



Origem e características do folículo pré ovulatório depois de luteólise induzida em diferentes estágios da fase luteal do ciclo estral em ovelhas

ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN

Luis Fernando Uribe-Velásquez¹, Maria Inês Lenz Souza², José Henry Osorio³

¹*Departamento de Saúde Animal, Universidade de Caldas, Manizales, Colômbia.*

²*Departamento de Morfofisiologia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, MS, Brasil.*

³*Departamento de Ciências Básicas, Universidade de Caldas, Manizales, Colômbia.*

lfuribe@ucaldas.edu.co

(Recibido: 4 febrero, 2008; aprobado: 23 abril, 2008)

RESUMO: Avaliou-se a resposta ovariana, usando ultrassonografia transretal, pós aplicação de duas injeções de prostaglandina (PGF_{2α}) em diferentes intervalos. Utilizaram-se 14 fêmeas durante a estação reprodutiva, sendo que todas receberam uma dose intramuscular de um análogo de PGF_{2α}. As ovelhas foram distribuídas em dois grupos (n = 7), aos quais administrou-se PGF_{2α} sete dias (PG7) ou nove dias (PG9) após ovulação (quando o folículo dominante da onda dois encontrava-se na fase de crescimento ou platô, respectivamente). Examinaram-se os ovários diariamente, utilizando-se um ultrassom Aloka 500, provido de um transdutor linear transretal de 7,5 MHz. A ultrassonografia iniciou-se um dia antes da segunda aplicação de PG até o decimo dia 10 depois da ovulação, para os dois grupos. Amostras de sangue foram colhidas, via punção jugular, a cada dia, para a quantificação de progesterona. As concentrações plasmáticas de progesterona mostraram-se menores no PG7 quando comparado com o PG9, imediatamente antes do tratamento com a PGF_{2α} (4,10±0,17 vs 4,91±0,29 ng/mL, respectivamente; P<0,05). A média do diâmetro máximo atingido pelo folículo dominante da onda dois foi maior no grupo tratado PG7 comparado com o PG9 (5,5±0,19 vs 4,29±0,26 mm; P<0,05). A quantidade de folículos pequenos (2-2,5 mm) foi maior (4,57±0,78 versus 8,42±1,36) no dia seis, nos grupos PG7 e PG9, respectivamente, enquanto não foram observadas mudanças nos folículos médios. A proporção de folículos grandes (4 mm) incrementou-se depois da luteólise; os valores foram menores nas ovelhas tratadas no PG7, enquanto mantiveram-se estáveis no tempo no PG9. Em conclusão, nas ovelhas com rápida e completa luteólise, a ovulação ocorreu do folículo dominante da onda dois, em fêmeas tratadas nos dias sete ou nove após a ovulação.

Palavras chave: ovulação, progesterona (P4), prostaglandina (PGF_{2α}), ultrassonografia.

Origin and characteristics of preovulatory follicles after induced luteolysis at different stages of the luteal phase of the oestrous cycle in ewes

ABSTRACT: The purpose of this study was to evaluate ovarian response, using transrectal ovarian ultrasonography, after two injections of Prostaglandin F_{2α} (PGF_{2α}) given at different intervals. Fourteen Bergamasca ewes were examined during the breeding season, and they were injected with an intramuscular dose of a PGF_{2α} analogue. Ewes were randomly allocated to two groups (n = 7) which received PGF_{2α} for 7 days (PG7) or 9 days (PG9) after ovulation (when the dominant follicle of wave 2 was expected to be in the growing and plateau phase, respectively). The ovaries were examined daily with transrectal ultrasonography Aloka 500® with 7.5 MHz linear array transducer, which started 1 day prior to the second PG injection and ended 10 days after ovulation in both groups. Jugular vein blood samples were collected daily for progesterone assay. Plasma P₄ concentration were lower in PG7 than in PG9 immediately before the PGF_{2α} treatment (4.10±0.17 vs 4.91±0.29 ng/mL, respectively; P<0.05). Mean maximum diameter size attained by the dominant follicle of wave 2 tended to be larger in the PG7 group, compared with PG9 (5.5±0.19 vs 4.29±0.26 mm; P<0.05). The number of small follicles (2-2.5 mm) was greater (4.57±0.78 vs 8.42±1.36) at day 6, for PG7 and PG9, respectively, whereas no changes were observed in medium follicles. The proportion of large follicles (4 mm) increased after luteolysis. Values were lower for ewes treated with PG7, whereas values were more stable over time for ewes treated with PG9. In conclusion, ewes with rapid and complete luteal regression, ovulation occurred from the dominant follicle of wave 2 when the females were treated on days 7 and 9.

Key words: ovulation, progesterone (P4), prostaglandin (PGF_{2α}), ultrasonography.

Introdução

Na espécie ovina, o conhecimento dos mecanismos que regulam a dinâmica folicular tem recebido especial atenção nos últimos tempos devido, principalmente, a duas razões: primeira, o interesse do melhoramento da fertilidade, sincronização do estro com maior precisão e o aumento da resposta superovulatória mediante administração de gonadotrofinas exógenas e, a segunda, por ser a fêmea ovina um excelente modelo experimental para o estudo do recrutamento, seleção e dominância folicular, apresentando diversas raças e variedades genéticas com variadas taxas de ovulação e altos índices de prolificidade (Lucy et al., 1992; Fabre et al., 2006; Liu et al., 2007).

Algumas biotécnicas como a indução e a sincronização do estro em ovinos e caprinos vêm sendo bastante utilizadas, em consequência de proporcionarem atividade reprodutiva (Safdarian et al., 2006) mesmo durante os períodos de anestro sazonal e lactacional (Guido et al., 1999; Amorim et al., 2007; GdeNicolo et al., 2007). Os métodos mais utilizados para a sincronização do estro e estimulação do crescimento folicular em pequenos ruminantes envolvem prostaglandinas (Weems et al., 2006; Uribe-Velásquez et al., 2008a), progesterona e/ou progestágenos e a administração intramuscular de eCG (López-Sebastian et al., 2007; Holtz et al., 2008; Uribe-Velásquez et al., 2008b).

As prostaglandinas (PG) são uma alternativa para sincronização dos estros, importantes na formulação de sistemas simples e de curta duração. A PG é o fator luteolítico em ruminantes (Goravanahally et al., 2007; Ginther et al., 2009), que induz à regressão prematura do corpo lúteo através da interrupção da fase progestacional do ciclo estral, iniciando, assim, um novo ciclo (Hackett & Robertson, 1980; Herrera et al., 1990; Goel & Pagrawal, 1998).

A sincronização do estro e ovulação em ovelhas e cabras não depende só do controle na fase luteal, como, também, do desenvolvimento ovariano

durante a fase folicular (Ali, 2007; González-Añover et al., 2007; Menchaca et al., 2007).

A presente pesquisa teve como objetivo verificar, através de acompanhamento ultrassonográfico, o efeito da PG usada em diferentes intervalos, no crescimento do folículo dominante e na população folicular e, através de radioimunoensaio, a medição das concentrações plasmáticas de progesterona (P_4) em fêmeas ovinas.

Material e Métodos

O trabalho desenvolveu-se no Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia/UNESP-Botucatu, SP, com 14 fêmeas ovinas Bergamácia, adultas, previamente examinadas quanto ao estado clínico geral, e comprovadamente aptas, sanitária e reprodutivamente. As ovelhas foram mantidos em boxes de 3 m x 3 m, sob luminosidade natural durante a estação reprodutiva e, duas vezes por dia, expostas a um macho vasectomizado, para observação de estros. A alimentação consistiu de 1 kg/cabeça/dia de ração concentrada (13,28% de proteína bruta e 8,99% de fibra bruta) e 2 kg/cabeça/dia de feno de *Cynodon dactylon* (L.) Pers. cv “Coast Cross” (4,98% de proteína bruta e 35,88% de fibra bruta, na matéria seca).

As fêmeas foram distribuídas em dois grupos (n=7). No primeiro grupo (PG7) administrou-se, por via intramuscular, duas doses de um análogo de prostaglandina (125 µg; Ciosin^R, Mallinckrodt Veterinary, São Paulo, Brasil) com um intervalo de sete dias, durante a metade da fase luteal, para a sincronização de estro. No segundo grupo (PG9), utilizou-se o intervalo de nove dias para a aplicação das duas doses de PGF_{2α}. Desde o dia anterior à aplicação da PGF_{2α}, até o dia 10 do ciclo estral, nos dois grupos, as ovelhas, em posição de estação, foram monitoradas via transretal, por meio de ultrassom (SSD-500; Aloka Co. Ltda, Japão), com um transdutor linear prostático humano de 7,5 Mhz (Modelo UST-660-7,5; Aloka Co. Ltda, Japão). As imagens ecográficas

foram armazenadas em vídeo (Panasonic NV-SD 425), e diagramas desenhados quanto à posição do folículo dominante, permitindo a identificação durante dias sucessivos. O dia da ovulação definiu-se como o dia do desaparecimento do maior folículo (≥ 5 mm). Todos os folículos ≥ 2 mm foram monitorados e mapeados diariamente. A emergência da nova onda foi definida como sendo de um *pool* de pequenos folículos com diâmetro médio de 3 a 4 mm, que deram origem a um ou mais folículos com diâmetro maior ou igual a 5 mm. Considerou-se o dia da emergência da onda aquele em que o folículo apresentava 3 mm de diâmetro, seguido por um aumento em seu diâmetro para valores iguais ou superiores a 4 mm (Menchaca & Rubianes, 2001). O diâmetro folicular foi obtido pela média da maior distância (mm) entre dois pontos da cavidade antral dos folículos. A duração do crescimento definiu-se como o número de dias entre a primeira mensuração do folículo maior, e o dia em que o mesmo cessa seu crescimento progressivo. O dia do diâmetro máximo foi registrado como o maior diâmetro atingido pelo folículo dominante. A taxa de crescimento folicular resultou do diâmetro maior atingido pelo folículo dominante, menos o menor diâmetro detectável pela ultrassonografia, dividido pela duração do crescimento em dias. O número de dias que o folículo dominante mantinha seu diâmetro máximo, definiu-se como a fase estática. O dia do início da regressão (atresia) foi identificado como o último dia da fase estática (platô), a partir do qual o folículo maior iniciou uma diminuição progressiva em seu diâmetro.

Em todas as ovelhas, pela manhã (8 h), colheram-se amostras de sangue, por venopunção jugular, antes da aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$, durante todo o período experimental. As amostras de sangue foram colhidas em tubos heparinizados e, imediatamente após, centrifugadas a 2.500 rpm durante 15 minutos, e o plasma armazenado a -20°C , para posterior determinação hormonal por radioimunoensaio (RIA). A medição da concentração de P_4 foi realizada com a técnica definida por Lafrance e Goff (1985), com algumas mudanças. Assim, a extração foi trocada pelo danazol (McGinley & Casey, 1979), e a separação

do duplo anticorpo substituída pelo charcol. A sensibilidade do ensaio para P_4 foi de 0,1 ng/mL. Analisaram-se todas as amostras num só ensaio, desenvolvido no Centro de Investigação de Reprodução Animal – CRRA, da Université de Montréal, St-Hyacinthé, Québec, Canadá.

Os efeitos dos tratamentos nas concentrações plasmáticas de P_4 foram determinados pela análise de medidas repetidas utilizando-se o programa Statistical Analysis System (Latour & Littell, 1996). Para os efeitos fixos (tratamento, dia, tratamento x dia) utilizou-se o teste F e, para as comparações múltiplas das médias, o teste de tukey-kramer. O teste não paramétrico de Wilcoxon-Mann-Whitney foi utilizado para as variáveis do folículo dominante durante as ondas foliculares: 1) dia de emergência; 2) dia do diâmetro máximo; 3) diâmetro máximo; 4) dias na fase estática; e 5) dia de regressão, bem como para analisar a população dos folículos grandes. Para a análise da taxa de crescimento utilizou-se ANOVA e, as médias, comparadas pelo teste F. Os folículos foram classificados em pequenos (2-2,5 mm), médios (3-3,5 mm) e grandes (>4 mm). As médias da população dos folículos pequenos e médios foram transformadas (Log) antes de serem submetidas à ANOVA e, as médias, comparadas pelo teste F.

Resultados e Discussão

Todas as fêmeas ovinas dos grupos experimentais manifestaram estro, sem apresentar diferença ($P>0,05$), corroborando com os achados de Kridli e Al-Khetib (2006) e Uribe-Velásquez et al. (2008a). O estágio da fase luteal provocou mudanças na resposta das ovelhas na indução da luteólise, usando prostaglandinas exógenas. Nenhum dos fatores como localização dos ovários, condição corporal ou peso vivo afetaram o monitoramento dos ovários mediante à avaliação ultrassonográfica.

Os padrões de crescimento do folículo dominante, durante a primeira onda de desenvolvimento folicular estão apresentados na Tabela 1.

O dia de emergência da primeira onda folicular não diferiu entre os dois grupos experimentais, sendo de $-0,71 \pm 0,29$ e $0,57 \pm 0,53$, para os grupos tratados com $\text{PGF}_{2\alpha}$ nos intervalos de sete (PG7) e nove dias (PG9), respectivamente, valores estes próximos aos obtidos por Uribe-Velásquez et al. (2002, 2008c) e menores que os de Ravindra et al. (1994).

Tabela 1. Folículo dominante da primeira onda folicular em fêmeas ovinas Bergamácia sincronizadas com $\text{PGF}_{2\alpha}$, utilizando diferentes intervalos de aplicação (PG7 dias vs PG9 dias)

Variáveis	PG7 dias	PG9 dias
Dia de emergência	$-0,71 \pm 0,29^a$	$0,57 \pm 0,53 a$
Dia do máximo diâmetro	$5,43 \pm 0,37 a$	$4,57 \pm 0,43 a$
Diâmetro máximo (mm)	$5,5 \pm 0,19 a$	$4,29 \pm 0,26 b$
Dias do platô	$1,86 \pm 0,26 a$	$1,29 \pm 0,18 a$
Taxa de crescimento (mm/dia)	$0,91 \pm 0,55 a$	$1,0 \pm 0,09 a$

Letras diferentes nas linhas apresentam diferenças estatisticamente significativas *a versus b* ($P < 0,05$).

O folículo dominante atingiu seu diâmetro máximo de $5,5 \pm 0,19$ mm no dia $5,43 \pm 0,37$ nos animais submetidos ao intervalo PG7 e, $4,29 \pm 0,26$ mm no dia $4,57 \pm 0,43$ nos animais submetidos ao intervalo PG9, sendo estatisticamente significativo só para diâmetro do folículo ($P < 0,05$). O diâmetro máximo atingido pelos animais na aplicação da PG com o intervalo de sete dias esteve de acordo com os valores observados por Uribe-Velásquez et al. (2008c), sendo menor que os encontrados por Leyva et al. (1998).

Os dias do platô dos animais submetidos aos intervalos de PG7 e PG9 não apresentaram diferença significativa, com resultados similares aos demonstrados por Uribe-Velásquez et al. (2002).

Estudos prévios têm mostrado que a dominância é efetiva somente nos primeiros dias do ciclo estral e bem mais pronunciada no final do crescimento do folículo ovulatório (González-Bulnes et al., 1999; 2005). Na presente pesquisa, a taxa de crescimento não mostrou diferenças entre os tratamentos, com valores de $0,91 \pm 0,55$ e $1,0 \pm 0,09$ mm/dia, respectivamente, para as

fêmeas tratadas no sétimo e nono dias. Os valores observados para a taxa de crescimento estão de acordo com os resultados obtidos nos trabalhos de Quirk et al. (1986) em vacas (0,8 a 2,3 mm/dia), e Castonguay et al. (1990) em ovelhas (0,9 a 1,7 mm/dia). Leyva et al. (1998) sugerem que a taxa de crescimento, em alguns folículos, quando comparado com outros que crescem mais rapidamente, pode desencadear fortes implicações na qualidade do oócito no momento da ovulação.

De acordo com as observações do experimento, fica evidente que o crescimento folicular é um processo contínuo e independente da fase do ciclo estral (McNeilly et al., 1991), e o padrão de crescimento folicular em ondas faz com que a população de folículos de diversas classes de tamanhos altere-se ao longo do ciclo (Pierson & Ginther, 1987). Assim, o folículo pré ovulatório presente nos dias sete ou nove após o estro deve-se achar em fase de crescimento. No entanto, o *status* hormonal dos folículos grandes não foi determinado. Do mesmo modo, alguns dos folículos grandes presentes nos dias 11 e 16 podem encontrar-se em fase de crescimento, mas existe a possibilidade de estarem em fase estática

ou de regressão (González-Bulnes et al., 2005). A quantidade de ondas de crescimento folicular e o dia de emergência folicular são muito variáveis entre animais (Menchaca & Rubianes, 2002). A referida variabilidade provoca uma perda da sincronização da segunda e das seguintes ondas foliculares. A indução da luteólise em animais onde o folículo maior encontra-se na fase estática ou atresica pode provocar um atraso na seleção e no crescimento do folículo ovulatório (González-Bulnes et al., 2005).

Os resultados aqui obtidos mostraram que os folículos ovulatórios foram originados dos folículos antrais presentes no ovário no momento da aplicação do cloprostenol, independente do dia do tratamento. Em todas as fêmeas ovinas observou-se, pelo menos um corpo lúteo na metade da fase luteal, o qual sofreu luteólise em resposta à dosagem luteolítica do análogo de prostaglandina (cloprostenol), em todos os animais, fato constatado pela técnica ultrassonográfica e pelo marcante declínio nas concentrações plasmáticas de progesterona (P_4), indicando esta regressão do corpo lúteo. O dia da ovulação foi definido como dia zero (0 = dia da ovulação).

A distribuição (médias \pm EP) dos folículos pequenos (2-2,5 mm), médios (3-3,5 mm) e grandes (> 4 mm) nas fêmeas dos dois grupos estudados (PG7 vs PG9), é apresentada, respectivamente, nas Figuras 1, 2 e 3.

Durante o início e metade da fase luteal observou-se, em todos os dias, crescimento dos folículos pequenos (Figura 1), concordando com as observações de Schrick et al. (1993) em ovelhas Suffolk e Uribe-Velásquez et al. (2008b) em ovelhas Bergamácia. Já Ravindra et al. (1994) também verificaram o aparecimento de folículos > 2 mm em todos os dias, exceto para os dias 1, 5, 15, 16 e 17 do intervalo interovulatório em fêmeas ovinas mestiças White-Faced. No presente protocolo, constatou-se que o recrutamento dos folículos destinados a ovular foi realizado a partir dos folículos > 2 mm no momento da luteólise. A quantidade de folículos pequenos foi significativa nos dias -1 pré ovulatório e no dia 6 pós ovulação, sendo maior para as fêmeas tratadas com a $PGF_{2\alpha}$ no nono dia quando comparadas com as fêmeas tratadas no sétimo dia, com valores no dia -1 de $8,43 \pm 0,97$ vs $5,14 \pm 0,70$ ($P < 0,05$), e no dia 6 de $8,43 \pm 1,36$ vs $4,57 \pm 0,78$ ($P < 0,05$), respectivamente.

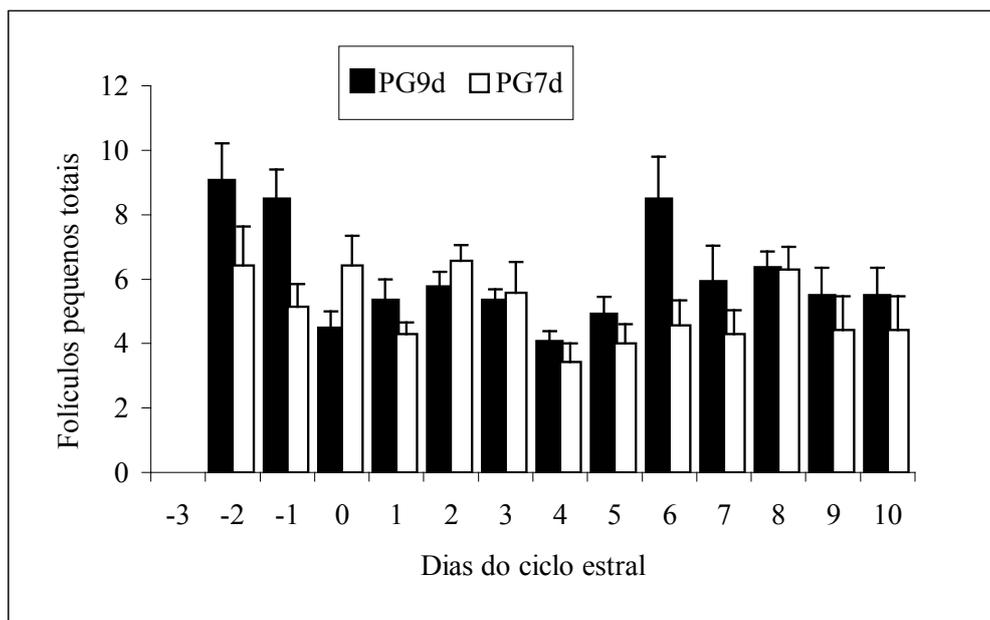


Figura 1. Distribuição dos folículos pequenos (médias \pm EP) durante a fase luteal, em fêmeas ovinas sincronizadas com $PGF_{2\alpha}$ em diferentes intervalos, durante a estação reprodutiva.

A quantidade média dos folículos médios (Figura 2) não apresentou diferença estatística significativa entre os dois grupos de animais estudados. Possivelmente, a maior quantidade de folículos médios pós ovulação pode ser atribuída ao maior *pool* de folículos pré ovulatórios presentes nos dias -2 e -1 (Uribe-Velásquez et al., 2002), como também pode ter sido um indicador da prevenção do processo normal de

atresia folicular. O crescimento de folículos pré ovulatórios durante a fase folicular, em resposta à administração de PG, inibiu o desenvolvimento de folículos presentes dependentes de gonadotrofinas (3 - 3,5 mm), de forma semelhante a outras pesquisas prévias (González-Bulnes et al., 2005; González-Añoover et al., 2007; Uribe-Velásquez et al., 2008b).

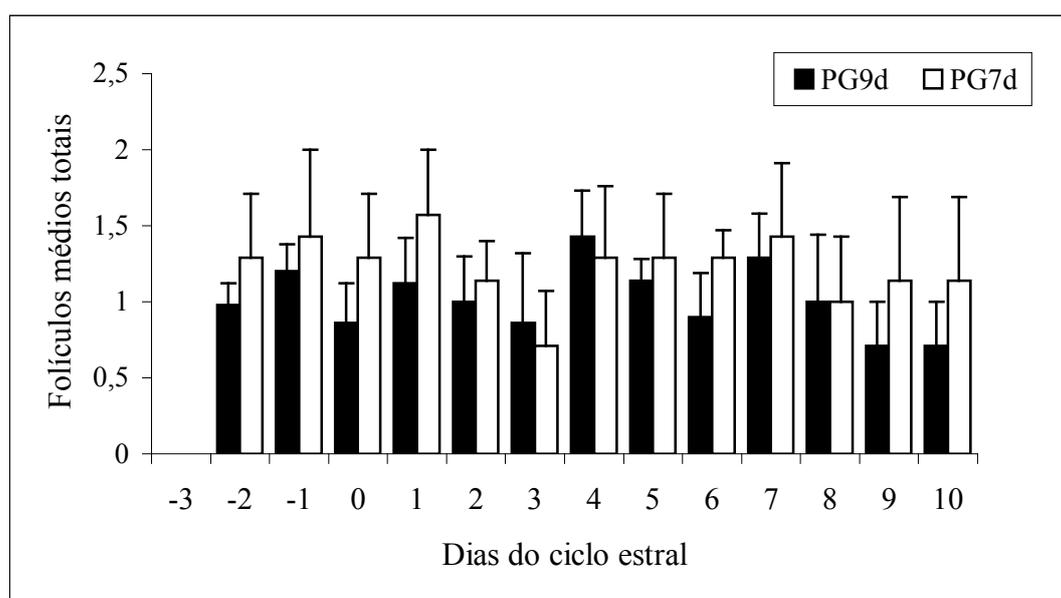


Figura 2. Distribuição dos folículos médios (médias±EP) durante a fase luteal, em fêmeas ovinas sincronizadas com PGF_{2α} em diferentes intervalos, durante a estação reprodutiva.

A aplicação da PGF_{2α} no sétimo dia após a ovulação provocou, significativamente ($P < 0,05$), um maior número de folículos grandes crescendo nos dias 3 ($1,0 \pm 0,22$ vs $0,29 \pm 0,18$), 4 ($1,71 \pm 0,29$ vs $1,29 \pm 0,18$), 6 ($1,15 \pm 0,20$ vs $0,14 \pm 0,14$) e 8 ($1,14 \pm 0,26$ vs $0,29 \pm 0,18$), respectivamente para as fêmeas ovinas tratadas nos dias sétimo e nono pós ovulação (Figura 3).

Um trabalho desenvolvido por Castonguay et al. (1990) destacou que, possivelmente, um número significativo de folículos apresentando diâmetros de 1–3 mm, pode induzir a atresia dos folículos grandes em fêmeas ovinas. Neste estudo, as fêmeas ovinas mostraram uma distribuição e tamanho dos folículos grandes semelhante ao processo durante o estro natural.

Alguns folículos grandes não conseguem exercer a dominância e, portanto, são incapazes de ovular, mas alguns deles ovulam normalmente. Este fato não tem sido reportado em ovelhas (Evans et al., 2001). A ovulação destes folículos tem sido relatada em vacas, relacionada com as alterações no desenvolvimento dos oócitos (Mihm et al., 1999) e na secreção do oviduto (Binelli et al., 1999).

A sincronização utilizada não influenciou significativamente a quantidade média da população folicular total, no início e metade da fase luteal do ciclo estral, entretanto houve diferença ($P < 0,05$) entre os dias experimentais, sendo que também foi constatada diferença significativa na interação tratamento x dia ($P < 0,05$).

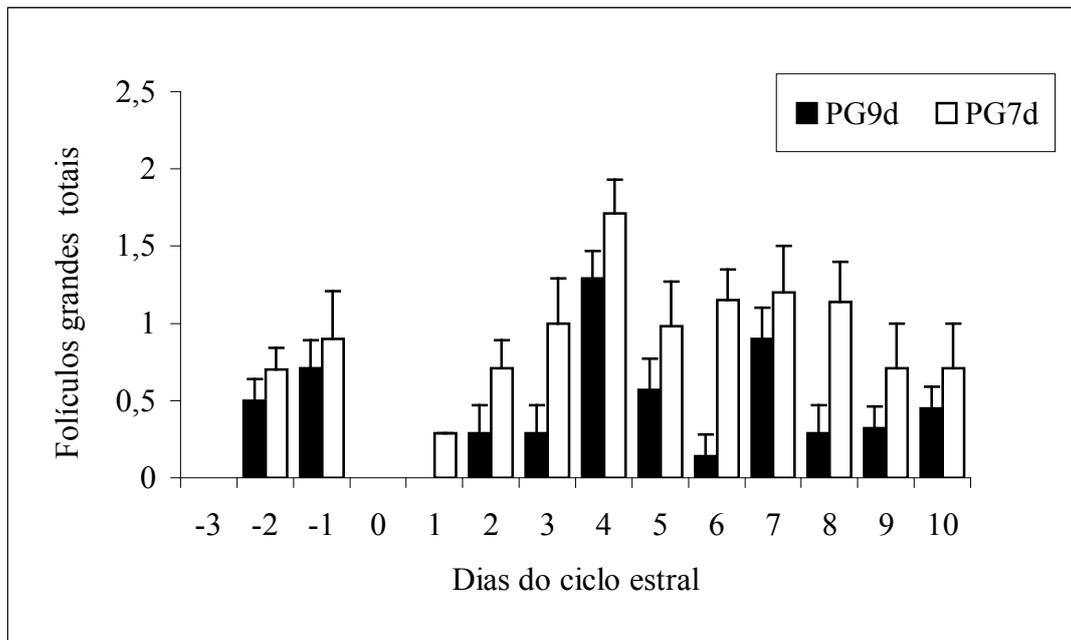


Figura 3. Distribuição dos folículos grandes (médias±EP) durante a fase luteal, em fêmeas ovinas sincronizadas com $\text{PGF}_{2\alpha}$ em diferentes intervalos, durante a estação reprodutiva.

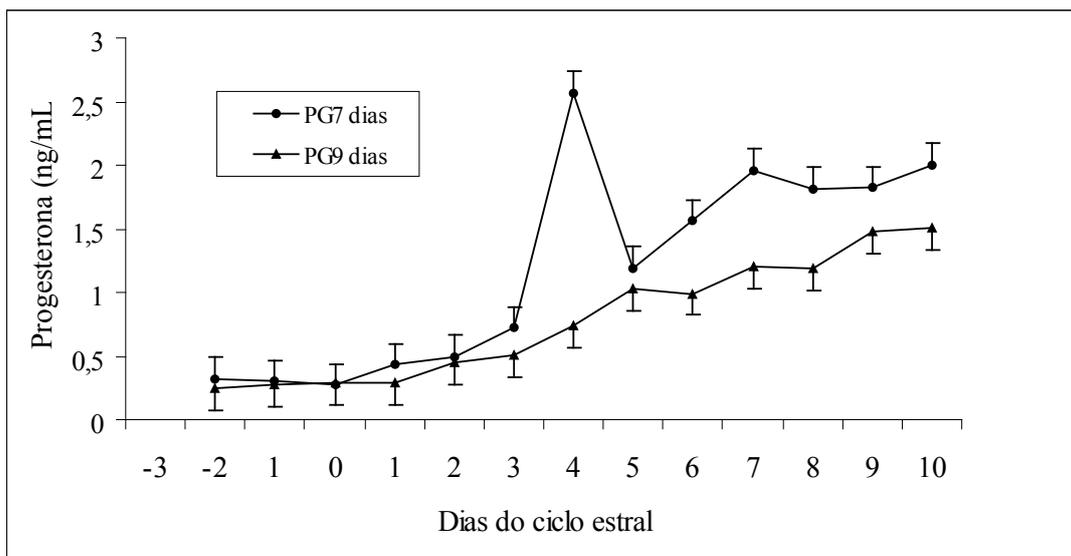


Figura 4. Concentrações plasmáticas de progesterona (médias ± EP), durante a fase luteal de fêmeas ovinas sincronizadas com $\text{PGF}_{2\alpha}$ em diferentes intervalos, durante a estação reprodutiva.

As concentrações de progesterona (P_4) plasmática (médias ± EP) nos grupos experimentais estão apresentadas na Figura 4.

Houve diferença significativa ($P < 0,0001$) nas concentrações plasmáticas de P_4 entre os tratamentos durante a fase em estudo. Do mesmo modo, constatou-se diferença significativa nos

dias ($P < 0,0001$) e na interação tratamento e dia ($P < 0,0001$). As concentrações de P_4 no plasma, não foram diferentes entre os grupos tratados no sétimo e nono dias mostrando, nos dias -2 e -1 antes da ovulação, valores médios de $0,32 \pm 0,17$ vs $0,24 \pm 0,17$ ng/mL; e $0,30 \pm 0,33$ vs $0,27 \pm 0,17$ ng/mL, respectivamente, de forma semelhante aos achados de Scaramuzzi et al. (1993) e Uribe-

Velásquez et al. (2008a,b,c), os quais também observaram valores abaixo de 1 ng/mL ao longo da fase folicular até a ovulação, dois a três dias mais tarde. Valores similares foram também reportados por Campbell et al. (1990).

As concentrações de P_4 no plasma variaram significativamente ($P < 0,0001$) entre os grupos tratados a partir do terceiro dia até o décimo dia após a ovulação, apresentando as maiores concentrações no grupo tratado com intervalo de sete dias. O aumento nas concentrações plasmáticas de P_4 após o terceiro dia do ciclo estral, no grupo tratado com intervalo de sete dias, pode ser o resultado da atividade do corpo lúteo somado à atividade de folículos grandes luteinizados.

Conclusões

Pode-se concluir, então, que a dinâmica folicular foi alterada pelo tratamento com a $PGF_{2\alpha}$, porém de forma não muito distinta daquela do processo normal de regressão luteal, ao final do ciclo estral. Além do mais, em fêmeas ovinas com completa e rápida luteólise, tratadas nos dias sétimo e nono pós ovulação, a ovulação aconteceu no folículo dominante da segunda onda folicular. Estes dados sugerem que a indução da luteólise com PG durante o ciclo estral pode ser uma eficiente ferramenta em protocolos de reprodução assistida em fêmeas ovinas.

Referências Bibliográficas

- Ali, A. Effect of time of eCG administration on follicular response and reproductive performance of FGA-treated Ossimi ewes. **Small Ruminant Research**, v.72, p.33-37, 2007.
- Amorim, E.A.M.; Torres, C.A.A.; Amorim, L.S. et al. Dinâmica folicular em cabras da raça Toggenburg em lactação tratadas ou não com somatotropina bovina recombinante. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, p.1500-1508, 2007.
- Binelli, M.; Hampton, J.; Buhi, W.C. et al. Persistent dominant follicle alters pattern of oviductal secretory proteins from cows at estrus. **Biology of Reproduction**, v.61, p.127-134, 1999.
- Campbell, B.K.; Mann, G.E.; McNeilly, A.S. et al. Pulsatile secretion of inhibin, oestradiol and androstenedione by the ovary of the sheep during the oestrus cycle. **Journal Endocrinology**, v.126, p.385-393, 1990.
- Castonguay, F.; Dufour, J.J.; Minvielle, F. et al. Follicular dynamics and dominance in Boorola x Finnish Landrace and Boorola x Suffolk ewes heterozygous for the F gene. **Journal Reproduction and Fertility**, v.89, p.193-203, 1990.
- Evans, A.C.; Flynn, J.D.; Quinn, K.M. et al. Ovulation of aged follicles does not affect embryo quality or fertility after a 14-day progestagen estrus synchronization protocol in ewes. **Theriogenology**, v.56, p.923-936, 2001.
- Fabre, S.; Pierre, A.; Mulsant, P. et al. Regulation of ovulation rate in mammals: contribution of sheep genetic models. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v.4, p.1-12, 2006.
- GdeNicolo, S.T.; Morris, S.T.; Kenyon, P.R. et al. Induced seasonal reproductive performance in two breeds of sheep. **Animal Reproduction Science**, v.103, p.278-289, 2007.
- Ginther, O.J.; Araujo, R.R.; Palhao, M.P. et al. Necessity of sequential pulses of prostaglandin F2alpha for complete physiologic luteolysis in cattle. **Biology of Reproduction**, v.80, p.641-648, 2009.
- Goel, A.K.; Agrawal, K.P. Oestrus synchronization in cyclic goats following lutalyse administration. **Indian Journal of Animal Science**, v.68, p.155-156, 1998.
- González de Bulnes, A.; Moreno, S.; Gómez-Brunet, A. et al. Follicular dynamic during the oestrous cycle in dairy goats. **Animal Science**, v.68, p.547-554, 1999.
- González de Bulnes, A.; Veiga-López, A.; García, P. et al. Effects of progestagens and prostaglandin analogues on ovarian function and embryo viability in sheep. **Theriogenology**, v.63, p.2523-2534, 2005.
- González-Añover, P.; Encinas, T.; Veiga-López, A. et al. Effects of bree don follicular dynamics and oestradiol secretion during the follicular phase in sheep. **Reproduction Domestic Animal**, v.42, p.29-33, 2007.
- Goravanahally, M.P.; Sen, A.; Inskeep, E.K., et al. PKCepsilon and an increase in intracellular calcium concentration are necessary for

- PGF₂alpha to inhibit LH-stimulated progesterone secretion in cultured bovine steroidogenic luteal cells. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v.5, p.1-13, 2007.
- Guido, S.I.; Oliveira, M.A L.; Lima, P.F. Eficiência do syncromate-B associado a P F₂ sobre o restabelecimento da ciclicidade de cabras Saanen em anestro lactacional. **Revista Brasileira de Reproducción Animal**, v.23, p.51-56, 1999.
- Hackett, A.J.; Robertson, H.A. Effect of dose and time of injection of prostaglandin F_{2α} in cycling ewes. **Theriogenology**, v. 13, p.347-351, 1980.
- Herrera, H.L.; Feldman, S.D.; Zarco, Q.L. et al. Evaluación del efecto luteolítico de la prostaglandina F₂ alfa en diferentes días del ciclo estral de la borrega. **Veterinaria México**, v. 21, p.143-147, 1990.
- Holtz, W.; Sohnrey, B.; Gerland, M., et al. Ovsynch synchronization and fixed-time insemination in goats. **Theriogenology**, v. 69, p.785-792, 2008.
- Kridli, R.T.; Al-Khetlib, S.S. Reproductive responses in ewes treated with eCG or increasing doses of royal jelly. **Animal Reproduction Science**, v.92, p.75-85, 2006.
- Lafrance, M.; Goff, A. K. Effect of pregnancy on oxytocin-induced release of prostaglandin F_{2α} in heifers. **Biology of Reproduction**, v.3, p.1113-1119, 1985.
- Latour, D.; Littell, R. **Advanced general linear models with an emphasis on mixed models**. Version 6.12. Cary: SAS Institute, 1996. 268p.
- Leyva, V.; Buckrell, B.C.; WALTON, J.S. Regulation of follicular and ovulation in ewes by exogenous progestagen. **Theriogenology**, v.50, p.395-416, 1998.
- Liu, X.; Dai, Q.; Hart, E.J. et al. Ultrasonographic characteristics of ovulatory follicles and associated endocrine changes in cyclic ewes treated with medroxyprogesterone acetate (MAP)-releasing intravaginal sponges and equine chorionic gonadotrophin (eCG). **Reproduction Domestic Animals**, v.42, p.393-401, 2007.
- López-Sebastian, A.; González-Bulnes, A.; Carrizosa, J.A. et al. New estrus synchronization and artificial insemination protocol for goats based on male exposure, progesterone and cloprostenol during the non-breeding season. **Theriogenology**, v.68, p.1081-1087, 2007.
- Lucy, M.C.; Savio, J.D.; Badinga, L. et al. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. **Journal of Animal Science**, v.70, p.3615-3626, 1992.
- McGinley, R.; Casey, J. H. Analysis of progesterone in unextracted serum; a method using danazol (17 a-preg-4-en-20-yno (2,3) isoxasol-17-ol) a bloker of steroid binding to proteins. **Steroids**, v.33, p.127-138, 1979.
- McNeilly, A.S.; Picton, H.M.; Campbell, B.K. et al. Gonadotrophic control of follicle growth in the ewe. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.43, p.177-186, 1991.
- Menchaca, A. & Rubianes, E. Efecto of high progesterone concentrations during the early luteal phase in the lenght of the ovulatory cycle of gotas. **Animal Reproduction Science**, v.68, p.69-76, 2001.
- Menchaca, A. & Rubianes, E. Relation between progesterone concentrations during the early luteal phase and follicular dynamic in goats. **Theriogenology**, v.57, p.1411-1419, 2002.
- Menchaca, A.; Miller, V.; Salveraglio, V. et al. Endocrine, luteal and follicular responses after the use of the short-term protocol to synchronize ovulation in goats. **Animal Reproduction Science**, v.102, p.76-87, 2007.
- Mihm, M.; Curran, N.; Hyttel, P. et al. Effect of dominant follicle persistence on follicular fluid estradiol and inhibin and on oocyte maturation in heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.116, p.293-304, 1999.
- Pierson, R.A.; Ginther, J.O. Follicular population during the oestrous cycle in heifers. I – Influence of day. **Animal Reproduction Science**, v.14, p.165-176, 1987.
- Quirk, S.M.; Quirk, G.J.; Hickey, J.E. et al. Growth and regression of ovarian follicles during the follicular phase of the oestrous cycle in heifers undergoing spontaneous and PGF_{2α} induced luteolysis. **Journal Reproduction of Fertility**, v.77, p.211-219, 1986.
- Ravindra, J.P.; Rawlings, N.C.; Evans, A.C.O. et al. Ultrasonographic study of ovarian follicular dynamics in ewes during the estrous cycle. **Journal Reproduction and Fertility**, v.101, p.501-509, 1994.
- Safdarian, M.; Kafi, M.; Hashemi, M. Reproductive performance of Karakul ewes following different oestrous synchronization treatments outside the natural breeding season. **South African Journal of Animal Sciences**, v.36, p.229-234, 2006.
- Scaramuzzi, R.J.; Adams, N.R.; Baird, D.T. et al. A model for follicle selection and the determination of ovulation rate in the ewe. **Reproduction Fertility Development**, v.5, p.459-478, 1993.

- Schrick, F.N.; Surface, R.A.; Pritchard, J.Y. et al. Ovarian structures during the estrous cycle and early pregnancy in ewes. **Biology of Reproduction**, v.49, p.1133-1140, 1993.
- Uribe-Velásquez, L.F.; Oba, E.; Lara-Herrera, L.C.; et al. Respostas endócrinas e ovarianas associadas com o folículo dominante da primeira onda folicular em ovelhas sincronizadas com CIDR ou PGF2 α . **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, p.944-953, 2002.
- Uribe-Velásquez, L.F.; Souza, M.I.L.; Loaiza, A.M.E. Efecto de la sincronización del estro con prostaglandina-f2 α vs CIDR + 500 UI de eCG en ovejas Bergamacia durante el inicio de la fase luteal. **Revista Científica**, v.XVIII, p.368-373, 2008a.
- Uribe-Velásquez, L.F.; Oba, E.; Souza, M.I.L. Población folicular y concentraciones plasmáticas de progesterona (P₄) en ovejas sometidas a diferentes protocolos de sincronización. **Archivos de Medicina Veterinaria**, v.40, p.83-88, 2008b.
- Uribe-Velásquez, L.F.; Oba, E.; Souza, M.I.L. Efeitos da progesterona exógena sobre o desenvolvimento folicular em ovelhas. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, p.58-65, 2008c.
- Weems, C.W.; Weems, Y.S.; Randel, R.D. Prostaglandins and reproduction in female farm animals. **The Veterinary Journal**, v. 171, p.206-228, 2006.