

## Características morfológicas e funcionais do corpo lúteo durante o ciclo estral em vacas da raça Gir

(Morphologic and functional characteristics of corpora lutea during estrous cycle in Gir cattle)

J.H.M. Viana<sup>1\*</sup>, A.M. Ferreira<sup>2</sup>, W.F. Sá<sup>2</sup>, L.S.A. Camargo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Médico Veterinário, bolsista de Desenvolvimento Científico Regional do CNPq

<sup>2</sup>Pesquisador da Embrapa - Centro Nacional de Pesquisa em Gado de Leite

Rua Eugênio do Nascimento 610, Bairro Dom Bosco

36038-330 - Juiz de Fora, MG

### RESUMO

Estudaram-se o desenvolvimento, a função e a regressão luteal em vacas da raça Gir. As características morfológicas do corpo lúteo foram avaliadas ao longo de um ciclo estral completo (n=15), utilizando-se um aparelho portátil de ultra-som. A atividade luteal foi monitorada pela concentração plasmática de progesterona. O corpo lúteo foi inicialmente identificado aos 3,28±0,19 dias após a ovulação. Observou-se efeito significativo do dia do ciclo sobre a área da seção transversal do corpo lúteo (P<0,0001), do tecido luteal (P<0,0001) e sobre a concentração de progesterona (P<0,0001). A área média do corpo lúteo entre os dias 7 e 16 do ciclo foi de 3,21±0,05cm<sup>2</sup>, das cavidades luteais 0,42±0,04cm<sup>2</sup>, do tecido luteal 3,06±0,05cm<sup>2</sup>, e a concentração média de progesterona foi de 4,61±0,17ng/ml. A taxa de crescimento luteal entre a primeira detecção e o dia 7 do ciclo foi de 0,42±0,05cm<sup>2</sup>/dia, e a taxa de regressão entre os dias 16 e 21 foi de -0,36±0,04cm<sup>2</sup>/dia. As características morfológicas e funcionais do corpo lúteo de vacas da raça Gir são semelhantes àquelas observadas em outras raças bovinas.

Palavras-chave: Bovino, Gir, corpo lúteo, progesterona

### ABSTRACT

Luteal development, function and regression were studied in Gir cattle. Morphologic characteristics of corpora lutea were evaluated during the estrous cycle (n=15), using a portable ultrasound device. Luteal activity was evaluated by serum progesterone. The corpus luteum was first identified at 3.28±0.19 days after ovulation. There was a day effect on corpus luteum cross-section area (P<0.0001), on luteal tissue cross-section area (P<0.0001) and on progesterone levels (P<0.0001). Maximum corpus luteum cross-section area occurred between days 7 and 16 of the estrous cycle. During this period, mean corpus luteum area was 3.21±0.05cm<sup>2</sup>, mean luteal cavity area was 0.42±0.04cm<sup>2</sup>, luteal tissue was 3.06±0.05cm<sup>2</sup>, and mean progesterone concentration was 4.61±0.17ng/ml. Luteal growth rate between first detection and day 7 was 0.42±0.05cm<sup>2</sup>/day, and regression rate between days 16 and 21 was -0.36±0.04cm<sup>2</sup>/day. Corpora lutea characteristics in Gir cattle were similar to those observed in other cattle breeds.

Keywords: Cattle Gir Corpus luteum, progesterone

Recebido para publicação em 10 de dezembro de 1998.

Apoio financeiro: CNPq e FAPEMIG

E-mail: jhmviaana@cnpgl.embrapa.br

## INTRODUÇÃO

A função luteal é responsável pela duração e regularidade dos ciclos estrais, pelo controle da ocorrência de ovulações e pela manutenção da gestação. A avaliação do corpo lúteo fornece informações importantes sobre o estado reprodutivo da fêmea bovina, e possibilita a adequação de procedimentos de manipulação ou sincronização do ciclo estral. A palpação retal, apesar da praticidade e facilidade de execução, apresenta limitações como método de avaliação do corpo lúteo, devido à sua baixa sensibilidade e especificidade (Sprecher et al., 1989). A ultrasonografia permite a completa visualização do tecido luteal, possibilitando maior precisão na identificação e na mensuração do corpo lúteo (Pierson & Ginther, 1987; Ribadu et al., 1994). A imagem do corpo lúteo é uniforme, circunscrita e menos ecogênica que o estroma ovariano. Durante o ciclo estral, os níveis de progesterona refletem o crescimento, a manutenção e a regressão luteal (Spano & Rosa e Silva, 1992), e sua avaliação permite a associação das características morfológicas do corpo lúteo com o seu estado funcional.

O conhecimento do padrão morfológico e funcional do corpo lúteo de cada raça bovina, ao longo do ciclo estral, é de grande importância para sua correta avaliação, particularmente considerando-se que existem diferenças entre o corpo lúteo de raças taurinas (*Bos taurus taurus*) e zebuínas (*Bos taurus indicus*) (Pathiraja et al., 1986). A participação de raças zebuínas na pecuária nacional, tanto para a produção de carne quanto para a de leite, é muito significativa. O número de publicações sobre a dinâmica folicular e luteal em zebuínos, contudo, é limitado (Figueiredo et al., 1997), demonstrando a importância de pesquisas nessa área.

O objetivo deste trabalho foi o de estudar as características do desenvolvimento, da função e da regressão luteal em vacas da raça Gir.

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Campo Experimental Fazenda Santa Mônica, pertencente à Embrapa Gado de Leite, e localizado no Município de Valença, RJ. Foram utilizadas 15 vacas da raça Gir, não-lactantes, com escore de condição

corporal entre 3,0 e 5,0 (segundo Ferreira & Torres, 1993) e peso entre 357 e 515kg. Todos os animais foram previamente submetidos a exame clínico e ginecológico, sendo utilizados aqueles sem qualquer alteração clínica ou reprodutiva. Os animais receberam suplementação volumosa constituída de silagem de milho, de maneira a se manter a condição corporal inicial ou obter um balanço energético positivo durante o período experimental.

As características morfológicas do corpo lúteo foram avaliadas, diariamente, ao longo de um ciclo estral completo (n=15), utilizando-se um aparelho portátil de ultra-som, equipado com um transdutor linear bifrequencial de 5 / 7,5MHz<sup>1</sup>, segundo procedimentos básicos descritos na literatura (Pierson & Ginther, 1988). Foi determinada a posição e mensurada a área da seção transversal (cm<sup>2</sup>) do corpo lúteo e de cavidades luteais eventualmente presentes, por meio de dispositivo do próprio aparelho. A área do tecido luteal foi calculada pela diferença entre a área da seção transversal do corpo lúteo e a da cavidade luteal. As imagens mais representativas obtidas foram congeladas e gravadas em videocassete, conforme a conveniência. A atividade luteal foi monitorada pela determinação da concentração plasmática de progesterona. Amostras de sangue foram obtidas a cada dois dias a partir do início do ciclo estral, e diariamente após o 14º dia do ciclo, por meio de punção da artéria coccígea, utilizando-se tubos vacuolizados com 15µl de heparina<sup>2</sup>. Imediatamente após a colheita, as amostras foram centrifugadas a 2000rpm por 20 minutos, e o plasma obtido rotulado e armazenado a -20°C. As análises foram realizadas pela técnica do radioimunoensaio, utilizando-se um kit comercial<sup>3</sup> para determinação de progesterona por I<sup>125</sup>, no Laboratório de Radioimunoensaio da Embrapa Gado de Leite.

Para as análises estatísticas, o dia da ovulação que originou o corpo lúteo (determinado pelo acompanhamento ultra-sonográfico do folículo ovulatório do ciclo anterior) foi considerado o dia zero do ciclo. O efeito do dia do ciclo sobre as áreas da seção transversal do corpo lúteo, das cavidades luteais e do tecido luteal e sobre a

<sup>1</sup> Concept LC, Dynamic Imaging

<sup>2</sup> Liquemine, Roche

<sup>3</sup> Coat-a-Count, Medlab

concentração plasmática de progesterona foi determinado por análise de variância, e as diferenças entre dias avaliadas pelo teste de Tukey. A taxa de crescimento e a regressão luteal e as taxas de aumento e de redução na concentração plasmática de progesterona foram determinadas por análise de regressão. Os períodos de crescimento e de regressão luteal foram caracterizados pela presença de diferença significativa entre a área do corpo lúteo em cada dia de observação e a maior área observada. O mesmo procedimento foi adotado para a concentração de progesterona. A incidência de cavidades luteais foi determinada durante o período de maior área luteal. O efeito da presença de cavidades luteais sobre as áreas do corpo lúteo e do tecido luteal e sobre a concentração de progesterona foi determinado por análise de variância, e as diferenças significativas foram testadas pelo teste "t". A relação entre a área do corpo lúteo e a área do tecido luteal e concentração de progesterona foi analisada pela correlação de Pearson. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do programa SAEG (Euclides, 1982). Os resultados são apresentados pela média e erro padrão.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos 15 ciclos estrais avaliados, 14 apresentaram duração média de  $21,28 \pm 0,48$  dias. Um animal apresentou um prolongamento inesperado da fase luteal, o que resultou em um ciclo estral de 31 dias, não sendo utilizado nas análises. Animais

com prolongamento natural do ciclo estral são ocasionalmente citados (Taylor & Rajamahendran, 1991).

O corpo lúteo foi inicialmente identificado nos dias 2 (7,14%), 3 (64,29%), 4 (21,43%) ou 5 (7,14%) após a ovulação. A massa de tecido luteal foi identificada ultra-sonograficamente antes que a concentração de progesterona superasse 1,0ng/ml (Tab. 1), ou seja, ainda em sua fase de formação. Kastelic et al. (1990b), ao estudarem novilhas da raça Holandesa, detectaram o corpo lúteo bem mais precocemente (a partir do dia 0,5). O tamanho menor do corpo lúteo observado em animais de raças zebuínas (Pathiraja et al., 1986; Figueiredo et al., 1997) pode ter contribuído para retardar a primeira detecção pela ultra-sonografia neste estudo. Os exames ultra-sonográficos foram realizados sem referenciar anotações de exames anteriores, evitando-se sugestionar os resultados. De fato, Kastelic et al. (1990b) observaram uma delimitação precisa do corpo lúteo apenas em torno do terceiro dia do ciclo, época em que o corpo lúteo estabelece seu padrão característico de imagem ultra-sonográfica (Tom et al., 1998). Os corpos lúteos avaliados apresentaram ecotextura normal (Fig. 1 A e B), o que permitiu sua clara distinção em relação ao estroma ovariano e aos folículos adjacentes. O corpo lúteo estava presente no ovário direito em 57,14% dos casos, e no esquerdo em 42,86%, coerente com a maior frequência de ovulações relatadas no ovário direito em bovinos (Pierson & Ginther, 1987; Viana et al., 1998).

Tabela 1. Características morfológicas e funcionais do corpo lúteo ao longo do ciclo estral em vacas da raça Gir

Variável	Média+EP	CV
Dia da primeira detecção do corpo lúteo	3,28±0,19	22,10
Primeiro dia em que a progesterona superou 1,0ng/ml	4,71±0,19	15,40
Dia da primeira detecção de cavidades luteais	5,37±0,75	39,70
Dia em que o corpo lúteo atingiu seu tamanho máximo	9,64±0,25	9,63
Dia em que a concentração de progesterona foi máxima	14,00±0,51	13,72
Último dia de detecção do corpo lúteo	20,00±0,26	4,80
Último dia em que a progesterona superou 1,0ng/ml	17,36±0,32	7,00
Duração da detecção do corpo lúteo	17,71±0,30	6,43
Duração da fase luteal (progesterona superior a 1,0ng/ml)	13,64±0,36	9,79

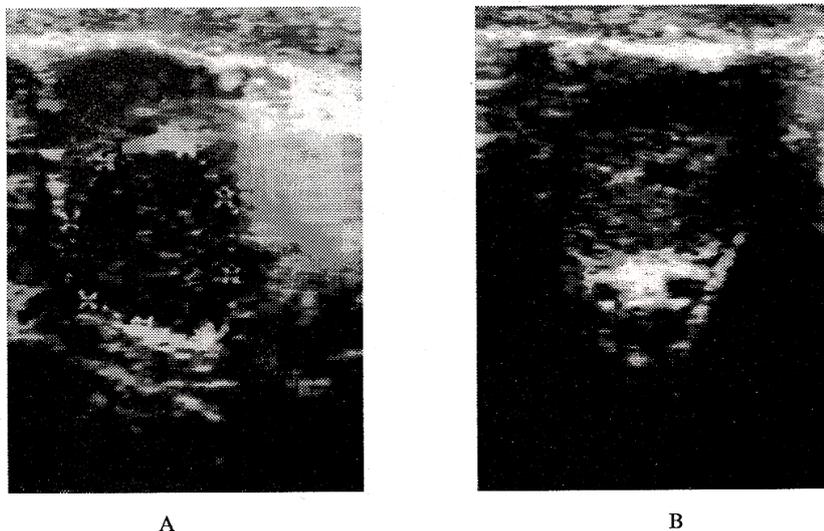


Figura 1. Imagem ultra-sonográfica de corpos lúteos em vacas da raça Gir. (A) Corpo lúteo sem cavidade. A área do tecido luteal está delimitada pela linha pontilhada. (B) Corpo lúteo apresentando pequena cavidade interna.

Observou-se efeito significativo do dia do ciclo sobre a área da seção transversal do corpo lúteo ( $P < 0,0001$ ) e do tecido luteal ( $P < 0,0001$ ) e sobre a concentração de progesterona ( $P < 0,0001$ ), mas não sobre a área de cavidades luteais ( $P > 0,05$ ), conforme demonstrado na Fig. 2. O período no qual se observaram os maiores valores para a área do corpo lúteo ocorreu entre os dias 7 e 16 do ciclo. As características morfológicas do corpo lúteo e a concentração média de progesterona plasmática nesse período estão demonstradas na Tab. 2. O tamanho do corpo lúteo durante o diestro foi inferior ao observado para taurinos (Kastelic et al., 1990a,b), porém semelhante ao relatado por Viana et al. (1998) em mestiços Holandês-Zebu (área de  $2,66\text{cm}^2$ ), e por Figueiredo et al. (1997) em zebuínos (diâmetro de 15,90 a 17,69mm).

Tabela 2. Características morfológicas e funcionais do corpo lúteo entre os dias 7 e 16 do ciclo estral em vacas da raça Gir

Característica	Média + EP	CV
Área do corpo lúteo ( $\text{cm}^2$ )	$3,21 \pm 0,05$	19,45
Área de cavidade luteal ( $\text{cm}^2$ )	$0,42 \pm 0,04$	63,49
Área do tecido luteal ( $\text{cm}^2$ )	$3,06 \pm 0,05$	20,10
Concentração de progesterona (ng/ml)	$4,61 \pm 0,17$	30,46

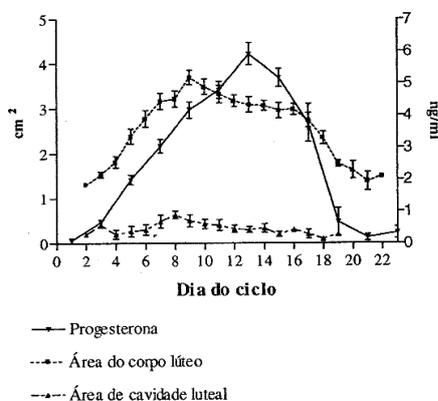


Figura 2. Área da seção transversal do tecido luteal, das cavidades luteais e concentração de progesterona durante o ciclo estral em vacas da raça Gir (média e desvio-padrão).

A concentração plasmática de progesterona atingiu seu valor máximo entre os dias 11 e 15 do ciclo ( $5,28 \pm 0,19\text{ng/ml}$ ), o que coincide com a estabilização observada após o corpo lúteo atingir seu tamanho máximo (Fig. 2), ou seja, o

dia em que a progesterona atingiu seu valor máximo foi posterior ao dia em que o corpo lúteo atingiu sua maior área (Tab. 1). Esses resultados indicam que entre os dias 9 e 14 a variação observada na concentração de progesterona foi decorrente da maturação funcional do corpo lúteo, e não do aumento na massa de tecido luteal. Os valores obtidos neste trabalho foram semelhantes aos descritos para vacas de raças taurinas (Kastelic et al., 1990a; Spano & Rosa e Silva, 1992) e para vacas zebuínas das raças Brahma (Rhodes et al., 1995) e Nelore (Figueiredo et al., 1997). Comparações entre valores de progesterona plasmática, entretanto, devem ser feitas com cautela, em função da ampla faixa de variação observada nesses trabalhos (de 1,13 a 11ng/ml) e de diferenças na metodologia de análise dos resultados.

Cavidades luteais foram observadas em 37,14% dos corpos lúteos entre os dias 7 e 16 do ciclo. Esta incidência é inferior à relatada por Kastelic et al. (1990b), porém semelhante à observada por Kito et al. (1986). A presença de cavidades foi associada a um maior tamanho de corpos lúteos ( $3,38 \pm 0,07 \text{cm}^2 \times 3,12 \pm 0,06 \text{cm}^2$ ;  $P < 0,05$ ), mas não de tecido luteal ( $2,96 \pm 0,07 \text{cm}^2 \times 3,12 \pm 0,06 \text{cm}^2$ ;  $P > 0,05$ ) ou à maior concentração de progesterona ( $4,95 \pm 0,23 \text{ng/ml} \times 4,38 \pm 0,20 \text{ng/ml}$ ;  $P > 0,05$ ). Estudos realizados em diferentes raças e estádios reprodutivos concordam quanto à pouca significância funcional da presença de cavidades luteais (Pierson & Ginther, 1988; Kastelic et al., 1990b; Tom et al., 1998).

A taxa de crescimento luteal entre a primeira detecção e o dia 7 foi de  $0,42 \pm 0,05 \text{cm}^2/\text{dia}$  ( $P < 0,0001$ ), segundo a equação linear  $Y = 0,24 + 0,42X$  ( $R^2 = 0,53$ ). O crescimento do corpo lúteo reflete o processo de hipertrofia das células luteais grandes e hiperplasia das células luteais pequenas, responsáveis por 40% e 20% do volume total do corpo lúteo, respectivamente (Wiltbank, 1994). Também contribui para o desenvolvimento do corpo lúteo o extenso processo de angiogênese característico da luteinização (Smith et al., 1994). A concentração plasmática de progesterona aumentou  $0,49 \pm 0,02 \text{ng/ml/dia}$  ( $P < 0,0001$ ) entre os dias 1 e 11, segundo a equação linear  $Y = -0,51 + 0,49X$  ( $R^2 = 0,85$ ). O aumento na concentração de progesterona reflete as alterações na esteroidogênese das células foliculares

subseqüentes à descarga ovulatória de LH. A etapa limitante na biossíntese da progesterona é a clivagem da cadeia lateral do colesterol, realizada pela enzima mitocondrial P450<sub>scc</sub> (Niswender et al., 1994). A concentração da P450<sub>scc</sub> é semelhante entre o folículo ovulatório e o corpo lúteo recente, mas aumenta em até 12 vezes até o final do diestro (Smith et al., 1994). A taxa de regressão luteal entre os dias 16 e 21 foi de  $-0,36 \pm 0,04 \text{cm}^2/\text{dia}$  ( $P < 0,0001$ ), segundo a equação linear  $Y = 0,87 - 0,36X$  ( $R^2 = 0,56$ ), e a redução na concentração de progesterona entre os dias 15 e 21 foi de  $0,93 \pm 0,01 \text{ng/ml/dia}$  ( $P < 0,0001$ ), segundo a equação linear  $Y = 0,19 - 0,93X$  ( $R^2 = 0,61$ ). A regressão morfológica e a funcional do corpo lúteo são devidas à ação da PGF<sub>2</sub> $\alpha$  endometrial produzida nesse período (Niswender et al., 1994).

A correlação entre a área do corpo lúteo e a concentração de progesterona ao longo do ciclo estral foi de 0,68 ( $P < 0,0001$ ), semelhante à observada em outros trabalhos (Sprecher et al., 1989; Kastelic et al., 1990a; Ribadu et al., 1994). Quando se considerou apenas o período de diestro (entre os dias 7 e 16 do ciclo), observou-se uma correlação baixa entre essas características (0,33;  $P < 0,05$ ). Correlações discretas (entre 0,26 e 0,56) também foram observadas em animais da raça Nelore (Figueiredo et al., 1997). De fato, o tamanho do corpo lúteo pode não ser um bom indicador da produção de progesterona em um determinado momento do ciclo (Stubblings & Walton, 1986), particularmente para zebuínos, nos quais a avaliação do corpo lúteo pode ser menos precisa (Pathiraja et al., 1986). A concentração de progesterona circulante depende diretamente de sua produção, da liberação pelo tecido luteal e da taxa de "clearance". O corpo lúteo secreta, durante o diestro, aproximadamente  $10^{16}$  moléculas de progesterona / minuto  $\times$  g tecido luteal (Stormshak et al., 1963, citado por Wiltbank, 1994). Outros fatores, porém, interferem na produção desse hormônio, como o fluxo sanguíneo, a presença de fatores luteotróficos ou luteolíticos e a disponibilidade de precursores para a sua biossíntese pelas células luteais (Wiltbank, 1994). Esses fatores interagem determinando um padrão de secreção circadiana para os esteróides ovarianos (Spano & Rosa e Silva, 1992).

As correlações entre área do corpo lúteo e produção de progesterona foram semelhantes durante o desenvolvimento e na regressão luteal ( $R=0,84$ ;  $P<0,0001$  e  $R=0,74$ ;  $P<0,0001$ ). A tendência de redução na correlação entre estas características durante a regressão luteal pode estar relacionada ao rápido declínio na concentração de progesterona neste período ( $-0,93\pm 0,01\text{ng/ml/dia}$ ), em comparação à taxa de regressão luteal ( $-0,36\pm 0,04\text{cm}^2/\text{dia}$ ). A  $\text{PGF}_{2\alpha}$  endometrial parece afetar diretamente a ligação do LH e a esteroidogênese das células luteais, e este efeito precede a morte celular e a regressão tecidual (Niswender et al., 1994).

A duração da detecção do corpo lúteo foi de  $17,71\pm 0,30$  dias e a da fase luteal (caracterizada por níveis de progesterona superiores a  $1,0\text{ng/ml}$ ), de  $13,64\pm 0,36$  dias. Esta diferença foi devida à visualização de tecido luteal, mesmo após a perda da capacidade funcional do corpo lúteo. A regressão funcional precede a regressão morfológica (Kastelic et al., 1990a; Taylor & Rajamahendran, 1991; Ribadu et al., 1994). A correlação entre duração da fase luteal e o comprimento do ciclo estral foi de  $0,56$  ( $P<0,05$ ). A duração da fase luteal é o principal determinante do número de ondas de crescimento folicular e do intervalo de ovulações (Taylor & Rajamahendran, 1991). Parte da diferença observada no comprimento do ciclo estral, entretanto, pode ter sido relacionada a variações no estágio de desenvolvimento ou à taxa de crescimento folicular após a luteólise (Quirk et al., 1986).

### CONCLUSÃO

O corpo lúteo de vacas da raça Gir apresenta características morfológicas e funcionais semelhantes às observadas em outras raças bovinas. A correlação entre estas características é elevada, principalmente durante o desenvolvimento luteal, e uma única avaliação morfológica tem valor limitado na determinação do estado funcional dessa glândula.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- EUCLIDES, R.F. *Sistema de análise estatística e genética (SAEG)*. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1982. 68p.
- FERREIRA, A.M., TORRES, C.A.A. Perda de peso corporal e cessação da atividade ovariana luteínica cíclica em vacas mestiças leiteiras. *Pesq. Agropec. Bras.*, v.28, p.411-418, 1993.
- FIGUEIREDO, R.A., BARROS, C.M., PINHEIRO, O.L. et al. Ovarian follicular dynamics in Nelore breed (*Bos indicus*) cattle. *Theriogenology*, v.47, p.1489-1505, 1997.
- KASTELIC, J.P., BERGFELT, D.R., GINTHER, O.J. Relationship between ultrasonic assessment of the corpus luteum and plasma progesterone concentration in heifers. *Theriogenology*, v.33, p.1269-1278, 1990a.
- KASTELIC, J.P., PIERSON, R.A., GINTHER, O.J. Ultrasonic morphology of corpora lutea and central luteal cavities during the estrous cycle and early pregnancy in heifers. *Theriogenology*, v.34, p.487-498, 1990b.
- KITO, S., OKUDA, K., MIYAZAWA, K. et al. Study on the appearance of the cavity in the corpus luteum of cows by using ultrasound scanning. *Theriogenology*, v.25, p.325-333, 1986.
- NISWENDER, G.D., JUENGEL, J.L., MCGUIRE, W.J. et al. Luteal function: the estrous cycle and early pregnancy. *Biol. Reprod.*, v.50, p.239-247, 1994.
- PATHIRAJA, N., OYEDIPE, E.O., VOH JR, A.A. et al. Accuracy of rectal palpation in the diagnosis of corpora lutea in Zebu cows. *Br. Vet. J.*, v.142, p.467-471, 1986.
- PIERSON, R.A., GINTHER, J.O. Reliability of diagnostic ultrasonography for identification and measurement of follicles and detecting the corpus luteum in heifers. *Theriogenology*, v.28, p.929-936, 1987.
- PIERSON, R.A., GINTHER, J.O. Ultrasonic imaging of the ovaries and uterus in cattle. *Theriogenology*, v.29, p.21-37, 1988.
- QUIRK, S.M., HICKEY, G.J., FORTUNE, J.E. Growth and regression of ovarian follicles during the follicular phase of the oestrous cycle in heifers undergoing spontaneous and  $\text{PGF}_{2\alpha}$  induced luteolysis. *J. Reprod. Fertil.*, v.77, p.211-219, 1986.
- RHODES, F.M., FITZPATRICK, L.A., ENTWISTLE, K.W. et al. Sequential changes in ovarian follicular dynamics in *Bos indicus* heifers before and after nutritional anoestrus. *J. Reprod. Fertil.*, v.104, p.41-49, 1995.
- RIBADU, A.Y., WARD, W.R., DOBSON, H. Comparative evaluation of ovarian structures in cattle by palpation per rectum, ultrasonography and plasma progesterone concentration. *Vet. Rec.*, v.135, p.452-457, 1994.
- SMITH, M.F., MCINTOSH, E.W., SMITH, G.W. Mechanisms associated with corpus luteum development. *J. Anim. Sci.*, v.72, p.1857-1872, 1994.
- SPANO, A.A., ROSA E SILVA, A.A.M. Níveis plasmáticos de progesterona durante o ciclo estral e na fase inicial da gestação em bovinos da raça holandesa (*Bos taurus taurus*). *Ars Vet.*, v.8, p.131-141, 1992.
- SPRECHER, D.J., NEBEL, R.L.; WHITMAN, S.S. The predictive value, sensitivity and specificity of palpation per rectum and transectal ultrasonography for the determination of bovine luteal status. *Theriogenology*, v.31, p.1165-1172, 1989.
- STUBBINGS, R.B., WALTON, J.S. Relationship between plasma progesterone concentration and pregnancy rates in cattle receiving either fresh or frozen embryos. *Theriogenology*, v.26, p.145-155, 1986.
- TAYLOR, C., RAJAMAHENDRAN, R. Follicular dynamics, corpus luteum growth and regression in lactating dairy cattle. *Can. J. Anim. Sci.*, v.71, p.61-68, 1991.
- TOM, J.W., PIERSON, R.A., ADAMS, G.P. Quantitative echotexture analysis of bovine corpora lutea. *Theriogenology*, v.49, p.1345-1352, 1998.
- VIANA, J.H.M., TORRES, C.A.A., FERNANDES, C.A.C. et al. Avaliação ultra-sonográfica do corpo lúteo em novilhas mestiças utilizadas como receptoras de embrião. *Arch. Reprod. Anim.*, v.5, p.42-47, 1998.
- WILT BANK, M.C. Cell types and hormonal mechanisms associated with mid cycle corpus luteum function. *J. Anim. Sci.*, v.72, p.1873-1883, 1994.