



Efeito de diferentes concentrações de progesterona em dispositivos vaginais sobre a dinâmica folicular de novilhas Holandesas (*Bos taurus*) submetidas à IATF

[Effect of different concentrations of progesterone on follicular the dynamics in Holstein heifers (*Bos taurus*) submitted to TAI]

"Artigo Científico/Scientific Article"

Guilherme Aniceto Veras^{1*}, Paulo Francisco Maciel Póvoas Souto¹, José Carlos Ferreira-Silva¹, Pábola Santos Nascimento¹, Sebastião Inocêncio Guido², Antônio Santana Santos Filho², Marcos Antônio Lemos Oliveira¹, Cláudio Coutinho Bartolomeu¹

¹Laboratório de Biotécnicas Reprodutivas, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife-PE, Brasil.

²Instituto Agrônômico de Pernambuco, Recife-PE, Brasil.

*Autor para correspondência/Corresponding author: E-mail: guilhermeveras.vet@hotmail.com

Resumo

Avaliou-se o efeito de diferentes concentrações de P4 [0,75g (T1) e 1g (T2)] sobre a dinâmica folicular de novilhas púberes submetidas à IATF. No D0 do protocolo, as fêmeas do T1 (n=10) e do T2 (n=9) receberam P4 em dispositivos intravaginais e, intramuscularmente, 2mg de BE. No D7 aplicou-se 530µg de cloprostenol e 300 UI de eCG, no D8 removeu-se os dispositivos, no D9 administrou-se 1 mg de BE e no D10 realizou-se a inseminação. A sincronização da onda folicular ocorreu em 100% das fêmeas. O diâmetro (mm) do folículo dominante (FD), avaliado no D9, o diâmetro máximo do FD o diâmetro máximo do folículo ovulatório (FO) não havendo diferença (P>0,05) entre os tratamentos. A média de crescimento diário dos folículos foi maior (P<0,05) no T1 (1,6±0,12) do que no T2 (1,0±0,18). O diâmetro do FD das novilhas do T1 e do T2 não diferiu (P<0,05), tanto das que ovularam quanto das que não ovularam. O diâmetro do FD entre as novilhas que ovularam com o daquelas que não ovularam foi maior (P<0,05) tanto no T1 (14,8±0,6 vs 9,6±0,7) quanto no T2 (11,2±1,6 vs 7,7±0,03). A porcentagem de prenhez não diferiu entre T1 e T2. Os resultados indicam que ambas as dosagens de P4 são eficientes para induzir a emergência da nova onda folicular, controlar o crescimento folicular e sincronizar a ovulação de novilhas púberes.

Palavras-Chave: puberdade; folículo dominante; sincronização de estro; ovulação.

Abstract

The work evaluated the effect of different P 4 concentrations [0.75g (T1) and 1.00 g (T2)] on follicular dynamics of prepuberal heifers subject to TAI. On D0 of the protocol, heifers of both T1 (n=10) and T2 (n=9) received P 4 in intravaginal devices and, by intramuscularly, 2mg of EB. On D7, heifers received 530µg of cloprostenol and 300 IU of eCG, while on D8 the devices were removed, and on D9 received 1 mg of EB and on D10 were subject to TAI. The synchronization of the follicular wave occurred in 100% of heifers. The diameter (mm) of the dominant follicle (DF), evaluated on D9, the maximum diameter of the DF, and the o maximum diameter of the ovulatory follicle (OF) did not differ (P>0.05) among groups. The mean daily follicular growth was greater (P<0.05) on T1 (1.6±0.12) than T2 (1.0±0.18). The diameter of the DF in T1 and T2 heifers did not differ (P<0.05), both in heifers that ovulated and those that did not. The DF diameter among heifers that ovulated was greater (P<0.05) than those that did not ovulate, both on T1 (14.8±0.6 vs 9.6±0.7) and T2 (11.2±1.6 vs 7.7±0.03). The pregnancy rate did not differ between T1 and T2. The results indicate that both P 4 devices are efficient to induce the emergence of the new follicular wave, control follicular growth, and ovulation synchronization in puberal heifers.

Keywords: puberty; dominant follicle; synchronization of estrus and ovulation.

Introdução

A inseminação artificial em tempo fixo (IATF) é uma importante biotécnica que visa sincronizar o estro e a ovulação para inseminar um grande número de fêmeas em dia e horário pré-determinados sem a necessidade da detecção de estro (Ferraz et al., 2008; Gottschall et al., 2008; Silva Filho et al., 2015).

Os protocolos de IATF constituídos de dispositivos intravaginais de progesterona (P₄) ou implantes auriculares de progestágenos associados ao estradiol (E₂) para sincronizar a emergência da onda de crescimento folicular (Colazo e Mapletoft, 2014). Após a remoção da fonte exógena de P₄ ocorre o crescimento do folículo dominante e aumento dos pulsos de LH que induzirá a ovulação em aproximadamente 75 horas (Silva Filho et al. 2015).

Em bovinos, alguns estudos, especialmente em zebuínos, têm demonstrado que altas concentrações de P₄ durante o protocolo de IATF podem diminuir tanto a frequência dos pulsos de LH quanto o crescimento folicular (Carvalho et al., 2008). Por outro lado, concentrações subluteais de P₄ tem sido associada a um maior crescimento folicular (Savio et al., 1993).

Altas concentrações de P₄ diminuem os pulsos de GnRH, minimizam a disponibilidade de receptores na adenohipófise e reduzem a taxa de ovulação (Turzillo et al., 1995). Fêmeas submetidas a concentração menores de P₄ tendem apresentar maiores concentrações de E₂ em consequência da maior pulsatilidade do LH (Colazo et al., 2008). Por sua vez, o E₂ aumenta a resposta da adenohipófise frente ao estímulo do GnRH devido ao aumento da disponibilidade de seus receptores (Nett et al., 2002) ou por uma ação direta através do estímulo da secreção de LH (Baratta et al., 2001).

O conhecimento da exata influência da P₄, antes, durante e após a IA ainda não foi completamente esclarecido, razão pela qual, as discussões acerca de protocolos mais eficientes de IATF devem sempre considerar a influência da P₄ nesses protocolos (Nascimento et al., 2013). Diante do abordado, objetivou-se avaliar a influência de diferentes concentrações de P₄ sobre a dinâmica folicular de novilhas Holandesas cíclicas submetidas à protocolo de IATF.

Material e métodos

O estudo foi realizado no Instituto Agrônomo de Pernambuco, localizado no

município de São Bento do Una-PE/Brasil, o qual apresenta temperatura média anual de 22°C, pluviosidade de 653 mm e índice médio de temperatura e umidade equivalente a 63,5%. A estação experimental está situada a uma latitude de 8° 31' 35" e uma longitude de 36° 27' 34,8".

Novilhas (25) púberes da raça Holandesa (com idade 16 a 18 meses) foram previamente submetidas a exame ginecológico com auxílio de ultrassom (DP 4900 Vet, Mindray®) equipado com transdutor linear de 6,0 MHz, sendo apenas selecionadas aquelas que apresentavam corpo lúteo. As fêmeas selecionadas (n = 19) apresentaram peso médio de 415 ± 21,0 kg e escore de condição corporal entre 3 e 3,5, considerando uma escala de 1 a 5, segundo Edmonson et al. (1989). Os animais foram mantidos em confinamento, consumindo silagem de sorgo, palma forrageira, ração concentrada, sal mineralizado e água *ad libitum*.

As novilhas foram aleatoriamente distribuídas em dois grupos experimentais (T1 e T2), independentemente do dia do ciclo estral. No dia 0 (D0), as fêmeas de ambos os tratamentos receberam o dispositivo intravaginal contendo 0,75 g de P₄ (Prociclar®, Hertape Calier, Minas Gerais, Brasil) no T1 e 1 g de P₄ (Primer®, Tecnopec, São Paulo, Brasil) no T2, associado a 2 mg de benzoato de estradiol (Estrogin®, Farmavet, São Paulo, Brasil) por via intramuscular. No dia 7 (D7) do protocolo foi aplicado 530 µg de cloprostenol sódico (Ciosin®, Schering-Plough Saúde Animal, São Paulo, Brasil) e 300 UI de eCG (Novormon®, Schering-Plough Saúde Animal, São Paulo, Brasil), ambos por via intramuscular e no dia 8 (D8), os dispositivos intravaginais foram removidos. No dia 9 (D9), aproximadamente 32 horas após a retirada desses dispositivos foi administrado 1 mg de benzoato de estradiol em ambos os grupos. A IA foi realizada 54 horas após a remoção dos dispositivos intravaginais.

A atividade ovariana foi avaliada, por ultrassonografia, no D0, no D4 para monitorar a emergência da nova onda folicular, no D8 para mensurar o folículo dominante, no D9 para mensurar o folículo pré-ovulatório e no D10, dia da IA, para mensurar o diâmetro do folículo ovulatório. Após a IA, as avaliações foram realizadas a cada 6 horas até a confirmação do momento da ovulação, caracterizada pelo tempo médio entre a última observação e o desaparecimento do folículo dominante na imagem

ultrassonográfica do exame subsequente (Silva Filho et al., 2015). Durante o exame, o transdutor foi movimentado sobre a superfície dos ovários e após a localização da imagem desejada, congelava-se para mensuração do diâmetro dos folículos. O diagnóstico de gestação foi realizado 30 dias após a IA.

Os dados foram analisados no programa estatístico SPSS 16.0 para testar a normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias, empregando-se a análise de variância (ANOVA). Sendo evidenciada diferença estatística, foi aplicado o teste de Tukey para os contrastes entre as médias. Os resultados foram descritos apresentando-se as médias e erro padrão das médias (média \pm erro padrão da média), aplicando-se o nível de significância de 5% para rejeição da hipótese nula. As variáveis, sincronização da onda, taxa de ovulação e taxa de prenhez que apresentaram dados binomiais foram analisadas pelo teste Qui-quadrado.

Resultados

A avaliação da sincronização da nova onda de emergência folicular, realizada no D4, mostrou que todas as fêmeas de ambos os tratamentos tiveram o estro sincronizado, contudo, a taxa de ovulação foi de 70% no T1 e de 89% no T2, sem diferença ($P > 0,05$) entre os tratamentos. O tempo médio entre a remoção dos dispositivos intravaginais e a ovulação foi de $60,5 \pm 2,65$ horas no T1 e de $64,5 \pm 0,33$ horas no T2, também não diferindo ($P > 0,05$) entre os tratamentos experimentais.

Na Tabela 1 constam os dados relativos a atividade ovariana das novilhas tratadas com diferentes doses de P4. Nela é possível observar que tanto o diâmetro médio do folículo dominante, avaliado no D9, quanto a média do diâmetro máximo do folículo dominante não diferiram ($P >$

$0,05$) entre os tratamentos. No T1 o diâmetro máximo do folículo ovulatório também não apresentou diferença ($P > 0,05$) entre os tratamentos, no entanto, a taxa de crescimento médio diário dos folículos do T1 foi maior ($P < 0,05$) do que a do T2.

Na Tabela 2 constam os dados concernentes ao diâmetro do folículo ovulatório, avaliado no D9, de novilhas tratadas com diferentes doses de P4. Nela é possível observar que não houve diferença ($P > 0,05$) tanto entre o diâmetro dos folículos das fêmeas que ovularam quanto daquelas que não ovularam, independente do tratamento. Por outro lado, também independentemente do tratamento, foi registrado diferença ($P < 0,05$) quando se comparou esse diâmetro das fêmeas que ovularam com o daquelas que não ovularam.

Na Tabela 3 constam os dados concernentes a prenhez de novilhas tratadas com diferentes doses de P4. Nessa tabela é possível observar que o diâmetro médio do folículo dominante não apresentou diferença ($P > 0,05$), tanto entre as fêmeas prenhes quanto entre as não prenhes, independentemente do tratamento. Por outro lado, quando comparado apenas o diâmetro das fêmeas do T2 verifica-se que o das fêmeas prenhes foi maior ($P < 0,05$) do que o das não prenhes.

A taxa de ovulação, avaliada no D9, aumentou ($P < 0,05$) nos folículos ovarianos maiores de 11 mm. No entanto, as taxas de concepção foram mais elevadas ($P < 0,05$) nas fêmeas que apresentaram folículos maiores do que 8 mm no D9. Folículos ovarianos com diâmetros inferiores a 8 mm apresentaram taxas de ovulação próximas de 50%, contudo, sem haver prenhez (Figura 1).

A taxa de prenhez aos 30 dias foi de 40% no T1 e de 44,4% no T2, não diferindo ($P > 0,05$) entre os tratamentos.

Tabela 1. Dinâmica folicular ovariana (Média \pm EPM) de novilhas púberes da raça Holandesa submetidas à IATF após tratamento com 0,75 g (T1) ou 1 g (T2) de progesterona.

Variável	Atividade Ovariana	
	Tratamento	
	T1	T2
Diâmetro do folículo dominante no D9 (mm)	13,5 \pm 0,1 ^a	10,8 \pm 1,7 ^a
Diâmetro máximo do folículo dominante (mm)	14,3 \pm 1,5 ^a	11,9 \pm 0,86 ^a
Diâmetro máximo do folículo ovulatório (mm)	14,7 \pm 0,74 ^a	12,3 \pm 1,37 ^a
Taxa de crescimento médio (mm/dia)	1,6 \pm 0,12 ^a	1,0 \pm 0,18 ^b

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença ($P < 0,05$).

Tabela 2. Diâmetro (Média ± EPM) do folículo dominante no D9 de novilhas púberes da raça Holandesa que ovularam ou não após tratamento com 0,75 g (T1) ou 1 g (T2) de progesterona.

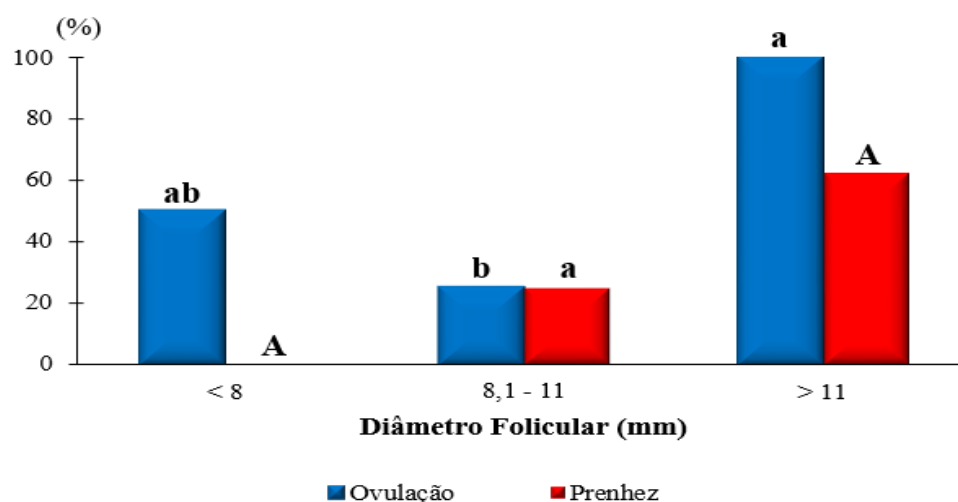
Tratamento	Diâmetro Folicular (mm)	
	Fêmeas que ovularam	Fêmeas que não ovularam
T1	14,8±0,6 ^{Aa}	9,6±0,7 ^{Ab}
T2	11,2±1,6 ^{Aa}	7,7±0,03 ^{Ab}

Letras diferentes, maiúsculas na mesma coluna e minúsculas na mesma linha, indicam diferença ($P < 0,05$).

Tabela 3. Diâmetro (Média ± EPM) do folículo dominante de novilhas púberes da raça Holandesa que ficaram prenhes ou não após tratamento com 0,75 g (T1) ou 1 g (T2) de progesterona.

Tratamento	Diâmetro Folicular (mm)	
	Fêmeas Prenhes	Fêmeas não Prenhes
T1	15,0±1,4 ^{Aa}	12,1±2,4 ^{Aa}
T2	13,2±1,4 ^{Aa}	7,5±0,1 ^{Ab}

Letras diferentes, maiúsculas na mesma coluna e minúsculas na mesma linha, indicam diferença ($P < 0,05$).

**Figura 1.** Porcentagens de ovulação e prenhez de acordo com o diâmetro do folículo dominante no D9 em novilhas púberes da raça Holandesa submetidas à IATF.

Discussão

Em bovinos, a sincronização do desenvolvimento folicular é normalmente realizada com protocolos hormonais utilizando P₄ e E₂ (Carvalho et al., 2008; Pegorer et al., 2011; Silva Filho, 2015). Como já era esperado, os tratamentos aqui utilizados induziram, de forma eficiente, essa sincronização da emergência da nova onda de crescimento folicular em novilhas cíclicas. Esse resultado pode ser atribuído ao bom estado de condição corporal das novilhas e ao histórico de regularidade do ciclo estral.

O desenvolvimento diário dos folículos ovarianos de vacas *Bos taurus* pode ser de 1,2 mm (Utt et al., 2003), podendo ser maior em novilhas quando é administrado luteolítico no dia da

inserção do dispositivo intravaginal contendo P₄ (Carvalho et al., 2008). O crescimento folicular relatado por esses autores, apesar de inferior ao verificado nesse trabalho, respalda o que foi aqui encontrado nas novilhas submetidas a protocolos de IATF ao ter sido registrado maior crescimento folicular naquelas que receberam menor dose de P₄.

A antecipação da aplicação do luteolítico do D7 para o D0 nesse estudo contribuiu para o maior crescimento diário do folículo dominante devido à diminuição da concentração de P₄ ao final do protocolo de IATF, como previamente relatado por Carvalho et al. (2008). Altas concentrações de P₄, segundo Savio et al. (1993) e Ginther et al. (1996), podem suprimir a pulsatilidade de LH.

A inclusão da eCG ao protocolo de IATF é outro aspecto que deve ser ressaltado porque deve ter contribuído para o bom crescimento diário dos folículos ovarianos. A eCG induz, conforme Sá Filho (2010), o aumento do diâmetro do folículo pré-ovulatório no momento da IATF e, de acordo com Murphy e Martinuk (1991), exerce ação de indutor do crescimento folicular em decorrência de sua capacidade de se ligar aos receptores de LH e FSH.

Nos protocolos de IATF, a capacidade ovulatória do folículo nem sempre é diretamente proporcional ao aumento do seu diâmetro (Perry et al., 2007; Gimenes et al., 2008; Silva Filho et al. 2015). Os dados obtidos nesse trabalho evidenciam que os folículos se tornam anovulatórios quando não alcançam o tamanho superior a 10 mm, achado que respalda as observações de Sartori et al. (2001) com vacas igualmente cíclicas da mesma raça. Corroboram também os relatos de Perry et al. (2007) e de Santin et al. (2013) utilizando doses similares de P₄ aquelas utilizadas nesse estudo.

Os achados aqui obtidos foram considerados consistentes, mesmo porque é importante ressaltar que nem todos os folículos com diâmetro maior do que 10 mm ovulam devido a um menor ou maior grau de sensibilidade de cada indivíduo à P₄, como mencionado por Carvalho et al. (2008) e Cipriano et al. (2011) ou mesmo porque esses folículos não apresentam número suficiente de receptores para o LH, como relatado por Gimenes et al. (2008). Além disso, é preciso considerar a influência da raça e da espécie, haja vista que nas fêmeas *Bos indicus*, os folículos ovarianos adquirem capacidade ovulatória com diâmetro inferior aos folículos das fêmeas *Bos taurus* (Pegorer et al., 2011).

A relação entre o diâmetro do FD no D9 com as altas taxas de ovulação e prenhez corrobora os resultados anteriormente obtidos, tanto em fêmeas de corte quanto de leite, por Cavalieri et al. (2003), Castilho et al. (2007), Perry et al. (2007) e Carvalho et al. (2008). Esse resultado pode ter sido em decorrência da maioria dos folículos que ovularam encontrar-se em fase de desenvolvimento avançada, fato que permitiu o corpo lúteo ser formado de modo consistente e que produziu a P₄ em quantidade suficiente para manter a prenhez. A manipulação dos ovários para a realização dos exames ultrassonográficos induz, de certa forma, algum estresse nas fêmeas, o que poderia interferir na taxa de concepção. Todavia, os resultados obtidos para taxa de concepção (40% no T1 e de 44,4% no T2) foram apenas ligeiramente inferiores

a outros resultados obtidos com protocolos sem utilização de exames ultrassonográficos, razão pela qual é permissível admitir não ter havido interferência mais significativa nos resultados desse trabalho. Segundo Vasconcelos et al. (2001), a indução da ovulação de folículos imaturos resulta em corpo lúteo de baixa capacidade esteroidogênica, incapazes de bloquear a produção de prostaglandina no diestro subsequente ao estro sincronizado. Por esse motivo, é permissível salientar que essa relação ocorreu dentro do esperado e se comportou de modo mais promissor do que aquela encontrada por Pegorer et al. (2011).

Desta forma, conclui-se que ambos os dispositivos intravaginais de P₄, caracterizados por diferentes concentrações de P₄ são eficientes para promover a emergência de uma nova onda folicular, controlar o crescimento do folículo e sincronizar a ovulação de novilhas cíclicas da raça Holandesa.

Conflito de Interesse

Os autores declaram não existir conflito de interesse.

Comitê de Ética

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo comitê de ética da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), sob o número 135/2015.

Agradecimentos

Ao Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), Estação Experimental de São Bento do Una-PE, pela disponibilidade dos animais e todo material necessário para a execução do experimento.

Referências

- Baratta, M.; West, L.A.; Turzillo, A.M.; Nett, T.M. Activin modulates differential effects of estradiol on synthesis and secretion of follicle-stimulating hormone in ovine pituitary cells. **Biology Reproduction**, 64: 714-719, 2001.
- Carvalho, J.B.P.; Carvalho, N.A.T.; Reis, E.L.; Nichi, M.; Souza, A.H.; Baruselli, P.S. Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus*, and *Bos taurus* heifers. **Theriogenology**, 69: 167-175, 2008.
- Castilho, C.; Garcia, J.M.; Renesto, A.; Nogueira, G.P.; Brito, L.F.C. Follicular dynamics and plasma FSH and progesterone concentrations during follicular deviation in

- the first post-ovulatory wave in Nelore (*Bos indicus*) heifers. **Animal Reproduction Science**, 98(3): 189-193, 2007.
- Cavaliere, J., Hepworth, G., Parker, K. I., Wright, P. J., Macmillan, K.L. Effect of treatment with progesterone and oestradiol when starting treatment with an intravaginal progesterone releasing insert on ovarian follicular development and hormonal concentrations in Holstein cows. **Animal Reproduction Science**, 76(3): 177-193, 2003.
- Cipriano, R. S., Carvalho, B. A., Marangoni, N. R., Nogueira, G. D. P. (2011). LH and FSH concentration and follicular development in Nelore heifers submitted to fixed-time artificial insemination protocols with different progesterone concentrations. **Animal Reproduction Science**, 127(1): 16-22, 2011.
- Colazo, M.G.; Kastelic, I.P.; Davis, H.; Rutledge, M.D.; Martinez, M.F.; Small, J.A.; Mapletoft, R.J. Effects of plasma progesterone concentrations on LH release and ovulation in beef cattle given GnRH. **Domestic Animal Endocrinology**, 34: 109-117, 2008.
- Colazo, M. G.; Mapletoft R. J. A review of current timed-AI (TAI) programs for beef and dairy cattle. **The Canadian Veterinary Journal**, 55(8): 772-780, 2014.
- Edmonson, A.J.; Lean, I.J.; Weaver, L.D.; Farver, T.; Webster, G.A. Body condition scoring chart for Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, 72(1): 68-78, 1989.
- Ferraz, H.T., Viu, M.A.O., Lopes, D.T., Oliveira Filho, B.D., Gambarini, M.L. Sincronização da ovulação para realização da inseminação artificial em tempo fixo em bovinos de corte. **PUBVET**, 2(12): 2008.
- Gimenes, L.U.; Sá Filho, M.F.D.; Carvalho, N.A.T.D.; Torres-Júnior, J.R.D.S.; Souza, A.H.D.; Madureira, Trinca, L.A.; Sartorelli, E.S.; Barros, C.M.; Carvalho, J.B.P.; Mapletoft, R.J.; Baruselli, P.S. Follicle deviation and ovulatory capacity in *Bos indicus* heifers. **Theriogenology**, 69(7): 852-858, 2008.
- Ginther, O. J., Wiltbank, M. C., Fricke, P. M., Gibbons, J. R., & Kot, K. Selection of the dominant follicle in cattle. **Biology of Reproduction**, 55(6): 1187-1194, 1996.
- Gottschall, C.S., Marques, P.R., Canelas, L., Almeida, M.R. Aspectos relacionados à sincronização do estro e ovulação em bovinos de corte. **Hora Vet**, (164): 43-48, 2008.
- Murphy, B. D.; Martinuk, S. D. Equine chorionic gonadotropin. **Endocrine Reviews**, 12: 1305-1319, 1991.
- Nascimento, A.B.; Souza, A.H.; Sartori, R.; Wiltbank, M.C. Produção e metabolismo da progesterona e seu papel antes, durante e depois da inseminação artificial influenciando a fertilidade de vacas leiteiras de alta produção. **Acta Scientiae Veterinariae**, 41: 1130, 2013.
- Nett, T. M.; Turzillo, A. M.; Baratta, M.; Rispoli, L. A. Pituitary effects of steroid hormones on secretion of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone. **Domestic Animal Endocrinology**, 23: 33-42, 2002.
- Pegorer, M. F., Ereno, R. L., Satrapa, R. A., Pinheiro, V. G., Trinca, L. A., Barros, C. M. Plasma progesterone concentrations nor exogenous eCG affects rates of ovulation or pregnancy in fixed-time artificial insemination (FTAI) protocols for puberal Nelore heifers. **Theriogenology**, 75(1): 17-23, 2011.
- Perry, G. A.; Smith, M. F.; Roberts, A. J.; Macneil, M. D.; Geary, T. W. Relation ship between size of the ovulatory follicle and pregnancy success in beef heifer. **Journal of Animal Science**, 85: 684-689, 2007.
- Sá Filho, M.F.; Ayres, H.; Ferreira, R.M.; Marques, M.O.; Reis, E.L.; Silva, R.C.P.; Rodrigues, C.A.; Madureira, E.H.; Bó, G.A.; Baruselli, P.S. Equine chorionic gonadotropin and gonadotropin-releasing hormone enhance fertility in a norgestomet based, timed artificial insemination protocol in suckled Nelore (*Bos indicus*) cows. **Theriogenology**, 73: 651-658, 2010.
- Santin, T.; Maturana Filho, M.; Naves, J. R.; Morales, J. K.; Ravagnani, G. M.; Silva, J. C. V.; Solto, L. A.; Madureira, E. H. Follicular development in cyclic Nelore cows treated with intravaginal progesterone device used three times or with single-use (single dose). **Animal Reproduction**, 10(3):489, 2013.
- Sartori, R.; Fricke, P. M.; Ferreira, J. C. P.; Ginther, O. J.; Wiltbank, M. C.; Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. **Biology of Reproduction**, v.65, p.1403-1409, 2001.
- Savio, J. D.; Thatcher, W. W.; Morris, G. R.; Entwistle, K.; Drost, M.; Mattiacci, M. R. Effects of induction of low plasma

progesterone concentrations with a progesterone-releasing intravaginal device on follicular turnover and fertility in cattle. **Journal of Reproduction and Fertility**, 98: 77-84, 1993.

Silva Filho, M. L., Bezerra, L. R., Ferreira-Silva, J. C., Souto, F. M. P. P., Oliveira, N. R. P., de Lima, P. F., Bartolomeu, C. C., Oliveira, M. A. L. Influence of biostimulation and temporary weaning on follicular dynamics and pregnancy rates in Nelore cows (*Bos taurus indicus*). **Tropical Animal Health and Production**, 47(7): 1285-1291, 2015.

Turzillo, A. M.; Miller, M. W.; Nett, T. M. Pulsatile GnRH increases concentrations of

GnRH receptor mRNA and numbers of GnRH receptors during luteolysis in the ewe. **Biology Reproduction**, 53: 418-423, 1995.

Utt, M. D.; Jousan, F. D.; Beal, W. E. The effects of varying the interval from follicular wave emergence to progestin withdrawal on follicular dynamics and the synchrony of estrus in beef cattle. **Journal of Animal Science**, 81: 1562-1567, 2003.

Vasconcelos, J. L. M.; Sartori, R.; Oliveira, H. N.; Ginther, J. G.; Wiltbank, M. C. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. **Theriogenology**, 56: 307-314, 2001.