



Aspectos fisiológicos e hormonais da foliculogênese e ovulação em suínos *Physiologic and hormonal aspects in swine follicleogenesis and ovulation*

A.A. Cortez, R. Toniolli¹

Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil.

¹Correspondência: toniolli@roadnet.com.br

Resumo

Este trabalho tem como objetivo discutir as recentes informações sobre a foliculogênese e a ovulação na espécie suína. O estudo da foliculogênese, dentro da fisiologia reprodutiva, permite melhor aplicação de biotecnologias da reprodução que visam maximizar a produtividade das granjas suínolas, proporcionando diminuição de custos de produção. Um bom controle da ovulação é importante, uma vez que, na prática, falhas no seu diagnóstico influenciarão diretamente na produtividade e nos custos de produção. Por outro lado, sabe-se que fatores ambientais, contato com o varrão e aspectos nutricionais afetam o crescimento folicular e o eixo hipotalâmico-hipofisário-ovariano e devem também ser estudados.

Palavras-chave: comportamento hormonal, fisiologia, foliculogênese, matrizes suínas, ovulação.

Abstract

This work had as objective supplies information about the follicleogenesis and ovulation, making a relationship with the factors that affect such processes in the swine specie. The study of follicleogenesis, inside of the reproductive physiology, allows a better application of reproduction biotechnology that maximize the productivity in swines farms with decrease of production costs. A good ovulation control is important, because in practice, flaws in your diagnosis will influence directly to the productivity and production costs. By an other hand, it is known that environmental factors, the male contact and nutritional aspects, affect to follicular growth and the hypothalamic- hypophysis- ovarian axis and should be studied.

Keywords: females, folliculogenesis, ovulation, physiology, swine hormonal comportement.

Introdução

O estudo da fisiologia reprodutiva da fêmea suína e a aplicação de biotecnologias da reprodução visam maximizar a produtividade das granjas suínolas, a fim de se obter diminuição de custos de produção. Assim, o estudo da foliculogênese e da ovulação é importante para a maximização da eficiência das biotecnologias aplicadas e fundamentais (Toniolli et al., 1989; Porter et al., 2000; Bing et al., 2001). O controle do desenvolvimento folicular e das taxas de ovulação depende de um melhor conhecimento de eventos bioquímicos e ambientais, relevantes para o desenvolvimento *in vivo* de foliculos (Downey et al., 1998).

Já é bem conhecido que fatores ambientais, como, por exemplo, o contato com o varrão, podem induzir a atividade ovariana e a antecipação do estro em fêmeas suínas (Landgendijk et al., 2000). Também tem sido observado que influências nutricionais afetam a foliculogênese e os componentes do eixo hipotalâmico-hipofisário-ovariano (Prunier e Quesnel, 2000a, b). Assim sendo, o conhecimento das fases do ciclo estral da fêmea suína é fundamental para a maximização dos índices reprodutivos (Soede e Kemp, 1997).

Os conhecimentos dos mecanismos da ovulação são importantes, uma vez que, na prática, o momento de inseminação ou cobertura é normalmente baseado no início do estro (Soede e Kemp, 1997). Portanto, falhas no seu diagnóstico influenciarão diretamente no momento recomendado para a primeira inseminação artificial ou monta natural (Bortolozzo e Wentz, 2000). A fertilização é altamente dependente do momento da inseminação em relação ao da ovulação, que, por sua vez, está baseada no estro. Desta forma, levanta-se o questionamento sobre a possibilidade de algumas características do estro predizerem o momento da ovulação (Soede e Kemp, 1997). O objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão de literatura acerca da foliculogênese, da ovulação e dos fatores que afetam tais processos na espécie suína.

Foliculogênese e atresia folicular

A fêmea suína é poliéstrica durante todo o ano, sendo a ciclicidade interrompida somente em uma gestação ou disfunção endócrina (Anderson, 1995). A duração do seu ciclo estral é de cerca de 21 dias, podendo variar de 19 a 23 dias. Durante este período, a população de foliculos antrais superficiais aumenta seu crescimento entre os dias 14 e 16 do ciclo estral. No entanto, cerca de 40 a 50% dos foliculos antrais de tamanho



médio morrem por atresia entre o 16º dia e o estro (Cox, 1997). Após este período, os folículos dominantes continuam o crescimento em direção ao estágio de folículos pré-ovulatórios.

Em fêmeas pré-púberes, cíclicas, gestantes e desmamadas, os grupos de folículos primordiais são continuamente ativados e iniciam o desenvolvimento. O crescimento até a formação do antro é muito lento. O crescimento final de 1-4 mm ao tamanho ovulatório (6 a 10 mm) é muito rápido e requer cerca de quatro a seis dias, com uma proliferação seguida de aumento no volume do antro, diferenciação das células foliculares e aumento na secreção de inibina e estradiol, bem como do aparecimento de receptores de LH nas células da granulosa (Prunier e Quesnel, 2000b). Durante o desenvolvimento de folículos antrais, o oócito secreta fatores que estimulam a proliferação e a diferenciação das células da granulosa de suínos, promovendo a supressão da produção de progesterona, o que impede a luteinização prematura (Hunter e Pardis, 2009).

Em fêmeas lactantes, o crescimento folicular avança de acordo com a progressão da lactação, mas os folículos progridem somente até 5 mm no diâmetro em três a quatro semanas de lactação. Padrões de crescimento folicular durante a lactação e após o desmame ilustram que, em dois a três dias após o desmame, os folículos de 4-5 mm são substituídos por outros grandes (Cox, 1997).

O crescimento de folículos até 2-3 mm não requer suporte gonadotrófico, pois inicialmente é controlado por fatores de crescimento ovarianos locais. Após a luteólise ou desmame, cerca de 15 a 25 folículos antrais saudáveis com diâmetro de 1-4 mm são recrutados, selecionados e crescem até o estágio de folículos pré-ovulatórios. Em seguida, após quatro a sete dias, é observada a ovulação dos folículos sobreviventes. Tem sido sugerido que, em fêmeas cíclicas, o declínio da progesterona após luteólise é o sinal para o recrutamento e a seleção. Contudo, experimentos na ausência de gonadotrofinas têm demonstrado que o FSH é necessário para suportar o crescimento folicular acima de 2-3 mm e LH acima de 4 mm (Prunier e Quesnel, 2000b).

Os fatores de sobrevivência folicular incluem fator de crescimento epidermal (EGF), fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1), gonadotrofinas, ativina e estrógeno, enquanto os fatores atrésicos incluem diminuição de estrógeno, aumento da progesterona, da testosterona, do GnRH e das interleucinas. A atresia folicular é considerada como o resultado de um equilíbrio entre os fatores de sobrevivência e atrésicos, e, no ovário suíno, a morte por apoptose celular é o mecanismo pelo qual ela ocorre. Também é demonstrado que, durante a fase luteal precoce, existe somente uma onda de crescimento folicular seguida por atresia (Cox, 1997).

Efeito do varrão sobre o desenvolvimento folicular

A presença do varrão é importante para o estímulo neuroendócrino envolvido na regulação e indução da atividade ovariana, pois, na realidade, estimula a liberação de LH em fêmeas anéstricas e pode estimular ou inibir o comportamento estral. Por outro lado, quando o estímulo é excessivo, pode-se observar redução da expressão do comportamento estral. O contato do varrão durante a detecção do estro aumenta o número de fêmeas que ovularam em torno de nove dias após o desmame. O tempo médio de ovulação e o início médio do estro (detectado mais precocemente) foram maiores em fêmeas em contato com o varrão (Langendijk et al., 2000). Em fêmeas primíparas, o contato com o varrão durante a detecção do estro é essencial para induzir a atividade ovariana e o comportamento estral. Elementos olfatórios podem fazer com que o sistema nervoso central libere hormônios e neuropeptídeos envolvidos na regulação da pulsabilidade do LH, aumentando-o imediatamente, após a primeira exposição ao macho, a um nível suficiente para estimular o desenvolvimento folicular e a ovulação (Langendijk et al., 2000).

Secreção de gonadotrofinas

A síntese e a liberação do LH pelas células hipofisárias são controladas pelo GnRH de origem hipotalâmica. O LH é secretado de modo pulsátil e cada pulso coincide com um pulso de GnRH, influenciado por fatores que incluem numerosos neuropeptídeos (opioides endógenos, serotonina, catecolaminas, aminoácidos excitatórios) de origem intra e extra-hipotalâmica, os quais permitem ao animal se integrar a influências de origem interna (idade, metabolismo, saúde) e ao meio ambiente (luz, temperatura, alimentação, ambiente social e físico). A pulsabilidade do LH é duas vezes maior durante a fase folicular precoce do que na fase luteal intermediária.

O FSH é também sintetizado e liberado pela hipófise, estando sob o controle positivo do GnRH e a influência inibitória da inibina de origem folicular sobre a hipófise. Contudo, padrões de variação do LH e do FSH são bem diferentes na fêmea suína. A concentração de FSH está alta quando os ovários estão quiescentes e diminui quando os folículos antrais tornam-se mais numerosos e diferenciados (Prunier e Quesnel, 2000b).

Em suínos, os padrões de FSH foram correlacionados com atresia, pois Cox (1979) observou um aumento de atresia folicular como consequência da queda nos níveis de FSH. Os esteroides ovarianos exercem *feedback* no eixo hipotalâmico-hipofisário, onde a progesterona tem uma influência inibitória e os estrógenos (17- β estradiol) apresentam efeitos negativos sobre a secreção de LH. Contudo, quando as concentrações são suficientemente altas, o estradiol pode exercer um *feedback* positivo para provocar o surgimento do pico de LH pré-ovulatório (Prunier e Quesnel, 2000b). A secreção de estradiol está associada a uma cooperação entre as



células da teca e da granulosa. Os andrógenos provenientes da teca servem como um substrato para a secreção de estradiol pela granulosa (Gregoraszcuk et al., 2000). *In vivo*, o estrógeno pode autorregular sua secreção pelas células da granulosa e controlar a esteroidogênese. Além disso, pode proporcionar o desenvolvimento dos folículos pré-ovulatórios e manter uma alta concentração de estrógeno no fluido folicular antes da ovulação (Bing et al., 2001).

Papel do hormônio do crescimento (GH) na função ovariana

No controle da foliculogênese, vários fatores de crescimento produzidos pelas células foliculares, frequentemente, atuam modulando os efeitos das gonadotrofinas FSH e LH. Entre esses fatores podem ser citados o fator de crescimento epidermal (EGF), fatores de crescimento fibroblástico (FGF), fatores de crescimento transformante- β (TGF- β) e o fator de crescimento semelhante à insulina (IGF; Leitão et al., 2009). Recentes estudos sugerem que o TGF- β possa desempenhar papel importante no processo global de luteinização, não influenciando, no entanto, na esteroidogênese de folículos luteinizantes de suínos (Sriperumbudur et al., 2010).

Acridita-se que a maioria das ações do GH é mediada pelos fatores IGF-1 e IGF-2. O tratamento com GH também tem demonstrado aumentar a concentração de IGF-1 no ovário e a produção por folículos isolados *in vitro*. O GH administrado sistemicamente pode afetar o desenvolvimento folicular, tanto pelo aumento dos níveis de IGF circulantes quanto pela ação local com aumento da produção intrafolicular de IGF pelas células da teca ou da granulosa (Gregoraszcuk et al., 2000).

O GH aumenta a secreção da progesterona (47%) e do estrógeno (37%), em meios com células preparadas de folículos pré-ovulatórios, pela elevação da atividade de uma enzima-chave para a esteroidogênese, a 3β -HSD. O efeito do GH nas células da teca elevou significativamente ($P < 0,01$) a secreção de estradiol em células isoladas de folículos pequenos (60%), médios (54%) e grandes (54%). A secreção de progesterona nas células da teca de folículos de pequeno diâmetro não foi afetada, entretanto, em células de folículos de médio (137%) e grande (147%) diâmetros, foi marcadamente superior. Em geral, as quantidades absolutas de estradiol pelas células da teca foram menores em relação às células da granulosa. Os resultados neste estudo confirmam que o GH age diretamente nos folículos ovarianos e que a sua ação depende do tamanho do folículo, sendo maior em células de folículos de grandes diâmetros. Já foi também observado que, em células da granulosa, a liberação de IGF-1 afeta o GH e o estradiol (Gregoraszcuk et al., 2000).

Comportamento estral

Em fêmeas mamíferas, o comportamento proceptivo são as "reações variadas da fêmea para com o macho que constitui uma iniciativa no estabelecimento ou manutenção da interação sexual". O comportamento receptivo são as "respostas da fêmea necessárias e suficientes para o sucesso do macho na realização da ejaculação". O estro é definido como o período em que a fêmea demonstra comportamento receptivo ou em que permite a cobertura (Soede e Kemp, 1997).

É possível observar-se o comportamento receptivo das fêmeas pela chamada resposta de posicionamento, em que a fêmea permanece imóvel perante o varrão, curvando seu dorso e "engatilhando" as orelhas. Estímulos olfatórios e tácteis do varrão estão particularmente envolvidos no desencadeamento da imobilidade da fêmea diante do reprodutor (Soede e Kemp, 1997). O teste para se verificar o cio caracterizado na fêmea também pode ser realizado pelo inseminador, por meio da pressão no dorso, simulando a presença do macho e, assim, obtendo-se a receptividade positiva da fêmea à monta.

O comportamento de estro é iniciado pelo estrógeno produzido pelos folículos em crescimento, e sua expressão está relacionada a diferenças nos perfis sistêmicos deste hormônio. O GnRH, o FSH, o LH e a progesterona têm ação sobre a expressão do estro, entretanto esta influência varia de acordo com o período do ciclo, bem como conforme as concentrações plasmáticas deles. Contudo, as concentrações sistêmicas de estrógeno parecem influenciar pouco na duração do estro. Em marrãs, foram observadas altas concentrações de estrógeno juntamente com uma menor duração de pró-estro, mas não em relação à duração do estro. Em fêmeas maduras, não foram observadas correlações entre as concentrações de estrógeno, LH ou progesterona e a duração do estro, apesar de o estrógeno regular o comportamento estral (Soede e Kemp, 1997). A infusão transcervical de plasma seminal ou estrógeno não reduz a duração do estro e não antecipa a ovulação em porcas de diferentes ordens de parto (Stahlberg et al., 2001).

Mecanismo da ovulação

O processo de ovulação pelo qual os folículos ovarianos se rompem e liberam os oócitos é resultado de uma série de eventos iniciados pelo surgimento do hormônio luteinizante (LH), formando, em seguida, o corpo lúteo (Downey et al., 1998). À medida que o folículo começa a projetar-se da superfície do ovário, a vascularização superficial aumenta, excetuando-se uma área central avascular, que será o futuro ponto de



ruptura. A camada granulosa é completamente dissociada somente no ápice folicular e finalmente desaparece (Hafez, 1995).

O volume folicular aumenta rapidamente a poucas horas da ovulação, sem qualquer incremento da pressão do fluido folicular, devido ao aumento da elasticidade do folículo. A atividade da plasmina aumenta após a onda gonadotrófica, e esta enzima proteolítica produzida pelas células da granulosa e/ou por fibroblastos, em resposta ao LH, à progesterona e à prostaglandina, provoca maior elasticidade na parede folicular. As contrações das células da musculatura lisa durante a ovulação parecem influenciar o desligamento do *cumulus oophorus*, a expulsão dos conteúdos foliculares após a abertura da parede apical e os fenômenos vasculares relacionados, além do fechamento do folículo e sua transformação em corpo lúteo (Hafez, 1995).

Tem-se verificado que a expansão das células do *cumulus* observada durante a maturação dos oócitos resulta também da síntese de hialuron associado a receptores CD44 presentes na superfície destas células durante o processo meiótico (Yokoo et al., 2010).

As prostaglandinas, produtos do ácido aracônico pela via da cicloxigenase, são essenciais no processo ovulatório em fêmeas suínas, e a inibição de sua síntese resulta em falhas ovarianas. Em suínos, as concentrações no fluido folicular da PGF2 α e da PGE2, aumentam drasticamente antes da ovulação, com um papel obrigatório na mesma. Teorias sobre o mecanismo da ruptura folicular sugerem que as prostaglandinas agem sobre a permeabilidade vascular e a colagenólise, a contratibilidade ovariana e a síntese ou estimulação de enzimas proteolíticas (Downey et al., 1998). A PGF2 α participa da ruptura folicular, e a PGE2 da remodelação das camadas foliculares, terminando na formação do corpo lúteo. A PGE2 estimula a produção de plasminogênio ativador, aumentando assim, a atividade da plasmina, com provável função na mistura das células tecais e granulosas durante a formação do corpo lúteo (Hafez, 1995). A indometacina é um inibidor da ovulação, e sua administração intra ovariana reduz os níveis e a síntese intrafolicular da PGF2 α . Entretanto, Patterson et al. (2001) contrapõem os resultados de Hafez (1995) e Downey et al. (1998), pois tais pesquisadores, ao realizarem injeções de um análogo de PGF2 α intravulvar, não encontraram efeito nas taxas de ovulação.

O momento da ovulação e fatores envolvidos

A determinação do momento de ovulação em fêmeas cíclicas ainda é um desafio nas granjas suínolas, já que altas variações entre os diferentes eventos do estro (pico de aceitação ao varrão, de estrógeno e LH) sugerem que o momento de ovulação pode variar (Weitze et al., 1990b).

O intervalo entre o início do estro e a ovulação é altamente variável na espécie suína e pode durar entre menos de 24 h e mais de 100 h em diferentes fêmeas. A duração do estro pode variar de 30 a 72 h, e a ovulação ocorre entre 30 e 60 h do início dele, o que evidencia uma relação significativa entre a duração do estro e o intervalo entre o início do estro e a ovulação, sendo que a ovulação ocorreu em cerca de 85% desta duração (Waberski et al., 1999). A duração do estro pode variar de 24 a 96 h, não estando relacionada às concentrações sistêmicas de estrógeno. O momento da ovulação após o início do estro pode variar de 10 a 85 h, não sendo o início do estro um bom parâmetro para prever o momento de ovulação. O término do estro ocorre em 64 ± 12 horas, e a ovulação em 41 ± 7 horas (variação de 31-54 h) após seu início (Soede e Kemp, 1997).

A duração da ovulação foi, em média, $1,8 \pm 0,6$ horas e variou entre 0,75 e 3,2 h em fêmeas não sincronizadas (cio natural), nas quais a duração da ovulação foi significativamente menor do que nas fêmeas sincronizadas, com $4,6 \pm 1,7$, variando de 2,0 a 7,0 h. Não foram encontradas correlações entre a duração da ovulação e o número máximo de folículos, nem por ovário nem por fêmea (Soede et al., 1992). Adicionalmente, foi observado que, antes da ovulação, o número máximo de folículos diferiu entre o ovário esquerdo e o direito ($10,8 \pm 3,0$ e $7,4 \pm 2,2$, respectivamente) e que a contagem máxima de folículos foi, em média, de $18,3 \pm 3,0$ folículos (variação de 14 a 24 folículos) para as fêmeas não sincronizadas. Outros autores, ao trabalharem com um grupo de fêmeas sincronizadas com PMSG e hCG, encontraram um número máximo de folículos de $10,1 \pm 2,4$ para o ovário esquerdo e de $10,3 \pm 2,7$ para o ovário direito, enquanto o número máximo de folículos por fêmea foi, em média, de $20,3 \pm 4,7$ (variação de 15 a 28 folículos; Cox, 1997).

Intervalo do desmame ao estro

A melhor estimativa do momento da ovulação é a observação do intervalo entre o desmame e o início do estro (Soede et al., 2000).

A duração do intervalo desmame-estro está associada com mudanças plasmáticas nos níveis de gonadotrofinas, esteroides, inibina, leptina, IGF-1 e insulina. Evidencia-se o estímulo positivo de baixas elevações de cortisol sobre a secreção de LH e a função ovariana (Madej et al., 2009). Parâmetros de cortisol já foram correlacionados com características periovulatórias como o início do estro, o início do pico de LH e o momento da ovulação (Kluivers-Poodt et al., 2010).

As fêmeas suínas retornam ao estro entre três e sete dias depois do desmame. Em experimento realizado por Hultén et al. (1995), foi observado que 80% das fêmeas demonstraram estro em até sete dias após o desmame. Gerritsen et al. (2008) não observaram alterações no período do estro, no desenvolvimento folicular



precoce e na taxa de ovulação em porcas submetidas a períodos diferentes de desmame com separação de porcas e leitões, quer por 12 h consecutivas por dia ou duas vezes por dia durante seis horas. Estratégias de gestão de lactação têm sido estudadas a fim de reduzir os efeitos negativos da lactação pós-desmame sobre a fertilidade, concluindo-se que um período de lactação de menos de três semanas ainda leva a função reprodutora abaixo das ótimas condições esperadas em criações suínas tecnificadas (Soede et al., 2009).

Vários estudos têm demonstrado que fêmeas com um curto intervalo entre o desmame e o estro apresentam maior duração de estro quando comparadas a fêmeas com um longo intervalo entre o desmame e o estro (Waberski et al., 1999). Patterson et al. (2001) encontraram uma correlação negativa entre o intervalo do desmame ao início do estro e as taxas de ovulação. Nissen et al. (1997) observaram que o intervalo entre o desmame e o início do estro foi, em média, de 92 h, enquanto a duração do estro de 60 h com uma correlação positiva entre o intervalo do desmame ao início do estro e a duração do estro e entre a duração do estro e o intervalo do início do estro à ovulação. O intervalo entre o desmame e o início do estro à ovulação apresentou uma correlação negativa, contudo são baixas correlações. Tais autores indicam que o período ótimo para as inseminações é de 28 h antes da ovulação as 4 h após a ovulação, pois o sêmen mantém sua capacidade fertilizante por 28 h, e concluem que o tempo da ovulação pode ser estimado pelo intervalo do desmame ao início do estro.

Foi observado por Weitze et al. (1990a) que, quando o intervalo do início do estro ao momento da ovulação foi menor, um encurtamento do comprimento total do estro ocorreu, apesar de estas fêmeas ainda apresentarem sinais de estro depois da ovulação.

Fatores que afetam a duração do estro

Entre diferentes fatores, supõe-se que o número de ciclos estrais poderia influenciar esta duração. Foi observado que o segundo e o quarto ciclos não diferiram na duração do estro, mas ocorreu uma redução do pró-estro, sendo sugerido que o quarto estro pode ter sido causado por mudanças na sensibilidade dos receptores hormonais vulvares (Soede e Kemp, 1997). Outro fator proposto foi o intervalo do desmame ao estro por meio de uma associação negativa entre o intervalo do desmame ao estro e a duração do estro. Um aumento neste intervalo (entre 3 e 6 dias) é relacionado a uma diminuição na duração do estro (Bortolozzo e Wentz, 2000). Esta influência é muito grande; assim, um aumento de três dias no intervalo do desmame ao estro resulta em uma diminuição na duração do estro (média de 24 h). A diminuição na duração do estro também resultou na diminuição no intervalo do início do estro à ovulação (Soede e Kemp, 1997).

Desta forma, foi sugerido que fêmeas com intervalo do desmame ao estro curto (3 a 4 dias) tendem a apresentar um estro mais longo e ovulação mais tardia, enquanto as fêmeas com intervalo do desmame ao estro mais longo (>6 dias) tendem a apresentar um estro mais curto e ovularem mais cedo (Bortolozzo e Wentz, 2000). Outro fator que possivelmente interfere na duração do estro é o estresse crônico, que pode afetar vários processos reprodutivos. É bem estabelecido que certas condições (espaço permitido, tamanho dos grupos e contato com o varrão) influenciam a idade da puberdade em marrãs. Tais condições também podem influenciar a expressão do estro, pois foi observado que a redução de espaço permitido resultou na redução no número de marrãs que demonstraram estro sem a presença do varrão. Aparentemente, marrãs sob condições de estresse crônico necessitariam de mais estímulo para expressar o estro (Soede e Kemp, 1997).

Em adição, em fêmeas adultas, condições de estresse também podem influenciar a expressão do estro. Foi observado que, em fêmeas que foram agrupadas após o desmame, estas apresentaram uma menor duração do estro. Em geral, o comportamento estral tem se mostrado sensível às condições de estresse. Por fim, o estímulo do varrão tem sido proposto como fator que afeta a duração do estro. Fatores visuais, olfatórios, auditivos e tácteis têm demonstrado efeito na puberdade, mas somente poucos estudos têm sido realizados em relação à duração do estro (Soede e Kemp, 1997). A presença geralmente causa altas frequências de estro. Essa frequência é muito menor quando fêmeas lactantes são mantidas em grupo sem o contato do varrão (Hultén et al., 1995).

Momento da inseminação

O sucesso da inseminação em fêmeas suínas depende também do intervalo de tempo entre a inseminação e a ovulação (Weitze et al., 1990a). O momento de inseminação é normalmente baseado no início do estro (Soede e Kemp, 1997; Bortolozzo e Wentz, 2000). Portanto, falhas de eficiência no diagnóstico de estro influenciarão diretamente no momento recomendado para a primeira inseminação artificial (Bortolozzo e Wentz, 2000). A ovulação ocorre constantemente no início do terço final do estro. O momento ideal para a inseminação artificial está intimamente relacionado ao momento da ovulação. Inseminações realizadas em intervalos maiores que 12 e 24 h antes da ovulação levam a efeitos adversos nas taxas de fertilização (Waberski et al., 1999).

Na prática, o momento ótimo para a inseminação dependeria da frequência e precisão da detecção do estro e sugere que, se a detecção do estro é realizada em intervalos de 12 h, a primeira inseminação poderia ser realizada depois de 24 h do início do estro, e a segunda inseminação 12 h depois. Uma terceira inseminação pode ser justificada para marrãs que permanecem no estro 12 h depois da segunda inseminação (Almeida et al., 2000).



Foi observado que os maiores tamanhos de leitegada foram obtidos quando eram realizadas inseminações desde 24 h antes da ovulação até o momento da ovulação (Soede et al., 2000).

Predição do momento da ovulação a partir de características do estro

Desde que a fertilização é altamente dependente do momento da inseminação relacionado à ovulação, questiona-se a possibilidade de certas características do estro predizerem a ovulação a fim de se poder prever o momento da ovulação. Algumas mudanças fisiológicas e parâmetros comportamentais são sugeridos, como a condutividade do muco vaginal, temperatura corpórea, resposta de posicionamento ao varrão e ao homem e duração do estro. Alguns estudos (Stokhof et al., 1996) demonstram que mudanças na condutividade do muco vaginal têm sido usadas para determinar o momento ótimo da inseminação. Entretanto, apesar de a condutividade vaginal aumentar levemente durante o estro, ela varia consideravelmente entre fêmeas e não foi observada correlação com o momento de ovulação. Em contraste aos bovinos e aos humanos, em suínos a temperatura corpórea como preditor do momento de ovulação tem pouco valor, haja vista a baixa correlação entre essas duas características (Soede et al., 1997).

Em experimentos usando a ultrassonografia para avaliação da ovulação em suínos, os resultados apresentaram uma acurácia que variou entre 64 e 72% de acerto (Soede e Kemp, 1997). Weitze et al. (1990b) demonstraram que a inseminação com plasma seminal, antes da dose de sêmen, no início do estro, pode antecipar a ovulação por até 14 h. Por outro lado, marrãs mostram uma redução na duração do estro de, em média, oito horas. Até o início da década de 1990, achava-se que as fêmeas suínas ovulassem em um período fixo (38-40 h) após o início do estro, entretanto tem sido demonstrado que a ovulação ocorre em momentos variáveis (2-50 h) em relação ao início dos sintomas de cio. Assim, o início do estro não é um bom parâmetro para predizer o momento da ovulação (Soede e Kemp, 1997).

Entre os fatores que afetam a duração do estro, a presença do varrão é o melhor parâmetro para predizer o momento da ovulação, contudo a duração do estro é altamente variável e fornece somente uma retrospectiva do momento da ovulação. Uma forma de predizer poderia ser o monitoramento do aumento das concentrações de LH, mas, em suínos, isto pode não ser prático. Possivelmente, a combinação de parâmetros, tais como intervalo desmama-cio e duração do cio, poderá fornecer uma melhor estimativa do momento de ovulação do que se apenas um parâmetro for levado em consideração para tal finalidade (Soede e Kemp, 1997).

Consequências das variações na expressão do estro

Fatores como as condições de estresse e de estímulo provocadas pelo varrão, assim como o intervalo entre o desmame e o estro, podem influenciar na variabilidade de duração do estro entre matrizes, sendo responsáveis pelas diferenças entre fêmeas em uma determinada população. O intervalo entre o desmame e o estro influencia a variabilidade na duração do estro. Verifica-se que um aumento no intervalo do desmame ao estro tem causado uma redução no tamanho da leitegada e na taxa de parição, sugerindo que fêmeas que apresentam maior intervalo de desmame ao estro são menos férteis. Contudo, melhores taxas de fertilizações foram obtidas para fêmeas inseminadas entre 0 e 24h antes da ovulação, independentemente do intervalo do desmame ao estro (Soede e Kemp, 1997).

De certa forma, diante das variáveis, torna-se imprescindível a escolha mais adequada de estratégias de inseminação artificial, utilizando-se poucas doses de sêmen, que impliquem altas taxas de parição e tamanho de leitegada, com o objetivo de se alcançar maior produtividade a um menor custo para a granja.

Técnicas de determinação do momento da ovulação

Informações acerca da ovulação podem ser obtidas, além de estudos em fêmeas abatidas, por mensuração de progesterona, por laparotomia (Brüssow et al., 1990), laparoscopia (Soede et al., 1992) e ultrassonografia (Waberski et al., 1999; Prunier e Quesnel, 2000a). Entretanto, na prática, a ovulação é geralmente deduzida da detecção do estro com um varrão maduro (Prunier e Quesnel, 2000a).

Hultén et al. (1995) demonstraram que análises fecais de metabólitos de progesterona podem revelar a atividade ovariana e ser usadas para detectar a ovulação, entretanto tal método pode não ser viável para a suinocultura, já que se torna pouco prático e pouco econômico.

A laparotomia consiste na incisão do abdômen para a observação dos ovários e da dinâmica folicular, tendo a desvantagem de se tratar de um procedimento cirúrgico, o qual não é possível ser repetido com frequência em um pequeno intervalo de tempo. O método tem ainda o risco da contaminação, do procedimento anestésico e da necessidade de um pós-operatório (Brüssow et al., 1990).

A laparoscopia é uma técnica usada para observações repetidas da atividade ovariana cíclica, para diagnóstico de gestação, para diagnóstico de falhas reprodutivas e para transferência de embriões ao útero de receptoras (Brüssow et al., 1990). Signoret et al. (1972) já utilizavam a laparoscopia a fim de observar o efeito da cobertura sobre a ovulação, determinando quantas horas depois da cobertura a fêmea suína ovulava e a duração



da ovulação em comparação a fêmeas não cobertas. Tais autores observaram que a ovulação ocorria após 34,1 h em fêmeas cobertas e 38 h em fêmeas não cobertas e que a duração da ovulação foi de 3,9 h em fêmeas cobertas e de 2,8 h em fêmeas não cobertas.

A laparoscopia permite a observação direta do crescimento folicular, desde o início até o fim do processo ovulatório, por meio da visualização dos seguintes eventos: o crescimento do folículo pré-ovulatório de 6-7 a 8-10 mm, o aumento da parede folicular para fora da superfície do ovário, o aumento da vascularização e mudanças na coloração dos folículos de rosa claro a vermelho escuro, os quais foram claramente visíveis durante o exame laparoscópico. Foi observado que fêmeas com um menor número de folículos apresentaram uma menor duração da ovulação. Este método tem algumas vantagens em relação à laparotomia. Somente são realizadas duas incisões na pele, não necessitando de sutura. Ela pode ser repetida várias vezes em pouco tempo e permite uma observação direta do processo ovulatório com menor estresse e trauma (Brüssow et al., 1990).

A precisão da estimativa de duração do período de atividade ovariana na produção de óvulos, depende da frequência das observações por laparotomia ou laparoscopia. Contudo, estas duas técnicas, além de submeterem a fêmea suína a um procedimento cirúrgico, sendo invasivas, geram estresse e trauma, além da necessidade de uma anestesia geral (Brüssow et al., 1990). Além de a anestesia gerar um risco de vida ao animal, parece influenciar o processo de ovulação, devendo, portanto, ser evitada (Soede et al., 1992).

A ultrassonografia transcutânea dos ovários, como uma técnica não invasiva e livre de estresse para o animal, pode ser utilizada com sucesso em fêmeas suínas para monitorar o crescimento folicular e o momento exato de ovulação. Os folículos são visíveis apenas no fim do pró-estro e estro como regiões anecoicas, com diâmetro entre 4 e 10 mm. O diagnóstico de ovulação somente pode ser feito com repetidos exames ultrassonográficos, e o momento da ovulação é considerado como a metade do período entre o intervalo de dois exames em que os folículos fossem detectados e, subsequentemente, no exame seguinte, desaparecessem. Desta forma, a contagem folicular seria inferior àquela realizada na visualização anterior, sendo o início do processo ovulatório considerado como coincidente com o momento da observação (Waberski et al., 1999; Almeida et al., 2000; Soede et al., 2000).

Não existe relação entre a velocidade de crescimento folicular ou diâmetro folicular absoluto e o momento da ovulação. Em alguns casos, os folículos pré-ovulatórios perdem suas formas arredondadas e tornam-se ovalados, presumivelmente como um sinal do colapso da parede folicular no momento da ovulação (Waberski et al., 1999).

Aumento das taxas de ovulação

Diversas atitudes podem ser testadas visando a um aumento da taxa de ovulação na espécie suína, entretanto, na prática, várias são as dificuldades e as limitações que não permitem um aumento desta taxa. A taxa de ovulação e o tamanho da leitegada são positivamente correlacionados a aproximadamente 18 ovulações, pois, além deste ponto, resultam em pequeno ou nenhum aumento no tamanho da leitegada. Em fêmeas maduras e marrãs que recebem alimentação completa, as taxas de ovulação são usualmente máximas, e a manipulação do desenvolvimento folicular para aumentar as taxas de ovulação poderá não ser útil. Contudo, em animais com menores taxas de ovulação, assim como marrãs no primeiro ou no segundo ciclos estrais e fêmeas primíparas, o aumento da taxa de ovulação pode ser útil (Cox, 1997).

Técnicas para aumentar o desenvolvimento folicular incluem métodos que podem ter uma influência negativa em relação a gonadotrofinas ou mecanismos de controle intrafolicular. Existem evidências da regulação parácrina intraovariana pela inibina e peptídeos relacionados. A manipulação de um ambiente esteroide pode também influenciar as taxas de ovulação. Quando testosterona foi administrada entre o dia 13 do ciclo estral e o estro, as taxas de ovulação e o número de blastocistos recuperados aumentaram. Parte deste mecanismo pode ser pelo fornecimento de substrato para a produção de estradiol, mas este mecanismo ainda não está bem estabelecido (Cox, 1997).

Estudos já demonstraram que o crescimento folicular e a ovulação são facilmente desencadeados em condições de amamentação, observando-se que o desmame realizado durante a lactação com sucção intermitente de 21 dias resulta em desempenho reprodutivo mais desejável, embora o desenvolvimento de embriões tenha se apresentado retardado quando as fêmeas foram induzidas a ovular nesse período (Gerritsen et al., 2009).

Influências metabólicas nos componentes do eixo hipotálamo-hipófise-ovário

Já foi verificada a influência dos níveis de alimentos ingeridos sobre a taxa de ovulação ou o tamanho das leitegadas, entretanto maiores estudos são necessários para se estabelecerem os mecanismos pelos quais um determinado estado nutricional pode afetar a função ovariana. Manipulações nutricionais e hormonais podem aumentar o desenvolvimento folicular, tanto pelo aumento de secreção de gonadotrofinas diretamente como pelo aumento da resposta ovariana em face das concentrações de gonadotrofinas. Dado o conhecimento de que os hormônios e os fatores de crescimento podem ser afetados pela dieta, também positivamente afetam a função ovariana, o conceito de que modificadores metabólicos, mais que as próprias gonadotrofinas, podem ser



aplicados para afetar o desenvolvimento folicular (Cox, 1997).

Uma ingestão nutricional inadequada pode influenciar a performance reprodutiva de fêmeas suínas, podendo retardar o início da puberdade e o retorno ao estro depois do desmame, além de diminuir a taxa de ovulação. Estes efeitos de subnutrição na eficiência reprodutiva da fêmea suína, particularmente deficiências proteicas e energéticas, podem ser vistos nos mecanismos fisiológicos agindo em vários pontos ao longo do eixo hipotalâmico-hipofisário-ovariano. A pulsabilidade do LH é inibida durante o período de restrição alimentar, e, após o término dela, o efeito inibitório da subnutrição na pulsabilidade do LH é rapidamente atenuado, como observado em fêmeas lactantes e marrãs pré-púberes (Prunier e Quesnel, 2000b).

Em marrãs, o principal efeito da restrição energética é o comprometimento da geração de pulso de GnRH, enquanto a realimentação ou infusão de glicose restaura o crescimento folicular. Quando uma suplementação alimentar foi fornecida a marrãs cíclicas, aumentos na taxa de ovulação foram acompanhados por aumentos na frequência dos pulsos de LH e FSH (Cox, 1997). Experimentos avaliando influências de manipulações nutricionais na função ovariana em fêmeas têm demonstrado que a função ovariana depois do desmame pode ser afetada pelo estado metabólico durante a lactação. Em animais alimentados corretamente, foi demonstrado que concentrações de insulina e glicose e o número de pulsos de LH durante a lactação foram maiores em fêmeas com intervalo normal de estro. Também foi constatado que a restrição alimentar durante as quatro primeiras semanas de lactação diminui as taxas de ovulação e aumenta o intervalo entre o desmame e o estro em fêmeas primíparas (Cox, 1997). Langendijk et al. (2000) observaram que a dieta não afeta o número de fêmeas que ovulam, mas uma dieta que exceda os padrões indicados de gordura retarda o início do estro e a ovulação.

Segundo Prunier e Quesnel (2000a), a subnutrição prejudica a geração do pulso do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) enquanto a realimentação restaura a secreção de LH. A nutrição influencia no crescimento folicular e na maturação. A detecção de receptores de hormônios nos tecidos sugere que insulina, cortisol, hormônios tireoidianos e hormônios do eixo somatotrófico podem ser mediadores dos efeitos da nutrição na reprodução. Estes hormônios são capazes de alterar diretamente a foliculogênese. O aumento das concentrações plasmáticas de progesterona devido à menor taxa metabólica hepática em fêmeas desnutridas provavelmente contribui para inibir a foliculogênese (Prunier e Quesnel, 2000a).

A insulina e o cortisol podem influenciar a secreção das gonadotrofinas por meio de ação no eixo hipotálamo-pituitária.

Influência da nutrição sobre a foliculogênese

A deficiência nutricional tem efeitos deletérios sobre a sobrevivência embrionária, provavelmente relacionados a alterações no crescimento e na maturação folicular. Embora não esteja totalmente comprovado, a glicose, a insulina e a leptina são os sinais mais prováveis de informação ao hipotálamo sobre o estado metabólico, no qual, em se tratando do nível ovariano, a foliculogênese é susceptível a ser alterada pela redução de insulina (Quesnel, 2009).

Foi observado que a restrição alimentar altera a divisão dos folículos saudáveis entre as classes de tamanho folicular, em que a proporção de folículos saudáveis de 0,4-1 mm aumentou, enquanto a de 1 mm-2,9 diminuiu. Quando o estro ocorre quatro a sete dias após o desmame, os folículos pré-ovulatórios que são recrutados imediatamente estão entre 1 e 2,9 mm. Assim, uma diminuição na proporção desses folículos pode resultar num retardo do retorno ao estro e/ou em uma menor taxa de ovulação. O diâmetro e o volume antral e a síntese de estradiol de grandes folículos foram reduzidos em fêmeas submetidas a uma alimentação com restrição energética (Prunier e Quesnel, 2000b).

Papel dos hormônios metabólicos na função ovariana

O conhecimento atual sobre a regulação endócrina do desenvolvimento folicular e da ovulação, aliado à disponibilidade de inúmeras substâncias ativas, torna possível a sincronização do estro, a maturação folicular, a indução da ovulação e a melhor utilização de inseminação artificial, o que possibilita melhores resultados para o produtor (Brussow et al., 2009). Entre as substâncias de maior importância envolvidas na função ovariana suína, podem-se citar: insulina, fator de crescimento semelhante à insulina e somatotrofina suína.

Insulina

A administração de insulina aumenta a taxa de ovulação em fêmeas suínas durante o primeiro ciclo estral e reduz a atresia folicular em fêmeas no segundo ciclo estral. Em contraste, quando administradas durante os dias 13 a 17 do primeiro ciclo estral, as concentrações de IGF-1 e estradiol diminuíram e a atresia não foi afetada, sugerindo que seu efeito pode estar relacionado à idade, à maturidade e a mudanças metabólicas (Cox, 1997).

Em estudos em que a insulina foi administrada durante o período entre o desmame e o estro, têm sido



observados efeitos positivos sobre a função reprodutiva. Um desses efeitos inclui o aumento do tamanho da leitegada em granjas com taxas de desmame tipicamente baixas. Entretanto, este tipo de resultado não se reproduz em todos os criatórios, pois também é possível não se observar efeito algum ou diminuição do tamanho da leitegada após administração de insulina, podendo este tipo de variação estar relacionado à produção de um sinal metabólico negativo pelo uso prolongado de injeções. Somente a ingestão aumentada de alimento entre o desmame e o estro pode ser suficiente para aumentar a insulina (Cox, 1997).

Em estudo em que as populações foliculares foram monitoradas por três a cinco dias após desmame, depois da administração de insulina em fêmeas primíparas, IGF-1 no fluido folicular, BP.IGF-2 e estradiol foram reduzidos. Estes resultados sugerem que a insulina pode aumentar o número de folículos sem aumentar a esteroidogênese pela atenuação da IGF-1. Talvez a diminuição de BP.IGF-2 permite que os folículos escapem da atresia. Entretanto, a insulina pode também aumentar os níveis de estradiol em folículos de diâmetro médio e grande, sem afetar o IGF-1 e BP.IGF-2, havendo adicionalmente um aumento de estradiol de progesterona e testosterona (Cox, 1997).

Apesar de não apresentar efeitos consistentes, a insulina mostrou um efeito anabólico global que pode afetar os folículos, os oócitos, o ambiente do trato reprodutivo e a ação das gonadotrofinas. Sua aplicação pode promover um sinal fisiológico mais precoce de aumento no anabolismo após o desmame e coincidir com o crescimento folicular pré-ovulatório (Cox, 1997).

Fator de crescimento semelhante à insulina

As evidências confirmam associações positivas entre o IGF-1 e a função ovariana em suínos, com um controle local que implica uma marcada heterogenicidade dos folículos em face de meios endócrinos similares. A síntese de IGF-1 pelas células da granulosa tem sido demonstrada, e a sua produção é aumentada pelas gonadotrofinas e pelo hormônio do crescimento *in vitro*. As proteínas ligadoras de IGF-1 (BPIGF-1) modulam seus efeitos sistemicamente e são, em geral, consideradas na inibição do desenvolvimento folicular. Recentes evidências indicam que as BPIGF-1 estão relacionadas à função folicular em suínos (Cox, 1997). O IGF-1 tem efeitos mitogênicos e metabólicos, e em cultivos de células da granulosa pode aumentar a esteroidogênese (Gregoraszcuk et al., 2000).

Existem evidências de que a insulina é mais potente na redução de apoptose e no aumento de progesterona, tendo sido previamente determinado que folículos cultivados na presença de FSH produzem estrógeno e que a adição de insulina reduz a apoptose, enquanto o IGF-1 não tem efeito. O mecanismo da ação da insulina parece não envolver alguma mediação pelo IGF-1. Tanto a insulina quanto a somatotrofina suína aumentam a produção sistêmica e ovariana de IGF-1, e ambas afetam a produção de BPIGF-1. Logo, interações sistêmicas entre insulina, ST, IGF-1 e BP.IGF-1 e intrafoliculares podem funcionar no controle folicular normal em resposta a alterações no metabolismo (Cox, 1997).

Somatotrofina suína

Os resultados da investigação do controle do desenvolvimento folicular e as taxas de ovulação, depois da administração de somatotrofina suína (pST), são contraditórios. Efeitos da pST têm sido observados na produção de IGF-1 *in vitro* pelas células da granulosa de fêmeas suínas. Em animais cíclicos, a pST pode ter um efeito potente na ocorrência do estro. Em administrações de pST do 14º dia do ciclo até 24 h depois do estro, ocorreu um aumento nas concentrações de insulina e glicose no dia 20 do ciclo, e as taxas de ovulação foram aumentadas, mas algumas fêmeas apresentaram anestro, enquanto no grupo-controle isto não aconteceu, sugerindo um período de inibição do estro com pST. Foi observado que a pST, aplicada no dia 14 do ciclo estral, suprime o subsequente estro, demonstrando que ela pode afetar os folículos negativamente durante a seleção folicular. O desenvolvimento pré-ovulatório em fêmeas suínas pode ser manipulado pela pST, apesar de o tamanho da leitegada em fêmeas múltiparas não ser afetado quando aplicado entre dois a quatro dias antes do desmame (Cox, 1997).

Considerações finais

O estudo da foliculogênese e da ovulação permite o avanço e a maximização de biotecnologias, tais como a manipulação de oócitos inclusos em folículos pré-antrais, a fecundação *in vitro*, a clonagem e a transgênese na espécie suína. Tal estudo possibilita o conhecimento da fisiologia reprodutiva feminina, associando a esta os principais fatores que irão influenciar na melhoria dos índices reprodutivos, para que, juntamente com biotecnologias, consiga-se aumentar a produtividade da granja suinícola. Assim, é de extrema importância, para a maximização da produtividade, o conhecimento dos fatores intrínsecos, sabendo quais e como atuam na foliculogênese e na ovulação; o conhecimento das fases do ciclo estral das fêmeas suínas, a fim de que o estro possa ser adequadamente detectado; o estabelecimento do intervalo entre o desmame e o estro e a duração do estro, a fim de que as inseminações possam ser realizadas no momento ideal, atingindo altos níveis



de fecundações. As técnicas para a determinação do momento de ovulação devem ser conhecidas e utilizadas, já que parâmetros como a duração do estro não são capazes de prever o momento da ovulação. Deve-se, também, ter o conhecimento dos fatores ambientais que influenciam a foliculogênese e a ovulação, como o contato com o varrão e os fatores nutricionais.

Referências

- Almeida FRCL, Novak S, Foxcroft GR.** The time of ovulation in relation to estrus duration in gilts. *Theriogenology*, v.53, p.1389-1396, 2000.
- Anderson LL.** Suínos. In: Hafez ESE. (Ed). *Reprodução animal*. São Paulo: Manole, 1995. p.348-365.
- Bing YZ, Nagai T, Rodriguez-Martinez H.** Effects of cysteamine, FSH e estradiol-17 β on in vitro maturation of porcine oocytes. *Theriogenology*, v.55, p.867-876, 2001.
- Bortolozzo FP, Wentz I.** Momento e frequência ideal para realizar a inseminação artificial em suínos. *In: Anais do III Simpósio Internacional MINITUB: Inseminação artificial em suínos*, 3, 2000, Flores da Cunha, RS. Flores da Cunha, RS, Minitub, 2000. p.73-78.
- Brüssow KP, Ratky J, Lanitz W.** Determination of the duration of ovulation in gilts by means of laparoscopy. *Reprod Domest Anim*, v.25, p.184-190, 1990.
- Brüssow KP, Schneider F, Kanitz W, Rátky J, Kauffold J, Wähner M.** Studies on fixed-time ovulation induction in the pig. *Soc Reprod Fertil Suppl*, v.66, p.187-195, 2009.
- Cox NM.** Control of follicular development and ovulation rate in pigs. *J Reprod Fertil Suppl*, v.52, p.31-46, 1997.
- Downey BR, Mootoo JE, Doyle SE.** A role for lipoxygenase metabolites of arachidonic acid in porcine ovulation. *Anim Reprod Sci*, v.49, p.269-279, 1998.
- Gerritsen R, Soede NM, Hazeleger W, Langendijk P, Dieleman SJ, Taverne MA, Kemp B.** Intermittent suckling enables estrus and pregnancy during lactation in sows: effects of stage of lactation and lactation during early pregnancy. *Theriogenology*, v.71, p.432-440, 2009.
- Gerritsen R, Soede NM, Langendijk P, Dieleman SJ, Hazeleger W, Kemp B.** Peri-oestrus hormone profiles and follicle growth in lactating sows with oestrus induced by intermittent suckling. *Reprod Domest Anim*, v.43, p.1-8, 2008.
- Gregoraszcuk EL, Bylica A, Gertler A.** Response of porcine theca and granulosa cells to GH during short-term in vitro culture. *Anim Reprod Sci*, v.58, p.113-125, 2000.
- Hafez ESSE.** Foliculogênese, maturação do ovo e ovulação. In: Hafez ESE. (Ed). *Reprodução animal*. São Paulo: Manole 1995. p.115-145.
- Hultén F, Dalin AM, Lundeheim N.** Ovulation frequency among sows group-housed during late lactation. *Anim Reprod Sci*, v.39, p.223-233, 1995.
- Hunter MG, Paradis F.** Intra-follicular regulatory mechanisms in the porcine ovary. *Soc Reprod Fertil Suppl*, v.66, p.149-164, 2009.
- Kluivers-Poodt M, Gerritsen R, Van Nes A, Langendijk P.** Cortisol profiles in sows submitted to an intermittent suckling regime compared with that of abruptly weaned sows. *Reprod Domest Anim*, v.45, p.377-382, 2010.
- Langendijk P; Van Den Brand H, Soede NM.** Effect of boar contact on follicular development and on estrus expression after weaning in primiparous sows. *Theriogenology*, v.54, p.1295-1303, 2000.
- Leitão CCF, Brito IR, Frota IMA, Silva JRV.** Importância dos fatores de crescimento locais na regulação da foliculogênese ovariana em mamíferos. *Acta Sci Vet*, v.37, p.215-224, 2009.
- Madej A, Brandt Y, Einarsson S.** Endocrine dynamics associated with follicle development in pigs: a review. *Anim Reprod*, v.6, p.135-143, 2009.
- Nissen AK, Soede NM, Hyttel P.** The influence of time of insemination relative to time of ovulation on farrowing frequency and litter size in sows, as investigated by ultrasonography. *Theriogenology*, v.47, p.1571-1582, 1997.
- Patterson JL, Willis HJ, Kirkwood RN.** Lack of an effect of prostaglandin injection at estrus onset on the time of ovulation and on reproductive performance in weaned sows. *Theriogenology*, v.56, p.913-921, 2001.
- Porter MB, Brumated JR, Sites CK.** Effect of prolactin on follicle-stimulating hormone receptor binding and progesterone production in cultured porcine granulosa cells. *Fertil Steril*, v.73, p.99-105, 2000.
- Prunier A, Quesnel H.** Influence of the nutritional status on ovarian development in female pigs. *Anim Reprod Sci*, v.60-61, p.185-197, 2000a.
- Prunier A, Quesnel H.** Nutritional influences on the hormonal control of reproduction in female pigs. *Livest Prod Sci*, v.63, p.1-16, 2000b.
- Quesnel H.** Nutritional and lactational effects on follicular development in the pig. *Soc Reprod Fertil Suppl*, v.66, p.121-134, 2009.
- Signoret JP, Mesnil F, Maullon P.** Effect of mating on the onset and duration of ovulation in the sow. *J Reprod Fertil*, v.31, p.327-330, 1972.
- Soede NM, Hazeleger W, Broos J.** Vaginal temperature is not related to the time of ovulation in sows. *Anim*



Reprod Sci, v.47, p.245-252, 1997.

Soede NM, Hazeleger W, Gerritsen R, Langendijk P, Kemp B. Ovarian responses to lactation management strategies. *Soc Reprod Fertil Suppl*, v.66, p.177-186, 2009.

Soede NM, Kemp B. Expression of oestrus and timing of ovulation in pigs. *J Reprod Fertil Suppl*, v.52, p.91-103, 1997.

Soede NM, Nissen AK, KEMP B. Timing of insemination relative to ovulation in pigs: Effects on sex ratio of offspring. *Theriogenology*, v.53, p.1003-1011, 2000.

Soede NM, Noordhuizen JPTM, Kemp B. The duration of ovulation in pigs, studied by transretal ultrasonography, is not related to early embryonic diversity. *Theriogenology*, 38, p. 653-666, 1992.

Stokhof S, Soede NM, Kemp B. Vaginal mucus conductivity as measured by Walsmeta MKIV does not accurately predict the moment of ovulation in sows. *Anim Reprod Sci*, v.41, p.305-310, 1996.

Sriperumbudur R, Zorrilla L, Gadsby JE. Transforming growth factor-beta (TGFbeta) and its signaling components in peri-ovulatory pig follicles. *Anim Reprod Sci*, v.120, p.84-94, 2010.

Stahlberg R, Bortolozzo FP, Wentz I, Nagae R, Santin E, Lagares MA. Influência da infusão transcervical de plasma seminal ou de estrógeno na concepção, no ciclo estral e na ovulação de porcas. *Arq Bras Med Vet Zootec*, v.53, n.2, p.1-6, 2001.

Toniolli R, Dantas KSA, Mesquita DSM. Diagnóstico precoce da gestação por palpação retal, biópsia vaginal e ultrassom na espécie suína. *Bol Soc Vet Venez Espec Cerdos*, v.4, p.78, 1989. Resumo.

Waberski D, Kunz-Schmidt A, Borchardt Neto G, Richter L. Real time ultrasound diagnosis of ovulation and ovarian cysts in sows and its impact on artificial insemination efficiency. In: *Proceedings of the American Society of Animal Science*, 1999. Champaign, IL: ASAS, 1999. abstr 944.

Weitze KF, Lotz JH, Everwand A. Interaction between inseminate, uterine and ovarian function in the sow. II. Investigations into the influencing of ovulation by the use of sperm free media. *Reprod Domest Anim*, v.25, p.197-204, 1990a.

Weitze KF, Rath D, Willmen T. Advancement of ovulation in the sow related to seminal plasma application before insemination. *Reprod Domest Anim*, v.25, p.61-67, 1990b.

Yokoo M, Kimura N, Sato E. Induction of oocyte maturation by hyaluronan-CD44 interaction in pigs. *J Reprod Dev*, v.56, p.15-19, 2010.
