



Estratégias para o controle do ciclo estral e superovulação em ovinos e caprinos

Strategies to control the estrous cycle and superovulation in sheep and goats

J. F. Fonseca

Embrapa Caprinos, CP D10, CEP 62011-970, Sobral, Ceará, Brasil,
Correspondência: jeferson@cnpq.embrapa.br

Introdução

A caprinovinocultura está apresentando um ciclo de crescimento mundial. Este crescimento intensificou-se nas últimas décadas, sobretudo em países em desenvolvimento, detentores dos maiores rebanhos. Acompanhando esta tendência mundial, projeta-se uma multiplicação da ordem de cinco vezes o rebanho brasileiro atual para os próximos vinte anos. Serão mais de 100 e 50 milhões de cabeças de ovinos e caprinos, respectivamente. Dentro desta perspectiva, haverá ampla necessidade de se assistir a reprodução destes animais seja para permitir aumento da eficiência reprodutiva e/ou produtiva dos rebanhos, seja para multiplicação mais eficiente de genótipos superiores. O objetivo deste artigo foi rever os aspectos relacionados à fisiologia reprodutiva de ovelhas e cabras e discutir estratégias para o controle do ciclo estral e superovulação.

O ciclo estral

A ovelha e cabra são poliéstricas estacionais de dia curto. O estímulo para a manifestação e/ou intensificação dos fenômenos reprodutivos é o decréscimo no número de horas de luz por dia (fotoperíodo). Desta forma, atividade reprodutiva é dividida em estações de anestro (início do inverno ao início do verão), de transição (verão) e de acasalamento (final do verão ao início do inverno). De forma geral o esplendor reprodutivo ocorre no outono. A atividade reprodutiva nos machos também é afetada pelo fotoperíodo. À medida que se aproxima da Linha do Equador, esta estacionalidade é diminuída ou findada. Desta forma, em áreas subequatoriais, desde que haja aporte nutricional em quantidade e qualidade suficientes, ovelhas e cabras ciclarão durante todo o ano. A ciclicidade também é fortemente influenciada pelo fator raça. Por exemplo, ovinos (Santa Inês, Morada Nova, SRD) e caprinos (Canindé, Moxotó, SRD) de raças nativas (ou nativizadas) brasileiras apresentam atividade reprodutiva durante todo o ano, mesmo em áreas próximas aos trópicos, o que não acontece com ovinos lanados (Ille de France, Suffolk, Merino) e caprinos de raças leiteiras especializadas (Saanen, Alpina e Toggenburg).

O sistema reprodutivo de animais maduros é constituído de ovários com peso variável entre 0,5 a 3 gramas dependendo do estágio do ciclo estral. O ovário é o órgão sexual primário e secretor dos hormônios sexuais femininos (i.e. progesterona, estrógenos), onde se encontram os folículos que contêm em seu interior os ovócitos (gameta feminino). Os ovidutos ou tubas uterinas (10-12 cm), o sítio de fecundação, transportam o ovócito e/ou embrião até o útero. O útero (15-20 cm em estágio não-gestante) é o sítio de implantação fetal e consiste de dois cornos uterinos bem definidos que terminam no corpo uterino comum. O útero provê o ambiente que suporta a gestação (± 150 dias), terminado na cérvix (4-7 cm), um canal muscular composto de 5-7 anéis que devem ser penetrados e/ou ultrapassados quando da inseminação artificial pela via transcervical. Na parte caudal da cérvix está a vagina, sítio de deposição seminal durante os acasalamentos naturais, que termina em vestíbulo e vulva. A vulva corresponde à parte externa do trato reprodutivo, cujas variações em coloração, umidade, drenagem de muco e contratilidade variam em função das fases do ciclo estral. Na parte ventral da vulva está o clitóris, que é estimulado naturalmente no momento da cópula ou artificialmente (massagem) após a inseminação artificial, fenômeno relacionado à duração do estro (Romano *et al.*, 1999) e relaxamento cervical (Sayre e Lewis, 1996).

O ciclo estral na ovelha e cabra tem uma duração média de 17 e 21 dias, apresentando uma fase luteínica de 13 e 17 dias e uma fase folicular de 4 dias (respectivamente; Fig. 1). Durante este período, os hormônios gonadotróficos Folículo Estimulante (FSH) e Luteinizante (LH), secretados pela hipófise ou pituitária, controlam o desenvolvimento folicular e esteroidogênese, culminando na secreção de estrógenos que levam ao comportamento de estro (receptividade sexual). Sob estímulo do FSH, emergem grupos de folículos em tempos variáveis, as ondas foliculares. Duas a quatro ondas (Ginther e Kot, 1994; Deshpande *et al.*, 1999; Evans, 2003) foliculares podem estar presentes. A cada onda um ou mais folículos divergem em taxa de crescimento e atividade esteroidogênica (seleção folicular), tornando-se dominantes, ao passo que os restantes tornam-se subordinados. A dominância folicular caracterizada em bovinos (Ginther *et al.*, 1996) parece ocorrer apenas na primeira e última ondas foliculares, das quais os folículos dominantes alcançam maior diâmetro e vida média (Ginther e Kot, 1994). A dominância folicular é estabelecida em função da secreção de peptídeos foliculares como a inibina. Da última onda folicular deriva o folículo ovulatório que alcança maturação final e ovulação em ambiente hormonal com predomínio de atividade estrogênica. Folículos dominantes de ondas anteriores, submetidos a ambiente com predomínio de atividade progesterônica (corpo lúteo ativo) acabam por regredirem em função do aporte gonadotrófico inadequado (i.e. LH insuficiente) até que a atividade luteal (produção de progesterona)

atinge níveis mínimos por ocasião da luteólise. Durante a fase progesterônica ocorre produção e acúmulo de oxitocina luteal, porém a progesterona inibe a expressão uterina de receptores endometriais para oxitocina (OT-R; Wathes *et al.*, 1996), os quais aumentam em número e atividade em função de estrógenos à medida que o ciclo estral aproxima-se da fase folicular e luteólise. Neste momento, pulsos iniciais de prostaglandina (i.e. $PGF_{2\alpha}$) produzida pelo endométrio disparam a liberação de oxitocina luteal, que por sua vez intensifica a produção de $PGF_{2\alpha}$, a cascata luteolítica, terminando em crescimento e maturação folicular e ovulação (Lamming e Mann, 1995; Wathes e Lamming, 1995).

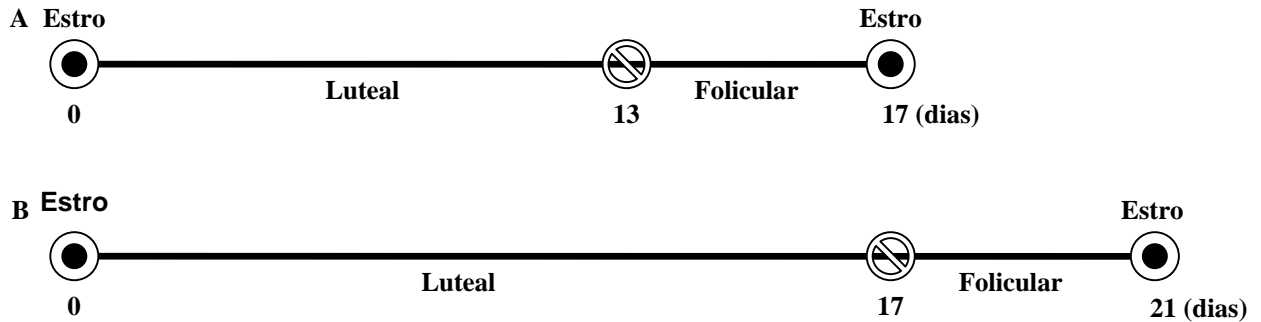


Figura 1. Ciclo estral na ovelha (A) e na cabra (B).

A ovulação pode ser única ou múltipla e ocorre predominantemente no final do estro ou logo após o seu final (Gordon, 1997; Fonseca, 2002). Após a ovulação, formam-se os corpos lúteos que aumentam de diâmetro e atividade progesterônica que será findada, a menos que ocorra o reconhecimento e manutenção da gestação. Embora a prolificidade, conseqüente do número de ovulações, seja considerada maior em caprinos que em ovinos, esta variação parece estar mais vinculada ao fator raça que espécie, tendo-se raças ovinas e caprinas com maior ou menor prolificidade. Fêmeas nulíparas apresentam menor prolificidade que fêmeas múltiparas (Fonseca, 2002).

Sincronização e indução de estro

Tanto em ovinos quanto em caprinos, o estro pode ser eficientemente sincronizado por várias técnicas. Normalmente, sincronização refere-se à concentração de animais em estro em intervalo de tempo restrito (24 a 72 horas) durante a estação de acasalamento. Por outro lado, o estro pode ser induzido de forma sincronizada em qualquer época do ano. Na estação de anestro e transição, técnicas que utilizam manipulações hormonais, programas de luz artificial e efeito macho (retirada do macho do rebanho e apresentação 60 dias depois) podem de forma isolada ou em associação induzirem a manifestação de estro que poderá ser ou não de forma sincronizada (Fig. 2).

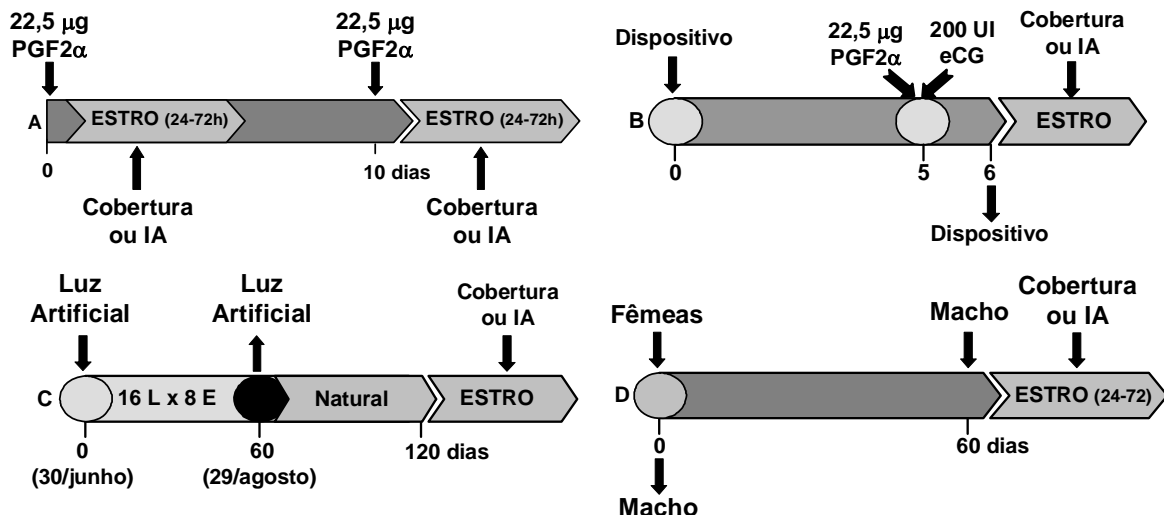


Figura 2. Programas de sincronização de estro com prostaglandinas (A) e indução de estro com hormônios (B), luz artificial (16 horas de luz X 8 horas escuro; C) e efeito macho (D).

Durante a estação de acasalamento, a sincronização de estro pode ser eficientemente alcançada com o uso de prostaglandinas em dose única ou duas doses intervaladas de 10 dias (Fig. 1 A; Fonseca *et al.*, 2003). O encurtamento deste intervalo para 7 dias tem apresentado melhores resultados, sobretudo por permitir maior sincronia de ovulações, abrindo a possibilidade de inseminação artificial em tempo fixo. Isto é possível porque a segunda dose de prostaglandi-

na é administrada entre o terceiro e quinto dia do ciclo estral. Neste período, os folículos dominantes da primeira onda folicular ainda estão em fase de crescimento e os corpos lúteos já estão responsivos à ação da prostaglandina (Menchaca e Rubianes, 2004). No caso de duas aplicações, a utilização ou não do estro após a primeira aplicação é facultativa. Após a segunda dose, há um maior percentual de animais em estro (Fonseca *et al.*, 2003). A associação de prostaglandina e dispositivos intravaginais contendo progestágenos ou progesterona é outra possibilidade (Fonseca *et al.*, 2004). Em ambos os casos a adição de gonadotrofina coriônica equina (eCG) ou humana (hCG) pode ser dispensada, e taxas de concepção são superiores a 60%.

Todavia, fora da estação de acasalamento, há necessidade de se induzir o estro com o uso de gonadotrofinas (Fig. 1 B). Isto têm grande impacto sobre a exploração de animais que apresentam estacionalidade reprodutiva. Em ovinos e caprinos, a indução de estro pode ser eficientemente obtida por meio da utilização de progestágenos, em associação com gonadotrofinas e prostaglandinas. A eCG é a gonadotrofina mais utilizada (Gordon, 1997). Todavia, a hCG também pode ser utilizada com sucesso (Fonseca *et al.*, 2005b) principalmente naqueles animais submetidos a repetidas induções e que apresentam altos títulos de anticorpos anti-eCG (Baril *et al.*, 1992; Baril *et al.*, 1996).

O desenvolvimento folicular pode ser manipulado com o uso de gonadotrofinas e progestágenos exógenos. Isto altera o número e o tempo de persistência dos folículos em desenvolvimento. A ovulação de folículos envelhecidos não é desejável e compromete a fertilidade, fazendo com que protocolos de curta duração sejam mais eficientes que os de longa duração (Corteel, 1988; Viñoles *et al.*, 2001). Existem vários protocolos de indução de estro que utilizam variações na dose, duração, no tipo e na via de administração de progestágenos, no momento de aplicação de gonadotrofinas e uso ou não de prostaglandinas. Mais comumente, são utilizados dispositivos intravaginais de liberação lenta de progesterona (P4), esponjas impregnadas com acetato de fluorogesterona (FGA; Freitas *et al.*, 1996) ou acetato de medroxiprogesterona (MAP; Fonseca *et al.*, 2005a), implantes auriculares de norgestomet (Freitas *et al.*, 1997), administrações diárias de P4 por via intramuscular (Patil *et al.*, 2000) ou, ainda, administrações orais diárias de MAP (Goswami *et al.*, 1998). Gonadotrofinas e prostaglandinas são administradas 24 a 48 horas antes ou no momento da retirada do dispositivo. Protocolos com longa permanência dos dispositivos (13-21 dias) têm dispensado o uso de prostaglandina. Todos têm apresentado elevados índices de animais em estro após a retirada do progestágeno, e taxas de gestação que variam de 50 a 80%, quanto com acasalamento natural ou inseminação artificial.

O uso de prostaglandina (i.e. cloprostenol) é importante para garantir a lise do corpo lúteo, garantindo elevado número de animais que entram estro precocemente após a retirada do progestágeno (Fonseca *et al.*, 2005d). A via de administração de prostaglandinas é outro aspecto importante. Por alcançar maior eficiência, a via intravulvo-submucosal tem sido preferida (Mellado *et al.*, 1994).

O estro também pode ser induzido em caprinos e ovinos por meio de programas de luz artificial. Neste caso, as fêmeas são submetidas a 16 horas de luz e oito horas de escuro (de 20:00 as 04:00). O programa tem duração de 60 dias e os animais apresentam estro cerca de 60 dias após o final do programa (Fig. 1 C; Neves *et al.*, 1997). Machos também devem ser submetidos ao programa e não há sincronia entre fêmeas em estro (Gordon 1997).

O efeito macho consiste no afastamento de machos do rebanho por 60 dias, quando são re-introduzidos e induzem alto percentual de estro nas fêmeas em 72 horas (Fig 1 D). Sua aplicação é mais eficiente na estação de transição e pode ser associada com o uso de luz artificial (Sasa *et al.*, 2004) e indução hormonal de estro (Rajamahendran *et al.*, 1993) para sincronizar os estros. Fêmeas expostas continuamente a machos estéreis durante a estação de anestro restabelecem sua atividade reprodutiva mais tardiamente que fêmeas isoladas dos machos durante o anestro (Schinckel, 1954). O efeito macho é muito utilizado em estações de acasalamento restritas a intervalos pequenos e deve se tomar cuidado com os primeiros estros, conforme discutido posteriormente. Desta forma, recomenda-se à introdução de um macho estéril (rufião) uma semana antes da introdução de machos férteis (Simplício *et al.*, 2001).

Implantes de melatonina também são utilizados para a indução de estro em ovinos e caprinos (Zũnica *et al.*, 2002). Normalmente, esta técnica é utilizada próxima à estação de acasalamento natural, antecipando-a. Não há sincronização de estro, razão pela qual a relação macho:fêmea é relativamente alta 1:40. Em protocolos que promovem alta sincronização (i.e. progestágenos mais gonadotrofinas) a relação máxima recomendada é de 1:8 (Gordon, 1997).

A estacionalidade reprodutiva em ovinos e caprinos reflete em estacionalidade produtiva (carne, leite e derivados). Isto significa que se apenas os ciclos naturais forem explorados não haverá constância na oferta de produtos ovinos e caprinos ao longo do ano. Desta forma, o intervalo de partos médio será 12 meses. Todavia, considerando um período de gestação de 150 dias, este intervalo pode ser reduzido para 8 meses. A redução do intervalo de partos implica em diminuição do período improdutivo do animal e aumentos de cerca de 50% no número de crias por animal por ano. Estes fatores são fundamentais para intensificar a produção e melhorar a produtividade do rebanho. Para tanto, haverá a necessidade de indução de estro, uma vez que, inevitavelmente, acasalamentos terão que ser feitos na estação de anestro e transição.

Regressão luteal precoce

Em algumas situações, a duração da fase luteal em ovinos e caprinos pode estar alterada, levando, por consequência, à diminuição ou aumento do ciclo estral. Ciclos estrais longos são mais comuns no final da estação de acasalamento. Já os ciclos curtos concentram-se na estação de transição e início da estação de acasalamento. São também



comuns em estros induzidos artificialmente (programas de luz artificial ou hormonal) ou naturalmente (efeito macho) e fêmeas superovuladas. Neste caso, ocorre o que se denomina regressão luteal precoce, fenômeno comum em ovelhas e cabras. Este fenômeno é exacerbado em ovelhas (Schiewe *et al.*, 1990) e cabras (Saharrea *et al.*, 1998; Andrioli *et al.*, 1999) superovuladas e está associado a baixas concentrações de progesterona entre o terceiro e sexto dia do ciclo estral (estro=dia 0) e à deflagração precoce da cascata luteolítica (Lassoued *et al.*, 1997). Como conseqüência, notam-se um decréscimo na resposta superovulatória (Andrioli *et al.*, 1999) e na taxa de gestação em animais acasalados no início da estação reprodutiva (Dutt, 1954).

A regressão luteal precoce é evidente cerca de quatro dias após o estro, mas as concentrações plasmáticas de progesterona incompatíveis com atividade luteal normal já são detectadas aos três dias após estro em animais acometidos (Saharrea *et al.*, 1998). Durante a superovulação são utilizadas grandes doses de FSH ou de gonadotrofina coriônica equina (eCG) com o objetivo aumentar o número de folículos ovulatórios, ovulações e embriões. Todavia este estímulo pode se prolongar e os folículos persistentes permanecerem produzindo estrógenos levando à liberação precoce de PGF_{2α} e regressão luteal (Okada *et al.*, 2000). Com base no conhecimento disponível sobre a regressão luteal, algumas estratégias foram desenvolvidas no sentido de se minimizar ou evitar este fenômeno.

No caso da administração de eCG, que apresenta meia vida plasmática superior ao FSH, a regressão luteal pode ser evitada por meio da administração de anticorpos anti-eCG. Isto pode ser confirmado em ovelhas tratadas com 1.000 ou 1.500 unidades internacionais (UI) de eCG 24 horas antes da remoção de esponjas intra-vaginais impregnadas com 30 mg fluorogestona (FGA). Neste caso, notou-se diminuição no número de grandes folículos, aumento do número de ovulações e no número de embriões viáveis quando as ovelhas receberam anticorpos anti-eCG 12 a 24 horas após o início do estro (Martemucci *et al.*, 1995).

O tratamento hormonal fundamenta-se na prevenção da regressão luteal precoce evitando-se a formação de corpos lúteos deficientes e garantindo uma fase luteal normal. Por outro lado, pode-se também prevenir ou controlar a regressão luteal precoce interferindo diretamente na cascata luteolítica (Fairclough *et al.*, 1976; Cooke e Homeida, 1985) disparada pela liberação pré-matura de PGF_{2α}. Isto pode ser obtido com a administração de inibidores da síntese de PGF_{2α}, ou ainda promovendo a luteinização e/ou ovulação de folículos persistentes produtores de estrógenos logo após o estro.

A administração de progesterona é capaz de reduzir ou evitar a regressão luteal precoce e ciclos estrais curtos em ovelhas (Oldham *et al.*, 1985) e cabras em anestro. Lassoued *et al.* (1995) compararam ovelhas e cabras que receberam 20 mg i.m. de progesterona ou não (controle) imediatamente antes da introdução do macho (carneiro ou bode). Ovelhas tratadas com progesterona atrasaram a onda pré-ovulatória de LH (59 h vs 20 h) e não apresentaram corpos lúteos hipofuncionais (0 vs 50%). A supressão de ciclos estrais curtos levou a maior sincronia de estro após a introdução do carneiro (17-20 vs 14-23 dias). Todas as cabras não tratadas apresentaram ciclos curtos contra 15% das tratadas. Após a introdução do bode, o primeiro estro ocorreu 1-3 dias em todas as cabras tratadas e 1-8 dias em 35% das não tratadas. A taxa de ovulação ao primeiro estro aumentou significativamente em cabras (1,85 vs 1,35), mas não em ovelhas tratadas (1,50 vs 1,26).

O uso de inibidores da prostaglandina sintetase (i.e. síntese de PGF_{2α}), em função do custo relativamente elevado e necessidade de várias aplicações, tem seu uso mais restrito a processos superovulatórios. Doses intramusculares de 1,1 a 2,2 mg/kg de Flunixin-meglumini, administradas a intervalos de 12 a 24 horas entre os dias 3 e 7 após a remoção do dispositivo intravaginal (Battye *et al.*, 1988, Sales *et al.* 2002) têm obtido sucesso. Os corpos lúteos dos animais tratados apresentam-se funcionais, conforme indicado pela concentração plasmática de P4 e morfologia (laparoscopia). Animais não tratados apresentam um perfil superior de síntese e secreção de PGF_{2α}, menos P4, além de corpos lúteos morfologicamente comprometidos (Battye *et al.*, 1988).

Outra possibilidade é a administração de gonadotrofinas após o estro com o intuito de promover a luteinização ou ovulação de folículos persistentes. Esta técnica é também indicada como auxílio a superovulação, mas pode também ser utilizada em maior escala em animais com estro induzido. Em cabras superovuladas com 1.000 UI eCG 48 h antes da retirada da esponja (45 mg FGA, 12 dias), Saharrea *et al.* (1998) administraram salina (controle), 50 µg GnRH ou 1000 UI hCG 84 horas após o início do estro. Com base na concentração plasmática de P4 e no número de corpos lúteos presentes no dia 3 e 6 após o estro, os autores reportaram um percentual de regressão luteal de 57, 37 e 0% nos grupos tratados com salina, GnRH e hCG, respectivamente. Outrossim, a administração no momento do acasalamento de 150 UI hCG em ovelhas com estro induzido (250 UI eCG dia 12 e 45 mg FGA/12 dias) aumentou o número de placentomas e a prolificidade de ovelhas (Khan *et al.*, 2003).

Perda embrionária e hormonioterapia

Cerca 25 a 50% dos embriões mamíferos são perdidos durante a gestação inicial. Grande parcela desta perda parece ser causada por inadequada função luteal. O desenvolvimento de técnicas capazes de promover a função luteal (i.e. síntese e secreção de P4) teria forte impacto sobre a eficiência reprodutiva de animais de produção (Niswender e Nett, 1994).

Conforme descrito anteriormente, apenas folículos dominantes da última onda folicular do ciclo estral têm condições de completar o desenvolvimento e ovularem naturalmente. Isto ocorre uma vez que a inibição efetuada pela



P4 sobre a liberação de LH é diminuída e extinta por ocasião da luteólise. Com base neste conceito, comprovou-se que a administração de gonadotrofinas exógenas (GnRH, LH e hCG) podem provocar ovulações acessórias, além de promover ações diretas sobre os corpos lúteos oriundos de ovulações naturais (Schmitt *et al.*, 1996a,b; Farin *et al.*, 1988; Fonseca *et al.*, 2001a). Conseqüentemente, nota-se aumento nas concentrações plasmáticas de P4 (Fonseca *et al.*, 2001a).

A atividade luteotrófica das gonadotrofinas (LH e hCG) é bem conhecida em pequenos ruminantes (Farin *et al.* 1988). A possibilidade de se induzir a formação de corpos lúteos acessórios e aumentar a concentração plasmática de P4 por meio da administração de hCG 7 dias após o estro foi reportada com sucesso em cabras (Tiwari *et al.*, 1998). Em caprinos, a administração de 250UI hCG cinco dias após o acasalamento elevou a concentração plasmática de P4 13 - 17 dias após o acasalamento durante a estação reprodutiva (Fonseca, 2002) e apenas aos 45 dias durante a estação de transição com estro induzido (Fonseca *et al.* 2005c). Todavia, isto não repercutiu em aumentos significativos na taxa de gestação (54,5 vs 91.7%) de animais controle e tratados com hCG (respectivamente) no estro natural ou na taxa de parição (73,3 vs 85.7%) em cabras com estro induzido. Em situações onde a fertilidade é alta, a insuficiência luteal não parece ser a causa predominante do não estabelecimento da gestação. Nestes casos, nem mesmo o fornecimento de P4 exógena é capaz elevar a fertilidade (Diskin e Niswender, 1989).

Nephew *et al.* (1994) reportaram aumentos significativos na concentração plasmática de P4 em ovelhas após a administração de 100 UI hCG 11,5 dias após o acasalamento, mas não houve diferença significativa na taxa de gestação em animais tratados com hCG (91%) e controle (80%). Por outro lado, Nishigai *et al.* (2002) reportaram taxa de gestação inferior em novilhas não tratadas (45%) que naquelas tratadas com 1500 UI hCG seis dias após o estro (67.5%). Os mesmos autores reportaram concentrações plasmáticas de P4 superiores em animais tratados com hCG que em não tratados entre os dias 40 e 50 da gestação. Parece que a administração de hCG somente terá efeitos significativos em situações que a P4 for o fator limitante para o estabelecimento e manutenção da gestação.

Superovulação

Dentre as técnicas de manipulação reprodutiva em ovinos e caprinos, a superovulação é a que apresenta maior variabilidade. Os princípios básicos são os mesmos aplicados em bovinos. O acasalamento pode ser feito por monta natural ou inseminação artificial (duas a três inseminações intervaladas de 12 horas). Em média, cinco a seis embriões viáveis são recuperados por colheita (trans-cervical, laparoscópica ou cirúrgica; Gordon, 1997). Todavia, este número depende de muitos fatores agrupados em dois grandes grupos. O primeiro compreende fatores inerentemente variáveis e difíceis de modificar (raça, estação, manejo). O manejo do rebanho, incluindo nutrição, aliado às condições geográficas faz com que uma mesma raça responda diferentemente em locais diferentes do mundo, ou mesmo em estações diferentes. O segundo grupo compreende fatores suscetíveis de elevação de eficiência (gonadotrofinas, conhecimento da fisiologia ovariana, drogas auxiliares; Loi *et al.*, 1998). A eCG, extratos pituitários de várias origens e gonadotrofina menopausal humana (hMG) são comumente utilizados.

As gonadotrofinas interagem com compartimentos foliculares somáticos e germinais levando à ovulação de um número de oócitos maior que o normal. Todavia, esta interação é modulada no ovário tornando a resposta imprevisível. Adicionalmente, efeitos negativos podem ocorrer antes da ovulação, como conseqüência de maturação inadequada ou durante o desenvolvimento embrionário inicial em função de desbalanços hormonais. Muitas estratégias tem sido desenvolvidas para elevar o número de embriões viáveis coletados de cabras e ovelhas superovuladas (Gordon, 1997; Loi *et al.*, 1998). Estas estratégias incluem a administração de eCG e Anti-eCG, uso de FSH hipofisário em associação (Pintado *et al.*, 1998) ou em substituição a eCG, doses únicas ou múltiplas (Armstrong *et al.*, 1983) ou inclusão de GnRH, GnRH-antagonista (Cognié *et al.*, 2003), insulina (Selvaraju *et al.*, 2003) e ou hormônio do crescimento (Fonseca *et al.*, 2005e) nos protocolos de superovulação.

A eCG, com reconhecida atividade foliculo-estimulante, tem sido amplamente utilizada para a superovulação de ovelhas e cabras. Todavia, em função de sua longa meia-vida a eCG tem sido associada a baixas respostas, o que pode ser corrigido com a administração de anti-corpos anti-eCG (Martemucci *et al.*, 1995). Doses de 750 a 2.000 UI são administradas. A administração de 1.000 UI eCG s.c em função de um estro base (dia 0) provou ter resultados semelhantes quando efetuada a vários períodos (dia 7, 9 ou 11) e sucedida por administração de análogo de prostaglandina dois dias depois. Todavia, quando a prostaglandina foi substituída por dispositivos intravaginais (60 mg MAP) por 14 dias e aplicação de 1.000 UI eCG s.c 24 horas antes da remoção do dispositivo, um número maior de oócitos fertilizados foi relatado (Mutiga e Baker, 1982). Em cabras é também possível utilizar o estro base sem progestágenos e administração de prostaglandina 48 h após dose única de eCG ou última dose de FSH (Armstrong *et al.*, 1983). Entretanto, o uso de dispositivos intravaginais contendo progesterona ou progestágenos dinamiza a técnica, permitindo utilização durante qualquer época do ano.

O comportamento reprodutivo estacional implica na necessidade do uso de progestágenos/progesterona. Normalmente, utilizam-se dispositivos vaginais ou auriculares com um tempo de exposição superior a 10 dias e as aplicações de gonadotrofinas são iniciadas 48 a 72 horas antes da remoção do dispositivo (Gordon, 1997; Greyling *et al.*, 2002). A diminuição deste período de exposição (seis dias) agiliza e encurta o processo e já tem sido aplicado com sucesso (Fonseca *et al.*, 2005e). Isto facilita e otimiza os eventos envolvidos na superovulação e colheita de embriões. No



caso de protocolos curtos, administração de prostaglandina durante o processo superovulatório é necessária. Todavia, variações o momento da aplicação relativo ao momento da inserção do dispositivo devem ser consideradas. O conhecimento dos efeitos da progesterona exógena sobre o turnover folicular ovariano associado ao efeito luteolítico da prostaglandina (Maffili, 2004) podem juntos proverem a melhora da resposta superovulatória.

Técnicas que utilizam aplicações múltiplas de FSH (6 a 8 aplicações a cada 12 horas) são atualmente as mais utilizadas (Cognié *et al.*, 2003) e mais eficientes quando comparadas com aquelas que utilizam eCG (Armstrong *et al.*, 1983; Senthilkumar *et al.*, 1999). O FSH de origem ovina (FSHo) tem sido reportado como mais eficiente que o de origem suína (FSHp) em cabras (Senthilkumar *et al.*, 1999). As dosagens variam em função da espécie (ovelha ou cabra), estação, raça e peso corporal (Loi *et al.*, 1988; Cognié *et al.*, 2003; Cordeiro *et al.*, 2003). Estudos detalhados que caracterizem doses eficientes e menores poderão certamente elevar a eficiência e diminuir a variabilidade da superovulação.

A hMG, embora em menor escala, também tem sido utilizada para superovulação em pequenos ruminantes. Ovelhas superovuladas com doses múltiplas de hMG ou FSH apresentaram mais corpos lúteos e embriões transferíveis e melhor taxa de fertilização que aquelas submetidas à dose única de eCG. A regressão luteal precoce também ocorre em fêmeas superovuladas com hMG (Schiewe *et al.*, 1990). Desta forma, a associação de hCG ou flunixin-meglumine, conforme descrito anteriormente, parece ser indispensável para o controlar a regressão luteal e potencializar o aumento no número e percentual de embriões viáveis coletados a partir de processos superovulatórios.

O uso de GnRH ou GnRH-antagonista tem apresentado resultados promissores. Em ovelhas, o GnRH elevou a eficiência do processo superovulatório quando administrado 24 (tratadas com eCG) e 36 h (tratadas com FSH) após a remoção do dispositivo intravaginal (Walker *et al.*, 1989). Em cabras, o LHRH aumentou o número de corpos lúteos (taxa de ovulação), número total de embriões e número de embriões viáveis quando administrado 24 e 48 horas após a remoção do dispositivo auricular (Akinlosotu e Wilder, 1993; Krisher *et al.*, 1994). A administração de LH no momento da retirada do dispositivo não foi satisfatória em ovelhas superovuladas com FSH (Picazo *et al.*, 1996). Por outro lado, o uso de GnRH antagonista tem se mostrado promissor no controle folicular e melhoria da resposta superovulatória (Cognié *et al.*, 2003).

Uma técnica alternativa ao uso de gonadotrofinas para superestimular a produção de embriões é imunização contra a inibina, peptídeo ovariana fortemente ligado ao processo de dominância folicular. Cabras imunizadas por três vezes (100, 50 e 50 µg subunidade-α inibina humana) a intervalos de 21 dias não somente permitiu a colheita de embriões na estação de anestro, como também triplicou o número de embriões viáveis na estação de acasalamento (Dietrich *et al.*, 1995).

A administração de insulina antes ou durante as aplicações de FSH alterou beneficemente a foliculogênese e esteroidogênese sem, contudo, elevar o número de embriões viáveis em cabras (Selvaraju *et al.*, 2003). A associação de somatotropina bovina recombinante também foi testada em cabras (Fonseca *et al.*, 2005e). Ambas as técnicas carecem de estudos mais aprofundados sobre dose e momento de aplicação.

De fato, a superovulação é uma área que demanda estudos mais aprofundados para determinação de protocolos mais simples, eficientes, menos estressantes e menos onerosos. A superovulação pode ser feita com base na observação de estro e sem uso de progestágenos durante a estação reprodutiva.

Conclusões e perspectivas

Para a exploração intensificada de ovinos e caprinos, há a necessidade de emprego de várias técnicas de reprodução assistida. O aprimoramento das técnicas existentes, bem como desenvolvimento de novas técnicas dependem do conhecimento detalhado das peculiaridades reprodutivas destas espécies. Neste contexto, estudos ultrassonográficos sobre a dinâmica folicular ovariana e o conhecimento do perfil endócrino no ciclo estral natural e induzido serão importantes ferramentas. Destes parâmetros dependem o estabelecimento e aumento da eficiência reprodutiva. A conciliação de técnicas eficientes e ao mesmo tempo menos laboriosas é um grande desafio para atender à grande perspectiva de crescimento do rebanho de ovinos e caprinos.

Referências bibliográficas

- Akinlosotu, B.A.; Wilder, C.D. Fertility and blood progesterone levels following LHRH-induced superovulation in FSH-treated anestrus goats. *Theriogenology*, v.40, p.895-904, 1993.
- Andrioli, A.; Simplicio, A.A.; Soares, A.T. Visintin, J.A. Eficiência da recuperação de embriões e os efeitos de consecutivas colheitas sobre o aparelho reprodutor de doadoras da espécie caprina. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, v.36, p.136-143, 1999.
- Armstrong, D.T.; Pfizer, A.P.; Warnes, G.M.; Seamark, R.F. Superovulation treatments and embryo transfer in Angora goats. *J. Reprod. Fertil.*, v.67, p.403-407, 1983.
- Baril G.; Remy B.; Vallet, J.C.; Beckers JF. Effect of repeated use of progestagen-PMSG treatment for estrous control in dairy goats out of the breeding season. *Reprod. Domest. Anim.*, v.27, p.161-168, 1992.
- Baril, G.; Remy, B.; Leboeuf, B.; Beckers, J.F.; Saumande, J. Synchronization of estrus in goats: the relationship



- between eCG binding in plasma, time of occurrence of estrus and fertility following artificial insemination. *Theriogenology*, v.45, p.1553-1559, 1996.
- Battye K.M.; Fairclough, R.J.; Cameron, A.W.N.; Trounson, A.O.** Evidence for prostaglandin involvement in early luteal regression of superovulated nanny goat (*Capra hircus*). *J. Reprod. Fertil.*, v.84, p.425-430, 1988.
- Cognié, Y.; Baril, G.; Poulin, N.; Mermillod P.** Current status of embryo technologies in sheep and goat. *Theriogenology*, v.59, p.171-188, 2003.
- Cooke, R.G.; Homeida, A.M.** Suppression of prostaglandin F-2 α release and delay of luteolysis after active immunization against oxytocin in the goat. *J. Reprod. Fertil.*, v.75, p.63-68, 1985.
- Cordeiro, M.F.; Lima-Verde, J.B.; Lopes-Júnior, E.S.; Teixeira, D.I.A.; Farias, L.N.; Salles, H.O.; Simplício, A.A.; Rondina, D.; Freitas, V.J.F.** Embryo recovery rate in Santa Inês ewes subjected to successive superovulatory treatments with pFSH. *Small Rumin. Res.*, v.49, p.19-23, 2003.
- Corteel, J.M.; Leboeuf, B.; Baril, G.** Artificial breeding of adult goats and kids induced with hormones to ovulate outside the breeding season. *Small Rumin Res*, v.1, p.19-35, 1988.
- Delgadillo, J.Á.; Hochereau-de Reviers, M.T. et al.** Effect of short photoperiodic cycles on male genital tract and testicular parameters in male goats (*Capra hircus*). *Rev. Nutr. Dev.*, v.35, p.549-558, 1995.
- Deshpande, D.; Ravindra, J.P.; Narendranath, R.; Narayana, K.** Ovarian antral follicular dynamics and serum progesterone concentration during the oestrous cycle of Bannur ewes. *Indian J. Anim. Sci.*, v.69, p.932-934, 1999.
- Dietrich, E.; Hennies, M.; Holtz W. Voglmayr, J.K.** Immunization of goats against recombinant human inhibin α -subunit: effect on inhibin binding, mating behaviour, ovarian activity and embryo yield. *Anim. Reprod. Sci.*, v.39, p.119-128, 1995.
- Diskin, M.G.; Niswender, G.D.** Effect of progesterone supplementation on pregnancy and embryo survival in ewes. *J. Anim. Sci.*, v.67, p. 1559-1563, 1989.
- Dutt, R.H.** Fertility rate and embryonic death loss in ewes early in the breeding season. *J. Anim. Sci.*, v.13, p.464-473, 1954.
- Evans, A.C.O.** Ovarian follicle growth and consequences for fertility in sheep. *Anim. Reprod. Sci.*, v.78, p.289-306, 2003.
- Fairclough, R.J.; Smith, J.F.; Peterson, A.J.** Passive immunization against oestradiol-17 β and its effect on luteolysis, oestrus and ovulation in the ewe. *J. Reprod. Fertil.*, v.48, p.169-171, 1976.
- Farin, C.E.; Moeller, C.L.; Mayan, H.; Gamboni, F.; Sawyer, H.R.; Niswender, G.D.** Effect of luteinizing hormone and human chorionic gonadotropin on cell populations in the ovine corpus luteum. *Biol. Reprod.*, v.38, p.413-421, 1988.
- Fonseca JF.** Controle e perfil hormonal do ciclo estral e performance reprodutiva de cabras Alpinas e Saanen. 2002. Thesis (PhD) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2002.
- Fonseca, J.F., Bruschi, J.H., Santos, I.C.C.; Viana, J.H.M.; Magalhães, A.C.M.** Induction of synchronized estrus in dairy goats with different gonadotrophins. *Anim. Reprod. Sci.*, v.85, p.117-124, 2005a.
- Fonseca, J.F.; Bruschi, J.H.; Santos, A.F.A.; Maffili, V.V.; Moraes, E.A.; Pontes, R.A.M.; Prospero, C.P.** Sincronização de estro em cabras Toggenburg durante a estação de acasalamento. *Acta Sci. Vet.*, v.31, p.238, 2004.
- Fonseca, J.F.; Bruschi, J.H.; Zambrini, F.N.; Demczuk, E.; Viana, J.H.M.; Palhão, M.P.** Induction of synchronized estrus in dairy goats with different gonadotrophins. *Anim. Reprod.*, 2, p.50-53, 2005b.
- Fonseca, J.F.; Silva Filho, J.M.; Pinto Neto, A.; Palhares, M.S.; Ruas, J.R.M.; Alvin, M.T.T.; Belissário, H.; Saliba, W.P.** Concentração plasmática de progesterona em novilhas receptoras submetidas à administração de rbST, GnRH ou hCG no quinto dia do ciclo estral. *Arq Bras Med Vet Zootec*, 53:451-458, 2001.
- Fonseca, J.F.; Torres, C.A.A.; Costa, E.P.; Maffili, V.V.; Carvalho, G.R.; Alves, N.G.; Rubert, M.A.** Progesterone profile and reproductive performance of estrous-induced Alpine goats given hCG five days after breeding. *Anim. Reprod.*, v.2, p.54-59, 2005c.
- Fonseca, J.F.; Torres, C.A.A.; Maffili, V.V.; Rodrigues, M.T.; Santos, A.D.F.; Amorim, L.S.; Moraes, E.A.** Progesterone and behavioral features of estrous-induced Alpine goats. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v.28, n.4, 2005d. (in press)
- Fonseca, J.F.; Torres, C.A.A.; Rodrigues, M.T.; Santos, A.D.F.; Fürst, R.; Prospero, C.P.; Maffili, V.V.; Rovay, H.** Estrus, ovulation time and progesterone in Alpine and Saanen nulliparous goats synchronized with prostaglandin. *Acta Sci. Vet.*, v.31, p.377, 2003.
- Fonseca, J.F.; Viana, J.H.M.; Bruschi, J.H. et al.** Resposta superovulatória em cabras Saanen lactantes utilizando curtos protocolos de exposição à progesterona e somatotropina bovina recombinante (rbST). *Acta Sci. Vet.*, v.32, 2005e. (in press).
- Freitas, V.J.F.; Baril, G.; Saumande, J.** Estrus synchronization in dairy goats: use of fluorogestone acetate vaginal sponges or norgestomet ear implants. *Anim. Reprod. Sci.*, v.46, p.237-244, 1997.
- Freitas, V.J.F.; Baril, G.; Bosc, M.; Saumande, J.** Induction and synchronization of estrus in goats: the relative efficiency of one versus two fluorogestone acetate-impregnated vaginal sponges. *Theriogenology*, v.45, p.1251-1256, 1996.



- Ginther O.J.; Kot K.** Follicular dynamics during the ovulatory season in goats. *Theriogenology*, v.42, p.987-1001, 1994.
- Ginther, O.J.; Wiltbank, M.C.; Friche, P.M.; Gibbons, J.R.; Kot, K.** Selection of the dominant follicle in cattle. *Biol Reprod.*, v.55, p.1187-1194, 1996.
- Gordon, I.** *Controlled reproduction in sheep and goats.* Cambridge, UK: University Press, 1997.
- Goswami, J.; Sarmah, B.C.; Chakravarty, P.; Sarmah, B.K.; Goswami, R.N.** Follicular growth in response to exogenous gonadotrophin in anoestrus goat. *Indian Vet. J.*, v.75, p.311-313, 1998.
- Greyling, J.P.C.; Van Der Nest, M.; Schwabach, L.M.J., Muller, T. et al.** Superovulation and embryo transfer in South African Boer and Indigenous feral goats. *Small Rumin. Res.*, v.43, p.45-51, 2002.
- Khan, T.H.; Hastie, P.M.; Beck, N.F.G.; Khalid, M.** hCG treatment on day of mating improves embryo viability and fertility in ewe lambs. *Anim. Reprod. Sci.*, v.76, p.81-89, 2003.
- Krisher, R.L.; Gwazdauskas, F.C.; Page, R.L.; Russel, C.G.; Canseco, R.S.; Sparks, A.E.T.; Velandar, W.H, Johnson, J.L.; Pearson, R.E.** Ovulation rate, zygote recovery and follicular populations in FSH-superovulated goats treated with PGF_{2α} and/or GnRH. *Theriogenology*, v.41, p.491-498, 1994.
- Lamming, G.E.; Mann, G.E.** Control of endometrial oxytocin receptors and prostaglandin F_{2α} production in cows by progesterone oestradiol. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, v.49, p.69-73, 1995.
- Lassoued N, Khaldi G, Chemineau P, Conié Y, Thimonier J.** Role of uterus in early regression of corpora lutea induced by ram effect in seasonally anoestrous Barbarine ewes. *Reprod. Nutr. Dev.*, v.37, p.559-571, 1997.
- Lassoued, N.; Khaldi, G.; Conié, Y.; Chemineau, P.; Thimonier, J.** Effect de la progesterone sur le taux d'ovulation et la durée du cycle ovarien induits par effet male chez la brebis Barbarine et la chèvre locale tunisienne. *Reprod. Nutr. Dev.*, v.35, p.415-426, 1995.
- Loi, P.; Ptak, G.; Dattena, M.; Ledda, S.; Naitana, S.; Cappai, P.** Embryo transfer and related technologies in sheep reproduction. *Reprod. Nutr. Dev.*, v.38, p.615-628, 1998.
- Maffili, V.V.** *Indução e sincronização de estro em cabras.* 2004. 88f. Thesis (PhD) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2004.
- Martemucci, G.; D'Alessandro, A.; Toteda, F.; Facciolongo, A.M.; Gambacorta, M.** Embryo production and endocrine response in ewes superovulated with PMSG, with or without monoclonal anti-PMSG administered at different times. *Theriogenology*, v.44, p.691-703, 1995.
- Mellado, M.; Alemán, R.; Orozco, F.J.; Uribe, G.** Effect of prostaglandin dosage and route of administration on estrus response in Criollo gotas Ander range conditions. *Small Rumin. Res.*, v.14, p.205-208, 1994.
- Menchaca, A.; Rubianes, E.** New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. *Reprod. Fertil. Devel.*, v.16, p.403-413, 2004.
- Mutiga, E.R.; Baker, A.A.** Ovarian response, ova recovery and fertility in Merino ewes superovulated either during the luteal phase of their oestrous cycle or after intravaginal progestágeno treatment. *Theriogenology*, v.17, p.537-544, 1982.
- Nephew, K.P.; Cárdenas, H.; McClure, K.E.; Ott, T.L.; Bazer, F.W.; Pope, W.F.** Effects of administration of human chorionic gonadotropin or progesterone before maternal recognition of pregnancy on blastocyst development and pregnancy in sheep. *J. Anim. Sci.*, v.72, p.453-458, 1994.
- Neves, T.C.; Fernandes, B.A.; Machado, T.M.M.** Controle do fotoperíodo para a indução de estro em cabras. *Rev. Brás Reprod Anim*, v.21, p.132-134, 1997.
- Nishigai M, Kamomae H, Tanaka T, Kaneda Y.** Improvement of pregnancy rate in Japanese Black cows by administration of hCG to recipients transferred frozen-thawed embryos. *Theriogenology*, v.58, p.1597-1606, 2002.
- Niswender GD, Nett TR.** Corpus luteum and its control in infraprimates species. In: Niswender GD, Nett TR. *The physiology of reproduction.* New York: Raven Press, 1994. p.781-815:
- Okada, A.; Kamada, S.; Jeon, C-W.; Miyamoto, A.; Fukui, Y.** Incidence of abnormal corpus luteum in superovulated ewes. *J. Reprod. Dev.*, v.70, p.281-282, 2000.
- Oldham, C.M.; Pearce, D.T.; Gray, S.J.** Progesterone priming and age of ewe affect the life-span of corpora lutea induced in the seasonally anovulatory Merino ewe by the "ram effect". *J. Reprod. Fertil.*, v.75, p.29-33, 1985.
- Patil, A.D.; Kurhe, B.P.; Phalak, K.R.; Dhoble, R.L.** Synchronization of oestrus using progesterone and PMSG in Osmanabadi goats. *Indian J. Anim. Sci.*, v.70, p.281-282, 2000.
- Picazo, R.A.; Cocero, M.J.; Barragán, M.L.; López Sebastián, A.** Effects of LH administration at the end of an FSH superovulatory regimen on ovulation rate and embryo production in three breeds of sheep. *Theriogenology*, v.45, p.1065-1073, 1996.
- Pintado B, Gutiérrez-Adán A, Pérez Llano B.** Superovulatory response of Murciana goats to treatment based on PMSG/anti-PMSG or combined FSH/PMSG administration. *Theriogenology*, v.50, p.357-364, 1998.
- Rajamahendran, R.; Raniowski, J.; Ravindran, V.** Effects of PMSG and ram contact on the reproductive performance of progestagen-treated ewes during breeding and anestrus season. *Small Rumin Res*, v.10, p.341-347, 1993.
- Romano, J.E.; Crabo, B.G.; Christans, C.J.** Effect of sterile service on estrus duration, fertility and prolificacy in artificially inseminated dairy goats. *Theriogenology*, v.53, p.1345-1353, 2000.



- Saharrea A.; Valencia J.; Balcázar A.; Medja, O.; Cerbón, J.L.; Caballero, V.; Zarco, L.** Premature luteal regression in goats superovulated with PMSG: effect of hCG or GnRH administration during the early luteal phase. *Theriogenology*, v.50, p.1039-1052, 1998.
- Sales, H.O.; Andrioli, A.; Simplício, A.A.; Medeiros, J.N.; Machado, O.M.** *Manual de transferência de embriões em caprinos*. Sobral, CE: Embrapa Caprinos, 2002. (Documentos, n.40).
- Sasa, A., Torreão, J.N.C.; Coelho, L.A.; Ivanoff, A.; Silva, C.C.M.; Nunes, B.C.P.** The use of artificial photoperiod associated to male effect and male effect alone on reproductive activity in Saanen goats under subtropical conditions in Brazil. In: International Congress on Animal Reproduction, 15, 2004, Porto Seguro, BA. *Abstracts ...* Porto Seguro: CBRA, ICAR, 2004. p.294.
- Sayre, B.L.; Lewis, G.S.** Cervical dilation with exogenous oxytocin does not affect sperm movement into the oviducts in ewes. *Theriogenology*, v.45, p.1523-1533, 1996.
- Schiewe, M.C.; Howard, J.G.; Goodroke, K.L.; Stuart, L.D.; Wildt, D.E.** Human menopausal gonadotropin induces ovulation in sheep, but embryo recovery after prostaglandin F_{2α} synchronization is compromised by premature luteal regression. *Theriogenology*, v.34, p.469-486, 1990.
- Schinckel, P.G.** The effect of the presence of the ram on ovarian activity of the ewe. *Aust J. Agric. Res.*, v.5:, p.65, 1954.
- Schmitt, É.J.P.; Barros, C.M.; Fields, P.A.; Fields M.J.; Diaz, T.; Kluge J.M.; Thatcher, W.W. **A cellular and endocrine characterization of the original and induced corpus luteum after administration of a gonadotropin-releasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin on day five of the estrous cycle.** *J Anim. Sci.*, v.74, p.1915-1929, 1996a.
- Schmitt, É.J.P.; Diaz, T.; Barros, C.M. De La Sota, R.L.; Drost, M.; Fredriksson, E.W.; Staples, C.R.; Thorner, R.; Thatcher, W.W. **Differential response of luteal phase and fertility in cattle following ovulation of the first-wave follicle with human chorionic gonadotropin or an agonist of gonadotropin-releasing hormone.** *J. Anim. Sci.*, v.74, p.1074-1083, 1996b.
- Selvaraju, S.; Agarwal, S.K.; Karche S.D.; Majumdar, A.C. **Ovarian response, embryo production and hormonal profile in superovulated goats treated with insulin.** *Theriogenology*, v.59, p.1459-1468, 2003.
- Senthilkumar, P.; Raja Sundaram, R.C.; Kathiresan, D.** Influences of different gonadotrophin treatments on the yield of transferable and non-transferable quality embryos in Malabari goats. *Indian Vet. J.*, v.76, p.375-378, 1999.
- Simplício, A.A.; Salles, H.O.; Santos, D.O.; Hymerson, C.A.** Manejo reprodutivo de caprinos e ovinos de corte em regiões tropicais. Sobral, CE: Embrapa Caprinos, 2001. (Documentos, n.40).
- Tiwari, R.P.; Ansari, M.R.; Majundar, A.C.** Ovarian response, embryo recovery and progesterone profile in goats following human chorionic gonadotrophin administration on day 7 of oestrous cycle prior to superovulatory treatment. *Indian J. Anim. Sci.*, v.68, p.1230-1232, 1998.
- Viñoles, C.; Forsberg, M.; Banchero, G.; Rubianes E.** Effect of long-term and short-term progestagen treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. *Theriogenology*, v.55, p.993-1004, 2001.
- Walker, S.K., Smith, D.H., Frenshan, A.; Asham, R.J.; Seamark, R.F.** The use of synthetic gonadotropin releasing hormone treatment in the collection of sheep embryos. *Theriogenology*, v.31, p.741-752, 1989.
- Wathes, D.C.; Lamming, G.E.** The oxytocin receptor, luteolysis and maintenance of pregnancy. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, v.49, p.53-67, 1995.
- Wathes, D.C.; Mann, G.E.; Payne, J.H.; Riley, PR, Stevenson, K.R.; Lamming, G.E.** Regulation of oxytocin, oestradiol and progesterone receptor concentrations in different uterine regions by oestradiol, progesterone and oxytocin in ovariectomized ewes. *J. Endocrinol.*, v.151, p.375-393, 1996.
- Zúñiga, O.; Forcada, F.; Abecie, J.A.** The effect of melatonin implants on the response to the male effect and on subsequent cyclicity of Rasa Aragonesa ewes implanted in April. *Anim. Reprod. Sci.*, v.72:, p.165-174, 2002.