

## Aplicação de ocitocina durante a ordenha e eficiência reprodutiva de vacas mestiças\*

Leandro Mendes Mascarenhas<sup>1+</sup>, Rita de Cássia Campbell Machado Botteon<sup>2</sup>, Marco Roberto Burg de Mello<sup>3</sup>, Paulo de Tarso Landgraf Botteon<sup>2</sup> e Daniel Fonseca da Roseira Vargas<sup>4</sup>

**ABSTRACT.** Mascarenhas L.M., Botteon R.C.C.M., Mello M.R.B., Botteon P.T.L. & Vargas D.F.R. [Oxytocin application during milking and reproductive efficiency of crossbred cows.] Aplicação de ocitocina durante a ordenha e eficiência reprodutiva de vacas mestiças. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária* 38(Supl.2):108-112, 2016. Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23890-000, Brazil. E-mail: mascarenhaslm@outlook.com

The aim of this study was to assess the effect of exogenous oxytocin (OT) application during milking on the reproductive efficiency of crossbred cows. A total of 24 crossbred cows were evaluated (Holstein × Zebu), which were part of a fixed-time artificial insemination program [day (D)0: progesterone + estradiol benzoate (EDB) releasing intra-vaginal device (2 mg, i.m.); D8: removal of the intra-vaginal device and application of PGF<sub>2</sub>α (0,526 mg, i.m.); D9: EDB (1 mg, i.m.); D10: IA]. After ovulation, they were randomly distributed between two groups: GO (n = 12): oxytocin (25 IU: 2.5 ml, i.v. during morning and afternoon milking); GC (n = 12): without OT. The ultrasonography examinations were performed on days 10, 15, 18 and 28. A pregnancy diagnosis was performed on day 28 by transrectal ultrasonography and the pregnancy was again evaluated on days 45 and 60. An increase in the diameter of the corpus luteum (CL) was observed in the GC group between days 10 and 18. In the GO group, the CL diameter decreased between days 10 and 15 and most of the cows (9/12; 75%) were in estrus before day 18. The CL volume was significantly higher (p < 0.05) in the GC group, during all instances, than that in the GO group on day 15. The GC group had a higher pregnancy rate (41.7%) in comparison with the GO group (25%). The conception and maintenance of pregnancy rates indicate a low reproductive efficiency in the GO group (p = 0.0022). With successive inseminations, at 90 days, one and seven cows were not pregnant in the GC (8.33%) and GO groups (58.3%), respectively. The development pattern and CL regression confirm the involvement of OT in the reproductive activity of dairy cows, thus confirming the hypothesis that exogenous OT can negatively affect the reproduction of crossbred cows.

**KEY WORDS.** Oxytocin, hormones, reproduction, ovulation, pregnancy.

---

\*Recebido em .21 de setembro de 2016.

Aceito para publicação em 18 de outubro de 2016.

Parte da Dissertação de Mestrado do primeiro autor no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (PPGMV), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).

<sup>1</sup> Médico-veterinário, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Instituto de Veterinária (IV), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), BR 465, Km 7, Seropédica, RJ 23890-000. \*Autor para correspondência, E-mail: mascarenhaslm@outlook.com

<sup>2</sup> Médica-veterinária, Departamento de Medicina e Cirurgia Veterinária, IV, UFRRJ, BR 465, Km 7, Seropédica, RJ 23890-000.

<sup>3</sup> Zootecnista, Departamento de Reprodução e Avaliação Animal, Instituto de Zootecnia, UFRRJ, BR 465, Km 7, Seropédica, RJ 23890-000.

<sup>4</sup> Discente, Medicina Veterinária, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), Av. Alberto Lamego, 2000, Parque Califórnia, Campos dos Goytacazes, RJ 28035-200.

**RESUMO.** Objetivou-se avaliar o efeito da aplicação de ocitocina (OT) exógena durante a ordenha sobre a eficiência reprodutiva de vacas mestiças. Foram avaliadas 24 vacas mestiças (Holandês x Zebu) inseridas em um programa de IATF (D0 - dispositivo intravaginal liberador de progesterona + benzoato de estradiol (BE) (2 mg, i.m.); D8 - remoção do dispositivo intravaginal e aplicação de PGF2 $\alpha$  (0,526 mg, i.m.); D9 - BE (1 mg, i.m.); D10 - IA). Após a ovulação foram distribuídas aleatoriamente em dois grupos: GO (n=12): ocitocina (25 UI - 2,5 mL, i.v. na ordenha da manhã e da tarde); GC (n=12): sem OT. Avaliações ultrassonográficas foram realizadas nos dias 10, 15, 18 e 28. O diagnóstico da gestação foi realizado no dia 28, por ultrassonografia transretal, sendo a prenhez novamente avaliada aos 45 e 60 dias. Observou-se no GC um aumento do diâmetro do corpo lúteo (CL) entre os dias 10 e 18. No GO o diâmetro do CL diminuiu entre os dias 10 e 15, e a maioria das vacas (9/12 - 75%) manifestou cio antes do dia 18. O volume do CL foi maior nas vacas do GC em todos os momentos, com diferença significativa ( $p < 0,05$ ) em relação ao GO no dia 15. As vacas do GC tiveram uma maior taxa de prenhez (41,7%) comparativamente ao GO (25%). As taxas de concepção e manutenção da gestação evidenciaram baixa eficiência reprodutiva no GO ( $p = 0,0022$ ). Com sucessivas inseminações, aos 90 dias uma e sete vacas estavam vazias no GC (8,33%) e no GO (58,3%), respectivamente. O padrão de desenvolvimento e regressão do CL confirma o envolvimento da OT na atividade reprodutiva de vacas em lactação confirmando a hipótese de que a OT exógena pode afetar negativamente a reprodução de vacas mestiças.

**PALAVRAS-CHAVE.** Ocitocina, hormônios, reprodução, ovulação, gestação.

## INTRODUÇÃO

Atualmente inúmeras atividades fisiológicas são atribuídas à ocitocina (OT), um hormônio produzido nos núcleos paraventriculares hipotalâmicos e no corpo lúteo (CL) (Kierszenbaum & Tres 2012). No contexto da reprodução a OT estimula o processo luteolítico (Guyton & Hall 2006).

Em vacas, os mecanismos envolvidos com a regressão prematura do CL e a luteólise ainda não são completamente compreendidos. Também não está totalmente esclarecida a maneira como se dá o controle da secreção de PGF2 $\alpha$  no início da luteólise. É provável que a regressão precoce do CL ocorra como consequência da liberação prematura de PGF2 $\alpha$  no útero, mediada por concentrações mais

baixas de receptores para a P4, maiores concentrações de receptores de OT, ou ambos, no endométrio (Zollers et al. 1993). Assim, receptores uterinos para a P4 e OT podem influenciar a secreção de PGF2 $\alpha$  a partir do 10º dia do ciclo, período em que o CL é mais sensível à ação luteolítica da PGF2 $\alpha$ . Shirasuna et al. (2007) propuseram que OT luteal pode ser um dos mediadores de luteólise precoce na vaca. Para Rivadeneira (2013) altas concentrações de receptores de OT no início da fase luteal são essenciais para o início da luteólise.

A OT hipofisária estimula a liberação de pequena quantidade de PGF2 $\alpha$  uterina, que, estimula a liberação de OT e PGF2 $\alpha$  pelo CL e endométrio, respectivamente. A OT interage com receptores endometriais próprios para estimular a secreção de PGF2 $\alpha$  que atua no CL, reduzindo os níveis de P4 e promovendo a liberação crescente de OT, que reforça a liberação de PGF2 $\alpha$  pelo útero. Assim, o útero se torna sensível à OT e desenvolve-se uma retroalimentação positiva entre PGF2 $\alpha$  e OT luteal (Mc Cracken et al. 1984). O controle da secreção de PGF2 $\alpha$  pela OT pela indução da expressão da cicloxigenase-2, levando ao aumento na amplitude do pulso de produção de PGF2 $\alpha$  pelo endométrio pode garantir a secreção de PGF2 $\alpha$  para completar o processo de regressão luteal (Asselin et al. 1997).

Por suas ações fisiológicas relacionadas à ejeção de leite, a OT passou a ser utilizada em larga escala em sistemas de produção de leite, especialmente em vacas mestiças no pós-parto sem a presença do bezerro. Com a justificativa de maior facilidade na ordenha e aumento da produção de leite, atualmente muitos produtores utilizam a OT, em até três aplicações durante a ordenha, em praticamente todas as vacas, independente do tipo de manejo, e em geral durante toda a lactação. Contudo, os efeitos do uso de OT exógena no pós-parto de vacas leiteiras sobre parâmetros reprodutivos não foi estudado de forma satisfatória. Dessa forma, objetivou-se avaliar o efeito da OT exógena no pós-parto de vacas mestiças sobre a eficiência reprodutiva, com ênfase na fase de reconhecimento materno da gestação.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Região Noroeste do Estado do Rio de Janeiro entre setembro e novembro de 2013 utilizando-se vacas mestiças de quatro a sete anos, boa condição corporal, entre 60 e 120 dias de paridas, sem perda de peso recente, vacinadas contra raiva e febre aftosa, exames negativos para brucelose, tuberculose e leptospirose, sem evidências de infecções uterinas, cistos ovarianos e outras afecções relevantes do ponto de

vista reprodutivo, e sem histórico de utilização de OT exógena no manejo de ordenha.

As vacas foram mantidas a pasto, ordenhadas diariamente pela manhã e à tarde, recebendo ração durante a ordenha, mistura mineral e concentrado após a ordenha. Foram mantidos os horários, a sequência na linha de ordenha e manejo já estabelecidos. As avaliações reprodutivas foram realizadas em tronco de contensão.

Após seleção 32 vacas foram submetidas ao protocolo de IATF: no dia zero (D0) receberam um dispositivo intravaginal contendo 1g de progesterona (Sincrogest®) concomitantemente com a aplicação de 2 mg de benzoato de estradiol (BE) (Sincrodiol®), intramuscular (i.m.), aproximadamente 8:00 horas. No oitavo dia (D8) foi removido o dispositivo intravaginal seguido da injeção de 0,526 mg de PGF2 $\alpha$  (Sincrocio®), i.m., 8:00 horas. No dia nove (D9), foi aplicado 1 mg de BE (Sincrodiol®), i.m., 8:00 horas.

No décimo dia (D10) os ovários foram avaliados por ultrassonografia transretal para identificar e localizar o folículo dominante (Leal et al. 2009). Vinte e quatro vacas que apresentavam folículo pré-ovulatório foram então inseminadas entre 14 e 18 horas e distribuídas aleatoriamente em dois grupos: Grupo Ocitocina (GO; n=12): 25 UI (2,5 mL) de OT intravenosa, na ordenha da manhã e da tarde (07:00 e 17:00 horas, respectivamente), a partir do terceiro dia após a ovulação; Grupo Controle (GC; n=12): sem OT, permanecendo nestes tratamentos por 90 dias e sendo reinseminadas a cada nova manifestação de cio.

Após ovulação novas avaliações foram realizadas nos dias 10, 15, 18 para avaliação do CL e aos 28, 45 e 60 dias para diagnóstico da gestação.

Para determinar o diâmetro do CL à ultrassonografia foi calculada a média dos valores encontrados para os dois maiores eixos (longitudinal e transversal). O volume do CL foi calculado por meio da fórmula para volume de uma esfera ( $V = 4/3\pi \times (D/2)^3$ ), em que D é o diâmetro médio do CL.

Os resultados relativos ao diâmetro do CL foram expressos em média  $\pm$  DP, comparadas pelo teste t de Stu-

dent ou teste U de Mann-Whitney, conforme apropriado. As taxas de concepção e gestação foram expressas em porcentagem e avaliadas pelo teste do qui-quadrado ou teste exato de Fisher. Um valor de p bicaudal  $<0,05$  foi considerado estatisticamente significativo.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se que no GC o diâmetro do CL (Tabela 1) teve um aumento progressivo, porém discreto, entre os dias 10, 15 e 18, coerente com observações de um progressivo aumento do tamanho luteal em animais que permaneceram gestantes (Kastelic et al. 1990, Mapletoft et al. 2009).

Contrariando a dinâmica do ciclo estral em vacas gestantes (Kastelic et al. 1990), no GO o diâmetro do CL diminuiu entre os dias 10 e 15, sugerindo falência estrutural e regressão precoce do CL uma vez que não havendo gestação entre os dias 15 e 19 após ovulação ocorre a luteólise (Mapletoft et al. 2009). (Tabela 1)

Conforme descrito por Ireland et al. (1980) e Redmer et al. (1988), o ciclo estral na vaca compreende quatro fases (luteogênese; CL jovem; CL maduro; luteólise). Esta classificação também utilizada por Viana et al. (1999) e Nascimento et al. (2003) aponta para luteólise precoce nos animais do GO visto que o CL neste grupo teve o diâmetro reduzido entre os dias 10 e 15, anterior ao período de luteólise. As vacas do GC apresentaram cio entre 18 e 28 dias, coerente com a luteólise entre 18 e 21 dias.

O aumento do CL entre 15 e 18 dias no GO deve-se ao fato de que nesse período foram avaliadas somente três vacas que não haviam apresentado cio, pressupondo-se que haviam concebido mantendo-se o desenvolvimento do CL refletido no diâmetro no momento.

Tabela 1. Média e desvio padrão do diâmetro do corpo lúteo de vacas após protocolo de inseminação em tempo fixo tratadas com ocitocina (GO) e controles (GC) nos dias 10, 15 e 18 após a inseminação.

	Dia 10		Dia 15		Dia 18	
	GC	GO	GC	GO	GC	GO
Média $\pm$ DP	19,41 $\pm$ 4,7	18,6 $\pm$ 4,3	19,63 $\pm$ 4,6	16,64 $\pm$ 3,9	19,82 $\pm$ 4,7	20,03 $\pm$ 3,5
Valor de p	0,7004		0,1408		**	

\*\*Grupo Ocitocina (GO) com apenas 3 vacas. Análise estatística não realizada.

Tabela 2. Média e desvio padrão (DP) do volume (mm<sup>3</sup>) do corpo lúteo de vacas em um protocolo de inseminação em tempo fixo tratadas com ocitocina (GO) e controles (GC) nos dias 10, 15 e 18 após a inseminação.

	Dia 10		Dia 15		Dia 18	
	GC	GO	GC	GO	GC	GO
Média $\pm$ DP	4,49 $\pm$ 3,49	3,86 $\pm$ 2,66	4,58 $\pm$ 3,43	2,09 $\pm$ 2,12	4,73 $\pm$ 3,58	4,46 $\pm$ 2,24
Valor de p	0,6623		0,0463		**	

\*\* Grupo ocitocina (GO) com apenas 3 vacas. Análise não realizada.



O volume do CL foi maior nas vacas do GC em todos os momentos, sem diferença significativa ( $p>0,05$ ) nos grupos em relação ao tempo, mas com diferença significativa ( $p<0,05$ ) entre os grupos no dia 15 após a inseminação (Tabela 2).

Os maiores diâmetros e volumes mensurados para o CL ocorreram no GC onde as vacas obtiveram uma maior taxa de concepção em concordância com resultados de Nogueira et al. (2012) que observaram taxa de concepção mais alta (44,1%) com CL maior. Também Jimenez-Krassel et al. (2009) demonstraram que o maior tamanho do CL está relacionado com maior taxa de concepção e capacidade de manter a gestação. Leal et al. (2009) e Mariani et al. (2013) não observaram influência do tamanho do CL nas taxas de concepção.

No GC sete vacas retornaram ao cio (58,3%), sendo seis entre 18 e 28 dias pós-inseminação quando foi verificada a gestação em cinco vacas. Aos 45 e 60 dias confirmou-se a gestação dessas cinco vacas (41,7%). No GO nove vacas (75%) retornaram ao cio, sendo seis entre 15 e 18 dias. Aos 28 dias obteve-se o diagnóstico positivo de gestação com confirmação da gestação aos 45 e 60 dias em três vacas (25%). A comparação das taxas de concepção e manutenção da gestação aos 45 e 60 dias entre o GC e GO revela baixa eficiência reprodutiva nas vacas tratadas com OT ( $p=0,0022$ ).

Noventa dias após o início do tratamento, somente uma vaca do GC estava vazia, porém com atividade ovariana cíclica. Neste caso, embora sete não tenham mantido a gestação na primeira inseminação, seis tornaram-se gestantes nos cios subsequentes. Das vacas do GO aos 90 dias três mantiveram a prenhez relativa à primeira inseminação, duas tornaram-se gestantes nos ciclos seguintes e sete continuavam vazias.

Sobre a baixa taxa de concepção no GO, um fato a ser considerado é a perda embrionária. Em bovinos a morte embrionária refere-se a perdas de gestação no período que compreende até os 42 dias de prenhez (Dunne et al. 2000). Conforme revisado por Santos et al. (2004) e Sartori (2004) a perda embrionária é a principal causa de falha de gestação em bovinos, sendo que a mortalidade precoce (7º ao 16º dia de gestação) normalmente inferior a 10%, podendo chegar a 60% até o dia 28 pós-inseminação, em geral maior para vacas de leite de alta produção. Dentre os fatores que contribuem para os transtornos fisiológicos e perda embrionária ou fetal Burns et al. (2010) destacaram a falha do mecanismo antiluteolítico ou a inadequada reação do endométrio ao IFN- $\tau$ , responsável pela sinalização

à mãe da presença do embrião, em torno dos 15 a 19 dias da gestação, sendo ambos os fatores prováveis no presente estudo.

No GO o cio predominantemente entre 15 e 18 dias indica um ciclo estral curto (Adams et al. 2008). Considera-se que houve luteólise e regressão do CL antes que o endométrio tenha iniciado fisiologicamente, a secreção pulsátil de PGF2 $\alpha$ , como ocorre em ciclo estral normal. A baixa eficiência reprodutiva nesse grupo (25% de vacas prenhes) deve-se provavelmente à ação da OT aplicada diariamente durante a ordenha. No GC o cio entre 18 e 28 dias é coerente com a luteólise entre 18 e 21 dias e ciclo estral normal.

O padrão de desenvolvimento e regressão do CL nos grupos controle e OT confirmam o envolvimento da OT na atividade reprodutiva de vacas em lactação e o provável papel deste hormônio como mediador de luteólise na vaca como demonstrado por Miyamoto e Schams (1991) e Sakumoto e Ando (1996), Shirasuna et al. (2007) e Perea e Inskip (2008), confirmando a hipótese de que a OT exógena atuaria inibindo a expressão do INF $\tau$  e consequentemente inibindo o reconhecimento materno da gestação.

## CONCLUSÃO

Conclui-se que o emprego da ocitocina em larga escala em sistemas de produção de leite é prejudicial e diminui a eficiência reprodutiva de vacas mestiças.

## REFERÊNCIAS

- Adams G.P., Jaiswal R., Singh J. & Malhi J.P. Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle. *Theriogenology*, 69:72-80, 2008.
- Asselin E., Drolet P. & Fortier MA. Cellular mechanisms involved during oxytocin-induced prostaglandin F2 alpha production in endometrial epithelial cells in vitro: role of cyclooxygenase 2. *Endocrinology*, 138:4798-4805, 1997.
- Burns B.M., Fordyce G.R.G. & Holroyd R.G. A review of factors that impact on the capacity of beef cattle females to conceive, maintain a pregnancy and wean a calf: implications for reproductive efficiency in northern Australia. *Animal Reproduction Science*, 122:1-22, 2010.
- Dunne L.D., Diskin M.G. & Sreenan J.M. Embryo and foetal loss in beef heifers between day 14 of gestation and full term. *Animal Reproduction Science*, 58:39-44, 2000.
- Guyton A.C. & Hall J.E. *Tratado de Fisiologia Médica*. 11ª ed. Elsevier, Rio de Janeiro, 2006.
- Ireland J.J., Murphree R.L. & Coulson P.B. Accuracy of predicting stages of bovine estrous cycle by gross appearance of the corpus luteum. *Journal Dairy Science*, 63:155-160, 1980.
- Jimenez-Krassel F., Folger J.K., Ireland J.L.H., Smith G.W., Hou X., Davis J.S., Lonergan P., Evans A.C.O. & Ireland J.J. Evidence That High Variation in Ovarian Reserves of Healthy Young Adults Has a Negative Impact on the Corpus Luteum and Endometrium During Estrous Cycles in Cattle. *Biology of Reproduction*, 80:1272-1281, 2009.

- 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*, 34:487-498, 1990. (Abstract).
- Kierszenbaum L.A. & Tres L.L. *Histologia e Biologia Celular: Uma Introdução à Patologia*. 3ª ed. Saunders Elsevier, Rio de Janeiro, 2012. 704p.
- Leal L.S., Oba E., Fernandes C.A.C. & Sá Filho O.G. Avaliação do corpo lúteo, contratilidade uterina e concentrações plasmáticas de progesterona e estradiol em receptoras de embriões bovinos. *Ciência Animal Brasileira*, 10:174-183, 2009.
- Mapletoft R.J., Bó G.A. & Baruselli P.S. Control of ovarian function for assisted reproductive technologies in cattle. *Animal Reproduction*, 6:114-124, 2009.
- Mariani A.C.B., Lopes F.B., Souza J.F., Dias F.E.F., Arrivabene M., Sousa J.A.T., Viana G.E.N. & Cavalcante T.V. Influência do protocolo de sincronização de estro e do tamanho de corpo lúteo sobre a taxa de prenhez em receptoras inovuladas com embriões produzidos in vitro. *Comunicata Scientiae*, 4:224-230, 2013.
- Mc Cracken J.A., Schramm W. & Okulicz W.C. Hormone receptor control of pulsatile secretion of PGF2 $\alpha$  from ovine uterus during luteolysis and its abrogation in early pregnancy. *Animal Reproduction Science*, 7:31-55, 1984.
- Miyamoto A. & Schams D. Oxytocin Stimulates Progesterone Release from Microdialyzed Bovine Corpus Luteum In Vitro. *Biology of Reproduction*, 44:1163-1170, 1991.
- Nascimento A.A., Pinheiro N.L., Sales A. & Viana J.H.M. Correlação morfológica do ovário de fêmeas bovinas em diferentes estádios reprodutivos. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 40:26-132, 2003.
- Nogueira E., Cardoso G.S., Marques Junior H.R., Dias A.M., Itavo L.C.V. & Borges J.C. Effect of breed and corpus luteum on pregnancy rate of bovine embryo recipients. *Revista brasileira de Zootecnia*, 41:2129-2133, 2012.
- Perea G. & Inskeep E.K. Infertility associated with the duration of luteal phase in postpartum cows. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*, 16:175-185, 2008.
- Redmer D.A., Grazul A.T., Kirsch J.D. & Reynolds L.P. Angiogenic activity of bovine corpora lutea at several stages of luteal development. *Journal of Reproduction and Fertility*, 82:627-634, 1988.
- Rivadeneira V. Ciclo Estral Bovino. Revisión Bibliográfica. SIRIVS - Sistema de Revisões em Investigación Veterinaria de San Marcos. Universidad Nacional Mayor de San Marcos Facultad de Medicina Veterinaria. 2013:1-15. Disponível em: [http://veterinaria.unmsm.edu.pe/files/Articulo\\_ciclo\\_estral\\_bovino\\_rivadeneira.pdf](http://veterinaria.unmsm.edu.pe/files/Articulo_ciclo_estral_bovino_rivadeneira.pdf). Acesso em out. 2016.
- Sakamoto R. & Ando Y. Progesterone Release of Bovine Corpus Luteum in Response to Oxytocin in Different Culture Systems. *Journal of Reproduction and Development*, 42:199-204, 1996.
- Santos J.E.P., Thatcher W.W., Chebel R.C., Cerri R.L. & Galvão K.N. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrous synchronization programs. *Animal Reproduction Science*, 82/83:513-535, 2004.
- Sartori, R. Fertilização e morte embrionária em bovinos. *Acta Scientiae Veterinariae*, 32:35-50, 2004.
- Shirasuna K., Shimizu T., Hayashi K., Nagai K., Matsui M. & Miyamoto A. Positive Association, in Local Release, of Luteal Oxytocin with Endothelin 1 and Prostaglandin F2 alpha During Spontaneous Luteolysis in the Cow: A Possible Intermediary Role for Luteolytic Cascade Within the Corpus Luteum. *Biologia da Reprodução*, 76:6965-6970, 2007.
- Viana J.H.M., Ferreira A.M., Sá W.F. & Camargo L.S.A. Características morfológicas e funcionais do corpo lúteo durante o ciclo estral em vacas da raça Gir. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 51:251-256, 1999.
- Zollers W.G., Garverick Jr H.A., Smith M.F., Moffatt R.J., Salfen B.E. & Youngquist R.S. Concentrations of progesterone and oxytocin receptors in endometrium of postpartum cows expected to have a short or normal oestrous cycle. *Journal of Reproduction and Fertility*, 97:329-337, 1993.