

EFICIÊNCIA REPRODUTIVA E DINÂMICA FOLICULAR EM BÚFALAS SUBMETIDAS A TRÊS INDUTORES DE OVULAÇÃO

(Reproductive efficiency and follicular dynamics in buffaloes subjected to three ovulation inducers)

Leonardo Reis SILVA^{1*}; Gabriela Gonçalves LOBATO¹; Larissa Cristina Silva TEIXEIRA¹; Sebastião Tavares Rolim FILHO¹; Haroldo Francisco Lobato RIBEIRO¹; Manoelle Lobato LIMA²

¹Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), Av. Tancredo Neves, nº 2501 - Terra Firme. Cep: 68.904-660; ²Instituto Federal do Amapá (IFAP).

*E-mail: leoreisreis94@gmail.com

RESUMO

Este estudo avaliou o diâmetro folicular no dia da inseminação e a taxa de prenhez em búfalas submetidas a três indutores de ovulação: GnRH, benzoato de estradiol (BE) e cipionato de estradiol (CE), este último aplicado no nono dia do protocolo hormonal. O objetivo foi identificar a alternativa mais eficiente para a reprodução em búfalas. Foram utilizadas 69 búfalas da raça Murrah, avaliadas reprodutivamente e divididas em três grupos, cada um com protocolo distinto de sincronização da ovulação. A inseminação artificial foi realizada no 12º dia (GnRH e BE) e no 11º dia (CE), com mensuração do diâmetro folicular por ultrassonografia. O diagnóstico de gestação foi feito 30 dias após a IATF. As análises estatísticas foram realizadas no software R. Utilizou-se o teste t de Student pareado ($p < 0,05$) para o diâmetro folicular e o teste do qui-quadrado ($p > 0,05$) para a taxa de prenhez. As médias dos diâmetros foliculares e taxas de prenhez foram: $7,77 \pm 2,40$ mm e 29,41% (CE); $9,77 \pm 2,35$ mm e 30,76% (BE); $9,70 \pm 2,48$ mm e 34,61% (GnRH). Não houve diferença significativa na taxa de prenhez entre os grupos, mas BE e GnRH apresentaram maior diâmetro folicular que o CE. Conclui-se que os três indutores são viáveis em protocolos de sincronização para IATF em búfalas.

Palavras-chave: Búfalas, protocolo, indutores de ovulação, IATF.

ABSTRACT

This study evaluated follicular diameter on the day of insemination and pregnancy rate in buffaloes subjected to three ovulation inducers: GnRH, estradiol benzoate (EB), and estradiol cypionate (EC), the latter administered on the ninth day of the hormonal protocol. The objective was to identify the most efficient alternative for buffalo reproduction. A total of 69 Murrah buffaloes were used, reproductively evaluated and divided into three groups, each subjected to a distinct ovulation-synchronization protocol. Artificial insemination was performed on day 12 (GnRH and EB) and day 11 (EC), with follicular diameter measured by ultrasonography. Pregnancy diagnosis was conducted 30 days after FTAI. Statistical analyses were performed using R software. A paired Student's t-test ($p < 0.05$) was used to compare follicular diameters, and a chi-square test ($p > 0.05$) was used for pregnancy rates. Mean follicular diameters and pregnancy rates were: 7.77 ± 2.40 mm and 29.41% (EC); 9.77 ± 2.35 mm and 30.76% (EB); 9.70 ± 2.48 mm and 34.61% (GnRH). No significant difference was found in pregnancy rates among groups, but EB and GnRH showed larger follicular diameters compared to EC. It is concluded that the ~~at~~ three inducers are viable options in FTAI synchronization protocols in buffaloes.

Keywords: Buffaloes, protocol, ovulation inducers, TAI.

INTRODUÇÃO

A inseminação artificial em tempo fixo (IATF) é uma estratégia que proporciona a redução do intervalo entre partos (IEP), o diagnóstico precoce de gestação e uma resincronização imediata (PUGLIESI *et al.*, 2009). Além disso, o uso de hormônios exógenos em fêmeas bubalinas, tem se mostrado eficaz na indução da ciclicidade e na sincronização da

ovulação, favorecendo melhores taxas reprodutivas (BARUSELLI, 2001; BARUSELLI *et al.*, 2007; CARVALHO *et al.*, 2016).

Entre os hormônios utilizados na sincronização de fêmeas para inseminação artificial em tempo fixo (IATF), as gonadotrofinas, como o hormônio folículo-estimulante (FSH), o hormônio luteinizante (LH) e as gonadotrofinas exógenas, como a gonadotrofina coriônica equina (eCG/PMSG) e a gonadotrofina coriônica humana (hCG), desempenham papel essencial na estimulação e manutenção do crescimento do folículo dominante, favorecendo a ovulação e, conseqüentemente, elevando as taxas de concepção e gestação. Essa abordagem é especialmente benéfica para fêmeas em anestro, tanto vacas quanto novilhas (CARVALHO *et al.*, 2017). Os protocolos baseados em progesterona incluem a inserção de dispositivos intravaginais associados à administração de estradiol no início do ciclo estral. Após nove dias, o dispositivo é removido e é aplicada a prostaglandina (PGF2 α) e gonadotrofina coriônica equina (eCG), seguidas da administração de hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) para indução da ovulação e realização da IATF (BARUSELLI *et al.*, 2007).

Os protocolos de sincronização do estro e da ovulação geralmente incluem GnRH, LH ou ésteres de estradiol, que regulam o crescimento folicular ovariano e sincronizam a ovulação. Nas búfalas, a administração de GnRH induz a ovulação em aproximadamente 80% das fêmeas, o que é considerado um índice satisfatório para a sincronização da ovulação na IATF (BÓ *et al.*, 2018). O benzoato de estradiol (EB) também tem sido utilizado nos protocolos de inseminação artificial em tempo fixo, apresentando vantagens em relação ao GnRH, como menor custo, facilidade na programação dos tratamentos e maior tônus uterino, facilitando a inseminação (NEGLIA *et al.*, 2008; MIRMAHMOUDI *et al.*, 2014).

Evidências indicam que o benzoato de estradiol (EB) promove uma liberação mais intensa de LH em búfalas, tornando-se uma alternativa viável para o controle do crescimento folicular e a indução da ovulação na IATF (THATCHER *et al.*, 1996; BARUSELLI *et al.*, 2009; SÁ FILHO *et al.*, 2009; SALES *et al.*, 2012; MOHAN e PRAKASH, 2010; JACOMINI *et al.*, 2014; MIRMAHMOUDI *et al.*, 2014). O cipionato de estradiol (CE) também tem sido utilizado como indutor de ovulação em protocolo de três manejos em búfalas de várzea (WEILLER *et al.*, 2021).

Assim, este estudo teve como objetivo analisar os principais protocolos hormonais utilizados na sincronização da ovulação e no manejo reprodutivo de búfalas, destacando suas vantagens e limitações. Além disso, busca-se contribuir para a melhoria das taxas de concepção e promover o desenvolvimento da biotecnologia da reprodução.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais e local de estudo

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal Rural da Amazônia, sob o protocolo nº 066/2016 do CEUA e 23084.019476/2016-11 – UFRA. O experimento foi conduzido em duas propriedades rurais situadas em diferentes localidades: Fazenda Paraíso, localizada na zona rural de Abaetetuba, no estado do Pará, Brasil, e Fazenda Espírito Santo, situada no Distrito do Aporema, no estado do Amapá, Brasil. Foram selecionadas 69 búfalas multíparas (*Bubalus bubalis*) da raça Murrah para o experimento.

Os animais foram identificados, submetidos a exame ginecológico, inspeção e avaliação geral e, posteriormente, separados por lotes e distribuídos em três grupos, de acordo com suas respectivas localidades. Dois grupos, compostos por 26 fêmeas cada, pertenciam à Fazenda Espírito Santo, enquanto um grupo, com 17 fêmeas, pertencia à Fazenda Paraíso, localizada no município de Abaetetuba. As búfalas pertenciam a diferentes categorias produtivas da bubalinocultura, abrangendo animais destinados à produção de leite, de carne e à reprodução. Todas eram criadas em regime extensivo, em pastagens nativas do gênero *Brachiaria*, sendo o mesmo tipo de pastagem presente em ambas as propriedades. Em ambas as propriedades, os animais tiveram acesso à água e ao suplemento mineral *ad libitum*.

Durante a etapa de seleção, os animais foram submetidos a exames ginecológicos por meio de palpação retal e ultrassonografia transretal, utilizando um ultrassom veterinário DP- 10 Vet Power Mindray, equipado com transdutor linear, com o objetivo de identificar problemas reprodutivos e determinar a ciclicidade dos animais, excluindo os inviáveis para o experimento.

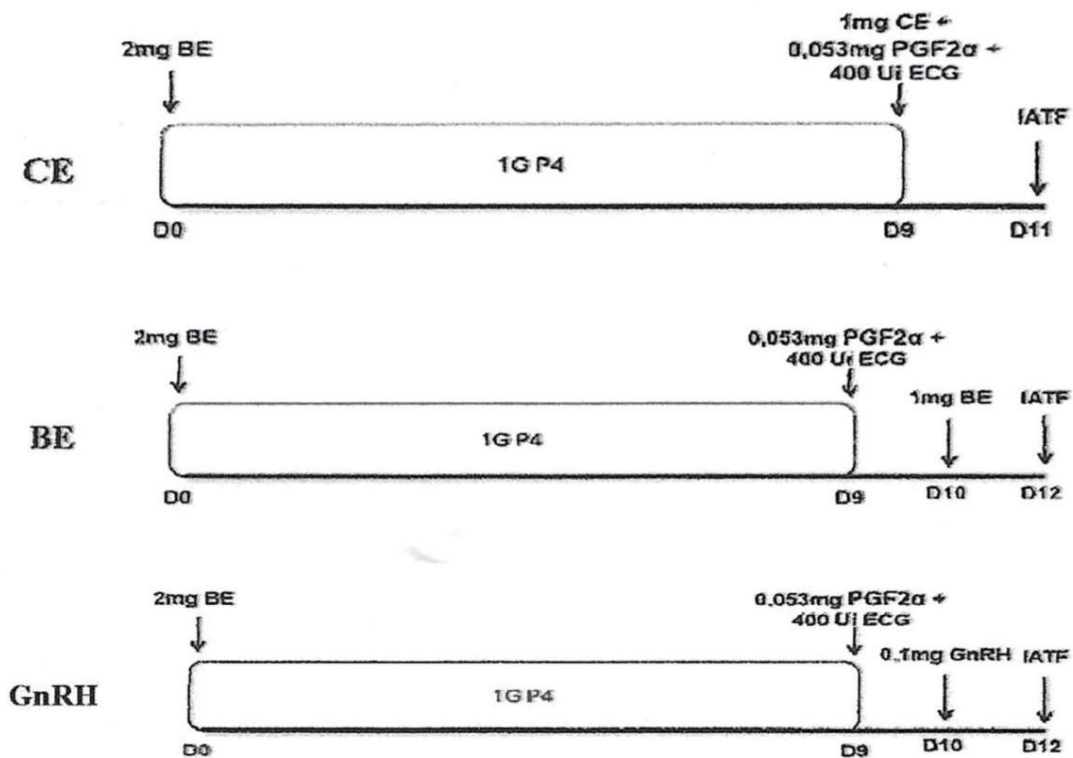
Além disso, as búfalas foram classificadas quanto ao escore de condição corporal (ECC), utilizando-se uma escala de 1 a 5 (onde 1 muito magro e 5 muito gordo). Apenas os animais que apresentaram $ECC \geq 2,5$ e ausência de anormalidades reprodutivas foram considerados aptos a participar do estudo. Todos os animais estavam em conformidade com o protocolo de vacinação estabelecido pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e possuíam calendário de vermifugação atualizado.

Protocolos de sincronização da ovulação

Os animais foram submetidos aos seguintes protocolos de sincronização (Fig. 01): o grupo 1 com 17 animais, no D0 (dia zero) recebeu dispositivo intravaginal de progesterona monodose (P4, DIB[®], ZOETIS, São Paulo, Brasil), associado a 2,0 mg de Benzoato de estradiol (BE, Gonadiol[®], São Paulo, Brasil), por via intramuscular (im). No D9 (dia nove) pela manhã, ocorreu a retirada do implante de progesterona (P4) e administração intramuscular 0,5mg de prostaglandina sintética 50% cloprostenol sódico (Estron[®], Agener, união química), seguido de 400 UI de gonodotrofina coriônica equina (eCG - Ecegon[®], Biogenesis) e 0,5mg de cipionato de estradiol (FertilCare[®] Ovulação, MSD saúde animal). No D11 (dia onze) pela manhã foi realizada a inseminação.

Do grupo 2, com 26 animais no D0 (dia zero) foi inserido o dispositivo intravagina de progesterona monodose (P4, DIB[®], ZOETIS, São Paulo, Brasil) e foi administrado por via intramuscular (im) 2,0 mg de benzoato de estradiol (BE, Gonadiol[®], São Paulo, Brasil). No D9 (dia nove), foi retirado do implante de P4 e aplicado 400 UI de gonodotrofina coriônica equina (eCG - Ecegon[®], Biogenesis). No D10 (dia dez), foi aplicado 1,0mg de benzoato de estradiol (BE, Gonadiol[®], São Paulo, Brasil). Neste grupo não foi realizado o GnRH. No D12 (dia doze) foi realizada a inseminação.

Do grupo 3 com 26 animais, no D0 receberam o dispositivo intravaginal de progesterona monodose (P4, DIB[®], ZOETIS, São Paulo, Brasil) seguido da aplicação por via intramuscular (im) 2,0mg de benzoato de estradiol (BE, Gonadiol[®], São Paulo, Brasil). No D9, foi retirado o implante de P4, seguido da administração de 0,5mg de prostaglandina sintética 50% cloprostenol sódico (Estron[®], Agener, união química) e 400 UI de gonodotrofina coriônica equina (eCG - Ecegon[®], Biogenesis), sem uso de cipionato de estradiol. No D11, foi realizado 0,1mg de GnRH (Fertagyl[®], MSD saúde animal). No D12 foi feita a inseminação.



(Fonte: Elaborado pelo autor)

Figura 01: Diagrama esquemático dos protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) dos grupos cipionato de estradiol (CE), benzoato de estradiol (BE) e GnRH.

Obs.: Usando também a gonadotrofina corionica equina (ECG) e cloprostenol sódico (PGF2α)

O motivo do momento da administração de BE e GnRH foi correlacionado ao intervalo entre a administração e ocorrência de liberação de LH. O LH é liberado aproximadamente entre 18 e 24 horas após o uso do BE e 3 horas após o GnRH (BERBER *et al.*, 2007; JACOMIN *et al.*, 2014). Portanto o BE foi administrado 24 horas após a remoção do implante de progesterona para verificar se influencia no diâmetro no dia da IATF e na taxa de prenhez.

Ultrassonografia reprodutiva

Foi utilizado o aparelho de ultrassom portátil Ultrassom Veterinário DP-10 Vet Power Mindray equipado com transdutor linear com frequência de 7,5MHz para realização dos exames ultrassonográficos durante avaliação ovariana no dias D12 dia da inseminação, para registro dos folículos de maior diâmetro na indução com BE e com GnRH, para avaliação de resposta ao protocolo (Fig. 02). O grupo cipionato foi avaliado no D11. Além disso, o mesmo aparelho ultrassonografico foi utilizado para confirmação de prenhez, todos os grupos foram feitos o diagnóstico gestacional com 30 dias após a inseminação. A presença de vesícula embrionária e embrião em desenvolvimento foram parâmetros utilizados para indicar gestação. A taxa de prenhez por fim foi calculada através do número de animais prenhez dividido pelo número total de búfalas inseminadas por protocolo (p/IATF).



(Fonte: Arquivo pessoal, 2025)

Figura 02: Avaliação ultrassonografica de ovário com folículos de tamanhos diferentes.

Obs.: A = Mensuração de folículo dominante; B = Mensuração de folículo em crescimento.

Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas no software R (*R Core Team*, 2024) o Statistical, utilizou-se o Teste t de Student pareado ($p < 0,05$) para avaliar a diferença no diâmetro folicular entre os grupos. A comparação da taxa de prenhez entre grupos foi feita através do Teste de qui-quadrado ($p > 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

O estudo descreve o diâmetro folicular no dia IATF em búfalas submetidas a três diferentes indutores de ovulação assim como taxa de prenhez das respectivas matrizes. Os valores apresentados podem nortear veterinários de campo atuantes na reprodução animal de bubalinos. Os valores médios com seus respectivos desvios padrões para os parâmetros de diâmetro estão apresentados na Tab. 01.

Tabela 01: Respostas foliculares oovarianas de búfalas em protocolo de sincronização baseado em P4 e IATF e tratadas com cipionato de estradiol, benzoato (BE) ou GnRH para induzir ovulação.

Grupos	Prenhes	Não Prenhes	Total	Diâmetro Folicular	Taxa de prenhez
Cipionato	5	12	17	$7,77 \pm 2,40^b$	$29,41^a$
Benzoato	8	18	26	$9,77 \pm 2,35^a$	$30,76^a$
GnRH	9	17	26	$9,70 \pm 2,48^a$	$34,61^a$

Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste t de Student pareado ($p < 0,05$). Letras iguais indicam ausência de diferença estatística. Para taxa de prenhez, o teste de qui-quadrado indicou $p > 0,05$, portanto não houve diferença significativa entre os grupos.

Com base nos resultados apresentados na Tab. 01, observou-se que o diâmetro folicular médio variou entre os grupos, sendo menor no grupo tratado com cipionato de estradiol ($7,77 \pm 2,40$ mm) e maior nos grupos tratados com benzoato de estradiol ($9,77 \pm 2,35$ mm) e GnRH ($9,70 \pm 2,48$ mm). As taxas de prenhez foram de 29,41%, 30,76% e 34,61%, respectivamente.

Entretanto, a análise pelo teste de qui-quadrado indicou $p > 0,070$, não evidenciando diferença estatisticamente significativa entre os grupos para a taxa de prenhez. Esses resultados sugerem que, embora os grupos com maior diâmetro folicular médio tenham apresentado numericamente maiores taxas de prenhez, essa variação não foi suficiente para indicar associação significativa entre diâmetro folicular e fertilidade na análise geral da população experimental, possivelmente em função do tamanho amostral e da variabilidade individual das respostas reprodutivas.

Na comparação direta entre o Grupo 1 e o Grupo 3 (Tab. 01), observou-se uma diferença estatisticamente significativa apenas nos diâmetros foliculares ($p = 0,030$), e não nas taxas de prenhez. O Grupo 3 apresentou médias foliculares superiores, assim como maior taxa de prenhez (29,41% e 34,61%, respectivamente), porém sem significância estatística para esta última variável. O diâmetro do folículo é relevante nos protocolos de IATF, pois está diretamente correlacionado ao tamanho e funcionalidade do corpo lúteo (CL) em búfalos (VECCHIO *et al.*, 2012; MONTEIRO *et al.*, 2016) e bovinos (VASCONCELOS *et al.*, 2001; DADARWAL *et al.*, 2013).

Um CL maior secreta mais progesterona (P4) (PFEIFER *et al.*, 2009; DADARWAL *et al.*, 2013), o que aumenta a probabilidade de manter uma gestação e melhora a fertilidade em búfalas (VECCHIO *et al.*, 2012) e bovinos (BINELLI *et al.*, 2001; INSKEEP, 2004). Assim, a diferença estatística encontrada para o diâmetro folicular entre esses dois grupos evidencia um efeito morfológico reprodutivo, mas que, no presente estudo, não se traduziu em diferença estatisticamente significativa nas taxas de prenhez, reforçando que outros fatores fisiológicos e ambientais também influenciam o estabelecimento da gestação.

Resultados semelhantes foram observados por Pandey *et al.* (2017) que verificou que folículos pré-ovulatórios maiores estavam associados a maiores concentrações de estradiol e progesterona, resultando em taxas de prenhez mais elevadas em búfalas Murrah. De forma similar, Lima *et al.* (2025) verificaram que ovário que apresentava um diâmetro folicular em torno de 13mm, esteve associado a maiores taxas de prenhez.

Por outro lado, a comparação entre o Grupo 1 (cipionato de estradiol – CE) e o Grupo 2 (benzoato de estradiol – BE) mostrou diferença no diâmetro folicular não significativa, mas próxima ao limite estatístico ($p = 0,065$). Esse valor indica tendência que poderia se confirmar com maior número de animais ou menor variação individual. Na estatística, p levemente acima de 0,05 aponta evidência moderada de diferença, mas insuficiente para rejeitar a hipótese nula. Esse resultado está de acordo com estudos que não observaram relação direta entre o diâmetro do folículo pré-ovulatório e a gestação em búfalas. Prakash *et al.* (2016) relataram ausência de associação entre o diâmetro folicular, as concentrações séricas de estradiol-17 β no estro e a taxa de gestação em búfalas cíclicas no pós-parto, indicando que, embora o diâmetro folicular seja importante, outros fatores endócrinos, metabólicos e ambientais também influenciam a fertilidade.

De modo complementar, Weiller *et al.* (2021) verificaram que não houve diferença significativa no diâmetro folicular, taxa de ovulação e na taxa de prenhez em búfalas submetidas ao CE como indutor de ovulação em um protocolo de IATF em comparação ao uso de BE, mostrando que o uso do CE apresenta taxas de sucesso similares às obtidas com o uso do BE.

Já a ausência de diferença significativa entre os resultados dos Grupos 2 e 3 ($p = 0,943$) indicou que, quando o diâmetro folicular médio se mantém dentro da faixa aproximada de 9,7 a 9,8 mm, variações sutis nessa medida podem não impactar de forma substancial os resultados reprodutivos (taxa de prenhez). Isso corrobora os achados de CARVALHO *et al.* (2017), que

demonstraram eficácia semelhante entre o uso de BE e GnRH na indução da ovulação e nas taxas de prenhez (P/IATF) em búfalas submetidas a protocolos à base de progesterona. De forma consistente, estudos com o protocolo heatsynch em búfalos (NASEER *et al.*, 2011; MIRMAHMOUDI *et al.*, 2014; YOUSUF *et al.*, 2015) também observaram que, dentro dessa faixa de diâmetro folicular, a escolha entre BE ou GnRH não promove diferenças relevantes nas respostas reprodutivas, reforçando que ambos os hormônios apresentam desempenho comparável em condições semelhantes às deste estudo.

No entanto, há evidências que o uso de EB pode ser melhor que o GnRH na dinâmica folicular e taxa de ovulação, por causa da maior liberação de LH do BE com relação ao GnRH em búfalos (BERBER *et al.*, 2007; JACOMINI *et al.*, 2014). O BE também proporciona maiores concentrações de estradiol durante o proestro e estro, o que sugestivamente cria um ambiente uterino melhor para o desenvolvimento embrionário (BRIDGES *et al.*, 2012). O custo relativamente menor do BE em relação ao GnRH também é uma consideração muito importante (BARROS *et al.*, 2000; MANES *et al.*, 2012).

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos nesse estudo indicam que, embora o diâmetro folicular apresente influência potencial sobre a fertilidade, evidenciada pela diferença significativa entre o Grupo 1 (CE) e o Grupo 3 (GnRH), essa variável isoladamente não foi determinante para a taxa de prenhez na população avaliada. Diferenças próximas ao nível de significância entre CE e BE sugerem tendência que pode ser confirmada com maior número de animais, enquanto a semelhança entre BE e GnRH reforça que ambos os fármacos têm desempenho reprodutivo equivalente quando o diâmetro folicular se mantém dentro de faixas próximas. Esses achados, somados à literatura, indicam que a escolha do indutor de ovulação deve considerar não apenas parâmetros morfológicos, mas também aspectos fisiológicos, custo e condições de manejo, visando otimizar a eficiência dos protocolos de IATF em búfalas.

REFERÊNCIAS

- BARROS, C.M.; MOREIRA, M.B.P.; FIGUEIREDO, R.A.; TEIXEIRA, A.B.; TRINCA, L.A. Synchronization of ovulation in beef cows (*Bos indicus*) using GnRH, PGF2 α and estradiol benzoate. **Theriogenology**, New York, v.53, n.5, p.1121–1134, 2000.
- BARUSELLI, P.S. **Control of follicular development applied to reproduction biotechnologies in buffalo**. 2001, In: Anais.. Eboli: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2001.
- BARUSELLI, P.S.; CARVALHO, N.A.T.; GIMENES, L.U.; CREPALDI, G.A. Fixed- timed artificial insemination in buffalo. **Italian Journal of Animal Science**, v.6, p.107-118, 2007.
- BARUSELLI, P.S.; CARVALHO, N.A.T.; JACOMINI, J.O. Eficiência do uso da Inseminação Artificial em Búfalos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.6, p.104-110, 2009.

BERBER, R.C.D.A.; BARROS, C.M.; NOGUEIRA, G.P.; BARUSELLI, P.S. Avaliação da liberação de LH e da concentração de progesterona em protocolos Ovsynch e Heatsynch em bubalinos (*Bubalus bubalis*). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.31, n.1, p.38–42, 2007.

BINELLI, M.; THATCHER, W.W.; MATTOS, R.; BARUSELLI, P.S. Antiluteolytic strategies to improve fertility in cattle. **Theriogenology**, New York, v.56, n.9, p.1451–1463, 2001.

BÓ, G.A.; HUGUENIN, E.; DE LA MATA, J.J.; NUÑEZ-OLIVERA, R.; BARUSELLI, P.S.; MENCHACA, A. **Programs for fixed-time artificial insemination in South American beef cattle**. In: Proceedings of the 10th International Ruminant Reproduction Symposium (IRRS 2018), Foz do Iguaçu, PR, Brazil, September 16th to 20th, 2018.

BRIDGES, G.A.; MUSSARD, M.L.; PATE, J.L.; OTT, T.L.; HANSEN, T.R.; DAY, M.L. Impact of preovulatory estradiol concentrations on conceptus development and uterine gene expression. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v.133, n.1/2, p.16–26, 2012.

CARVALHO, N.A.T.; SOARES, J.G.; BARUSELLI, P.S. Strategies to overcome seasonal anestrus in water buffalo. **Theriogenology**, v.86, n.1, p.200-206, 2016.

CARVALHO, N.A.T.; SOARES, J.G.; SOUZA, D.C.; MAIO, J.R.G.; SALES, J.N.S.; MARTINS JÚNIOR, B.; MACARI, R.C.; D’OCCHIO, M.J.; BARUSELLI, P.S. Ovulation synchronization with estradiol benzoate or GnRH in a timed artificial insemination protocol in buffalo cows and heifers during the nonbreeding season. **Theriogenology**, New York, v.87, p.333–338, 2017.

DADARWAL, D.; MAPLETOFT, R. J.; ADAMS, G.P.; PFEIFER, L.F.M.; CREELMAN, C.; SINGH, J. Effect of progesterone concentration and duration of proestrus on fertility in beef cattle after fixed-time artificial insemination. **Theriogenology**, v.79, n.5, p.859–866, 2013.

INSKEEP, E.K. Preovulatory, postovulatory, and postmaternal recognition effects of concentrations of progesterone on embryonic survival in the cow. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.82, suppl.13, p.24–39, 2004.

JACOMINI, J.O.; MACEDO, G.G.; CARVALHO, N.A.T.; SALES, J.N.S.; BARUSELLI, P.S. LH surge in response to the treatment with GnRH analog or estradiol in ovariectomized buffaloes with or without progesterone pre-exposition. **Livestock Science**, Amsterdam, v.160, p.194–198, 2014.

LIMA, W.F.; ROLIM FILHO, S.T.; RIBEIRO, H.F.L.; KUMAR, S.; CHAVES, M.S.; SILVA, A.F.B.; BORGHESE, A.; VALE, W.G. Effect of dominant follicle size and GnRH administration at fixed-time artificial insemination on pregnancy rates in female buffaloes on Marajó Island, Brazil. **Journal of Buffalo Science**, v.14, p.82-87, 2025

MANES, J.; ALLER, J.F.; CALLEJAS, S.S.; HOZBOR, F.; ALBERIO, R.H. Influence of the length of progestagen treatment and the time of oestradiol benzoate application on the ovulatory follicle size and ovulation time in anoestrous and cyclic beef cows. **Reproduction in Domestic Animals**, Berlin, v.47, n.3, p.412–418, 2012.

MIRMAHMOUDI, R.; SOURI, M.; PRAKASH, B.S. Endocrine changes, timing of ovulation, ovarian follicular growth and efficacy of a novel protocol (Estradoublesynch) for synchronization of ovulation and timed artificial insemination in Murrah buffaloes (*Bubalus bubalis*). **Theriogenology**, v.81, n.2, p.237-242, 2014.

MOHAN, K.; PRAKASH, B.S. Changes in endogenous estrogens and expression of behaviors associated with estrus during the periovulatory period in Heatsynch treated Murrah buffaloes (*Bubalus bubalis*). **Tropical Animal Health and Production**, Dordrecht, v.42, n.1, p.947–952, 2010.

MONTEIRO, B.M.; SOUZA, D.C.; VASCONCELLOS, G.S.F.M.; CORRÊA, T.B.; VECCHIO, D.; SÁ FILHO, M.F.; CARVALHO, N.A.T.; BARUSELLI, P.S. Ovarian responses of dairy buffalo cows to timed artificial insemination protocol, using new or used progesterone devices, during the breeding season (autumn–winter). **Animal Science Journal**, v.87, n.1, p.13–20, 2016.

NASEER, Z.; AHMAD, E.; SINGH, J.; AHMAD, N. Fertility following CIDR based synchronization regimens in anoestrous Nili-Ravi buffaloes. **Reproduction in Domestic Animals**, Hoboken, v.46, n.5, p.814–817, 2011.

NEGLIA, G.; NATALE, A.; ESPOSITO, G.; SALZILLO, F.; ADINOLFI, L.; CAMPANILE, G.; FRANCILO, M.; ZICARELLI, L. Effect of prostaglandin F_{2α} at the time of AI on progesterone levels and pregnancy rate in synchronized Italian Mediterranean buffaloes. **Theriogenology**, Philadelphia, v.69, n.8, p.953–960, 2008.

PANDEY, R.; SHARMA, D.P.; KUMAR, S. Relationship between follicular diameter and serum estradiol and progesterone concentrations in Murrah buffaloes. **Journal of Animal Reproduction**, v.35, n.4, p.567-575, 2017.

PFEIFER, L.F.M.; MAPLETOFT, R.J.; KASTELIC, J.P.; SMALL, J.A.; ADAMS, G.P.; DIONELLO, N.J.; SINGH, J. Effects of low versus physiologic plasma progesterone concentrations on ovarian follicular development and fertility in beef cattle. **Theriogenology**, New York, v.72, n.9, p.1237–1250, 2009.

PRAKASH, A.; SINGH, G.; MEHRA, R. Effect of follicular size and estradiol-17β concentrations on conception in postpartum buffaloes. **Journal of Dairy Science**, v.99, n.7, p.2900-2908, 2016.

PUGLIESI, G.; REZENDE, R.G.; SILVA, J.C.B.; LOPES, E.; NISHIMURA, T.K.; SÁ FILHO, M.F.; BARUSELLI, P.S.; MARQUES, M.O.; GIMENES, L.U.; FERREIRA, R.M.; MADUREIRA, E.H.; BÓ, G.A. Comparison of estradiol-based protocols to GnRH for synchronization of ovulation in fixed-time AI programs in buffalo. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v.112, n.1/2, p.183–193, 2009.

SALES, J.N.S.; IGARASHI, L.C.; MOURA, C.; BARUSSELLI, P.S. Synchronization of ovulation in buffalo using a new protocol based on estradiol and eCG. **Theriogenology**, Philadelphia, v.77, n.4, p.809–816, 2012.

THATCHER, W.W.; DE LA SOTA, R.L.; SCHMITT, E.J.P.; DIAZ, T.C.; BADINGA, L.; SIMMEN, F.A.; STAPLES, C.R.; DROST, M. Control and management of ovarian follicles in cattle to optimize fertility. **Reproduction, Fertility and Development**, Melbourne, v.8, n.2, p.203–217, 1996.

VASCONCELOS, J.L.M.; SARTORI, R.; OLIVEIRA, H.N.; GUENTHER, J.G.; WILTBANK, M.C. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. **Theriogenology**, v.56, n.2, p.307–314, 2001

VECCHIO, D.; NEGLIA, G.; GASPARRINI, B.; RUSSO, M.; PACELLI, C.; PRANDI, A.; D'OCCHIO, M.J.; CAMPANILE, G. Corpus luteum development and function and relationship to pregnancy during the breeding season in the Mediterranean buffalo. **Theriogenology**, v.77, n.9, p.1811–1815, 2012.

WEILLER, J.H.A., FERRAZ, M.V.C., DIAS, F.J., HATTORI, G.Y. Use of Estradiol Cypionate to induce ovulation in buffalo raised in floodplain areas of Itacoatiara, Amazonas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.73, n.01, p.41-48, 2021.

YOUSUF, M.R.; MARTINS, J.P.N.; HUSNAIN, A.; RIAZ, U.; RIAZ, H.; SATTAR, A.; JAVED, K.; AHMAD, N. Effect of oestradiol benzoate on oestrus intensity and pregnancy rate in CIDR treated anoestrus nulliparous and multiparous buffalo. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v.159, p.104–108, 2015.