Bagó. Vinhedo, SP, Brasil.

⁴Virbac do Brasil Indústria e Comércio Ltda. São Paulo, SP, Brazil.

⁵Ourofino Saúde Animal. Cravinhos, SP, Brazil.

⁶Aloka Medical Equipment and Products. Tokyo, Japan.

⁷SAS Institute Incorporation. Cary, NC, USA.

Acknowledgments. To Federal Institute of Science and Technology of Acre (IFAC) and Botupharma, Botucatu, SP for donating long-acting P4; Cearense Foundation of Support for Scientific and Technological Development (FUNCAP) and the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) in the form of a scholarship awarded to RMP (project number 312900/2019-8).

Ethical approval. This work is part of the Thesis of the first author. The research project was approved by the Ethics Committee for the Use of Animals of Federal Institute of Science and Technology of Acre - IFAC under number 014/2018.

Declaration of interest. The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of the paper.

REFERENCES

- 1 Alvarez R.H., Pugliesi G., Natal F.L.N., Rocha C.C., Ataíde Júnior G.A., Melo A.J.F., Otzuk I.P., Oliveira C.A. & Humblot P. 2018. Reproductive performance of *Bos indicus* beef cows treated with different doses of equine chorionic gonadotropin at the end of a progesterone-estrogen based protocol for fixed-time artificial insemination. *Theriogenology*. 118: 150-156.
- 2 Akbarinejad, V., Gharagozlou F., Vojgani M. & Amirabadi M.M.B. 2018. Nulliparous and primiparous cows produce less fertile female offspring with lesser concentration of anti-Müllerian hormone (AMH) as compared with multiparous cows. *Animal Reproduction Science*. 197: 222-230.
- 3 Batista E.O.S., Cardoso B.O., Oliveira M.L., Cuadros F.D.C., Mello B.P., Sponchiado M., Monteiro B.M., Pugliesi G. & Binelli M. 2019. Supplemental progesterone induces temporal changes in luteal development and endometrial transcription in beef cattle. *Domestic Animal Endocrinology*. 68: 126-134.
- 4 Binelli M., Pugliesi G., Batista E.O.S., Martins T., Lopes E., Sponchiado M., Gonella-Díaz A., Oliveira M., França M.R., Cardoso B.O., Mello B.P., Gomes N.S., Latorraca L. & Cuadros F.C. 2017. Programming of uterine receptivity and fertility in cows. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*. 41: 121-129.
- 5 Bo G.A., Cutaia L., Chesta P. & Moreno D. 2004. The use of eCG to increase pregnancy rates in postpartum beef cows following treatment with progesterone vaginal devices and estradiol benzoate and fixed-time AI. *Reproduction, Fertility and Development*. 16: 127.
- 6 Bruinje, T.C., Gobikrushanth M., Colazo M.G. & Ambrose D.J. 2017. Dynamics of pre- and post-insemination progesterone profiles and insemination outcomes determined by an in-line milk analysis system in primiparous and multiparous Canadian Holstein cows. *Theriogenology*. 102: 147-153.
- 7 Campos J.T., Marinho L.S.R., Lunardelli P.A., Morotti F. & Seneda M.M. 2013. Resynchronization of estrous cycle with eCG and temporary calf removal in lactating *Bos indicus* cows. *Theriogenology*. 80: 619-623.
- 8 Carter F., Forde N., Duffy P., Wade M., Fair T., Crowe M.A., Evans A.C.O., Kenny D.A., Roche J.F. & Lonergan P. 2008. Effect of increasing progesterone concentration from Day 3 of pregnancy on subsequent embryo survival and development in beef heifers. *Reproduction, Fertility in Development*. 20: 368-375.
- 9 Ciccioli N.H., Wettemann R.P., Spicer L.J., Lents C.A., White F.J. & Keisler D.H. 2003. Influence of body condition at calving and postpartum nutrition on endocrine function and reproductive performance of primiparous beef cows. *Journal of Animal Science*. 81: 3107-3120.
- 10 Couto S.R.B., Guerson Y.B., Ferreira J.E., Silva O.R., Silencio L.N., Barbero R.P. & Mello M.R.B. 2019. Impact of supplementation with long-acting progesterone on gestational loss in Nelore females submitted to TAI. *Theriogenology*. 125: 168-172.
- 11 Diskin M.G. & Kenny D.A. 2014. Optimising reproductive performance of beef cows and replacement heifers. *Animal*. 8: 27-39.
- 12 Dunne L.D., Diskin M.G., Boland M.P., O'Farrell K.J. & Sreenan J.M. 1999. The effect of pre- and post-insemination plane of nutrition on embryo survival in beef heifers. *Animal Science*. 69: 411-417.
- 13 Fodor I., Gábor G., Lang Z., Abonyi-Tóth Z. & Ózsvári L. 2019. Relationship between reproductive management practices and fertility in primiparous and multiparous dairy cows. *Canadian Journal of Veterinary Research*. 83: 218-227.
- 14 Lonergan P. 2011. Influence of progesterone on oocyte quality and embryo development in cows. *Theriogenology*. 76: 1594-1601.
- 15 Lonergan P. & Forde N. 2015. The role of progesterone in maternal recognition of pregnancy in domestic ruminants. *Advances in Anatomy, Embryology, and Cell Biology*. 216: 87-104.
- 16 Lonergan P. & Sánchez J.M. 2020. Progesterone effects on early embryo development in cattle. *Journal of Dairy Science*. 103: 8698-8707.
- 17 Marques M.O., Morotti F., Silva C.B., Ribeiro Júnior M., Silva R.C.P., Baruselli P.S. & Seneda M.M. 2015. Influence of category-heifers, primiparous and multiparous lactating cows in a large-scale resynchronization fixed-time artificial insemination program. *Journal of Veterinary Science*. 16: 367-371.

- 18 Martins T., Pugliesi G., Sponchiado M., Cardoso B.O., Gomes N.S., Mello B.P., Celeghini E.C.C. & Binelli M. 2019. Supplementation with long-acting progesterone in early diestrus in beef cattle: I. effect of artificial insemination on onset of luteolysis. *Domestic Animal Endocrinology*. 67: 63-70.
- 19 Martins T., Pugliesi G., Sponchiado M., Cardoso B.O., Silva K.R., Celeghini E.C.C. & Binelli M. 2019. Supplementation with long-acting progesterone in early diestrus in beef cattle: II. Relationships between follicle growth dynamics and luteolysis. *Domestic Animal Endocrinology*. 68: 1-10.
- 20 Motta I.G., Rocha C.C., Bisinotto D.Z., Melo G.D., Ataíde Júnior G.A., Silva A.G., Gonzaga V.H.G., Santos J.A., Freitas B.G., Lemes K.M., Madureira L.H. & Pugliesi G. 2020. Increased pregnancy rate in beef heifers resynchronized with estradiol at 14 days after TAI. *Theriogenology*. 147: 62-70.
- 21 Nascimento A.B., Souza A.A., Guenther J.N., Dalla Costa F.P., Sartori R. & Wiltbank M.C. 2012. Effects of treatment with human chorionic gonadotrophin or intravaginal progesterone-releasing device after AI on circulating progesterone concentrations in lactating dairy cows. *Reproduction, Fertility and Development*. 25: 818-824.
- 22 O'Hara L., Forde N., Carter F., Rizos D., Maillo V., Ealy A.D., Kelly A.K., Rodriguez P., Isaka N., Evans A.C.O. & Lonergan P. 2014. Paradoxical effect of supplementary progesterone between day 3 and day 7 on corpus luteum function and conceptus development in cattle. *Reproduction, Fertility and Development*. 26: 328-336.
- 23 Pessoa G.A., Martini A.P., Carloto G.W., Rodrigues M.C.C., Claro Junior I., Baruselli P.S., Brauner C.C., Rubin M.I.B., Corrêa M.N., Leivas F.G. & Sá Filho M.F. 2016. Different doses of equine chorionic gonadotropin on ovarian follicular growth and pregnancy rate of suckled *Bos taurus* beef cows subjected to timed artificial insemination protocol. *Theriogenology*. 85: 792-799.
- 24 Pugliesi G., Oliveria M.L., Scolari S.C., Lopes E., Pinaffi F.V., Miagawa B.T., Paiva Y.N., Maio J.R.G., Nogueira G.P. & Binelli M. 2014. Corpus luteum development and function after supplementation of long-acting progesterone during the early luteal phase in beef cattle. *Reproduction in Domestic Animals*. 49: 85-91.
- 25 Pugliesi G., Santos F.B., Lopes E., Nogueira E., Maio J.R.G. & Binelli M. 2016. Improved fertility in suckled beef cows ovulating large follicles or supplemented with long-acting progesterone after timed-AI. *Theriogenology*. 85: 1239-1248.
- 26 Pugliesi G., Bisinotto D.Z., Mello B.F., Lahr F.C., Ferreira C.A., Melo G.D., Bastos M.R. & Madureira R.H. 2019. A novel strategy for resynchronization of ovulation in Nelore cows using injectable progesterone (P4) and P4 releasing devices to perform two timed inseminations within 22 days. *Reproduction in Domestic Animals*. 54: 1149-1154.
- 27 Pursley J. R., Mee O. & Wiltbank M.C. 1995. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2 α and GnRH. *Theriogenology*. 44: 915-923.
- 28 Reese S.T., Franco G.A., Poole R.K., Hood R., Montero L.F., Oliveira Filho R.V., Cooke R.F. & Pohler K.G. 2020. Pregnancy loss in beef cattle: A meta-analysis. *Animal Reproduction Science*. 212: 106251.
- 29 Richards M.W., Spitzer J.C. & Warner M.B. 1986. Effect of varying levels of postpartum nutrition and body condition at calving on subsequent reproductive performance in beef cattle. *Journal of Animal Science*. 62: 300-306.
- 30 Sá Filho, M.F., Marques M.O., Giroto R., Santos F.A., Sala R.V., Barbuio J.P. & Baruselli P.S. 2014. Resynchronization with unknown pregnancy status using progestin based timed artificial insemination protocol in beef cattle. *Theriogenology*. 81: 284-290.
- 31 Sasaki Y., Uematsu M., Kitahara G.O. & Osawa T. 2016. Reproductive performance of Japanese black cattle: association with herd size, season, and parity in commercial cow-calf operations. *Theriogenology*. 86: 2156-2161.
- 32 Silva, C.C., Gregianini H.A.G., Gregianini J.T.F., Dell'Aqua Júnior J.A., Diniz J.V.A., Maia G.F.N., Peixoto R.M. & Satrapa R.A. 2020. Influence of injectable progesterone on the pregnancy rate of heifers receiving bovine embryos. *Acta Scientiae Veterinariae*. 48: 1762.
- 33 Thatcher, W.W., Moreira F., Santos J.E.P., Mattos R.C., Lopes F.L., Pancarci S.M. & Risco C.A. 2001. Effects of hormonal treatments on reproductive performance and embryo production. *Theriogenology*. 55: 75-89.
- 34 Wiltbank M.C., Souza A.H., Carvalho P.D., Cunha A.P., Giordano J.O., Fricke P.M., Baez G.M. & Diskin M.G. 2014. Physiological and practical effects of progesterone on reproduction in dairy cattle. *Animal*. 8: 70-81.
- 35 Woelffer E.A. 1953. Use of progesterone to control habitual abortion in cattle. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 123: 505-507.
- 36 Yan L., Robinson R. & Shi Z. 2016. Efficacy of progesterone supplementation during early pregnancy in cows: A meta-analysis. *Theriogenology*. 85: 1390-1398.