



Indução e sincronização de estro em ovelhas: desafios e potencial

Estrous induction and synchronization in ewes: challenge and potential

M.I.L. Souza

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, Brasil.

Correspondência: maria.souza@ufms.br

Resumo

O conhecimento da dinâmica endócrina do ciclo estral permitiu o desenvolvimento de protocolos hormonais, isolados ou associados às técnicas de manejo, para controlar a apresentação do estro e da ovulação. Os protocolos convencionais envolvem dispositivos intravaginais impregnados com progesterona ou progestágenos e prostaglandinas ou seus análogos, em conjunto com gonadotrofina coriônica equina (eCG), visando à produção de folículos saudáveis em um ambiente de baixas concentrações de gonadotrofinas e estrógenos ou luteólise com uma subsequente fase folicular culminando em ovulação. Na indução ou sincronização do momento da ovulação, com os mesmos regimes aplicados em bovinos, são usadas gonadotrofinas (eCG; gonadotrofina coriônica humana; hCG; hormônio foliculo estimulante; FSH), GnRH (fator liberador de gonadotrofinas) ou estrógenos. Contudo, mais estudos são necessários para a produção de ovinos em larga escala, do tipo “verde, ético e limpo”, a ativação da reprodução por meio de métodos nutricionais, de manejo ou do uso de menos hormônios exógenos. Esta revisão aborda os métodos que vêm sendo utilizados para sincronização de estro em ovelhas, bem como as alternativas que existem à hormonioterapia.

Palavras-chave: manejo reprodutivo, manipulações hormonais, ovinos.

Abstract

The knowledge of estrous cycle endocrine dynamics allowed the development of hormonal protocols, isolated or associated with management techniques to control the onset of estrous and ovulation. Conventional protocols involve intravaginal devices impregnated with progestagens or progestin and prostaglandins or their analogues, in conjunction with equine chorionic gonadotrophin (eCG), yielding healthy follicles in environment of low concentrations of gonadotrophins and oestrogens or a luteolysis with a subsequent follicular phase culminating in ovulation. Synchronization of time or induction of ovulation using the same regimens as applied in cattle, using various gonadotrophins (equine chorionic gonadotrophin - eCG; human chorionic gonadotrophin - hCG; stimulate follicle hormone - FSH), GnRH (gonadotrophin releasing factor) or oestrogens. However, more studies are needed for ovine industry on a large scale, such as “green, clean and ethical”, enabling playback through nutritional methods, management or use of exogenous hormones less that it should becomes object of investigation. This review covers the methods that have been used for estrous synchronization in ewes, as well as the alternatives that exist to hormonotherapy.

Keywords: hormonal manipulations, ovine, reproductive management.

Introdução

A multiplicação de indivíduos com características genéticas e zootécnicas desejáveis é requisito fundamental para aumentar a produtividade ovina, independentemente dos objetivos da criação. No entanto, a possibilidade de maximizar as taxas de fertilidade em ovelhas reside em melhorar os processos de crescimento e desenvolvimento folicular.

O crescimento folicular é um processo contínuo e independente da fase do ciclo estral (Uribe-Velásquez et al., 2007, 2011). Em ovinos, folículos antrais crescem em uma sucessão ordenada, produzindo três a quatro ondas foliculares nos 17 dias do ciclo estral, sendo cada onda precedida por um aumento transitório nas concentrações circulantes de FSH, com a progesterona (P_4) como um sinal endócrino chave que governa o controle dos aumentos periódicos nas concentrações séricas de FSH e no número de ondas foliculares em ovelhas cíclicas (Baby e Bartlewski, 2011). Existe, dentro de cada onda de crescimento folicular, uma relação inversa entre a concentração plasmática de P_4 e o diâmetro do folículo dominante (Uribe-Velásquez et al., 2008a).

O conhecimento da dinâmica endócrina do ciclo estral permitiu o desenvolvimento de protocolos hormonais, isolados ou associados às técnicas de manejo, para controlar a apresentação do estro e a ovulação. Em âmbito comercial, a sincronização de estro permite controlar e encurtar o período de parição, com subsequente concentração do desmame dos animais para abate, além de possibilitar o uso de programas



de múltipla ovulação, transferência de embriões e indução do ciclo estral em animais pré-púberes (Abecia et al., 2012).

Utilização de tratamentos hormonais

O aumento abrupto nas concentrações de P_4 , seguido por um declínio repentino aos níveis basais após retirada da fonte de P_4 ou progestágenos, ativa o eixo hipotálamo-hipófise-ovariano a regredir folículos persistentes e recrutar novos folículos saudáveis em um ambiente de baixas concentrações de gonadotrofinas (especialmente hormônio luteinizante - LH) e E_2 (Husein e Ababneh, 2008). Os protocolos formulados para utilização de P_4 utilizam dispositivos intravaginais de liberação de P_4 (CIDR®, DICO®), enquanto aqueles baseados em progestágenos usam, principalmente, pessários ou esponjas intravaginais e implantes auriculares. As formas mais comuns de progestágenos usadas comercialmente na inibição temporal do ciclo estral são o acetato de fluorogestona (FGA) e o acetato de medroxiprogesterona (MAP; Abecia et al., 2012). Ao compararem o uso de CIDR® com progestágenos (MAP ou FGA), por seis ou 14 dias, associados à gonadotrofina coriônica equina (eCG) na retirada, Ungerfeld e Rubianes (2002) não encontraram diferenças nas taxas de estro e prenhez em ovelhas no anestro, bem como entre doses de MAP (30 ou 60 mg).

É conhecida a necessidade de um *priming* com P_4 , no início da estação reprodutiva, para a manifestação estral, demonstrada por Boscos et al. (2002), em que uma menor proporção de animais que não tinham exibido atividade ovariana prévia ao início da estação reprodutiva mostraram sinais clínicos de estro em comparação com aqueles que não manifestaram tal atividade (15,4 vs. 52,9%, respectivamente).

Os dispositivos intravaginais de P_4 podem ser reutilizados. Vilariño et al. (2013) compararam o uso de CIDR® novo, previamente usado por seis ou dois usos de seis dias, em protocolos de sincronização de seis dias, e verificaram menores concentrações de P_4 plasmática com dispositivos reutilizados, ainda que capazes de induzir estro e ovulação de forma similar aos novos. No entanto, dispositivos previamente utilizados por 12 ou 18 dias demonstraram um efeito negativo sobre as taxas de estro e prenhez com o prévio uso por períodos mais longos, resultado que pode ser melhorado com a aplicação de estradiol 17β ($E_217\beta$) associado ao CIDR® pré-utilizado por 12 dias (Ungerfeld, 2009). Uma baixa concentração de P_4 leva a um aumento da frequência de pulsos de LH, o qual está associado a uma elevação no número, no tamanho e na permanência dos maiores folículos (Menchaca e Rubianes, 2004). O uso de CIDR® novo promoveu o *turnover* folicular em 100% das ovelhas estudadas por Vilariño et al. (2013), enquanto o dispositivo reutilizado alcançou 80%, o que indica a possibilidade de os dispositivos previamente utilizados induzirem aos folículos pré-ovulatórios persistentes citados por Menchaca e Rubianes (2004).

O dispositivo DICO®, com a mesma quantidade de P_4 que o CIDR®, foi testado em ovelhas ovariectomizadas, para avaliar as concentrações liberadas de P_4 , e em ovelhas com ovários normais, para avaliar a dinâmica folicular e a resposta de estro. Também foi testado o seu reuso em protocolos de seis dias, o qual demonstrou eficiência semelhante em controlar concentrações séricas de P_4 , desenvolvimento folicular e momento da ovulação, confirmando a possibilidade de reuso (Vilariño et al., 2010).

A utilização de P_4 + eCG em ovelhas resultou em aumento nas concentrações plasmáticas de P_4 do sexto ao 10º dias pós-ovulação e em intervalos menores do estro à ovulação quando comparadas com fêmeas sincronizadas com prostaglandinas, o que foi atribuído ao fato de o eCG aumentar a concentração de E_2 , induzindo um aparecimento mais precoce do estro e do pico pré-ovulatório de LH e FSH (Uribe-Velásquez et al., 2008b).

Os resultados de García-Palencia et al. (2007) indicam que a sincronização do estro com progestágenos leva a uma redução na expressão das proteínas dos receptores de E_2 ($ER\alpha$) e P_4 (PR) em muitas células ovidutais e uterinas, sendo marcante a redução da expressão dos $ER\alpha$ no compartimento superficial uterino e miométrio e de PR em todos os compartimentos celulares uterinos, exceto o miométrio no quarto dia pós-estro, o que pode comprometer a implantação embrionária devido à relevância da expressão dos mesmos na identificação materna durante a gestação.

Ao longo dos anos, o tempo de duração dos protocolos foi sendo modificado, em razão do conhecimento de que folículos mais velhos no momento da ovulação resultam em ovócitos menos viáveis. O uso de protocolos curtos (seis dias) reduz a exposição do folículo pré-ovulatório às concentrações subluteais de P_4 ao final do tratamento, permitindo a ovulação de um folículo mais jovem e saudável (Vilariño et al., 2013).

Um método alternativo para controlar a reprodução em pequenos ruminantes é a indução da luteólise com $PGF_2\alpha$ ou seus análogos, determinando uma subsequente fase folicular com ovulação (Abecia et al., 2012). A dinâmica folicular altera-se com a aplicação de prostaglandinas, porém de forma não muito distinta daquela do processo normal de regressão luteal ao final do ciclo estral (Uribe-Velásquez et al., 2011; Fierro et al., 2013), pois o desenvolvimento folicular é semelhante em fêmeas ovinas durante o ciclo estral natural e aquele induzido por $PGF_2\alpha$ ou seus análogos (Uribe-Velásquez et al., 2010; Fierro et al., 2013). Os protocolos iniciais utilizavam um intervalo de nove dias entre duas doses de $PGF_2\alpha$ ou seus análogos; no entanto, hoje se preconiza um intervalo de sete dias, em que muitas ovelhas serão sensíveis à segunda dose de $PGF_2\alpha$, pois estarão em uma



fase precoce do ciclo interovulatório e seu CL será sensível a uma dose luteolítica de $\text{PGF}_2\alpha$ (Menchaca et al., 2004). No experimento de Uribe-Velásquez et al. (2011), todas as ovelhas tratadas com análogo de $\text{PGF}_2\alpha$, seja com intervalos de sete ou nove dias entre duas doses, manifestaram estro dentro de 72 h após a última aplicação. O uso do protocolo com duas doses de $\text{PGF}_2\alpha$ em intervalo de sete dias resultou em alta sincronização de estro com maiores percentuais (em torno de 80%) entre 25 e 48 h após o final do tratamento (Menchaca et al., 2004).

O momento e o número de ovulações após tratamento com $\text{PGF}_2\alpha$ são altamente variáveis, pois dependem do *status* da onda folicular ao tratamento, devido à extensão da vida média de folículos ovulando que tenham emergido antes da administração de $\text{PGF}_2\alpha$ e, também, da ovulação de alguns folículos que emergem após o tratamento (Barrett et al., 2002; Fierro et al., 2013). Em ovelhas em ciclo natural ou tratadas com análogo de $\text{PGF}_2\alpha$, a ovulação ocorreu 24 a 36 h após manifestação de estro, em todos os animais (Uribe-Velásquez et al., 2010).

Ao compararem a sincronização com P_4 + eCG ou duas doses de $\text{PGF}_2\alpha$ em sete dias de intervalo, Olivera-Muzante et al. (2011a) obtiveram melhores resultados com o primeiro protocolo e enumeram, com Barrett et al. (2002) e Olivera-Muzante et al. (2011b), como possíveis causas para menor *performance* reprodutiva de ovelhas tratadas com $\text{PGF}_2\alpha$, alterações no transporte espermático no trato reprodutivo, baixas concentrações de P_4 durante a fase luteal do ciclo estral prévio, alterando maturação do oócito e taxa de fertilização, quebra no modelo de secreção de FSH e na dinâmica folicular ovariana, com falha na ovulação e formação do CL, ou modificação na capacidade esteroidogênica do folículo ovulatório, com função luteal anormal e falha de prenhez.

A melhor resposta ovariana à administração de $\text{PGF}_2\alpha$ pode ser esperada quando as fêmeas são tratadas no início e no final da fase luteal, com início rápido do estro e maior número de animais ovulando (Uribe-Velásquez et al., 2011; Fierro et al., 2013). A administração de $\text{PGF}_2\alpha$ no terceiro dia após a ovulação foi seguida pela luteólise e ovulação, mostrando que, na ovelha, um CL com três dias de idade não é refratário a esse hormônio, o que indica um período preciso de refratariedade à $\text{PGF}_2\alpha$ de um CL recém-formado, restrito aos dois dias ou menos após a ovulação (Rubianes et al., 2003). O pico pré-ovulatório de LH é mais precoce após a luteólise neste momento do que em estádios mais tardios da fase luteal, devido à menor quantidade de P_4 e, consequentemente, de seu efeito inibitório sobre a pulsatilidade de LH, embora o início do estro e a ovulação permaneçam inalterados (Contreras-Solis et al., 2009).

A quantidade de $\text{PGF}_2\alpha$ ou seus análogos, administrada também tem sido estudada. Ao testarem o uso de uma dose completa, ou meia-dose, de análogo de $\text{PGF}_2\alpha$, Olivera-Muzante et al. (2011a, b) encontraram número similar de ovelhas em estro por 72 h após a segunda injeção, mas o número de fêmeas em estro entre 25 e 48 h, no grupo tratado com a dose completa, tendeu a ser maior, com um início agudo de estro. Os autores afirmam que o conceito de que a dose reduzida de $\text{PGF}_2\alpha$ poderia melhorar a *performance* reprodutiva, por reduzidos efeitos colaterais, não foi suportado e, assim, levantaram a hipótese de que muitos CLs jovens tenham falhado em responder à $\text{PGF}_2\alpha$, o que reduziu o número de ovelhas próximas à ovulação no momento da IATF.

Indução da ovulação

No intuito de sincronizar o momento da ovulação, são usadas gonadotrofinas (gonadotrofina coriônica equina - eCG; gonadotrofina coriônica humana - hCG; FSH), GnRH ou E_2 . O uso do eCG aumenta o desenvolvimento folicular e a prolificidade em ovelhas em regiões subtropicais; no entanto, sua eficiência no desenvolvimento folicular pode ser influenciada pelo momento de aplicação em relação ao tratamento de sincronização de estro (Ali, 2007; Murphy, 2012). Já a habilidade do hCG para promover a síntese de P_4 pelo CL ou aumentar a fertilidade varia com o estágio do ciclo estral (Gómez-Brunet et al., 2007).

Os animais que recebem eCG apresentam maiores concentrações de P_4 , provavelmente como resultado da atividade do CL associada à dos grandes folículos luteinizados, em resposta ao eCG, além da própria liberação do dispositivo de P_4 (Uribe-Velásquez et al., 2007, 2008b). A utilização de eCG proporciona uma rápida redução no número de folículos pequenos ao exame ultrassonográfico, levando ao aparecimento de médios e grandes folículos que, sendo a fonte de E_2 , permitirão, com seu crescimento mais precoce, uma manifestação estral igualmente mais precoce (Ali, 2007). A aplicação do eCG 24 h pré-retirada de pessários com MAP, no dia da retirada ou no momento da monta, mostrou-se efetiva para sincronizar o estro em 100% das ovelhas, sendo 85% delas até 72 h pós-retirada (Tinajero et al., 2007). A aplicação de eCG 24 ou 48 h antes da remoção das esponjas intravaginais resultou em menor intervalo ao estro e ovulação, aliado ao desenvolvimento mais precoce de grandes folículos, originados do mesmo *pool* folicular, podendo, portanto, ser benéfica no uso de IATF (Ali, 2007).

Um ponto a ser considerado no uso do eCG é que, devido à sua longa meia-vida, pode levar ao desenvolvimento de grandes folículos estrogênicos anovulatórios, os quais influenciam, negativamente, desenvolvimento embrionário precoce e transporte no oviduto (Husein e Ababneh, 2008; Murphy, 2012). Por outro lado, Ali (2007) cita que o mecanismo pelo qual o eCG aumenta a taxa ovulatória pode ser devido à elevada quantidade de folículos que entram na categoria >2 mm de diâmetro, à prevenção da ocorrência de



atresia natural ou à reversão do processo atrésico.

O tratamento de ovelhas com hCG não melhora a *performance* reprodutiva naquelas submetidas à indução do estro e inseminação artificial, mas pode ser benéfico para aumentar a fertilidade em ovelhas de rebanhos com baixas taxas de fertilidade, uma vez que incrementa taxa de ovulação e reduz taxa de mortalidade embrionária ou ambos (Gómez-Brunet et al., 2007). Ovelhas tratadas com hCG, que retornaram ao estro e foram cobertas novamente, tiveram maiores taxas de prenhez e parição comparadas aos animais não tratados, o que pode envolver mecanismos que controlem a sobrevivência embrionária, isto é, melhor qualidade de oócitos ou embriões, e/ou do desenvolvimento folicular ou do ambiente uterino, todos dependentes da maior função luteal durante o ciclo de tratamento, conforme Khan et al. (2009).

No início da estação reprodutiva, o uso de 10 UI de FSH após tratamento de MAP/12 dias permitiu a manifestação de estro em 87,5% das ovelhas em relação às que receberam 5 UI de FSH (62,5%), 2,5 UI de FSH (37,5%) ou 400 UI de eCG (33,5%), indicando que o FSH pode promover respostas superiores ao eCG neste momento da estação reprodutiva (Boscos et al., 2002). Já na metade da estação reprodutiva, o FSH foi tão efetivo quanto o eCG em relação à taxa de estros (90 vs. 92,5%, respectivamente; Boscos et al., 2002).

A utilização de GnRH no momento da IATF em ovelhas sincronizadas com cloprostenol não melhora a taxa de prenhez, pois, assumindo que a ovulação no protocolo PGF₂α com sete dias de intervalo ocorre cerca de 60 h após a segunda dose de PGF₂α e que o pico fisiológico de LH dá-se em torno de 24 h antes da ovulação, esse pico poderia ocorrer cerca de 36 h após a última PGF₂α. Como o GnRH foi administrado no momento da IATF (42 h pós-segunda PGF₂α), talvez tenha promovido um segundo pico de LH duas a quatro horas mais tarde, sendo, portanto, tardio para aumentar o pico pré-ovulatório de LH endógeno e ativar a ovulação naquele momento (Olivera-Muzante et al., 2011a, b). Mirzaei et al. (2011) associaram o efeito macho ao uso de buserelina nos dias cinco e 19 pós-introdução dos machos, durante a estação reprodutiva, e verificaram efeito negativo na função do CL e na concentração de P₄ plasmática, o que reduziu a *performance* reprodutiva das ovelhas tratadas, provavelmente porque a buserelina, nesses momentos do ciclo, pode resultar em menor secreção de GnRH endógeno, o qual é necessário para a formação de folículos pré-ovulatórios.

O E₂, como indutor de ovulação, apresenta efeito bifásico, ou seja, administrado na presença de P₄ exógena, leva à regressão folicular, enquanto na ausência dela resulta em aumento no LH e ovulação (Seekalu et al., 2010). CIDR® previamente utilizado por 12 ou 18 dias com E₂17β não melhorou as taxas de prenhez de ovelhas na estação anestrual, indicando que o E₂17β, por si só, pode não ter sido suficiente para vencer a reduzida fertilidade determinada pelas baixas concentrações de P₄ (Ungerfeld, 2009).

Desafios potenciais atuais

Um novo método, chamado bioestimulação (efeitos estimulatórios sobre características reprodutivas de fêmeas), em vez de hormônios exógenos e drogas para controlar e melhorar a produtividade de pequenos ruminantes, deve ser considerado (Martin et al., 2004; Abecia et al., 2012). Várias alternativas têm sido testadas com o objetivo de aumentar taxas de parição e prolificidade, associadas aos protocolos convencionalmente utilizados. Uma possibilidade é a associação de efeito macho ao uso de sincronização de estros com prostaglandinas. O momento do pico de LH pré-ovulatório e ovulação induzidos pode ser mais precoce e concentrado quando da introdução de machos rufiões no momento da segunda injeção de cloprostenol, demonstrando ser uma alternativa viável para sincronizar o estro e inseminar ovelhas com baixa estacionalidade (Contreras-Solis et al., 2009). A resposta de uma ovelha ao efeito macho depende da duração do estímulo e de sua receptividade a ele (Ungerfeld et al., 2004).

Com a necessidade de produção de alimentos em larga escala, a ativação da reprodução por meio de métodos nutricionais é uma alternativa mais próxima de “limpa, verde e ética”, que proporciona alternativas de manejo reprodutivo em sistemas comerciais sem dependência de hormônios exógenos (Scaramuzzi et al., 2006). O estado nutricional dos animais é determinante para manter uma adequada função reprodutiva e pode ser modificado por diferentes técnicas de *flushing* alimentar, pois a constituição da dieta atua em vários níveis no eixo hipotálamo-hipófise-ovariano, controlando a atividade ovariana (Martin et al., 2004). Em relação ao hipotálamo, influências nutricionais sobre a reprodução são qualitativas na fertilidade, por definir se o animal ovula ou não; contudo, quando esse limiar é alcançado, com ocorrência de ciclos ovarianos, a regulação nutricional torna-se quantitativa, atuando no folículo, a fim de determinar a taxa de ovulação (Scaramuzzi e Martin, 2008).

Todavia, os resultados obtidos com técnicas de manejo ainda são variáveis, pois a efetividade do efeito nutricional sobre a taxa ovulatória não é consistente, sugerindo, portanto, que um aumento nessa taxa dependa do *status* folicular no começo do tratamento nutricional, como no efeito macho (Ungerfeld et al., 2004), entre outros fatores como concentrações de glicose e hormônios metabólicos, dinâmica hormonal e *pool* de folículos disponíveis para ação desses hormônios no momento em que o suplemento é oferecido (Martin et al., 2004). A associação de técnicas de manejo sem utilização de hormônios exógenos, como *flushing* alimentar e efeito macho e/ou fêmea, pode ser fundamental para a obtenção de produtos mais “verdes, éticos e limpos”, com maior



valor agregado. Para tanto, são necessários estudos voltados a essas técnicas, nas condições de rebanhos e de suplementos existentes em cada região. Além disso, o uso de análogos de $PGF_2\alpha$ pode ser uma alternativa com menor liberação de resíduos hormonais, embora também necessite de mais estudos quanto ao melhor intervalo entre as injeções (Fierro et al., 2013), mecanismos intrínsecos que afetam a fertilidade após o tratamento e/ou protocolos alternativos para engrandecer os resultados obtidos e avaliar taxa de ovulação e perdas embrionárias precoces após a sincronização com prostaglandinas (Viñoles et al., 2011).

Referências

- Abecia JA, Forcada F, Gonzáles-Bulnes A.** Hormonal control of reproduction in small ruminants. *Anim Reprod Sci*, v.130, p.173-179, 2012.
- Ali A.** Effect of time of eCG administration on follicular response and reproductive performance of FGA-treated Ossimi ewes. *Small Rumin Res*, v.72, p.33-37, 2007.
- Baby TE, Bartlewski PM.** Progesterone as the driving regulatory force behind serum FSH concentrations and antral follicular development in cycling ewes. *Reprod Fert Dev*, v.23, p.303-310, 2011.
- Barrett DWM, Bartlewski PM, Cook SJ, Rawlings NC.** Ultrasound and endocrine evaluation of the ovarian response to $PGF_2\alpha$ given at different stages of the luteal phase in ewes. *Theriogenology*, v.58, p.1409-1424, 2002.
- Boscós CM, Samartzi FC, Dellis S, Rogge A, Stefanakis A, Krambovitis E.** Use of progestagen-gonadotrophin treatments in estrus synchronization of sheep. *Theriogenology*, v.58, p.1261-1272, 2002.
- Contreras-Solis I, Vasquez B, Diaz T, Letelier C, Lopez-Sebastian A, Gonzalez-Bulnes A.** 2009. Efficiency of estrous synchronization in tropical sheep by combining short-interval cloprostenol-based protocols and “male effect”. *Theriogenology*, v.71, p.1018-1025, 2009.
- Fierro S, Gil J, Viñoles C, Olivera-Muzante J.** The use of prostaglandins in controlling estrous cycle of the ewe: a review. *Theriogenology*, v.79, p.399-408, 2013.
- García-Palencia P, Sánchez MA, Nieto A, Vilar MP, González M, Veiga-Lopez A, González-Bulnes A, Flores JM.** Sex steroid receptor expression in the oviduct and uterus of sheep with estrus synchronized with progestagen or prostaglandin analogues. *Anim Reprod Sci*, v.97, p.25-35, 2007.
- Gómez-Brunet A, Santiago-Moreno J, Monotor V, Garde J, Pons P, González-Bulnes A, López-Sebastian A.** Reproductive performance and progesterone secretion in estrus-induced Manchega ewes treated with hCG at the time of AI. *Small Rumin Res*, v.71, p.117-122, 2007.
- Husein MQ, Ababneh MM.** A new strategy for superior reproductive performance of ewes bred out-of-season utilizing progestagen supplement prior to withdrawal of intravaginal pessaries. *Theriogenology*, v.69, p.376-383, 2008.
- Khan TH, Beck NFG, Khalid M.** The effect of hCG treatment on day 12 post-mating on ovarian function and reproductive performance of ewes and ewe lambs. *Anim Reprod Sci*, v.116, p.162-168, 2009.
- Martin GB, Rodger J, Blache D.** Nutritional and environmental effects on reproduction in small ruminants. *Reprod Fert Dev*, v.16, p.491-501, 2004.
- Menchaca A, Miller V, Gil J, Pinczak A, Laca M, Rubianes E.** 2004. Prostaglandin $F_2\alpha$ treatment associated with timed artificial insemination in ewes. *Reprod Domest Anim*, v.39, p.352-35, 2004.
- Menchaca A, Rubianes E.** New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. *Reprod Fert Dev*, v.16, p.403-414, 2004.
- Mirzaei A, Mohebbi-Fani M, Nazifi S, Aghamiri M.** Effect of GnRH administration, combined with the ram effect, on the occurrence of ovulation and pregnancy during the transition period from anoestrus in crossbred ewes. *Small Rumin Res*, v.100, p.59-62, 2011.
- Murphy, BD.** Equine chorionic gonadotrophin: an enigmatic but essential tool. *Anim Reprod*, v.9, p.223-230, 2012.
- Olivera-Muzante J, Fierro S, López V, Gil J.** Comparison of prostaglandin- and progesterone based protocols for timed artificial insemination in sheep. *Theriogenology*, v.75, p.1232-1238, 2011a.
- Olivera-Muzante J, Gil J, Fierro S, Menchaca A, Rubianes E.** Alternatives to improve a prostaglandin-based protocol for timed artificial insemination in sheep. *Theriogenology*, v.76, p.1501-1507, 2011b.
- Rubianes E, Menchaca A, Carbajal B.** Response of the 1 to 5-day aged ovine corpus luteum to Prostaglandin $F_2\alpha$. *Anim Reprod Sci*, v.78, p.47-55, 2003.
- Scaramuzzi RJ, Campbell BK, Downing JA, Kendall NR, Khalid M, Muñoz-Gutiérrez M, Somchit A.** A review of the effects of supplementary nutrition in the ewe on the concentrations of reproductive and metabolic hormones and the mechanisms that regulate folliculogenesis and ovulation rate. *Reprod Nutr Dev*, v.46, p.339-354, 2006.
- Scaramuzzi RJ, Martin GB.** The importance of interactions among nutrition, seasonality and socio-sexual factors in the development of hormone-free methods for controlling fertility. *Reprod Domest Anim*, v.43, p.129-136, 2008.



- Seekalu SV, Toosi BM, Zeigler A, Rawlings NC.** Effects of estradiol and progesterone on circulating LH and FSH secretion, and ovarian antral follicle growth in anestrus ewes. *Small Rumin Res*, v.91, p.178-185, 2010.
- Tinajero JJM, Flores, FI, Orozco LS, Castillo CGG, Priego GM, Hernández GT.** Comportamiento reproductivo de ovelhas Barbados Barriga Negra sincronizadas con MPA y diferentes tiempos de aplicación de eCG durante la época de baja fertilidad. *Rev Cient FCV-LUZ*, v.17, p.47-52, 2007.
- Ungerfeld R.** The induction of oestrus in ewes during the non-breeding season using pre-used CIDRs and estradiol-17 β treatment. *Small Rumin Res*, v.84, p.129-131, 2009.
- Ungerfeld R, Forsberg M, Rubianes, E.** Overview of the response of anoestrous ewes to the ram effect. *Reprod Fert Dev*, v.16, p.479-490, 2004.
- Ungerfeld R, Rubianes E.** Short term primings with different progestagen intravaginal devices (MAP, FGA and CIDR) for eCG-estrous induction in anestrus ewes. *Small Rumin Res*, v.46, p.63-66, 2002.
- Uribe-Velásquez LF, Oba E, Souza MIL.** Efeitos da progesterona exógena sobre o desenvolvimento folicular em ovelhas. *Arq Bras Med Vet Zootec*, v.60, p.58-65, 2008a.
- Uribe-Velásquez LF, Oba E, Souza MIL.** Respuesta endocrina y ovárica a la sincronización del estro y de la ovulación utilizando CIDR y eCG en ovelhas. *Vet Zootec*, v.1, p.9-17, 2007.
- Uribe-Velásquez LF, Oba E, Souza MIL, Vélez-Marín M, Correa-Orozco A.** Desarrollo folicular en ovelhas durante el ciclo estral natural e inducido con prostaglandinas. *Rev Cient FCV-LUZ*, v.20, p.417-421, 2010.
- Uribe-Velásquez LF, Souza MIL, Echeverri, AML.** Efecto de la sincronización del estro con prostaglandina-f 2α vs CIDR + 500 UI de eCG en ovelhas Bergamacia durante el inicio de la fase luteal. *Rev Cient FCV-LUZ*, v.18, p.368-373, 2008b.
- Uribe-Velásquez LF, Souza MIL, Osorio JH.** Efeito do tempo da aplicação de prostaglandina na resposta folicular em ovelhas durante o ciclo estral. *Rev Bras Zootec*, v.40, p.985-991, 2011.
- Vilariño M, Rubianes E, Menchaca A.** Ovarian response and pregnancy rate with previously used intravaginal progesterone releasing devices for fixed-time artificial insemination in sheep. *Theriogenology*, v.79, p.206-210, 2013.
- Vilariño M, Rubianes E, van Lier E, Menchaca A.** Serum progesterone concentrations, follicular development and time of ovulation using a new progesterone releasing device (DICO®) in sheep. *Small Rumin Res*, v.91, p.219-224, 2010.
- Víñoles C, Paganoni B, Milton JTB, Driancourt MA, Martin GB.** 2011. Pregnancy rate and prolificacy after artificial insemination in ewes following synchronisation with prostaglandin, sponges or sponges with bactericide. *Anim Prod Sci*, v.51, p.565-569, 2011.
-