

Desenvolvimento folicular e fertilidade utilizando acetato de medroxi-progesterona associado a $PGF_{2\alpha}$ ou diferentes derivados de estradiol

(*Follicular development and fertility using medroxy-progesterone acetate associated to $PGF_{2\alpha}$ or different estradiols*)

A.M. Farias¹, J.F.C. Oliveira¹, G.M. Bastos¹, V.V.M. Portela Jr¹, J.I. Canto³, J.F. Moraes², J.F. Manta B.¹, F. D. Martins¹, P.B.D. Gonçalves¹,

¹Laboratório de Biotecnologia e Reprodução Animal – BioRep, UFSM. ²Embrapa Pecuária Sul, Bagé.

³Brigada Militar, Santa Maria. Hospital Veterinário. CEP: 97105-900, Santa Maria, RS.

Correspondência: joao@biorep.ufsm.br.

Resumo

O presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito de pessários vaginais impregnados com acetato de medroxi-progesterona (MAP) associados à benzoato de estradiol (BE), valerato de estradiol (VE) ou $PGF_{2\alpha}$ sobre o desenvolvimento folicular, manifestação de estro e fertilidade. No primeiro estudo, os animais receberam um pessário vaginal contendo 250 mg de MAP por um período de nove dias, associado a 2,5 mg de benzoato (BE) ou valerato (VE) de estradiol no dia da colocação dos pessários. Os tratamentos iniciaram-se nos dias 1 (BE1(n=4)/ VE1(n=4)); 4 (BE4(n=3)/ VE4(n=5)) e 11 (BE11(n=5)/ VE11(n=3)) do ciclo estral. Os animais foram avaliados por ultra-sonografia trans-retal diária dos ovários e foram tomadas as medidas do maior folículo presente nos ovários. No segundo estudo, os animais foram distribuídos equitativamente em quatro grupos de acordo com a condição corporal, sendo que todos os animais receberam um pessário vaginal contendo 250 mg de MAP (dia 0 = colocação dos pessários). Nos grupos BE (n=44) e VE (n=40), administraram-se no dia 0, uma injeção de 2,5 mg de benzoato ou valerato de estradiol, respectivamente. No grupo PG7 (n=43), aplicou-se Cloprostenol sódico (125µg) no dia 7. Nos animais dos grupos BE, VE e PG7, o pessário permaneceu por um período de nove dias. No grupo PG5 (n=37), aplicou-se Cloprostenol sódico (125µg) no dia cinco e o pessário foi retirado no dia sete. Após a retirada dos pessários vaginais, realizou-se observação de estro duas vezes ao dia, durante cinco dias, e as vacas foram inseminadas 12 horas após identificado o estro. O diâmetro médio folicular foi de 6-12 mm para todos os grupos tratados no experimento 1. Os percentuais de estro foram de 65,7%, 77,5%, 74,4% e 67,6%, e de prenhez 43,2%, 47,5%, 51,2% e 40,5%, para os grupos BE, VE, PG7 e PG5, respectivamente, no experimento 2. A manifestação de estro nos grupos BE (54,6 h) e VE (51,1 h) ocorreu em tempo menor ($p \leq 0,05$) do que no grupo PG5 (70,1 h). Os animais do grupo PG7 manifestaram estro em um período intermediário (62,3 h). Os protocolos resultaram em

percentuais similares de estro e prenhez ($p \geq 0,05$). No entanto, o uso do MAP, associado ao BE ou VE, concentra a manifestação de estro em média até 55 h. Conclui-se não haver diferença sobre o desenvolvimento folicular quando se utiliza BE ou VE associado à MAP nas fases estudadas do ciclo estral. A associação de BE ou VE ao MAP apresenta eficácia similar à prostaglandina, mas resulta em menor intervalo entre a retirada do pessário vaginal e a manifestação de estro.

Palavras-chave: benzoato de estradiol, valerato de estradiol, prostaglandinas, sincronização de estros, vacas de corte.

Summary

The present work was designed to test the effect of medroxy-progesterone acetate (MAP) intravaginal device associated to estradiol benzoate (EB), estradiol valerate (EV) or $PGF_{2\alpha}$ on follicular development, estrus and fertility of beef cows. In Experiment 1, animals received an intravaginal device containing 250 mg of MAP for 9 days. When the device was implanted, animals also received a single injection of 2.5 mg of EB or EV. Animals were assigned randomly to treatments which started on days 1 (EB1, n=4/ EV1, n=4), 4 (EB4, n=3/ EV4, n=5) and 11 (EB11, n=5/ EV11, n=3) of the estrous cycle. The ovaries were monitored daily by ultrasound and the size of larger follicle was recorded. In Experiment 2, animals were scored for body condition and distributed in four groups: 1) EB - MAP for 9 days plus single injection of 2.5 mg of EB on Day 0 (n=44), 2) EV - MAP for 9 days plus single injection of 2.5 mg of EV on Day 0 (n=40), 3) PG7 - MAP for 9 days plus single injection of cloprostenol (125 µg) on day 7 (n=43) and 4) PG5 - MAP for 7 days plus single injection of cloprostenol (125 µg) on day 5 (n=37). The cows were monitored for estrous behaviour in two observation periods each day, for 5 days after withdrawing the intravaginal device. Cows were inseminated 12 hours after estrus detection. The follicular diameter ranged from 6 to 12 mm in all groups. Differences were

not detected ($P>0.05$) on estrus rates among groups EB (65.7%), EV (77.5%), PG7 (74.7%) and PG5 (67.6%). However, the period between device withdrawal and estrus detection was shorter ($P>0.05$) in groups EB (54.6 h) and EV (51.1h) as compared to group PG5 (70.1 h). This period was intermediate in group PG7 (62.3 h) and did not differ from others. The results also indicated no differences ($P>0.05$) on pregnancy rates among groups EB (43.2%), EV (47.5%), PG7 (51.2%) and PG5 (40.5%). We conclude that MAP associated to EB or EV does not affect the follicular development during the estrous cycle, estrous synchronization and pregnancy rate. However, the period between the device withdrawal and estrous behavior is shorter than that observed with PGF_{2α}.

Key-words: estradiol benzoate, estradiol valerate, progestagens, estrus synchronization, beef cows.

Introdução

A sincronização de estros através da utilização de hormônios ou por meios físicos permite a manipulação do ciclo estral. Essa biotécnica possibilita concentrar o momento da inseminação e, por conseguinte, a parição em épocas desejáveis. Um programa de sincronização de estros eficiente deve proporcionar um alto percentual de animais manifestando estro em um curto período de tempo, com fertilidade similar a um processo fisiológico, pois o sistema produtivo depende zootécnica e economicamente de altos percentuais de terneiros nascidos e desmamados (Moraes, 1994).

Pela ultra-sonografia descobriu-se que o crescimento folicular ocorre na forma de ondas (Ginther *et al.*, 1989), e diferentes hormônios tais como a progesterona (P₄), progestágenos, estradiol, PGF_{2α}, GnRH e a associação desses hormônios vem sendo amplamente utilizada com o objetivo de concentrar o estro em rebanhos bovinos (Bó *et al.*, 1994; 1995, Thatcher *et al.*, 2001). O objetivo é que um grupo de vacas manifeste estro em um curto período de tempo, facilitando a observação do estro que se constitui em grande problema para o sucesso de programas que utilizam inseminação artificial (I.A.) (Moraes *et al.*, 2001).

Desde a década de 50, os progestágenos vêm sendo utilizados na sincronização de estros e sua função é simular uma fase lútea, permitindo regressão do corpo lúteo (CL) e, conseqüentemente, concentrando o estro em um curto período de tempo (Robinson, 1965). No entanto, o período ideal de exposição ao progestágeno para se obter ótima fertilidade não deve ultrapassar 7-9 dias (Mihn *et al.*, 1994). Dentre os progestágenos, o pessário vaginal impregnado com acetato de medroxi-progesterona (MAP) tem sido utilizado em rebanhos no

Sul do Brasil, por ser uma alternativa igualmente efetiva, e de custo reduzido quando comparado a outros dispositivos intravaginais ou subcutâneos (Moraes e Jaume, 1997).

Alternativamente, os sais de estradiol (benzoato ou valerato) constituem-se em outra importante fonte hormonal empregada nos programas de sincronização e possuem atividade de indução da luteólise, sincronização do crescimento folicular e/ou ovulação. Geralmente, esses estrógenos são utilizados em associação com a P₄ ou progestágenos (Bó *et al.*, 1993; Burke *et al.*, 2000; Day *et al.*, 2000; Peterson *et al.*, 2000). Igualmente, a prostaglandina (PGF_{2α}) e seus análogos sintéticos são também amplamente utilizadas para sincronizar estro e sua função é induzir luteólise. A amplitude da manifestação de estros varia de um a cinco dias após a aplicação de PGF_{2α}, e isto não está relacionado ao período de regressão luteal, mas sim à fase do crescimento folicular em que cada vaca se encontra no momento da aplicação do luteolítico (Pursley *et al.*, 1997).

Desconhece-se o efeito da associação de pessários com MAP aos estrógenos exógenos no crescimento folicular. Procurando criar alternativas sustentáveis aos métodos de sincronização para utilização da I.A. em um curto período de tempo (cinco dias), o objetivo desse trabalho foi de: a) verificar o efeito da associação do MAP ao BE ou VE sobre o desenvolvimento folicular em vacas de corte em diferentes dias do ciclo estral; b) verificar o efeito da associação do MAP ao BE, VE ou a PGF_{2α} na manifestação de estro e fertilidade de vacas de corte.

Material e Métodos

Experimento 1

Experimento desenvolvido na fazenda da EM-BRAPA - Pecuária Sul (CPPSUL), Bagé, RS, situado a 54°23'W e 30°47'W. Os animais permaneceram em campo nativo durante todo o período experimental. Foram utilizadas 26 vacas não-lactantes, da raça Hereford, ciclando regularmente. Todos os animais foram pré-sincronizados com duas aplicações de um análogo sintético da prostaglandina F_{2α} (Cloprostenol Sódico), por via intramuscular, e posteriormente foram distribuídos em seis grupos experimentais, de acordo com a data da manifestação do estro subsequente à segunda dose da prostaglandina. Os animais apresentavam condição corporal (CC) entre 3 e 4 (escala de 0-5 onde 0= muito magro e 5=obeso) no início dos tratamentos.

Os animais receberam um pessário vaginal com 250 mg de MAP por nove dias, associado a uma aplicação de 2,5 mg de benzoato ou valerato de estradiol no dia da colocação do pessário, por via intramuscular. Os

tratamentos iniciaram nos dias um (BE1(n=4)/VE1(n=4)), quatro (BE4(n=3)/VE4(n=5)) e 11 (BE11(n=5)/VE11(n=3)) do ciclo estral. Os animais foram monitorados por ultra-sonografia trans-retal diária dos ovários durante todo o período de exposição ao pessário (Pie-Medical - Scanner 200 dotado de um transdutor linear de 6,0 MHZ). Durante cada avaliação, mediu-se o maior folículo presente nos ovários. Os dados referentes ao tamanho do maior folículo foram analisados por ANOVA para medidas repetidas (PROC Mixed SAS, Cary, NC) com a finalidade de avaliar os efeitos de grupo, dia da avaliação e interação grupo x dia (SAS, 1988).

Experimento 2

Experimento desenvolvido na Fazenda Fillipson, pertencente à Brigada Militar, Itaára-RS, situado a 29°43'W e 53°42'W. Os animais permaneceram em campo nativo durante todo o período experimental. Foram utilizadas 164 vacas das raças Charolês, Nelore e suas cruzas recíprocas, com idade variando de três a 10 anos. Anteriormente à aplicação dos protocolos os animais foram distribuídos em quatro grupos experimentais, equitativamente de acordo com a condição corporal (CC) que variou de 2 a 4 (escala de 0-5, onde 0=muito magro e 5=obeso).

Os animais dos três primeiros tratamentos receberam um pessário com 250 mg de MAP por um período de nove dias. Os dois primeiros grupos, também receberam 2,5 mg de BE (n=44) ou VE (n= 40) de estradiol no dia da colocação dos pessários, por via intramuscular. No terceiro grupo PG7 (n=43) foi aplicado 125 µg de Cloprostenol Sódico, na submucosa vulvar, sete dias após a colocação dos pessários. O quarto grupo experimental PG5 (n=37) recebeu um pessário vaginal com 250 mg de MAP por um período de sete dias, associado à aplicação de 125 µg de Cloprostenol Sódico, na submucosa vulvar, cinco dias após a colocação dos pessários.

Após a retirada dos pessários, o estro foi observado por um período mínimo de uma hora, em dois turnos (manhã e tarde), por cinco dias. Para auxiliar a identificação de estro, foram utilizadas três vacas androgenizadas com buçal marcador. As fêmeas foram pintadas na inserção da cauda, região entre a 1° e a 6° vértebras coccígeas, conforme o método Tinta-Cola (Kerr e McCaughey, 1984), servindo como um instrumento auxiliar na identificação de estro. A inseminação artificial foi realizada, convencionalmente, 12 horas após o animal ser identificado em estro.

Para verificar a eficiência dos protocolos em

pregados foram calculados os tempos médios de pico de manifestação de estro após a retirada do MAP, o percentual de estro manifestado nos cinco dias de observação e o percentual de prenhez. O diagnóstico de gestação foi realizado 55 dias após o término do período de inseminação artificial, por palpação retal e com o auxílio de um aparelho de ultra-sonografia da marca Pie Medical - Scanner 200.

Os dados relativos ao percentual de prenhez e estros foram comparados utilizando-se o teste de qui-quadrado. O tempo médio para manifestação de estros nos diferentes grupos, foi avaliado através de análise de variância simples, tendo como variável dependente o tempo até a manifestação do estro e como classe o grupo experimental (SAS, 1988).

Resultados e Discussão

Experimento 1

Não se observou diferença ($P>0,05$) no desenvolvimento folicular quando se utilizou BE ou VE associado ao MAP nos dias um, quatro e 11 do ciclo estral (Fig. 1). Utilizando-se P₄ ao invés de MAP, Custer *et al.* (1994) e Bó e Caccia (1998) também não observaram modificações na dinâmica folicular. Quando Custer *et al.* (1994) administraram P₄, em vacas cíclicas, foi observada uma redução na frequência de liberação de GnRH-LH, mas esta redução não foi capaz de impedir o desenvolvimento de ondas de crescimento folicular. Nesse sentido, Stock e Fortune (1993) demonstraram que a alteração nos níveis de P₄ plasmática dependem da dose de progesterona utilizada, e afetam o padrão de desenvolvimento folicular por causar um *feedback* negativo sobre a frequência de liberação de LH. A utilização de MAP, um análogo sintético mais potente, pode ter determinado uma maior redução na frequência de GnRH-LH, não permitindo que os folículos crescessem e atingissem a dominância. Pode-se observar na Fig. 1 que o diâmetro médio do maior folículo, independentemente da fase do ciclo estral, não ultrapassou 12 mm. Isso sugere que 250 mg de MAP somada à P₄ proveniente do corpo CL, e potencializada por BE ou VE, reduzem a frequência de liberação de GnRH-LH.

O BE e o VE foram utilizados, no presente estudo, não só para potencializar a ação do MAP, mas também para bloquear a liberação de FSH. O'Rourke *et al.* (2000) demonstraram redução na liberação desse hormônio utilizando benzoato de estradiol. Entretanto, no presente trabalho observou-se que nos dias do ciclo em que foram tratadas, os folículos superavam em média 6 mm de diâmetro, estando próximos à fase de divergência folicular, onde os mesmos são menos dependentes de FSH e mais dependentes de LH (Xu *et al.*, 1995).

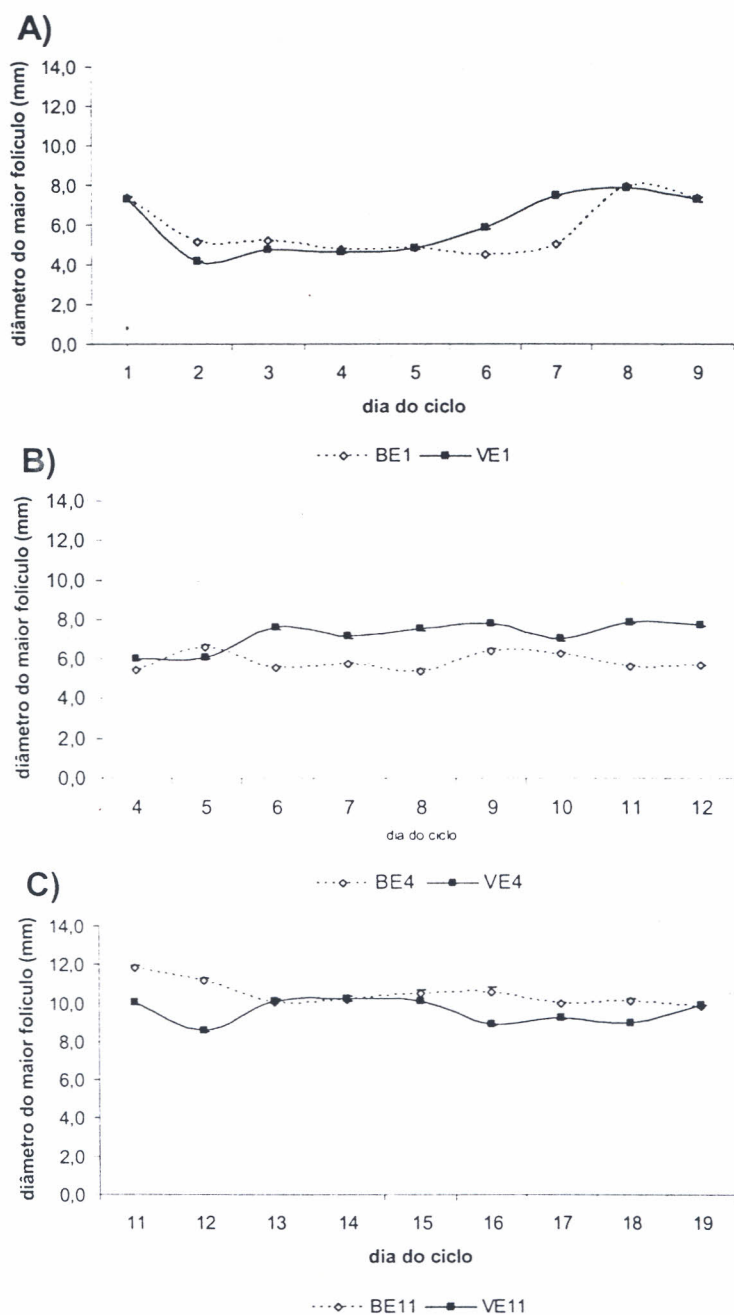


Figura 1. Diâmetro médio (\pm EPM) do maior folículo presente no ovário em vacas de corte tratadas com benzoato ou valerato de estradiol associado a acetato de medroxi-progesterona nos dias 1 (BE1/VE1; Painel A), 4 (BE4/VE4; Painel B), ou 11 (BE11/VE11; Painel C), do ciclo estral ($P > 0,05$). (EPM = Erro Padrão da Média).

A Fig. 2 mostra o tempo médio de manifestação do estro nos grupos BE (54,6 h) e VE (51,1 h). Os resultados obtidos são similares aos observados por Pinheiro *et al.* (1997) utilizando a associação de norgestomet e VE (Syncromate B®) em vacas e novilhas. A manifestação de estros ocorreu em tempo menor nos grupos BE e VE ($p \leq 0,05$) do que no grupo PG5 (70,1 h). Os animais do grupo PG7 manifestaram estro em um período intermediário (62,3 h). Esta diferença pode ser

explicada pela potencialização dos efeitos do progestágeno exercida pelo estrógeno (Kinder *et al.*, 1996) nos grupos BE e VE, reduzindo a frequência normal de GnRH-LH e, conseqüentemente, mantendo o folículo dominante com diâmetro reduzido pela diminuição da frequência de LH para o completo desenvolvimento.

Nos grupos PG, o intervalo da retirada do pesário a manifestação do estro ficam na dependência da efetividade do análogo de PG em realizar luteólise, e

ainda do momento da onda folicular na retirada do pesário. Viana *et al.* (1997) demonstraram correlação negativa com intervalo de aplicação do luteolítico-manifestação do estro, onde animais com folículos em estágios avançados de desenvolvimento manifestaram estro em média mais cedo após indução da luteólise e uma melhor resposta a sincronização em novilhas tratadas na presença de um folículo de diâmetro ≥ 10 mm.

Os percentuais de estro foram de 65,71%; 77,50%; 74,42% e 67,57%, e de prenhez 43,18%;

47,50%; 51,16% e 40,54%, respectivamente, para os grupos BE, VE, PG7 e PG5. Não houve diferença para percentagem final de estro e prenhez entre os tratamentos ($p \geq 0,05$, Tab. 1). Esses resultados são similares aos obtidos por Portela Jr *et al.* (2001), que utilizaram pesários vaginais com 250 mg de MAP (sete dias) associado a uma injeção de 5 mg de benzoato de estradiol e, Murta *et al.* (2001) que aplicaram implante de silicone contendo 3 mg de norgestomet associado à aplicação de 5 mg de valerato de estradiol e 3 mg de norgestomet.

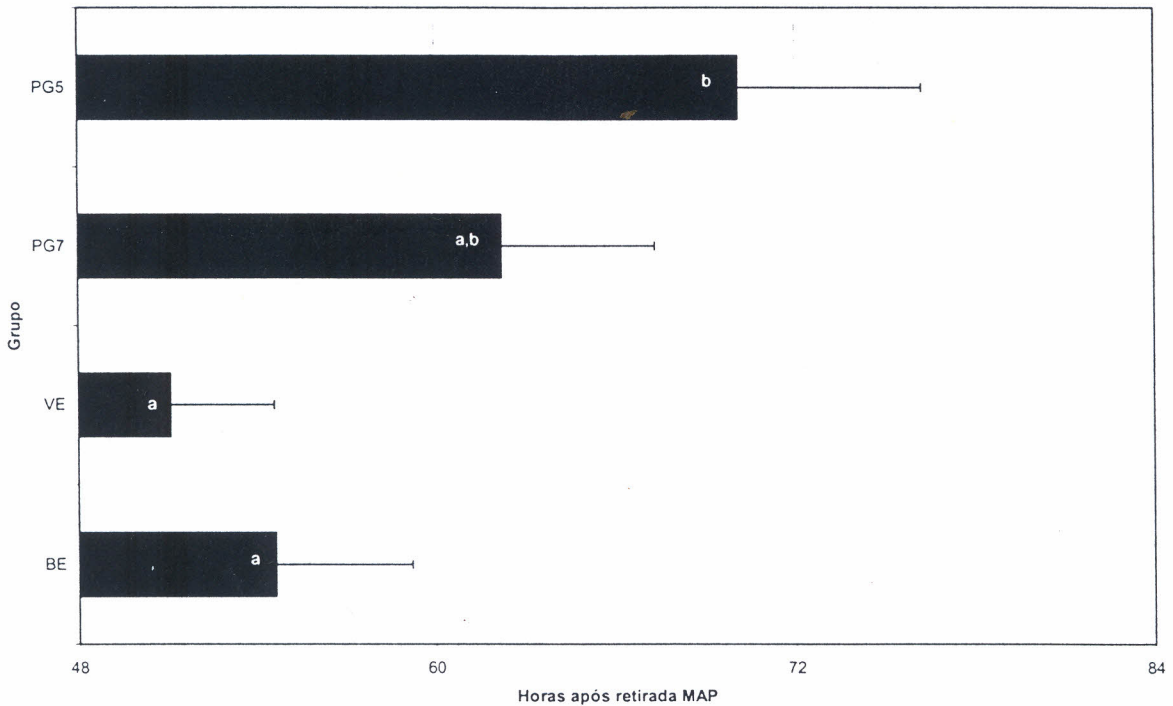


Figura 2. Tempo médio de manifestação de estro após a retirada do MAP para os grupos PG5, PG7, VE e BE após a retirada dos pesários vaginais. Letras diferentes (a, b) indicam diferenças significativas ($P < 0,05$).

Uma hipótese a ser considerada para esses resultados de prenhez é a de que a associação desses sais de estradiol ao MAP não seria suficiente para induzir a atresia do folículo dominante e recrutamento de um novo folículo ovulatório. Nesse sentido, Mihn *et al.* (1994) observaram que a manutenção de folículos dominantes por período

longos (>9 dias) reduz a fertilidade (20%), quando comparado a folículos dominantes por períodos curtos (1-4 dias), que apresentam fertilidade superior a 80%. Mihn *et al.* (1999) também demonstraram que a persistência do folículo dominante por período superior a nove dias diminui a viabilidade dos oócitos.

Tabela 1. Percentual de estro e prenhez após sincronização de estros utilizando acetato de medroxi-progesterona associado a diferentes derivados de estradiol ou PGF_{2α}.

| Grupo | Vacas n | Estro n (%) | Prenhez n (%) |
|------------------|------------|----------------|------------------|
| BE ¹ | 44 | 29 (65,71) | 19 (43,18) |
| VE ² | 40 | 31 (77,50) | 19 (47,50) |
| PG7 ³ | 43 | 32 (74,42) | 22 (51,16) |
| PG5 ⁴ | 37 | 25 (67,57) | 15 (40,54) |

¹BE = 250 mg de MAP (9 dias) + 2,5 mg de BE (dia 1)

²VE = 250 mg de MAP (9 dias) + 2,5 mg de VE (dia 1)

³PG7 = 250 mg de MAP (9 dias) + 125 µg de PGF_{2α} (dia 7)

⁴PG5 = 250 mg de MAP (7 dias) + 125 µg de PGF_{2α} (dia 5)

Conclusão

Não há diferença sobre o desenvolvimento folicular quando se utiliza benzoato ou valerato de estradiol associado a acetato de medroxi-progesterona nas fases do ciclo estral estudadas. A associação de benzoato ou valerato de estradiol ao acetato de medroxi-progesterona apresenta eficácia similar à prostaglandina, mas resulta em um período menor entre a retirada do pessário e a manifestação de estro.

Agradecimentos

À PRONEX/CNPq, FAPERGS e CAPES pelo suporte financeiro e bolsa de estudos.

À Brigada Militar - 1º RPMon e EMBRAPA - Pecuária Sul, por disponibilizar os animais e espaço físico.

Referências bibliográficas

- Bó, A.G.; Caccia, M.** Follicular wave dynamics following treatment of CIDR-B implanted beef cows with estradiol benzoate and progesterone. *Theriogenology*, v.49, p.341, 1998.
- Bó, A.G.; Mapletoft, R.J.; Caccia, M. et al.** Follicular wave dynamics after estradiol-17 β treatment of heifers with or without a progestagen implant. *Theriogenology*, v.41, p.1555-1569, 1994.
- Bó, A.G.; Mapletoft, R.J.; Caccia, M. et al.** Ovarian follicular wave emergence after treatment with progestagen and estradiol in cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, v.39, p.193-204, 1995.
- Bó, G.A.; Adams, R.S.; Nasser, R.A. et al.** Effect of estradiol valerate on ovarian follicles, emergence of follicular waves and circulating gonadotropins in heifers. *Theriogenology*, v.40, p.225-239, 1993.
- Burke, C.R.; Macmillan, K.L.; Boland, M.P.** Oestradiol potentiates a prolonged progesterone-induced suppression of LH release in ovariectomized cows. *Anim. Reprod. Sci.*, v.45, p.13-28, 2000.
- Custer, E.E.; Beal, W.E.; Wilson, S.J. et al.** Effect of melengestrol acetate (MGA) or progesterone-releasing intravaginal device (PRID) on follicular development, concentrations of estradiol-17 beta and progesterone, and luteinizing hormone release during an artificially lengthened bovine estrous cycle. *J. Anim. Sci.*, v.72, p.1282-1289, 1994.
- Day, M.L.; Burke, C.R.; Taufa, T.K. et al.** The strategic use of estradiol to enhance fertility and submission rates of progestin-based estrus synchronization programs in dairy herds. *J. Anim. Sci.*, v.78, p.523-529, 2000.
- Ginther, O.J.; Kastelic, J.P.; Knopf, L. et al.** Composition and characteristics of follicular waves during the bovine estrous cycle. *Anim. Reprod. Sci.*, v.20, p.189-196, 1989.
- Kerr, O.M.; McCaughey, W.J.** Tail painting technique as an aid to oestrus detection in cattle. *Vet. Rec.*, v.114, p.605-607, 1984.
- Kinder, J.E.; Kojima, F.N.; Bergfeld, E.G.M., et al.** Progestin and Estrogen Regulation of Pulsatile LH Release and Development of Persistent Ovarian Follicles in Cattle. *J. Anim. Sci.*, v.74, p.1424-1440, 1996.
- Mihn, M.; Curran, N.; Hyttel, P. et al.** Effect of dominant follicle persistence on follicular fluid oestradiol and inhibin and on oocyte maturation in heifers. *J. Reprod. Fertil.*, v.116, p.293-304, 1999.
- Mihn, M.; Roche, J.F.; Boland, M.P. et al.** Association between the duration of dominance of the ovulatory follicle and pregnancy rate in beef heifers. *J. Reprod. Fertil.*, v.102, p.123-130, 1994.
- Moraes, J.C.F.** Caracterização da inseminação artificial em vacas de corte no Rio Grande do Sul. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v.18, p.142-152, 1994.
- Moraes, J.C.F.; Jaume, C.M.** Sincrobovi: um pessário para sincronização deaios em bovinos. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v.21, p.99-101, 1997.
- Moraes, J.C.F.; Souza, C.J.H.; Gonçalves, P.B.D.** Controle do estro e da ovulação em bovinos e ovinos. In: Gonçalves, P.B.D.; Figueiredo, J.R.; Freitas, V.J. *Biotécnicas aplicadas à reprodução animal*. São Paulo: Varela, 2001. p.25-55.
- Murta, J.E.J.; Andrade, V.J.; Vale Filho, V.R. et al.** Taxas de prenhez em vacas nelore com utilização do protocolo crestar para sincronização do cio. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v.25, p.302-304, 2001.
- O'Rourke, M.; Diskin, M.G.; Sreenan, J.M. et al.** The effect of dose and route of oestradiol benzoate administration on plasma concentrations of oestradiol and FSH in long-term ovariectomised heifers. *Anim. Reprod. Sci.*, v.59, p.1-12, 2000.
- Peterson, C.A.; Huhn, J.C.; Kesler, R. et al.** Norgestomet- and oestradiol valerate-induced luteolysis is dependent upon the uterus. *Anim. Reprod. Sci.*, v.58, p.253-259, 2000.
- Pinheiro, O.L.; Barros, C.M.; Figueiredo, R.A. et al.** Estrous behavior and the estrus-to-ovulation with natural estrus or estrus induced with prostaglandin F2 α or norgestomet and estradiol valerate. *Theriogenology*, v.49, p.667-681, 1997.
- Portela Jr, V.V.M.; Moraes, J.C.F.; Jaume, C.M. et al.** Inseminação artificial com tempo pré-fixado empregando pessários de medroxi-progesterona. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v.25, n.3, p.291-292, 2001.
- Pursley, J.R.; Wiltbank, M.C.; Stevenson, J.S. et al.** Pregnancy rates per artificial insemination for cows and heifers inseminated at a synchronized ovulation or synchronized estrus. *J. Dairy Sci.*, v.80, p.295-300, 1997.
- Robinson, T.J.** Use of progestagen-impregnated sponges inserted intravaginally or subcutaneously for the control of the oestrous cycle in sheep. *Nature*, v.206, p.39-41, 1965.
- SAS:** Statistical Analysis System, 6.03. Cary:NC, USA: SAS Institute INC, 1988. p.1028.
- Stock, A.E.; Fortune, J.E.** Ovarian follicular domi-



nance in cattle: relationship between prolonged growth of the ovulatory follicle and endocrine parameters. *Endocrinology*, v.132, p.1108-1114, 1993.

Thatcher, W.W.; Moreira, F.; Santos, J.E.P. et al. Effects of hormonal treatments on reproductive performance and embryo production. *Theriogenology*, v.55, p.75-89, 2001.

Viana, J.H.M.; Torres, C.A.A.; Fernandes, C.A.C. et

al. Relação do diâmetro folicular com a resposta à sincronização de estro em novilhas. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v.21, n.4, p.11-15, 1997.

Xu, Z.; Garverick, H.A.; Smith, M.F. et al. Expression of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone receptor messenger ribonucleic acids in bovine follicles during the first follicular wave. *Biol. Reprod.*, v.53, p.951-957, 1995.
