

UNILEÃO
CENTRO UNIVERSITÁRIO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

SILVIA MARIA FERREIRA SOARES BARROS

**AVALIAÇÃO DE PROTOCOLO DE IATF COM USO DE Ecg EM VACAS
LEITEIRAS**

JUAZEIRO DO NORTE-CE

2023

SILVIA MARIA FERREIRA SOARES BARROS

AVALIAÇÃO DE PROTOCOLO DE IATF COM USO DE eCG EM VACAS LEITEIRAS

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado à Coordenação do curso de Graduação em Medicina Veterinária do Centro Universitário Doutor Leão Sampaio, em cumprimento as exigências para obtenção do grau Bacharel em Medicina Veterinária.

Orientador(a): Prof. Me. Niraldo Muniz de Sousa

JUAZEIRO DO NORTE-CE

2023

SILVIA MARIA FERREIRA SOARES BARROS

**AVALIAÇÃO DE PROTOCOLO DE IATF COM USO DE ECG EM VACAS
LEITEIRAS**

Este exemplar corresponde à redação final aprovada do Trabalho de Conclusão de Curso, apresentada a Coordenação de Curso de Graduação em Medicina Veterinária do Centro Universitário Doutor Leão Sampaio, em cumprimento às exigências para a obtenção do grau de Bacharel em Medicina Veterinária.

Data da aprovação: 11/12/2023

BANCA EXAMINADORA

Orientador: ME. NIRALDO MUNIZ DE SOUSA

Membro: ME. CAMILA MENDONÇA B. MORENO

Membro: ME. HILTON ALEXANDRE VIDAL CARNEIRO

JUAZEIRO DO NORTE-CE

2023

AVALIAÇÃO DE PROTOCOLO DE IATF COM USO DE ECG EM VACAS LEITEIRAS

Silvia Maria Ferreira Soares Barros¹
Niraldo Muniz de Sousa²

RESUMO

O uso de biotecnologias reprodutivas é fundamental para aumentar a produção, a lucratividade e a capacidade reprodutiva de um rebanho. Objetivou-se por meio deste trabalho, realizar uma avaliação do uso de eCG em protocolos de IATF em vacas leiteiras. O trabalho foi realizado durante dois semestres do ano de 2023. Foram utilizados 20 animais fêmeas, SRD, com média de 40 dias de taxa de serviço, idade entre 4 e 10 anos, com uma média de peso de 425kg e ECC entre 3 e 4. O experimento foi executado em delineamento inteiramente casualizado. Os animais foram divididos em G1: protocolo de 10 dias com a ausência de eCG no D8 e o G2: com presença de eCG no D8. No primeiro semestre, foi observado 66,66% de prenhes com eCG, sem o eCG uma taxa de concepção de 50%. No segundo semestre os resultados foram inferiores aos do primeiro semestre. Foi observado a influência do escore corporal na taxa de concepção, no protocolo com eCG, apresentou 83,33% de taxa de concepção e sem o eCG obteve 37,5% para ECC 3. Os animais com ECC 4, apresentaram dados contrários. A taxa de concepção das vacas com eCG apresentaram resultados menores em relação as sem o de ECG, porém as novilhas inseminadas com o eCG, obtiveram um valor de 66,66% de taxa de concepção, já as sem eCG, apresentaram valor de 28,57%. Conclui-se assim que protocolos de IATF bem manejados utilizando o eCG, demonstraram valores positivos na taxa de concepção.

Palavras-chave: Biotecnologias reprodutivas. Bovinocultura. Ciclo estral. Dinâmica folicular. Melhoramento genético.

ABSTRACT

The use of reproductive biotechnologies is critical to increasing the production, profitability, and reproductive capacity of a herd. The objective of this study was to evaluate the use of eCG in FTAI protocols in dairy cows. The work was carried out over two semesters of the year 2023. A total of 20 SRD females were used, with an average of 40 days of service rate, aged between 4 and 10 years, with an average weight of 425kg and a BCS between 3 e 4. The experiment was carried out in a completely randomized design. The animals were divided into G1: 10-day protocol with the absence of eCG on D8 and G2: with the presence of eCG on D8. In the first semester, 66.66% of pregnancies with eCG were observed, without eCG a conception rate of 50%. In the semester, the results were lower than in the first half of the year. The influence of body score on the conception rate was observed, in the protocol with eCG, it presented 83.33% conception rate and without eCG it obtained 37.5% for BCS 3. Animals with BCS 4 presented contrary data The conception rate of cows with eCG showed lower results than those without ECG, but heifers inseminated with eCG obtained a

conception rate of 66.66%, while those without eCG had a value of 28.57%. Thus this results illustrate concluded that well-managed FTAI protocols using eCG showed positive values in the conception rate.

Keywords: Reproductive biotechnologies. Cattle farming. Estrous cycle. Follicular dynamics. Breeding.

¹Discente do curso de Graduação em Medicina Veterinária. Centro Universitário Dr. Leão Sampaio. Ferreira.barros2000@gmail.com

²Docente do curso de Graduação em Medicina Veterinária. Centro Universitário Dr. Leão Sampaio. niraldo@leaosampaio.edu.br

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos principais produtores na pecuária e para realizar a reposição dos animais de produção e o país continuar com sua alta eficiência produtiva é necessário o uso de biotecnologias reprodutivas, uma delas é a Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) que permite saber o dia exato de inseminar o rebanho bovino (MONGELLI; TAVARES, 2021). Segundo Corrêia (2019) para aumentar a produção e a lucratividade o ponto chave é aumentar a capacidade reprodutiva do rebanho, portanto um maior número de vacas entrando na estação de monta, um maior número de vacas prenhes na primeira inseminação e um maior índice de concepção.

O folículo ovariano é uma unidade fisiológica que possui suas funções e estruturas comandadas pelas gonadotrofinas e pelas interações interfoliculares (HAFEZ 2004). A dinâmica folicular é o processo de crescimento e regressão de folículos ovarianos durante todo o ciclo estral até que um folículo consiga atingir o desenvolvimento completo atingindo a ovulação (LUCY et al., 1992).

A regulação do ciclo estral nas vacas envolve uma interação neuroendócrina complexa, coordenada pelo eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal, juntamente com mecanismos intra-ovários. Essa interação estabelece uma dinâmica folicular que permite o desenvolvimento de um folículo maduro, capazes de ovular no momento adequado e produzir uma célula que possa ser fecundada (CALLEJAS et al., 2001). O ciclo estral dos bovinos tem uma duração média de 21 dias, com variações de 17 a 24 dias, geralmente ocorrem duas ou três ondas de crescimento folicular. Embora possam ocorrer de uma a quatro ondas. A quantidade de ondas por ciclo parece esta relacionada ao comprimento do ciclo e a duração da fase luteínica. Cada onda de crescimento folicular é marcada pela emergência folicular que

inicia uma fase de crescimento comum por aproximadamente três dias (GINTHER et al., 2003).

O folículo ovulatório se forma a partir da última onda folicular do ciclo estral, enquanto os folículos dominantes de ondas anteriores entram em processo de atresia. A presença de um corpo lúteo ativo no ovário, que produz progesterona em grandes quantidades determina essa atresia. A progesterona exerce um efeito de retroalimentação negativa no eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal do sistema nervoso central, reduzindo a amplitude e a frequência dos pulsos de LH. Isso inviabiliza os processos de maturação final do folículo e a ovulação (GINTHER et al., 1996). Por outro lado, o crescimento do folículo dominante em um ambiente com baixa concentração de progesterona estimula o aumento dos níveis de estrógeno. Isso desencadeia um mecanismo de retroalimentação positiva para a secreção de GnRH e resulta em um pico subsequente de LH, promovendo assim a ovulação (FORTUNE et al., 1993).

Por meio dos conhecimentos endócrinos e fisiológicos hoje há uma grande diversidade de tratamentos hormonais visando sempre atender as necessidades do rebanho afim de melhorar os índices reprodutivos (CORRÊA et al., 2019). Para Binelli (2006) além de facilitar o manejo reprodutivo o controle farmacológico do ciclo das vacas veio para aumentar a eficiência reprodutiva destes animais. Para Barros e Nogueira (2004) os protocolos hormonais além de sincronizar o estro e a ovulação facilitam o uso da IATF como instrumento de melhoramento genético, produtividade de rebanho e eficiência reprodutiva. A finalidade da manipulação do ciclo é sincronizar a ovulação para Inseminação Artificial em tempo Fixo (BÓ *et al.*, 2002), superovulação das doadoras (BÓ *et al.*, 2006), controle de progesteronemia e controle da luteólise (IBIAPINA *et al.*, 2006). Os protocolos hormonais têm a função de controlar o desenvolvimento da onda folicular e a ovulação, facilitando o manejo permitindo que a inseminação das fêmeas tenha um momento fixo pré-determinado (DA COSTA, 2010).

A utilização da Gonadotrofinacoriônica equina (eCG), incorporada aos protocolos de sincronização, tem a finalidade de aumentar a taxa de ovulação e o diâmetro do folículo pré-ovulatório (BARUSELLI et al., 2004). O eCG é produzido pelos cálices endometriais de éguas prenhes e possui meia vida longa de três dias. Este homônio tem a capacidade de se ligar aos receptores de FSH e LH dos folículos e também aos receptores de LH do corpo lúteo (STEWART; ALLEN, 1981). Em vacas em anestro o eCG dá condições para estimular o crescimento folicular e a ovulação mesmo quando as vacas estão com a liberação das gonadotrofinas comprometida. Em rebanhos em que as vacas apresentam baixa ciclicidade e

anestro, em vacas paridas (período menor que dois meses), em animais com escore corporal menor/igual a dois (segundo a escala de 1 a 5) (BARUSELLI et al., 2004), em animais com altos níveis de progesterona o efeito do eCG tem apresentado resultados satisfatórios no que diz respeito a aumento da taxa de prenhez (MARQUES et al., 2005).

Desta forma, objetivou-se por meio deste trabalho, realizar uma avaliação do uso de eCG em protocolos hormonais para realização de IATF em vacas leiteiras.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado na fazenda Barra localizada no município de Aparecida-PB. Localizada na região do Alto Sertão da Paraíba com precipitação pluviométrica de 800mm anuais e temperatura média de 27 °C. Foram utilizados 20 animais fêmeas, SRD, com média de 40 dias de taxa de serviço, idade variando entre 4 e 10 anos, com uma média de peso de 425kg, de escore corporal entre 3 e 4, submetidas ao protocolo base para vacas paridas da ouro fino.

Os animais foram divididos em G1: grupo 1 protocolo de IATF 10 dias com a ausência de eCG no D8 e o G2: grupo 2, protocolo de IATF com a utilização de e CG no D8.

No G1 (n= 10), no D0 foi introduzido um dispositivo intravaginal de liberação lenta de progesterona 0,5g monodose primer e aplicação de benzoato de estradiol RICBE, 2mg por animal (IM). No D8 promovemos a retirada do dispositivo intravaginal, aplicação da prostaglandina ESTRON, 0,48g por animal (IM), cipionato de estradiol Cipiotec, 1mg por animal (IM) e marcação com bastão de identificação de cio. No D10 as vacas que estavam aptas a inseminação foi feito diagnóstico de ultrassom para confirmação da ovulação e inseminação.

No G2 (n= 10), no D0 foi introduzido um dispositivo intravaginal de liberação lenta de progesterona 0,5g monodose primer e aplicação de benzoato de estradiol RICBE 2mg por animal (IM). No D8 promovemos a retirada do dispositivo intravaginal, aplicação da prostaglandina ESTRON 0,48g por animal (IM), cipionato de estradiol Cipiotec 1mg por animal (IM), eCG 300 UI (IM) por animal e marcação com bastão de identificação de cio. No D10 as vacas que estavam aptas a inseminação foi feito diagnóstico de ultrassom para confirmação da ovulação e inseminação.

Os grupos foram submetidos ao manejo de rotina da fazenda, onde as vacas após o diagnostico de gestação foram separadas do macho reprodutor. As vacas separadas para o protocolo de IATF passaram por uma fase de adaptação de 14 dias, padronizando a dieta e

adaptando o animal ao ambiente de serviço. Alimentação dentro do brete de contenção, manejo de ordenha na área de trabalho de reprodução e após o protocolo de inseminação ficaram no mesmo manejo por 12 dias. O diagnóstico gestacional foi realizado com 30 dias após a IA e confirmado no D45, pois nessa fase há um auto índice de reabsorção embrionária. A dieta dos animais foi formulada segundo o NASEM (2021), seguindo a suplementação mineral de acordo com o sistema produtivo, vermifugação e vacinação de acordo com o calendário da fazenda e controle de ectoparasitas. Os sêmens foram adquiridos comercialmente e passaram por avaliação prévia subjetiva quanto a motilidade e vigor antes da IA. Ficaram armazenados em botijão de nitrogênio sendo verificado o nível mínimo de nitrogênio para não comprometer a eficiência seminal.

O protocolo de descongelamento de sêmen foi utilizado o protocolo padrão realizado a partir da retirada da paleta de e imersão em água morna entre 35 e 37°C, por no mínimo 30 segundos, em seguida a paleta foi secada com auxílio do papel toalha e cortada na extremidade, posicionando-a na pipeta e no aplicador, a inseminação foi realizada logo após o descongelamento. Com o auxílio da palpação trans retal o sêmen foi aplicado após a passagem da pipeta pelos anéis cervicais. Foi avaliado o diagnóstico de gestação para taxa de concepção.

Os resultados foram tabulados e analisados por estatística descritiva por meio de planilhas do Microsoft Excel (2010).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Diante da experimentação, foi montado como hipótese inicial a utilização de eCG que tem a função de promover maiores probabilidades de concepção. Estimulando o crescimento folicular, na sua utilização em protocolos de IATF.

A região em que foi realizado o experimento, o primeiro semestre do ano é caracterizado pelos períodos chuvosos e como se trata de uma região de baixo volume de precipitação, a umidade promovida pelas chuvas não prejudica significativamente o desempenho dos animais, com media de temperatura variando entre 24° e 34° e índice pluviométrico em torno de 100mm por mês. Promovendo uma produção significativa de forragem, dessa forma os animais bem suplementados promovem saúde para produção e reprodução.

A tabela 1, apresenta a taxa de concepção diante dos números de tentativas de inseminação usando nos protocolos de IATF com e sem o uso de eCG. Durante o primeiro

semestre, que se estendeu de fevereiro a maio de 2023, foi observado 66,66% de animais positivos para prenhes, quando inseminados sob protocolo de IATF com eCG. Os animais inseminados sem a presença do eCG obtiveram uma taxa de concepção de 50%. Pelo número de animais submetidos aos protocolos, foi verificado mais de 50% de números de concepção. Isso indica que, o manejo adequado e uma boa suplementação para as vacas em reprodução promove melhores desempenhos reprodutivos. Gomes em 2019, ao avaliar vacas mestiças protocoladas por IATF com e sem o uso de eCG em diferentes épocas do ano, verificou que em períodos com maior disponibilidade de forragem, os resultados de positividade na taxa de concepção se mostraram mais satisfatório. E o uso do eCG no protocolo melhorou a concepção dos animais utilizados no experimento.

Os resultados analisados durante o segundo semestre do ano foram inferiores aos analisados no primeiro semestre as condições climáticas variaram quando a temperatura e índice pluviométrico onde a temperatura média foi de 35° e o índice de precipitação foi de 6mm/mês. Mesmo assim, o resultado utilizando o protocolo de IATF com uso de eCG, manteve maior positividade em relação aos números de animais inseminados.

Tabela 1. Taxa de concepção de vacas submetidas a diferentes protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF).

1º Semestre (fevereiro a maio de 2023)			
Protocolo	Número de tentativas (un)	Número de concepções (un)	Taxa de concepção (%)
IATF eCG	6	4	66,66
IATF	4	2	50
2º Semestre (agosto a setembro de 2023)			
IATF eCG	4	2	50
IATF	6	2	33,33

IATF – Inseminação em tempo fixo; eCG – Gonadotrofina coriônica equina; un – Unidade

Na tabela 2, é observado a influência do escore corporal na taxa de concepção de acordo com o protocolo de inseminação utilizado. O protocolo de IATF com o uso do eCG, apresentou 83,33% de taxa de concepção para escore corporal 3. Nesse mesmo escore a IATF sem o eCG obteve 37,5% de taxa de concepção. Dias et al. 2013, ao avaliar animais com diferentes ECCs (1 a 5) submetidos a um mesmo protocolo de IATF utilizando o eCG observou que não houve diferença significativa entre os grupos. Porém levando em consideração que a inclusão do eCG no protocolo e IATF aumenta os custos do protocolo julgou razoável ponderar sua utilização em vacas em condições corporais maiores que 3.

Os animais que apresentaram escore corporal 4, apresentaram dados contrários aos que apresentaram escore corporal 3. Para esse escore, a taxa de concepção das vacas inseminadas com protocolo de IATF com uso de eCG foi de 0% e das 3 vacas inseminadas com protocolo de IATF sem o uso de eCG apenas uma teve taxa de concepção positiva.

Tabela 2. Taxa de concepção de vacas submetidas a diferentes protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) de acordo com escore corporal.

Escore corporal	Número de vacas (un)		Taxa de concepção (%)	
	IATF ECG	IATF	IATF ECG	IATF
3	6	8	83,33	37,5
4	3	3	0	33,33

IATF – Inseminação em tempo fixo; eCG – Gonadotrofina coriônica equina; un – Unidade

A tabela 3, mostra os resultados obtidos a partir da taxa de concepção de acordo com a idade das vacas, analisando as novilhas que foram inseminadas e as vacas que foram inseminadas com protocolo de IATF com e sem o eCG.

A taxa de concepção das vacas submetidas ao protocolo de IATF com eCG apresentou um valor numérico menor em relação as vacas inseminadas pelo protocolo de IATF sem o uso de eCG. Por outro lado as novilhas inseminadas com o uso do eCG, obtiveram um valor de 66,66% de taxa de concepção, já as novilhas inseminadas sem o uso do eCG, apresentaram valor de 28,57%. Rodrigues em 2012, avaliou o uso de protocolo de IATF em novilhas utilizando ECG e/ou ECP após aplicação de dispositivos intravaginais de p4 previamente por 27 dias e observou que houve um aumento na taxa de detecção de estro e na proporção de novilhas induzidas a ovular com o uso do ECG. Constatando que o uso do ECG tem sido associado a um maior crescimento folicular de diâmetro de folículo dominante para IA e maior taxa de ovulação, levantando a hipótese de que devido ao aumento folicular e aumento da concentração de estradiol aumentou a taxa de ovulação sem alterar a manifestação de cio.

Tabela 3. Taxa de concepção de vacas e novilhas submetidas a diferentes protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF).

Categoria	Número de animais		Taxa de concepção	
	IATF ECG	IATF	IATF ECG	IATF
Vacas	7	3	57,14	66,66
Novilhas	3	7	66,66	28,57

IATF – Inseminação em tempo fixo; eCG – Gonadotrofina coriônica equina; un – Unidade

O período do ano em que foram submetidos os animais a reprodução, obtiveram melhores resultados com protocolo de IATF com uso de eCG. Essa positividade também foi observada para vacas com escore corporal 3 e novilhas submetidas pela primeira vez em reprodução.

4 CONCLUSÃO

De acordo com as condições impostas durante o período experimental, de forma geral e independente da sazonalidade, um manejo bem feito dos animais submetidos a reprodução utilizando um protocolo de IATF com eCG, demonstraram valores positivos na taxa de concepção.

REFERÊNCIAS

- BARROS, C.M.; NOGUEIRA, M.F.G. Superovulação em zebuínos de corte. In: 1o. **Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada**. Londrina, p. 212-222, 2004.
- BARUSELLI, P. S.; REIS, E. L.; MARQUES, M. O.; NASSER, L. F.; BO, G. A. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrous beef cattle in tropical climates. **Animal Reproduction Science**, v.82-83, p.479-486, 2004.
- BINELLI, M.; IBIAPINA B.T.; BISINOTTO R. S. 2006 Bases fisiológicas, farmacológicas e endócrinas dos tratamentos de sincronização do crescimento folicular e da ovulação. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.34, n. 1, p. 1-7, 2006.
- BÓ GA, Baruselli PS, Moreno D, Cutáia L, Caccia M, Tríbulo R, Tríbulo H, Mapletoft RJ. The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. **Theriogenology** n.57, P.53-72. 2002.
- BÓ GA, BARUSELLI P.S, CHESTA PM, MARTINS CM. The timing of ovulation and insemination schedules in superstimulated cattle. **Theriogenology**; n.65, p.89-101, 2006.
- Callejas SS. Fisiología del ciclo estral bovino. **Biología de la reproducción. Mar del Plata: Rebiotec**. In: Palma GA. p.37-49, 2001.

CORREIA, Marina José Simões do Nascimento. Análise de fatores ambientais que influenciam o intervalo entre partos em bovinos mertolengos. **Tese de Doutorado**. 2019.

Da COSTA MARCIEL, Lúcia Susana. Protocolos de Sincronização de Cio em Bovinos: Avaliação da Resposta a um Esquema Ovsynch Modificado em Vacas de Leite. Tese de Doutorado. **Universidade de Tras-os-Montes e Alto Douro (Portugal)**, 2010.

DIAS, Erika Aline Ribeiro et al. O uso de ECG influencia a taxa de concepção em vacas Nelore de diferentes condições corporais submetidas ao mesmo protocolo de IATF?. **Boletim de Indústria Animal**, v. 70, n. 3, p. 215-220, 2013.

FORTUNE JE. Follicular dynamics the bovine estrous cycle: a limiting factor in improvement of fertility? **Anim Reprod Sci**, v.33, p.111-125, 1993.

GINTHER, O. J.; WILTBANK, M. C.; FRICKE, P. M.; GIBBONS, J. R.; KOT, K. Selection of the dominant follicle in cattle. **Biology of Reproduction**, v. 55, p. 1187- 1194, 1996.

GINTHER OJ, Beg MA, Donadeu FX, Bergfelt DR. Mechanism of follicle deviation in monovular farm species. **Anim Reprod Sci**. v.78, p.239-257, 2003.

GOMES, D.S.; BEZERRA, S. T. C. S.; SILVA, L. R. Efeito do uso de eCG em protocolo de inseminação artificial em tempo fixo em vacas mestiças leiteiras. **Ciência Animal**. V.29, p. 37-44, 2019.

HAFEZ, B. & HAFEZ, E. **Reprodução Animal** (Vol. 1, pp. 513): Manole: São Paulo, Brasil. 2004.

IBIAPINA BT, Bisinotto RS, Pontes EO, Fedozzi F, Bertan CM, Bergamaschi MACM, Binelli M. Aspiração folicular no período peri-luteólise em bovinos: efeitos nas características da fase luteínica. **Acta Scientiae Veterinariae**, n.34,v. 1 p.297, 2006.

LUCY, M. C.; SAVIO, J. D.; BADINGA, L.; DE LA SOTA, R. L.; THATCHER, W. W. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. **Journal of Animal Science**, v. 70, p. 3615-3626, 1992.

MARQUES, M.O.; SÁ FILHO, M.F.; GIMENES, L.U.; FIGUEIREDO, T B; SORIA, G F; BARUSELLI, P.S. Efeito do tratamento com PGF2a na inserção e/ou tratamento com eCG na remoção do dispositivo intravaginal de progesterona na taxa de concepção à inseminação artificial em tempo fixo em novilhas nelore. **In: Acta Scientiae Veterinariae**, Angra dos Reis/RJ. v. 1, p. 287-287, 2005.

MONGELLI, Melissa Sanches; TAVARES, Izabel Cristina; FERRANTE, Marcos. Evolução e premissas dos protocolos hormonais de inseminação artificial em tempo fixo na pecuária. **Ciência Animal**, v. 31, n. 1, p. 119-133, 2021.

RODRIGUES, Adnan Darin Pereira. Estratégias hormonais para aumentar a taxa de prenhez em novilhas nelore pré-púberes. **Tese mestrado, zootecnia, UNESP-2012**.

STEWART, F.; ALLEN, W.R. Biological functions and receptor binding activities of equine chorionic gonadotrophins. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 62, p. 527-36, 1981.