

## Dinâmica folicular de vacas de corte tratadas com três protocolos de sincronização da ovulação\*

Ovarian Follicular Dynamics in Beef Cows Treated with Three Protocols of Synchronization of Ovulation

Luciano Cavalheiro Melo<sup>1,2</sup>, Andrei Beskow<sup>2</sup>, Brunna Velho Costa e Silva<sup>2</sup>, Giovana Tagliari Evangelista<sup>2</sup>, Joana Weber Gregory<sup>2</sup>, Pablo Rocha Marques<sup>2</sup>, Maria Inês Mascarenhas Jobim<sup>2</sup>, Rodrigo Costa Mattos<sup>2</sup> & Ricardo Macedo Gregory<sup>2</sup>

### ABSTRACT

**Background:** Artificial insemination is an established and viable technique to accelerate the genetic advancement and economic return of the cattle. However, compromises the efficiency of detection of estrus results in low insemination rates. To avoid these problems in beef herd, synchronization protocols have been developed that allow inseminate large number of animals within a set period of time. These treatments are known as protocols for synchronization of ovulation for fixed-time artificial insemination (FTAI). There are several slow-release progesterone or progestins devices on the market for use in synchronization of estrus/ovulation programs in cattle, but these devices have a high cost, which results in less use of these protocols by farmers. This study aimed to determine the follicular dynamic of a low cost protocol to synchronize ovulation, which uses vaginal sponges impregnated with medroxy-progesterone acetate (MPA; group 1) and compare it with two trade protocols (groups 2 and 3).

**Materials, Methods & Results:** Nine Braford cows, multiparous non-lactating, cyclic and BCS > 3 (BCS = 1 extremely lean cows and BCS = 5 obese cows) were used in these trial. The animals were divided into three treatments, which all animals went for three treatments in four replicates. Group 1 ( $n = 14$ ), animals received on day 0, a vaginal sponge impregnated with 250 mg MPA and an intramuscular (i.m.) application of 2 mg of estradiol benzoate (EB); on day 8, the vaginal sponge was removed and applied i.m. 0.5 mg cloprostenol and 24 h latter was applied i.m. 1 mg of EB. Group 2 ( $n = 7$ ), the animals received on day 0, a silicone vaginal implant with 1 g of progesterone and an application i.m. of 2 mg of EB; on day 8, the implant was removed and applied i.m. 0.5 mg cloprostenol and 24 h latter was applied i.m. 1 mg of EB. Group 3 ( $n = 8$ ), the animals received on day 0, a silicone ear implant impregnated with 3 mg norgestomet and an application i.m. of 3 mg norgestomet and 5 mg of estradiol valerate; on the 9th day the implant was removed. From day 0, animals were examined daily by trans-rectal ultrasound with an 8 MHz linear transducer to monitor follicular and luteal dynamics. After removal of the implant in group 3 and after application of 1 mg EB in the other groups, the animals were evaluated by ultrasound two times per day until ovulation was detected. In group 1, seven animals lost a vaginal sponge impregnated with MPA and the data were removed from analysis. The emergence of follicular wave for groups 1, 2 and 3 occurred, respectively,  $3.7 \pm 1.1$ ,  $3.7 \pm 0.7$  and  $4.9 \pm 1.1$  days, with a statistical trend ( $P < 0.06$ ) to occur earlier in groups 1 and 2 than in group 3. There was no statistical difference between groups in other variables. The interval between wave emergence and ovulation occurred in  $7.4 \pm 0.9$ ,  $7.3 \pm 0.7$  and  $7.6 \pm 1.3$  days ( $P = 0.82$ ); the interval between implant removal and ovulation occurred in  $66 \pm 12$ ,  $66 \pm 0$  and  $70.5 \pm 12.7$  hours ( $P = 0.62$ ); the dominant follicle diameter at implant removal was  $10.9 \pm 2.6$ ,  $12.7 \pm 2.1$  and  $10.3 \pm 2.1$  mm ( $P = 0.13$ ); and the larger diameter of the dominant follicle was  $15.3 \pm 2.9$ ,  $16.6 \pm 1.3$  and  $15.9 \pm 1.5$  mm ( $P = 0.49$ ) for groups 1, 2 and 3 respectively.

**Discussion:** In this experiment, the protocols used in groups 1, 2 and 3 were effective in promoting the emergence of a synchronized new follicular wave and promote synchronized ovulation of a follicle with few days of dominance and an appropriate diameter. It was observed that numerical variations on the emergence of the new follicular wave numerically influenced in the timing ovulations. A study with a larger number of animals per group should be performed to confirm these differences between the groups.

**Keywords:** beef cows, synchronization of ovulation, progesterone, medroxi-progesterone acetate, norgestomet, estradiol.

**Descritores:** vacas de corte, sincronização da ovulação, progesterona, acetato de medroxi-progesterona, norgestomet, estradiol.

## INTRODUÇÃO

A inseminação artificial é uma técnica consagrada e viável para acelerar o avanço genético e o retorno econômico da bovinocultura. Entretanto, existem relatos que indicam a baixa taxa de serviços em bovinos, devido principalmente a comprometimentos na eficiência da detecção de estro. Para evitar esses problemas em rebanhos de cria, foram desenvolvidos protocolos de sincronização que permitem inseminar um grande número de animais num período de tempo estabelecido. Estes tratamentos são conhecidos como protocolos de sincronização de estro/ovulação para inseminação artificial a tempo fixo (IATF).

Eficientes protocolos de sincronização de estro precisam induzir a atresia dos maiores folículos presentes nos ovários independente do estágio de desenvolvimento, resultando no recrutamento de uma nova onda de crescimento folicular, desenvolvimento sincronizado de um novo folículo dominante em todas as fêmeas e a ovulação em momento pré-determinado [9]. Esse objetivo tem sido alcançado com os protocolos de sincronização associando progestágenos, estradiol e prostaglandina, o que tem possibilitado um avanço no uso da IATF.

Apesar da eficiência dos protocolos de sincronização de estro e ovulação para IATF, um dos entraves para a utilização destes pelos proprietários é o alto custo, sendo a esponja vaginal impregnada com MAP uma opção mais barata aos implantes de progesterona/progestágeno presentes no mercado, o que reduz substancialmente o custo do protocolo. Este trabalho teve por objetivo avaliar a dinâmica folicular de vacas de corte tratadas com um protocolo utilizando o MAP e dois protocolos utilizando implantes comerciais.

## MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi realizado na Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

Foram utilizadas nove vacas Braford, múltiparas, não-lactantes, cíclicas e com CC > 3 (onde CC=1 corresponde a vacas extremamente magras e CC=5 vacas obesas). Os animais foram mantidos confinados e alimentados com feno e ração.

Os animais foram divididos em três tratamentos, sendo que todos os animais passaram pelos três tratamentos em quatro repetições. Em cada repetição os animais foram divididos entre os grupos de forma homogênea.

No grupo 1 ( $n = 14$ ), os animais receberam no dia 0, uma esponja de poliuretano impregnada com 250 mg de acetato de medroxi-progesterona (MAP)<sup>1</sup> depositada no interior da vagina e uma aplicação intramuscular (i.m.) de 2 mg de benzoato de estradiol (BE)<sup>2</sup>. No dia 8, a esponja vaginal foi retirada e aplicado i.m. 0,5 mg de Cloprostenol<sup>3</sup> e 24 h após foi aplicado i.m. 1 mg de BE<sup>2</sup>.

No grupo 2 ( $n = 7$ ), os animais receberam no dia 0, um implante vaginal de silicone impregnado com 1 g de progesterona<sup>4</sup> e uma aplicação i.m. de 2 mg de BE<sup>2</sup>. No dia 8, o implante vaginal foi retirado e aplicado i.m. 0,5 mg de Cloprostenol<sup>3</sup> e 24 h após foi aplicado i.m. 1 mg de BE<sup>2</sup>.

No grupo 3 ( $n = 8$ ), os animais receberam no dia 0, um implante auricular de silicone impregnado com 3 mg de Norgestomet<sup>5</sup> e uma aplicação i.m. de 3 mg de Norgestomet<sup>5</sup> e 5 mg de Valerato de Estradiol<sup>5</sup>. No dia 9 o implante auricular foi retirado.

A partir do dia 0, os animais foram examinados diariamente (24/24 h) por via trans-retal com o auxílio de um ultra-som<sup>6</sup> equipado com um transdutor linear de 8 MHz com o objetivo de monitorar a dinâmica folicular nos ovários. As estruturas ovarianas (folículos > 4 mm e corpos lúteos) foram mapeadas e mensuradas. Após a aplicação de 1 mg de BE nos grupos 1 e 2 e após a retirada do implante auricular no grupo 3, os animais foram avaliados por ultrasonografia 2 vezes por dia (12/12 h) até que a ovulação fosse detectada.

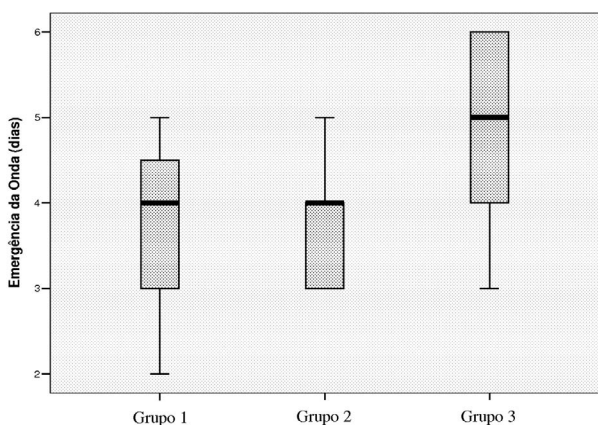
O dia da emergência da onda de desenvolvimento folicular foi identificado como o dia em que o folículo dominante apresentou, retrospectivamente, diâmetro de 4-5 mm. O momento da ovulação foi observado quando o folículo dominante com mais de 10 mm de diâmetro desapareceu entre duas avaliações ultrassonográficas. Como essas avaliações foram realizadas em intervalos de 12 h, estabeleceu-se a média desse intervalo como o momento da ovulação.

Uma vaca apresentou CC=2,5 e anestros; outra vaca teve o reto lesionado na segunda repetição, sendo as duas retiradas do experimento. Sete vacas perderam a esponja vaginal impregnada com MAP no grupo 1 e os dados foram excluídos das análises.

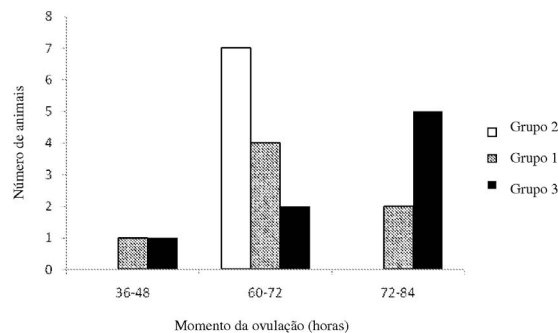
A análise estatística foi realizada no programa SPSS para Windows versão 13. Foram utilizadas estatísticas descritivas e análise de variância (ANOVA) para avaliação dos resultados. O nível de significância utilizado para rejeitar a hipótese de nulidade foi de 5%.

## RESULTADOS

A emergência da onda folicular para os grupos 1, 2 e 3 ocorreu, respectivamente, em  $3,7 \pm 1,1$ ,  $3,7 \pm 0,7$  e  $4,9 \pm 1,1$  dias, havendo uma tendência estatística ( $P < 0,06$ ) de ocorrer mais cedo nos grupos 1 e 2 que no 3 (Figura 1). Não houve diferença estatística para os grupos 1, 2 e 3 no intervalo entre emergência da onda e ovulação,  $7,4 \pm 0,9$ ,  $7,3 \pm 0,7$  e  $7,6 \pm 1,3$  dias ( $P = 0,82$ ); no intervalo entre a retirada do implante e ovulação,  $66 \pm 12$ ,  $66 \pm 0$  e  $70,5 \pm 12,7$  horas ( $P = 0,62$ ; Figura 2); no diâmetro do folículo dominante (FD) na retirada do implante,  $10,9 \pm 2,6$ ,  $12,7 \pm 2,1$  e  $10,3 \pm 2,1$  mm ( $P = 0,13$ ); no maior diâmetro do FD,  $15,3 \pm 2,9$ ,  $16,6 \pm 1,3$  e  $15,9 \pm 1,5$  mm ( $P = 0,49$ ); no crescimento do FD,  $1,6 \pm 0,3$ ,  $1,8 \pm 0,3$  e  $1,7 \pm 0,2$  mm/dia ( $P = 0,22$ ); no diâmetro do corpo lúteo (CL) no dia zero,  $22,4 \pm 4,9$ ,  $19,3 \pm 9,1$  e  $21,1 \pm 3,1$  mm ( $P = 0,66$ ); e no diâmetro do CL no dia da retirada do implante,  $12,9 \pm 6,6$ ,  $12,9 \pm 7,8$  e  $10,8 \pm 6,8$  mm ( $P = 0,8$ ), respectivamente.



**Figura 1.** Box e whisker plots para o dia da emergência da onda em vacas de corte tratadas com três protocolos de sincronização da ovulação. As caixas abrangem 50% dos dados e são seccionadas por uma linha que corresponde à média. As linhas verticais indicam a variação dos dados. No grupo 1, os animais receberam 2 mg de BE i.m. e um implante vaginal impregnado com 250 mg de MAP no dia 0, no dia 8 o implante foi retirado e administrado 0,5 mg de cloprostenol i.m. e 24 h após foi administrado 1 mg de BE i.m. No grupo 2, os animais receberam 2 mg de BE i.m. e um implante vaginal de silicone impregnado com 1 g de progesterona no dia 0, no dia 8 o implante foi retirado e administrado 0,5 mg de cloprostenol i.m. e 24 h após foi administrado 1 mg de BE i.m. No grupo 3, os animais receberam 3 mg de norgestomet + 5 mg de VE i.m. e um implante auricular de silicone impregnado com 3 mg de norgestomet no dia 0, no dia 9 o implante foi retirado.



**Figura 2.** Momento da ovulação (horas) após a retirada do implante de progesterona/progestágeno em vacas de corte tratadas com três protocolos de sincronização da ovulação. No grupo 1, os animais receberam 2 mg de BE i.m. e um implante vaginal impregnado com 250 mg de MAP no dia 0, no dia 8 o implante foi retirado e administrado 0,5 mg de cloprostenol i.m. e 24 h após foi administrado 1 mg de BE i.m. No grupo 2, os animais receberam 2 mg de BE i.m. e um implante vaginal de silicone impregnado com 1 g de progesterona no dia 0, no dia 8 o implante foi retirado e administrado 0,5 mg de cloprostenol i.m. e 24 h após foi administrado 1 mg de BE i.m. No grupo 3, os animais receberam 3 mg de norgestomet + 5 mg de VE i.m. e um implante auricular de silicone impregnado com 3 mg de norgestomet no dia 0, no dia 9 o implante foi retirado.

## DISCUSSÃO

A emergência da onda folicular para os grupos 1, 2 e 3 ocorreu, respectivamente, em  $3,7 \pm 1,1$ ,  $3,7 \pm 0,7$  e  $4,9 \pm 1,1$  dias, havendo uma tendência estatística ( $P < 0,06$ ) de ocorrer mais cedo nos grupos 1 e 2 que no grupo 3. Os resultados dos grupos 1 e 2, onde se utilizou 2 mg de BE ao início do tratamento, foram semelhantes a estudos anteriores. Obteve-se com a administração de 2 mg de BE no momento da inserção de um implante vaginal impregnado com progesterona, a emergência de uma nova onda folicular em  $3,9 \pm 0,6$  dias [4]. Com a aplicação de 2 mg de BE + 50 mg de progesterona no dia da colocação de um implante vaginal contendo progesterona, observou-se a emergência de uma nova onda folicular em  $4,0 \pm 0,2$  dias [16]. Em outro estudo utilizando novilhas, a aplicação de 2 mg de BE no dia da colocação de um implante de progesterona resultou na emergência de uma nova onda folicular em  $3,5 \pm 0,1$  dias [7]. Já em um estudo utilizando 5mg de VE + 3 mg de norgestomet aplicados no dia da inserção do implante contendo norgestomet (mesmo tratamento do grupo 3) obteve-se a emergência da onda folicular em  $5,7 \pm 0,2$  dias, corroborando com os resultados do grupo 3 [14]. Também com resultados semelhantes, a utilização de 5 mg de VE administrado no dia da colocação do implante

vaginal CIDR, resultou na emergência da onda em  $4,8 \pm 1,2$  dias, já nos animais que receberam 2 mg de VE, a emergência da onda ocorreu em  $3,4 \pm 0,8$  dias [8]. Quando foi comparada a utilização de 5 mg de  $17\beta$ -estradiol + 100 mg progesterona (T1) ou 5 mg de valerato de estradiol + 3 mg de norgestomet (T2) em novilhas de corte tratadas com um implante de norgestomet, observou-se que a emergência da onda folicular ocorreu mais cedo e o intervalo foi menos variável nas novilhas do T1 ( $3,6 \pm 0,5$  dias) do que nas novilhas do T2 ( $5,7 \pm 1,5$  dias) [8]. Já no estudo que avaliou diferentes doses de BE, observou-se que o grupo de vacas que recebeu 2,5 mg de BE + 50 mg de progesterona no dia da colocação do implante CIDR, teve a emergência da onda folicular mais sincronizada ( $4,0 \pm 0,1$  dias, variação de 3 a 4 dias) do que o grupo que recebeu 5 mg de BE + 50 mg de progesterona ( $4,0 \pm 0,8$  dias, variação de 2 a 5 dias) [6]. O intervalo entre o tratamento com estradiol e a emergência da onda folicular depende do aumento dos níveis de FSH, o qual ocorre, como tem sido demonstrado, após as concentrações de estradiol diminuírem até níveis basais [17]. Além disso, constatou-se que doses reduzidas de ésteres de estradiol são mais eficientes em promover uma emergência de onda mais cedo e mais sincronizada que doses elevadas [6,8].

No presente estudo, a utilização de 2 mg de BE nos grupos 1 e 2 promoveu a emergência da onda folicular com uma tendência de ocorrer mais cedo que no grupo 3, onde se utilizou 5 mg de VE. Provavelmente, se o número de animais por tratamento fosse maior, se confirmaria a diferença estatística, o que estaria de acordo com os resultados de trabalhos anteriores. Quanto à sincronia na emergência da onda, o grupo 2 apresentou a menor variação (ocorreu entre os dias 3 e 5 do tratamento), enquanto que no grupo 1 (entre os dias 2 e 5) e no grupo 3 (entre os dias 3 e 6) a variação foi maior. A menor sincronia na emergência da onda folicular nos grupos 1 e 3 resultaram em variações no momento da ovulação, apesar de não haver diferença estatística.

Observou-se a redução no diâmetro do CL entre o dia 0 e o dia da retirada do implante. Apesar dos animais estarem em dias aleatórios do ciclo estral e alguns possivelmente terem tido regressão espontânea do CL, em outros a diminuição deve ter ocorrido pela administração de estrógenos no início do tratamento. Os estrógenos estão envolvidos no processo natural de luteólise, e o efeito luteolítico pela ad-

ministração de estrógenos exógenos ocorre, como tem sido demonstrado, pelo estímulo na liberação uterina de  $PGF2\alpha$  [11,18]. Animais tratados com um implante de norgestomet e a aplicação de 3 mg de norgestomet + 5 mg de VE nos dias oito ou nove do ciclo estral, apresentaram redução nas concentrações de progesterona para menos de 0,75 ng/mL oito dias após o tratamento. Já nos animais do grupo controle (sem tratamento), nenhum apresentou níveis de progesterona menores que 0,75 ng/mL no mesmo período, demonstrando o efeito luteolítico do VE [18]. Já em animais tratados com 1 mg de BE no dia 13 do ciclo estral, as concentrações de progesterona diminuíram entre 24 e 48 h após o tratamento comparadas com pequenas variações nos animais controle (sem tratamento) durante o mesmo período. Essas diferenças coincidiram com a regressão mais cedo do CL no grupo tratado. A média diária do diâmetro do CL não diferiu entre os grupos entre os dias sete e 17, porém foi menor no grupo tratado entre os dias 18 e 21 do ciclo estral [5]. O estrógeno é um componente integral do processo normal de luteólise [19] e é utilizado como agente luteolítico no protocolo do grupo 3.

No mesmo trabalho citado acima, os animais que receberam 1 mg de BE no dia 13 do ciclo estral tiveram um folículo de maior diâmetro entre 4 e 5 dias após a emergência da terceira onda folicular que os animais não tratados, demonstrando uma maior taxa de crescimento durante o desenvolvimento [5]. Isso pode ser consequência da baixa concentração de progesterona nos animais tratados devido à regressão prematura do CL, o que resulta em uma maior frequência dos pulsos de LH [3]. No presente estudo, as taxas de crescimento do FD ( $1,6 \pm 0,3$ ,  $1,8 \pm 0,3$  e  $1,7 \pm 0,2$  mm/dia) nos grupos 1, 2 e 3, respectivamente, foram altas em comparação com a taxa de crescimento do folículo dominante da onda ovulatória de um ciclo estral normal ( $1,2 \pm 0,1$  mm/dia) [10], sendo o aumento na frequência dos pulsos de LH pela diminuição nos níveis de progesterona uma justificativa para tal resultado.

A administração de BE 24 a 30 horas após a retirada do implante de progesterona em vacas e novilhas resultou em um maior pico na concentração de  $17\beta$ -estradiol, maior número de animais demonstrando estro, maior número de animais apresentando o pico pré-ovulatório de LH e reduziu o intervalo entre a retirada do implante e o pico de LH [12]. A aplicação de 0,5 a 1,0 mg de BE 24 horas após a retirada dos implantes de progesterona sincroniza o estro e a ovulação aumentan-

do inclusive a porcentagem de fêmeas bovinas que ovulam após o tratamento [13-].

No grupo 1, um animal teve ovulação precoce (ocorrendo entre 36 e 48 horas após a retirada do implante). Esse animal teve a emergência da onda no segundo dia do tratamento e o folículo dominante apresentava diâmetro de 15,1 mm no dia da retirada do MAP. A diminuição das concentrações de progesterona após a retirada do implante aliada à produção de estrógeno pelo folículo com mais de 15 mm de diâmetro deve ter induzido o pico pré-ovulatório de LH antes da administração do BE, levando à ovulação antes do momento esperado.

Com relação ao grupo 3, a maior variação numérica no momento da ovulação deve ter sido devido à variação na emergência da onda folicular pela administração de 5 mg de VE ao início do tratamento, aliada a não utilização de um indutor da ovulação após a retirada do implante, sendo o pico pré-ovulatório de LH dependente da produção de estrógeno pelo FD. As concentrações de estradiol em novilhas com um FD com mais de quatro dias de dominância são maiores no final do tratamento com progesterona/progestágeno e a duração da fase folicular subsequente é menor, com o início do estro ocorrendo antes do que em novilhas com um FD de 2 a 3 dias de dominância [1].

Apesar dos grupos 1 e 3 terem apresentado um animal com ovulação precoce (entre 36 e 48 horas após a retirada do implante), nos outros animais as ovulações ocorreram entre 60 e 84 horas, o que demonstra o alto grau de sincronia promovido pelos protocolos.

Em trabalhos anteriores onde se utilizou esponjas vaginais impregnadas com MAP em vacas criadas sob condições extensivas, observou-se que a perda do implante ocorreu entre 12% e 15% dos animais tratados [2,15]. Perdas de até 15% são consideradas aceitáveis em um grupo de animais submeti-

dos à sincronização de estro/ovulação utilizando esponjas vaginais. No presente estudo, a perda do MAP ocorreu em 50% (7/14) das vacas tratadas com o implante e deve ter ocorrido, provavelmente, pela condição de confinamento em que as vacas se encontravam, sendo que as mesmas permaneciam grande parte do tempo deitadas, o que pode ter facilitado a expulsão do implante localizado na vagina. Além disso, em se tratando de animais com genótipo *Bos taurus indicus*, existe a tendência de maior conformação vulvar em relação ao genótipo europeu, o que pode ter facilitado a perda do dispositivo. Nenhum animal dos grupos 2 e 3 perdeu o implante durante o tratamento.

### CONCLUSÃO

Nas condições deste experimento, os protocolos utilizados nos grupos 1, 2 e 3 foram eficientes em promover a emergência sincronizada de uma nova onda folicular e promover a ovulação sincronizada de um folículo com poucos dias de dominância e com diâmetro adequado.

Observou-se que variações numéricas no dia da emergência da onda de crescimento folicular influenciaram numericamente na sincronia das ovulações. Um estudo com um número maior de animais por grupo deve ser realizado para se confirmar essas diferenças entre os grupos.

### NOTAS INFORMATIVAS

<sup>1</sup>Esponja vaginal impregnada com MAP, REPROLAB - UFRGS, Porto Alegre, Brasil.

<sup>2</sup>Estrogin, Farmavet, São Paulo, Brasil.

<sup>3</sup>Sincrocio, Ourofino, Cravinhos, Brasil.

<sup>4</sup>Primer, Tecnopec, São Paulo, Brasil.

<sup>5</sup>Crestar, Intervet, Cotia, Brasil.

<sup>6</sup>Scanner Falco 100 Vet, Pie Medical, Maastricht, Holanda.

### REFERÊNCIAS

- 1 Austin E.J., Mihm M., Ryan M.P., Williams D.H. & Roche J.F. 1999. Effect of duration of dominance of the ovulatory follicle on onset of estrus and fertility in heifers. *Journal of Animal Science*. 77(8): 2219-2226.
- 2 Bastos G.M., Brenner R.H., Willke F.W., Neves J.P., Oliveira J.F.C., Bragança J.F.M., Machado S.A., Porciúncula P.M. & Gonçalves P.B.D. 2004. Hormonal induction of ovulation and artificial insemination in suckled beef cows under nutritional stress. *Theriogenology*. 62(5): 847-853.
- 3 Bergfeld E.G.M., Kojima F.N., Cupp A.S., Wehrman M.E., Peters K.E., Mariscal V., Sanchez T., & Kinder J.E. 1996. Changing dose of progesterone results in sudden changes in frequency of luteinizing hormone pulses and secretion of 17 $\alpha$ -estradiol in bovine females. *Biology of Reproduction*. 54(3): 546-553.
- 4 Bridges P.J., Lewis P.E., Wagner W.R. & Inskeep E.K. 1999. Follicular growth, estrus and pregnancy after fixed-time

- insemination in beef cows treated with intravaginal progesterone inserts and estradiol benzoate. *Theriogenology*. 52(4): 573-583.
- 5 **Burke C.R., Day M.L., Bunt C.R. & Macmillan K.L. 2000.** Use of a small dose of estradiol benzoate during diestrus to synchronize development of the ovulatory follicle in cattle. *Journal of Animal Science*. 78(1): 145-151.
- 6 **Caccia M. & Bó, G.A. 1998.** Follicle wave emergence following treatment of CIDR-implanted beef cows with estradiol benzoate and progesterone. *Theriogenology*. 49: 34.
- 7 **Carvalho J.B.P. 2004.** Sincronização da ovulação com dispositivo intravaginal de progesterona (CIDR®) em novilhas *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus* e *Bos taurus*. 124f. São Paulo, SP. Tese (Doutorado em Reprodução Animal) - Programa de Pós-graduação em Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.
- 8 **Colazo M.G., Martínez M.F., Small J.A., Kastelic J.P., Burnley C.A., Ward D.R. & Mapletoft R.J. 2005.** Effect of estradiol valerate on ovarian follicle dynamics and superovulatory response in progestin-treated cattle. *Theriogenology*. 63(5): 1454-1468.
- 9 **Driancourt M.A. 2001.** Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. *Theriogenology*. 55(6): 1211-1239.
- 10 **Ginther O.J., Kastelic J.P. & Knopf L. 1989.** Composition and characteristics of follicular waves during the bovine estrous cycle. *Animal Reproduction Science*. 20(3): 187-200.
- 11 **Hixon J.E., Pimentel C.A., Weston P.G., Chafetz E.P., Shanks R.D. & Hansel W. 1983.** A luteolytic interaction between estradiol benzoate and prostaglandin F2 $\alpha$  in cattle. *Journal of Animal Science*. 56(5): 1190-1197.
- 12 **Lammoglia M.A., Short R.E., Bellows S.E., Bellows R.A., MacNeil M.D. & Haf H.D. 1998.** Induced and synchronized estrus in cattle: Dose titration of estradiol benzoate in prepubertal heifers and post-partum cows after treatment with an intravaginal progesterone-releasing insert and prostaglandin F2 alpha. *Journal of Animal Science*. 76(6): 1662-1670.
- 13 **Macmillan K.L. 1999.** Pharmacological control of the oestrus cycle to improve the reproductive performance of cattle. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*. 23(2): 61-64.
- 14 **Mapletoft R.J., Martinez M.F., Adams G.P., Kastelic J. & Burnley C.A. 1999.** The effect of estradiol preparation on follicular wave emergence and superovulatory response in norgestomet-implanted cattle [abstract]. *Theriogenology*. 51(1): 411.
- 15 **Moraes J.C.F. & Jaume C.M. 1997.** Sincrobovi: um pessário para sincronização deaios em bovinos. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*. 21(2): 99-101.
- 16 **Moreno D., Cutaia L., Villata L., Ortisi F. & Bo G. 2001.** Follicle wave emergence in beef cows treated with progesterone releasing devices, estradiol and progesterone. In: *Proceedings of the Annual Conference International Embryo Transfer Society* (Omaha, U.S.A.). p.408.
- 17 **O'Rourke M., Diskin M.G., Sreenan J.M. & Roche J.F. 2000.** The effect of dose and route of oestradiol benzoate administration on plasma concentrations of oestradiol and FSH in long-term ovariectomised heifers. *Animal Reproduction Science*. 59(1-2): 1-12.
- 18 **Peterson C.A., Huhn J.C. & Kesler D.J. 2000.** Norgestomet- and oestradiol valerate-induced luteolysis is dependent upon the uterus. *Animal Reproduction Science*. 58(3-4): 253-259.
- 19 **Silvia W.J., Lewis G.S., McCracken J.A., Thatcher W.W. & Wilson L. 1991.** Hormonal regulation of uterine secretion of prostaglandin F2 $\alpha$  during luteolysis in ruminants. *Biology of Reproduction*. 45(5): 655-663.