

## Utilização de FSH:LH como alternativa para estimular o crescimento folicular na sincronização do estro ovino\*

Use of FSH:LH as an Alternative To Stimulate Follicular Growth in Sheep Estrus Synchronization

Nathalia Hack Moreira<sup>1</sup>, Oscar Oliveira Brasil<sup>1</sup>, Joseane Padilha da Silva<sup>2</sup> & Alexandre Floriani Ramos<sup>2</sup>

### ABSTRACT

**Background:** Estrus synchronization is extensively applied in reproductive management of sheep world-wide. The use of equine chorionic gonadotropin (eCG) in estrus synchronization protocols in sheep is well established. However, development of anti-eCG antibodies after repeated synchronizations results in poor synchronization and, eventually, in reduced fertility and lambing rates, especially when fixed time AI is applied. Works using FSH in estrus synchronization have been scarce to date. So, the objective of the current study was to evaluate the effect of different follicular growth promoters (FSH:LH and eCG) on estrus synchronization and ovulation in sheep.

**Materials, Methods & Results:** Forty four ewes were submitted to estrus synchronization with medroxyprogesterone acetate (MAP) intravaginal devices for 12 days and a single i.m. treatment of either eCG (Group 300eCG, 300 UI, n = 11) or FSH:LH (Group 20FSH:LH, 20 UI, n = 11; Group 40FSH:LH, 40 UI, n = 11; Group G20/20FSH:LH, 40 UI divided into two doses injected 12 h before removal device time and at the exact removal time, n = 11) at the time of device removal. At the sponge removal, ewes were exposed to a teaser and estrus was monitored at 4-h intervals until all females showed the clinical estrus. After 12 hours of estrus onset, ultrasonographic exams were performed to record ovarian response. Besides, blood samples were collected for progesterone (P4) measurements. Statistical analyses were performed using ANOVA and means were compared by Duncan test. Kurskal-Wallis test was used for corpus luteum and progesterone comparison, considering a 5% significance level. There was no difference ( $P > 0.05$ ) on the time of estrus ( $46.3 \pm 11.8$ ;  $52.4 \pm 10.7$ ;  $53.0 \pm 7.2$ ;  $51.8 \pm 7.1$ ) or ovulation ( $80.4 \pm 17.3$ ;  $86.9 \pm 11.0$ ;  $95.3 \pm 6.1$ ;  $85.0 \pm 5.7$ ) among the 300eCG, 20FSH:LH, 40FSH:LH, 20/20FSH:LH groups, respectively. It was noticed, however, that there has been a variation in the distribution of estrus in all groups (between 25-70 h), and consequently in the ovulation (53-105 h). There were similarity among treatments ( $P > 0.05$ ) in the size of the largest ovulatory follicle (mm) ( $6.0 \pm 0.8$ ;  $6.3 \pm 0.6$ ;  $6.1 \pm 0.4$ ;  $6.1 \pm 0.4$ ), mean number of follicle ovulated ( $1.6 \pm 0.7$ ;  $1.4 \pm 0.5$ ;  $1.3 \pm 0.5$ ;  $1.0 \pm 0.0$ ), luteal volume (mm<sup>3</sup>) ( $708.9 \pm 439.6$ ;  $657.6 \pm 247.3$ ;  $616.3 \pm 128.6$ ;  $546.8 \pm 161.8$ ) and progesterone concentration (ng/mL) ( $5.6 \pm 2.8$ ;  $4.4 \pm 0.9$ ;  $4.7 \pm 0.9$ ;  $4.4 \pm 1.1$ ) to 300eCG, 20FSH:LH, 40FSH:LH, 20/20FSH:LH groups, respectively.

**Discussion:** The results show that treatment with progestagens and a single treatment of eCG or 20 UI FSH:LH effectively induced estrus and ovarian activity in a significant proportion of sheep, however wide variation was observed at the estrus and ovulation time of manifestation. Observations of the current study evidenced a variation in estrus distribution and, consequently, in ovulation that appears to be more dependent on endogenous factors such as genetics, follicular condition at the time of insertion and removal of the medroxyprogesterone acetate intravaginal device, female physiological condition and category than the use of follicular growth promoters such as eCG and FSH:LH. The results show that all groups were capable of inducing estrus and ovulation, with similarity in ovulation rate, size of the preovulatory follicle, luteal volume and progesterone production, therefore, in conclusion, eCG may be replaced by FSH:LH in sheep estrus synchronization programs.

**Keywords:** ovulation, sheep, Santa Ines, equine chorionic gonadotrophin, follicle stimulating hormone.

**Descritores:** ovulação, ovino, Santa Inês, gonadotrofina coriônica equina, hormônio foliculo estimulante.

## INTRODUÇÃO

A sincronização do estro é uma das importantes biotecnologias que pode ser empregada para aumentar a eficiência reprodutiva. O protocolo mais utilizado é a associação da progesterona ou progestágeno à gonadotrofina coriônica equina (eCG) [3]. Alguns estudos observaram altos níveis de ligação a anticorpos (125I-eCG), após consecutivos tratamentos de sincronização utilizando a eCG, sendo estes correlacionados com efeitos negativos sobre a fertilidade [5,15], sendo assim, novas abordagens visando a substituição da eCG são necessárias.

Em teoria, a associação dos hormônios folículo estimulante (FSH) e luteinizante (LH) poderia ser utilizada como uma alternativa ao uso da eCG nos tratamentos de sincronização do estro, uma vez que este possui uma ação semelhante aos primeiros hormônios, sobretudo de FSH. Aceitáveis taxas de prenhez já foram obtidas com o uso de associação de progestágeno a uma única aplicação de FSH [6], contudo, tais resultados foram obtidos em programa de monta natural, que permite uma maior dispersão das ovulações sem grandes influências na fertilidade subsequente. No entanto, não existem dados na literatura sobre o momento e a sincronia das ovulações utilizando protocolos com FSH e, principalmente, da associação FSH:LH.

O conhecimento da sincronia do estro e da ovulação nos protocolos com associação FSH:LH poderá permitir a substituição da eCG em programas de inseminação artificial em tempo fixo. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de diferentes fontes de promotores do crescimento folicular (FSH:LH e eCG) na sincronização do estro e ovulação de ovelhas da raça Santa Inês.

## MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi realizado nos meses de julho a agosto de 2011, em Brasília, DF, Brasil. Foram utilizadas 44 fêmeas da raça Santa Inês, com idades entre 2 e 4 anos, peso médio de 43,2 kg, condição de escore corporal entre 2,5 e 3,5 (escala de 1 a 5) [17] e consideradas cíclicas após avaliação ultrassonográfica. Durante a sincronização do estro os animais foram mantidos em pastagem de *Panicum maximum* e no período das avaliações do estro e ovulação, todos os animais foram alocados em baias coletivas recebendo feno de Tifton (*Cynodon* sp.). Em todo o período experimental os animais tiveram livre acesso à água e sal mineral.

As ovelhas tiveram o estro sincronizado pela inserção de pessários intravaginais impregnados com 60 mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP)<sup>1</sup>, permanecendo por 12 dias. Antes da remoção do pessário, as ovelhas foram distribuídas aleatoriamente (n=11) para receber os seguintes tratamentos: G300eCG = 300 UI eCG<sup>2</sup>; G20FSH:LH = 20 UI de FSH:LH<sup>3</sup>; G40FSH:LH = 40 UI de FSH:LH; aplicados no momento da remoção do pessário e G20/20FSH:LH = 40 UI de FSH:LH divididos em duas doses, administradas 12 h antes e no momento da remoção do pessário vaginal, todos administrado por via intramuscular. Ao final do protocolo as ovelhas foram mantidas na presença de um rufião pintado com mistura de óleo e tinta em pó, na região do externo, para a marcação das fêmeas em estro, permanecendo junto destas até a última manifestar estro. As ovelhas foram observadas em intervalos de quatro horas, por um período de 30 min, sendo consideradas em estro aquelas que aceitavam monta e/ou que estavam marcadas na região da garupa.

Foram verificados o tempo entre a remoção do pessário à ovulação, o número de folículos ovulados e o tamanho dos folículos pré-ovulatórios por meio de ultrassonografia<sup>4</sup> transretal com transdutor de 7,5 MHz<sup>5</sup>, tendo o início das avaliações após 12 h da manifestação do estro. Todas as ovelhas foram avaliadas em intervalos de quatro horas até a última manifestar estro e ovular, sendo consideradas responsivas ao tratamento somente as ovelhas que ovularam até 108 h após a remoção do progestágeno. O momento da ovulação foi obtido a partir da constatação do desaparecimento do (s) folículos (s) grande (s) ( $\geq 4$ mm) que haviam sido observado (s) no exame ultrassonográfico anterior.

Sete dias após a ovulação foi realizado exame ultrassonográfico para mensuração do diâmetro luteal e contagem do número de corpos lúteos, bem como realizadas coletas de sangue por venopunção da jugular, em tubos a vácuo, sendo posteriormente centrifugados. Logo após, o soro foi aspirado e estocado em microtubos de 2,0 mL e armazenado a -20°C até a análise. As concentrações séricas de progesterona (P4) foram mensuradas por radioimunoensaio (RIA), utilizando kits comerciais<sup>6</sup> e seguindo as recomendações do fabricante. O coeficiente de variação intraensaio foi de 4,6%.

Nas ovelhas que manifestaram estro e ovularam dentro de 108 h, os seguintes parâmetros foram registrados: Incidência de estro (relação entre o número de ovelhas que mostraram estro e o total de ovelhas

tratadas em cada grupo); Tempo para o estro (tempo entre a remoção do pessário até o início da manifestação estral); Tempo para a ovulação (tempo entre a remoção do pessário vaginal até a ovulação); Volume da massa luteal (soma da massa luteal de todos os corpos lúteos presentes nos dois ovários).

As variáveis foram testadas quanto à normalidade e homocedasticidade pelos testes de Lilliefors e Bartlett, respectivamente. Os dados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Duncan. O número de corpos lúteos e a concentração de progesterona foram analisados pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. Para a avaliação da concentração da manifestação do estro e da ovulação aplicou-se o teste F na razão das variâncias entre os tratamentos, sendo realizada uma comparação entre a densidade estimada de cada grupo baseada na aproximação de Kernel. A incidência de estro foi avaliada pelo teste exato de Fisher. Os resultados estão apresentados como média  $\pm$  desvio padrão ou porcentagem, e as diferenças foram consideradas significativas quando  $P \leq 0,05$ . A análise estatística foi realizada com auxílio do programa estatístico SAEG.

### RESULTADOS

Todas as ovelhas do experimento foram detectadas em estro, sendo que a primeira manifestou estro com 27 h e ovulou com 53 h e a última manifestou estro com 121 h e ovulou com 149 h, porém somente foram consideradas responsivas aos tratamentos, aquelas que ovularam dentro de 108 h. Desta forma, dentro desse período, os grupos G300eCG, G20FSH:LH e G40FSH:LH apresentaram valores semelhantes na taxa de incidência do estro ( $P > 0,05$ ), enquanto que o G20/20FSH:LH foi

menor do que o G300eCG ( $P < 0,05$ ). Não houve diferença estatística no tempo para o estro e para a ovulação (Tabela 1), bem como na concentração da manifestação do estro entre os tratamentos (Figura 1).

Os animais responsivos manifestaram sinais clínicos de estro entre 27 e 70 h. No G300eCG, 81,8% dos animais foram identificados em estro entre 25 e 60 h após a remoção do pessário vaginal, enquanto nos grupos utilizando FSH:LH aproximadamente 54,5% dos animais manifestaram estro entre 37 e 70 h (Figura 1).

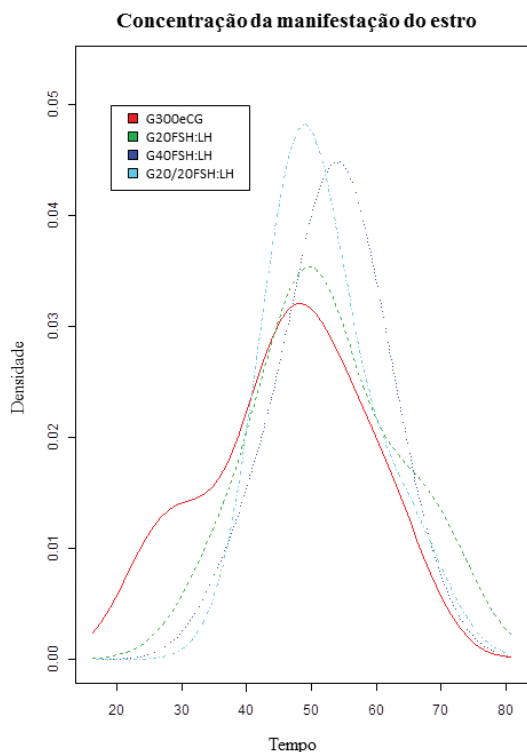
As ovulações ocorreram entre 53 a 105 h, entre os grupos. Entre a primeira e a última ovulação, a variação do momento da ovulação foi de 52 h, 36 h, 13 h, 16 h nos grupos G300eCG, G20FSH:LH, G40FSH:LH e G20/20FSH:LH, respectivamente. Os grupos G40FSH:LH e G20/20FSH:LH apresentaram uma menor dispersão ( $P < 0,05$ ) no tempo para a ocorrência da ovulação em relação aos demais grupos. O G300eCG apresentou 20% de animais ovulando a cada 12 h, ao longo de todo o período de observação, enquanto que os grupos com FSH:LH os animais apresentaram variação das ovulações entre 61 e 105 h (Figura 2). Contudo, quando considerado o tempo para a ovulação em todos os animais, não somente os que manifestaram estro em 108 h, a variação do momento da ovulação foi semelhante entre os tratamentos, sendo de 76 h, 76 h, 54 h, 72 h nos grupos G300eCG, G20FSH:LH, G40FSH:LH e G20/20FSH:LH, respectivamente.

O diâmetro do maior folículo ovulatório, o número de folículos ovulados, o volume do maior CL e a concentração sérica de progesterona foram semelhantes entre os grupos ( $P > 0,05$ ) [Tabela 1].

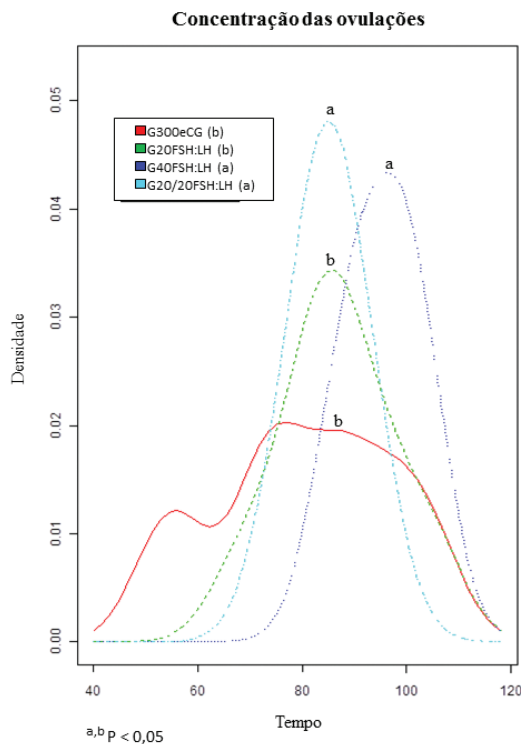
**Tabela 1.** Incidência de estro, período entre o final do protocolo até o estro e até a ovulação, diâmetro do maior folículo pré-ovulatório, número de folículos ovulados, volume da massa luteal e concentração sérica de progesterona em ovelhas Santa Inês submetidas a protocolos de sincronização usando 300 UI de ECG, 20 UI de FSH:LH; 40 UI de FSH:LH; ou 40 UI de FSH:LH dividido em duas doses administradas com intervalo de 12 h (média  $\pm$  desvio padrão; ou porcentagem).

Parâmetro Observado	G300eCG	G20FSH:LH	G40FSH:LH	G20/20FSH:LH
Incidência de estro (%)	90,90 (10/11) <sup>a</sup>	72,72 (8/11) <sup>ab</sup>	54,54 (6/11) <sup>ab</sup>	45,45 (5/11) <sup>b</sup>
Tempo para o estro (h)	46,3 $\pm$ 11,8	52,4 $\pm$ 10,7	53,0 $\pm$ 7,2	51,8 $\pm$ 7,1
Tempo para a ovulação (h)	80,4 $\pm$ 17,3	86,9 $\pm$ 11,0	95,3 $\pm$ 6,1	85,0 $\pm$ 5,7
Diâmetro do maior folículo pré-ovulatório (mm)	6,0 $\pm$ 0,8	6,3 $\pm$ 0,6	6,1 $\pm$ 0,4	6,1 $\pm$ 0,4
Nº de folículos ovulados (n)	1,6 $\pm$ 0,7	1,4 $\pm$ 0,5	1,3 $\pm$ 0,5	1,0 $\pm$ 0,0
Volume da massa luteal (mm <sup>3</sup> )	708,9 $\pm$ 439,6	657,6 $\pm$ 247,3	616,3 $\pm$ 128,6	546,8 $\pm$ 161,8
Concentração sérica de P4 (ng/mL)	5,6 $\pm$ 2,8	4,4 $\pm$ 0,9	4,7 $\pm$ 0,9	4,4 $\pm$ 1,1

<sup>a,b</sup>Letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente ( $P < 0,05$ ).



**Figura 1.** Distribuição do início do estro após o fim do tratamento, em horas, de ovelhas Santa Inês submetidas a protocolos de sincronização usando 300 UI de eCG, 20 UI de FSH:LH; 40 UI de FSH:LH; ou 40 UI de FSH:LH dividido em duas doses administradas com intervalo de 12 h.



**Figura 2.** Distribuição da ovulação após o final do tratamento, em horas, de ovelhas Santa Inês submetidas a protocolos de sincronização usando 300 UI de eCG, 20 UI de FSH:LH; 40 UI de FSH:LH; ou 40 UI de FSH:LH dividido em duas doses administradas com intervalo de 12 h. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os grupos ( $P < 0,05$ ).

## DISCUSSÃO

No presente estudo, os resultados obtidos para a incidência de estro foram de 90,90%, 72,72%, 54,54% e 45,45% para os grupos G300eCG, G20FSH:LH, G40FSH:LH e G20/20FSH:LH, respectivamente. Vários estudos demonstram elevadas taxas de manifestação de estro, utilizando protocolos longos, com progestágenos ou progesterona associado a uma aplicação de eCG [16,18,19]. Neste experimento, os resultados obtidos foram inferiores, pois apenas foram consideradas as ovelhas que manifestaram estro e ovularam em até 108 h, sendo desconsideradas as ovelhas que ovularam após este período. No entanto, todas as ovelhas foram observadas em estro e ovularam com até 149 h após a remoção do pessário vaginal.

Os grupos G20FSH:LH e G40FSH:LH apresentaram valores de incidência de estro semelhantes ao G300eCG, porém, a utilização de duas doses de 20 UI de FSH:LH não foi eficiente em comparação ao eCG, nas ovelhas consideradas responsivas. No G20/20FSH:LH contrariamente ao esperado, a uti-

lização de duas doses de FSH:LH com o intuito de manter um maior período de estímulo com FSH:LH exógeno, e assim, promover um maior crescimento e desenvolvimento folicular, atrasou a ovulação de 6/11 ovelhas.

Poucos trabalhos avaliaram a eficácia de uma única injeção de FSH após o uso de progesterona/progestágenos na sincronização estral [6,9,10]. Knights *et al.* [10] utilizando curto período de tratamento de progesterona (P4) associado a uma única dose de 55mg de FSH, administrada 24 h antes da remoção do dispositivo vaginal de P4, obtiveram 79% de incidência de estro em ovelhas mestiças, em um período de avaliação de 72 h, após a remoção da P4. Boscós *et al.* [6] utilizando 10 UI de FSH ou 400 UI de eCG, encontraram valores de manifestação de estro para a raça Berrichon de 93,8% quando sincronizadas com FSH e 85,7% com eCG, ocorrendo de forma inversa para a raça Chios em que 88,9% das ovelhas manifestaram estro com FSH e 96,2% manifestaram estro utilizando eCG. Esses autores sugeriram a existência de

influência racial em resposta ao tipo de gonadotrofina administrada ao final do tratamento com progesterona.

A concentração da manifestação estral foi semelhante entre os tratamentos ( $P > 0,05$ ), contudo, ocorreu uma ampla variação entre os tratamentos (Figura 1), ocorrendo entre 27 a 70 h. Segundo Barret *et al.* [3], ovelhas cíclicas podem apresentar uma menor sincronia da resposta estral quando submetidas a protocolos de sincronização com ou sem o uso do promotor do desenvolvimento folicular. Portanto, a concentração da manifestação do estro parece ser mais dependente da condição folicular no momento da remoção do progestágeno do que da estimulação folicular com eCG ou FSH.

Acredita-se que a função da gonadotrofina exógena em promover o desenvolvimento folicular tenha pouca importância em ovelhas cíclicas, uma vez que a associação ou não do eCG aos progestágenos geram respostas semelhantes sobre o desenvolvimento folicular [19], resultando em uma baixa sincronia do estro e atraso da ovulação [1,3]. É possível que o uso de promotores do crescimento folicular seja funcional apenas em ovelhas em anestro estacional, devido à falta de um meio hormonal pré-existente e a uma condição folicular relativamente similar entre os animais, ocasionando uma rápida resposta ao tratamento com gonadotrofinas exógenas [13]. Possivelmente nos tratamentos empregados no presente trabalho, as gonadotrofinas utilizadas para promover o crescimento folicular tiveram influência limitada no crescimento folicular e, conseqüentemente, na concentração das ovulações, uma vez que ocorreu uma ampla dispersão do tempo das ovulações.

Houve uma maior concentração das ovulações no G40FSH:LH e o G20/20FSH:LH ( $P < 0,05$ ), sendo os grupos que apresentaram maior sincronia das ovulações. O G300eCG e o G20FSH:LH apresentaram uma maior dispersão das ovulações (Figura 2), acompanhando os resultados de manifestação do estro.

Apesar da concentração superior de ovulações nos grupos G20/20FSH:LH e G40FSH:LH, o primeiro apresentou um número de ovelhas significativamente menor que responderam ao tratamento de sincronização em comparação ao G300eCG, enquanto que o segundo apesar de não significativo, apenas 6 ovelhas foram consideradas responsivas. Este pequeno número provavelmente fez com que ocorresse uma maior concentração entre as ovulações, fato que pode ser

comprovado pela grande dispersão da resposta (76 h, 76 h, 54 h, 72 h nos grupos G300eCG, G20FSH:LH, G40FSH:LH e G20/20FSH:LH, respectivamente) quando considerado todas as ovulações, não apenas as ovelhas que ovularam dentro de 108 horas. Essa variação parece ser mais dependente de fatores endógenos como a genética, condição folicular no momento e na remoção do pessário, condição fisiológica da fêmea e categoria em que se encontra [2,8] do que do uso de promotores do crescimento folicular, como eCG e FSH:LH.

Em ovinos, a fase do ciclo estral em que o progestágeno é inserido, fase folicular ou luteal, pode ter elevada influência na eficiência da sincronização do estro e da ovulação. Talvez a somatória da progesterona endógena com a exógena cause uma alteração na dinâmica folicular, gerando variações entre as ovelhas, no momento do estro após a retirada da progesterona [11]. Também é visto, em bovinos, que a associação de progesteronas endógena e exógena está relacionada a menores taxas de crescimento folicular e ovulação, devido à menor frequência de pulsos de hormônio luteinizante (LH) [7]. Além disso, em ovelhas sob anestro estacional, o tempo da fase de crescimento folicular é significativamente reduzido quando comparado com ovelhas cíclicas tratadas com progesterona e eCG [3,14]. Todos esses fatores sustentam a hipótese que a baixa sincronização do estro e ovulação, com a utilização das gonadotrofinas para o crescimento folicular, também pode ser consequência das elevadas quantidades de progesterona, em ovelhas cíclicas, durante o tratamento com progestágeno.

Não houve diferença no número de ovulações entre o tratamento com eCG ou FSH:LH, obtendo-se uma variação de 1,6 a 1,0 ovulações/ovelha. Independentemente da gonadotrofina utilizada na sincronização, a taxa de ovulação é maior em raças altamente prolíferas, como observado por Knights *et al.* [10], que encontraram valor de 1,96 e por Bosco *et al.* [6] que obtiveram valores de 2,1 para o tratamento com 10 UI de FSH e 2,8 para o tratamento com 400 UI de eCG.

Variações no número de folículos ovulados e no tamanho dos folículos, além de estarem relacionadas com uma maior predisposição para partos múltiplos, também estão associadas à quantidade de massa luteal após a ovulação, que por sua vez influenciam nas concentrações de progesterona [4], sendo esta essencial para a manutenção da gestação [12]. Neste

estudo, todos os protocolos utilizados tiveram a mesma eficiência, uma vez que o tamanho do folículo pré-ovulatório, o volume da massa luteal e a concentração de progesterona (Tabela 1) foram semelhantes.

Os resultados mostram que todos os tratamentos foram capazes de induzir o estro e a ovulação, apresentando semelhança na taxa de ovulação, no tamanho do folículo pré-ovulatório, no volume da massa luteal e na produção de progesterona.

#### CONCLUSÃO

O protocolo contendo 20 UI de FSH:LH alcançou resultados semelhantes de sincronia de estro e ovulação ao que utilizava 300 UI de eCG, o que sugere uma possível utilização do FSH:LH em substituição ao eCG. Contudo, novos estudos devem se concentrar na melhora da sincronização das ovulações, uma vez que, estes protocolos são utilizados, principalmente, em programas de inseminação artificial em tempo fixo.

#### SOURCES AND MANUFACTURERS

<sup>1</sup>Progespon®, Intervet Schering-Plough do Brasil S.A, São Paulo, SP, Brazil.

<sup>2</sup>Novormon®, Intervet Schering-Plough do Brasil S.A., São Paulo, SP, Brazil.

<sup>3</sup>Pluset®, Hertape Calier Saúde Animal S.A., Juatuba, MG, Brazil.

<sup>4</sup>SSD-500; Aloka Co. Ltda, Mure Mitaka-shi, Japan.

<sup>5</sup>Modelo UST-660-7,5; Aloka Co. Ltda, Mure Mitaka-shi, Japan.

<sup>6</sup>Coat-a-count, DPC, Diagnostic Products Co, Los Angeles, CA, USA.

**Acknowledgements.** This work was supported by Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

**Ethical approval.** Experimental protocols were approved by the Ethics Committee for Use of Animals of the Instituto de Ciências Biológicas of the University of Brasília, under number UnBDOC n°. 116278/2011.

**Declaration of interest.** The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of the paper.

#### REFERENCES

- 1 Ali A. 2007. Effect of time of eCG administration on follicular response and reproductive performance of FGA-treated Ossimi ewes. *Small Ruminant Research*. 72(1): 33-37.
- 2 Ammoun I., Encinas T., Veiga-Lopez A., Ros J.M., Contreras I., Gonzalez-Añover P., Cocero M.J., Mcneilly A.S. & Gonzalez-Bulnes A. 2006. Effects of breed on kinetics of ovine FSH and ovarian response in superovulated sheep. *Theriogenology*. 66(4): 896-905.
- 3 Barrett D.M.W., Bartlewski P.M., Batista-Arteaga M., Symington A. & Rawlings N.C. 2004. Ultrasound and endocrine evaluation of the ovarian response to a single dose of 500 IU of eCG following a 12-day treatment with progestogen-releasing intravaginal sponges in the breeding and nonbreeding seasons in ewes. *Theriogenology*. 61(2-3): 311-327.
- 4 Bartlewski P.M., Baby T.E. & Giffin J.L. 2011. Reproductive cycles in sheep. *Animal Reproduction Science*. 124(3-4): 259-268.
- 5 Bodin L., Drion P.V., Remy B., Brice G., Cognie Y. & Beckers J.F. 1997. AntiPMSG antibody levels in sheep subjected annually to oestrus synchronisation. *Reproduction Nutrition Development*. 37(6): 651-660.
- 6 Boscos C.M., Samartzi F.C., Dellis S., Rogge A., Stefanakis A. & Krambovitis E. 2002. Use of progestagen-gonadotrophin treatments in estrus synchronization of sheep. *Theriogenology*. 58(7): 1261-1272.
- 7 Carvalho J.B., Carvalho N.A., Reis E.L., Nichi M., Souza A.H. & Baruselli P.S. 2008. Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus*, and *Bos taurus* heifers. *Theriogenology*. 69(2): 167-175.
- 8 Gonzalez-Bulnes A., Garcia-Garcia R.M., Santiago-Moreno J., Domínguez V., Lopez-Sebastian A. & Cocero M.J. 2003. Reproductive season affects inhibitory effects from large follicles on response to superovulatory FSH treatment in ewes. *Theriogenology*. 60(2): 281-288.
- 9 Knights M., Baptiste Q.S., Dixon A.B., Pate J.L., Marsh D.J., Inskip E.K. & Lewis P.E. 2003. Effects of dosage of FSH, vehicle and time of treatment on ovulation rate and prolificacy in ewes during the anestrus season. *Small Ruminant Research*. 50(1): 1-9.
- 10 Knights M., Hoehn T., Lewis P.E. & Inskip E.K. 2001. Effectiveness of intravaginal progesterone inserts and FSH for inducing synchronized estrus and increasing lambing rate in anestrus ewes. *Journal of Animal Science*. 79(5): 1120-1131.

- 11 **Leyva V., Buckrell B.C. & Walton J.S. 1998.** Regulation of follicular activity and ovulation in ewes by exogenous progestagen. *Theriogenology*. 50(3): 395-416,
- 12 **Nephew K.P., Cárdenas H., McClure K.E., Ott T.L., Bazer F.W. & Pope W.F. 1994.** Effects of administration of human chorionic gonadotropin or progesterone before maternal recognition of pregnancy on blastocyst development and pregnancy in sheep. *Journal of Animal Science*. 72(2): 453-458.
- 13 **Pierson J.T., Baldassarre H., Keefer C.L. & Downey B.R. 2001.** Seasonal variation in preovulatory events associated with synchronisation of oestrus in dwarf goats. *Theriogenology*. 56(5): 759-769.
- 14 **Reyna J., Thomson P.C., Evans G. & Maxwell W.M. 2007.** Synchrony of ovulation and follicular dynamics in Merino ewes treated with GnRH in the breeding and non-breeding seasons. *Reproduction Domestic Animal*. 42(4): 410-417.
- 15 **Roy F., Combes B., Vaiman D., Cribiu E.P., Pobel T., Delétang F., Combarnous Y., Guillou F. & Maurel M.C. 1999.** Humoral immune response to equine chorionic gonadotropin in ewes: association with major histocompatibility complex and interference with subsequent fertility. *Biology of Reproduction*. 61(1): 209-218.
- 16 **Silva B.D.M., Sartori R., Silva T.A.S.N., Cardozo D.M.M., Oliveira M.A.L.O. & Neves J.P. 2010.** Sincronização de estro com prostaglandina f2 $\alpha$  versus progestágeno associado à gonadotrofina coriônica equina (eCG) em ovelhas Santa Inês no Distrito Federal, Brasil. *Ciências Animais*. 11(2): 417-424.
- 17 **Suiter J. 1994.** Body condition scoring for sheep and goats. Farmnote 69/1994 Online. [Fonte: <[http://www.agric.wa.gov.au/PC\\_91909.html](http://www.agric.wa.gov.au/PC_91909.html)>].
- 18 **Ungerfeld R. & Rubianes E. 2002.** Short term primings with different progestogen intravaginal devices (MAP, FGA and CIDR) for eCG-estrous induction in anestrus ewes. *Small Ruminant Research*. 46(1): 63-66.
- 19 **Zonturlu A.K., Özyurtlu N. & Kaçar C. 2011.** Effect of Different Doses PMSG on Estrus Synchronization and Fertility in Awassi Ewes Synchronized with Progesterone During the Transition Period. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*. 17(1): 125-129.

