Acta Scientiae Veterinariae, 2024. 52: 1935.

RESEARCH ARTICLE
Pub. 1935

ISSN 1679-9216

Dinâmica folicular e fertilidade de ovelhas leiteiras: influência da progesterona e estação reprodutiva

Follicular Dynamics and Fertility in Dairy Sheep: Influence of Progesterone and Reproductive Season

Cláudio Francisco Brogni[1], Maicon Gaissler Lorena Pinto[2], Vilmar Francisco Zardo[2] & Alceu Mezzalira[1]

ABSTRACT

***Background*:** The use of high and low doses of progesterone in vaginal pessaries directly interferes with the response of follicular dynamics in sheep specialized in dairy production. Within the season there is greater ovarian activity and outside the reproductive season the high dose of progesterone favors conception rates, the number of lambs born alive and the size of the gestational corpus luteum, which implies greater female fertility. This work evaluated the response of the follicular dynamics of dairy sheep inside and outside the reproductive season, during the 6th day stay of the vaginal pessary containing high and low doses of progesterone.

***Materials, Methods & Results*:** The experiment was conducted within the reproductive season in April/May and outside the reproductive season in October/November, evaluating the ovarian response to the use of vaginal pessaries containing 60 or 120 mg of progesterone during 6 days of stay of the device, 75 µg of sodium cloprostenol and 400 UI of equine chorionic gonadotropin (eCG) were applied at the time of removal of the pessaries and coverage with sheep occurred 50 h after removal of the device. As a result, it was observed that the ovulatory follicle has a larger diameter within the reproductive season at 5.95 mm and outside the season at 4.98 mm. The size of the dominant follicle at the beginning of the protocol (D0) was 4.77mm inside the season versus 1.55 mm outside and without the presence of a corpus luteum, showing seasonal anestrus. The time of ovulation after removing the pessaries occurred around 48.68 h within the season and 53.40 h outside the reproductive season. Regarding the size of the corpus luteum (CL), it was larger during the breeding season with 12.15 mm compared to 11.45 mm outside the breeding season. For the conception rate inside the station, it was 71.4% and outside 50%. Outside the reproductive season, with a dose of 60 mg, the conception rate was 41.2% and with 120 mg, 58.8%. For the number of lambs born alive/ewe, within the breeding season it was found 2.32 and outside the season 1.59.

***Discussion*:** Seasonality in sheep is a notable factor, and during the off-season ovarian activity was in anestrus, with only small follicles without the presence of a corpus luteum. The in-station ovulatory follicle (OF) appeared at 3.79 days after device placement and out-of-station at 4.02 days. The possible explanation for this is the addition of progesterone from the intravaginal device associated with CL. The average ovulation period occurred around 48.68 h within the season, and outside the season this value was 53.40 h. This variation in sheep has already been described, but mapping in dairy sheep is the 1st study. The number of ovulations differed between the seasons evaluated and between doses of progesterone, which suggests a direct effect of dose and season on the number of ovulations. The conception rate at breeding time reached a much higher value, as ovarian activity and the presence of the CL on D0 make the female respond better to the protocol, a fact that can be observed with the greater size of the CL at 30 days. Outside the reproductive season, the 120 mg protocol resulted in a higher conception rate. This higher dose of progesterone better prepares the ovulatory wave of each cycle, providing better oocyte viability and, therefore, a higher conception rate in this period.

Keywords: ovulation, follicular waves, ultrasonography, reproductive station, progesterone implants, seasonal anestrus.
Descritores: ovulação, ondas foliculares, ultrassonografia, estação reprodutiva, implantes de progesterona, anestro sazonal.

DOI: 10.22456/1679-9216.134993

Received: 30 September 2023 Accepted: 15 January 2024 Published: 17 February 2024

[1]Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), Lages, SC, Brazil. [2]Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina - EPAGRI, Lages. CORRESPONDENCE: C. Brogni [claudiobrogni@gmail.com]. Av. Luiz de Camões nº 2090. CEP 88520-000 Lages, SC, Brazil.

INTRODUÇÃO

A ultrassonografia ovariana nos anos 90 [13] permitiu a caracterização do turnover folicular durante o ciclo estral [7] evidenciando o sucesso dos tratamentos em curto prazo. Estudos usando CIDR® [10], no crescimento folicular mostrou que as altas concentrações plasmáticas de progesterona obtidas na inserção do dispositivo diminuíram a secreção de LH. Tal diminuição de LH após a inserção do CIDR®, causa atresia de grandes folículos presentes nos ovários e promove a renovação folicular [5], levando ao aparecimento de novos folículos pré-ovulatórios que atingem seu diâmetro máximo após 5 a 7 dias da inserção do CIDR®. Assim, a remoção do tratamento com progesterona nesse período garantiria a presença de um folículo pré-ovulatório capaz de induzir o estro e atingir a ovulação [10]. Sabe-se ainda que a dinâmica folicular em ovelhas leiteiras dentro e fora da estação reprodutiva apresentam comportamentos distintos. Nos protocolos de curta duração a utilização de progesterona em altas doses tem se mostrado mais eficiente para induzir o estro e a ovulação. Não se sabe ainda se a dinâmica folicular em ovelhas leiteiras é diferente dentro da estação quando comparado com o período não ativo de reprodução ovina. Por conta disso, é importante avaliar um protocolo curto, com dose ajustável de progesterona, para ser utilizado em cada estação. Assim, esse trabalho teve por objetivos avaliar o uso de alta e baixa dose de progesterona exógena, em ovelhas leiteiras dentro e fora da estação reprodutiva, avaliando a dinâmica folicular, as taxas de prenhez e o número de cordeiros nascidos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Local

O experimento foi conduzido dentro da estação reprodutiva nos meses de abril/maio e fora da estação em outubro/novembro, para determinar o comportamento folicular em cada momento. A execução do experimento aconteceu em Lages/SC com latitude 27º 48' 58" S e longitude 50º 19' 34" W, junto ao Centro de Ciências Agroveterinárias - CAV/UDESC.

Seleção dos animais

Foram utilizadas fêmeas ovinas leiteiras, predominantemente da raça Lacaune, multíparas, hígidas, adultas em idade reprodutiva, em ótimo escore corporal, classificadas como 3 em uma escala de 1 a 5, sendo 1 animal extremamente magro e 5 obeso. Os animais recebiam concentrado a base de milho, soja e núcleo mineral a 0,5% do PV, mais sal mineral para ovinos à vontade, além de pastejo de *Pennisetum clandestinum* (Capim-quicuio) e de *Cynodon* spp. (Tifton-85) e água *ad libitum*. Esse trabalho foi aprovado junto ao comitê de ética do CAV-UDESC com o número 8167261118.

Avaliação ultrassonográfica

Para o exame, as fêmeas foram manejadas em posição quadrupedal ou em leve elevação, com a parede abdominal comprimida [4]. O equipamento de ultrassom[1] foi utilizado em modo-B tempo real, com transdutor linear retal com frequências variando entre 6 e 8,5 MHz, acoplado a um tubo de plástico ligeiramente curvado (medindo 30 cm de comprimento), permitindo a manipulação externa. Inicialmente procedia-se a remoção das fezes do reto, seguido da deposição de 5 a 10 mL de gel no conduto retal e sobre o transdutor. As ovelhas foram submetidas ao acompanhamento ultrassonográfico diário desde a colocação do dispositivo contendo progesterona a base de medroxiprogesterona[2] até a ovulação. No momento da retirada dos pessários foi aplicado prostaglandina[3] (75 µg de cloprostenol de sódio) e gonadotrofina coriônica equina eCG[4] (400 UI). A ocorrência da ovulação foi definida pela ausência do folículo dominante detectado nos exames ultrassonográfico anteriores, caracterizando então o início do ciclo estral.

Manipulação do ciclo estral

Nesta etapa foram utilizadas 40 fêmeas multíparas, divididas em 2 grupos de 10 animais em cada estação, sendo 2 grupos avaliados nos meses de outubro-novembro (fora da estação) e os outros 2 grupos avaliados em abril-maio (dentro da estação). As fêmeas foram submetidas a protocolos de manipulação de ciclo estral com o uso de pessários vaginais contendo progesterona[2] em alta (120 mg) e baixa (60 mg) concentração, com o dispositivo permanecendo por um período de 6 dias. No momento da retirada do pessário vaginal foi aplicado prostaglandina[3] (75 µg de cloprostenol de sódio) e gonadotrofina coriônica equina eCG[4] (400 UI). As avaliações da dinâmica folicular (parâmetros foliculares, luteais e ovulatórios) foram avaliadas desde o momento da inserção do dispositivo de progesterona até a ovulação, após a retirada do mesmo.

Taxa de concepção

Foram utilizadas 35 e 34 fêmeas em idade reprodutiva, divididas em grupos homogêneos, dentro e fora da estação reprodutiva respectivamente, sendo que dentro de cada estação se dividiu as ovelhas em 2 grupos, um com 60 mg e outro com 120 mg de progesterona, e o encarneiramento feito com aproximadamente 50 h após a retirada dos implantes. Nesse experimento foi avaliado a taxa de concepção dos diferentes protocolos, utilizando monta controlada através de um carneiro com fertilidade conhecida. A confirmação da gestação foi realizada pelo exame ultrassonográfico transretal, realizado aos 30 dias após a cobertura, bem como o tamanho do corpo lúteo nesse momento, e ao nascimento feito a contagem do número de cordeiros nascidos vivos.

Análise estatística

Os dados qualitativos (taxa de concepção e número de cordeiros) foram submetidos ao teste Qui Quadrado e os demais dados submetidos à Análise de Variância, utilizando-se o procedimento MIXED do pacote estatístico SAS[5]. Os dados foram previamente testados para normalidade dos resíduos pelo teste de Kolmogorov-Swirnov. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey, com nível de significância de 5%. O modelo estatístico usado incluiu como variáveis explanatórias o efeito da estação, da concentração de progesterona e da interação entre esses parâmetros.

RESULTADOS

O desenvolvimento folicular, bem como a dinâmica desse desenvolvimento, dentro e fora da estação e sua correlação com as doses de 60 e 120 mg de progesterona nos períodos avaliados, estão sumarizados na Tabela 1. Quando comparado de forma isolada apenas a época do ano, observa- se que o diâmetro do FD no dia zero-D0 (colocação do implante) foi de 4,77 mm dentro da estação e 1,55 mm fora da estação, evidenciando um anestro sazonal fora da estação.

O tempo para atresia completa do FD levou 3,79 dias dentro contra 4,81 fora da estação, ou seja, dentro da estação após colocação do implante a regressão desse folículo é mais rápida. Para taxa de regressão mm/dia do FD obteve-se 1,35 dentro e 1,05 fora da estação, ou seja, dentro da estação tem uma taxa de regressão maior quando comparada com fora da estação. Em relação ao dia da emergência do novo folículo dominante, foi encontrado 3,79 dias dentro contra 4,02 dias fora da estação, demostrando que dentro da estação o folículo dominante emerge mais precocemente do que aquele fora da estação. O diâmetro do folículo ovulatório é maior dentro da estação, 5,95 mm contra 4,98 mm fora da estação.

Para número de ovulações, houve diferença estatística entre os períodos e grupos avaliados. Para dentro da estação se observou 2,10 ovulações quanto que fora da estação se observou 1,60 ovulações. Quando avaliado dentro da mesma estação diferentes doses, houve diferença estatística quanto ao número de ovulações fora da estação para 60 mg com 1,40 ovulações e com 120 mg 1,80 ovulações. Já dentro da estação foi observado com 60 mg 2,05 ovulações e 2,15 ovulações com 120 mg, não havendo diferença estatística nesse período da estação reprodutiva, independente da dose utilizada. Quando se avaliou o tempo de ovulação em horas, após a retirada dos implantes, foi observado que essa ovulação ocorreu com 48,68 h dentro da estação, e com 53,40 h fora da estação.

Quando os dados foram separados em função das doses de progesterona (60 e 120 mg), dentro e fora da estação, foram observadas algumas diferenças em cada situação. Para diâmetro do FD no dia zero não há diferença entre doses na mesma estação, somente entre estações conforme já descrito acima. A atresia do FD, com a dose de 120 mg dentro da estação, ocorreu aos 3,11 dias após o implante de progesterona, enquanto na dose de 60 mg dentro da estação, a atresia ocorreu aos 4,4 dias. Os grupos 60 mg dentro da estação (4,40), 60 mg fora (4,87) e 120 mg fora da estação (4,75) não diferiram entre si, sendo que o grupo 120 mg dentro da estação apresentou o menor tempo (3,11 dias) diferindo de todos os demais grupos. Para taxa de regressão mm/dia, é observado uma diferença no grupo 120 mg dentro da estação com 1,74 mm/dia, quando comparado com os demais grupos, 60 mg dentro e fora da estação e 120 fora da estação, sendo esses semelhantes entre si. Para o dia de emergência do novo folículo dominante, os grupos com 120 mg dentro (3,44) e fora (3,68) da estação foram semelhantes entre si, e mais precoces do que os grupos 60 mg dentro (4,10) e 60 mg fora (4,36), sendo esses últimos semelhantes entre si. Em relação ao diâmetro do folículo ovulatório, não houve diferença entre as doses de progesterona dentro da estação 60 mg (5,70) e 120 mg (6,10), e também não houve diferença entre as doses fora da estação 60 mg (4,99) e 120 mg (4,98). Entretanto, houve diferença no

diâmetro do folículo ovulatório em função da estação, com maior diâmetro observado dentro da estação, conforme já descrito anteriormente. E por fim, o momento da ovulação, determinado em horas, após a retirada do implante, foi de 47,60 h para 60 mg e 49,00 h para 120 mg dentro da estação e 55,20 h para 60 mg e 51,06 h para 120 mg.

Na taxa de concepção dentro da estação reprodutiva se alcançou um valor muito maior, 71,4% (25/35) contra 50% (17/34). E quando avaliado as diferentes doses em uma mesma estação, se encontrou que fora da estação com 60 mg, 41,2% (7/17) contra 58,8% (10/17) com 120 mg. E para número de cordeiros nascidos por fêmea se encontrou um número maior dentro da estação 2,32 (58/35) contra 1,59 (27/17) fora da estação. E para tamanho de corpo lúteo aos 30 dias se observou um CL maior com diferença entre as estações e entre as doses, estando sumarizados na Tabela 2.

Tabela 1. Valores médios ± D.P. diâmetro do FD no D0, atresia completa do FD em dias, taxa de regressão em mm/dia do FD, dia de emergência de um novo FD, diâmetro do FO, número de ovulações, e horas para ovulação após a retirada dos implantes de acordo com os grupos (60 e 120 mg) e épocas do ano (dentro e fora da estação), em ovelhas leiteiras. Ciclo durante a permanência do implante.

Agrupamento	Ø do FD no D0	Atresia completa FD(dias)	Taxa regressão do FD mm/dia	Dia da emergência do novo FD	Ø do FO	Nº de Ovulações	Ovulação após a retirada do implante (horas)
Dentro 60	4,30 ± 0,80A	4,40 ± 0,98A	1,01 ± 0,21B	4,10 ± 0,43A	5,70 ± 0,15A	2,05 ± 0,22A	47,60 ± 2,14B
Dentro 120	5,20 ± 0,49A	3,11 ± 0,48B	1,74 ± 0,36A	3,44 ± 0,35B	6,10 ± 0,15A	2,15 ± 0,28A	49,00 ± 2,15B
Fora 60	1,40 ± 0,77B	4,87 ± 0,41A	1,10 ± 0,19B	4,36 ± 0,11A	4,99 ± 0,12B	1,40 ± 0,25B	55,20 ± 2,25A
Fora 120	1,70 ± 0,63B	4,75 ± 0,37A	1,09 ± 0,11B	3,68 ± 0,31B	4,98 ± 0,10B	1,80 ± 0,24A	51,06 ± 2,15A
Dentro	4,77 ± 0,44A	3,79 ± 0,40B	1,35 ± 0,15A	3,79 ± 0,21B	5,95 ± 0,08A	2,10 ± 0,28A	48,68 ± 2,14B
Fora	1,55 ± 0,44B	4,81 ± 0,48A	1,05 ± 0,15B	4,02 ± 0,28A	4,98 ± 0,08B	1,60 ± 0,28B	53,40 ± 2,14A

[AB]Letras diferentes indicam diferenças estatísticas quando comparadas entre colunas de mesmo agrupamento ($P < 0,05$).

Tabela 2. Taxa de concepção de ovelhas adultas, utilizando protocolo curto de 6 dias com 60 e 120 mg de progesterona dentro e fora da estação reprodutiva, em relação a taxa de concepção, tamanho do CL e ao número de cordeiros nascidos/fêmea.

Período	Taxa de Concepção	Tamanho de CL(mm)	Número de cordeiros/fêmea
60 mg - Dentro da estação	72,2% (13/18)A	12A	2,3 (31/13)A
120 mg - Dentro da estação	70,6% (12/17)A	12,7 B	2,2 (27/12)A
Total	71,4% (25/35)X	12,15X	2,32 (58/35)X
60 mg - Fora da estação	41,2% (7/17)C	11,1C	1,43 (10/7)C
120 mg - Fora da estação	58,8% (10/17)D	11,8D	1,7 (17/10)D
Total	50% (17/34)Y	11,45Y	1,59 (27/17)Y

ABCDXY Letras diferentes indicam diferenças estatísticas quando comparadas na mesma coluna ($P < 0,05$).

DISCUSSÃO

O entendimento da dinâmica folicular avaliada durante a permanência do dispositivo de progesterona é de suma importância para a adequação de protocolos de sincronização de cio, bem como o entendimento do comportamento ovariano para manipulações hormonais exógenas. A sazonalidade na reprodução de ovinos é um fator marcante [11]. Este fato também foi encontrado em nosso estudo no qual foi observado que fora da estação a atividade ovariana encontrava-se em anestro, uma vez que foi observado apenas pequenos folículos sem

a presença de corpo lúteo, já no período da estação reprodutiva, foram encontrados folículos com 4,77 mm de tamanho e presença de CL, o que indica atividade reprodutiva.

A atresia completa do folículo de maior diâmetro no D0 foi completa aos 3,79 dias dentro da estação contra 4,81 dias fora da estação, o que sugere que essa demora em quase 1 dia para regredir totalmente esse FD e iniciar o crescimento de uma nova onda folicular, pode estar associação ao período de anestro sazonal [3,11]. Da mesma forma, a taxa de regressão foi diferente entre os períodos avaliados, sendo maior no FD dentro da estação (1,35 mm/dia) contra 1,05mm/dia, fora da estação, corroborando com os dados anteriores. O protocolo utilizado dentro da estação fez com o que o FO emergisse aos 3,79 dias após a colocação do dispositivo dentro da estação e aos 4,02 dias fora da estação. A possível explicação disto é a somatória da sensibilização da progesterona do dispositivo, associada a progesterona proveniente do CL, já presente nessas ovelhas em atividade reprodutiva, e que não foi observado com os animais fora da estação.

Nesse estudo foi possível observar que a utilização de uma dose maior de progesterona (120 mg) dentro da estação, possibilitou que o folículo dominante presente do dia de colocação do dispositivo-D0, regredisse em 3,1 dias. Isto possibilita inferir que com a concentração alta de progesterona, o protocolo curto até então executado com 6 dias de permanência do dispositivo de progesterona [2,9], poderia ser reduzido para 4 dias, sendo necessários mais estudos, uma vez que isso seria muito interessante, diminuindo o período de cada protocolo e possibilitando uma melhor adequação da estação de monta.

Da mesma forma, a taxa de regressão mm/dia foi muito superior nesse grupo de 120 mg dentro da estação, com valor de 1,74 mm/dia, enquanto nos demais grupos dentro e fora da estação, esse valor foi de 1 mm/dia. Tanto dentro quanto fora da estação utilizando 120 mg de progesterona, foi encontrado valores semelhantes para o dia da emergência do folículo ovulatório, 3,44 dias dentro da estação e 3,68 dias fora da estação, após a colocação do implante de progesterona. Esse fato pode ser explicado pela elevação da p4 circulante [1].

O diâmetro do folículo ovulatório dentro da estação foi próximo a 6 mm, superior aos observados fora da estação, os quais se aproximaram de 5 mm, ambos menores aos das ovelhas da raça Santa Inês que na estação reprodutiva esses diâmetros próximos a 7 mm [12].

O período médio de ovulação aconteceu em torno de 48,68 h dentro da estação, enquanto fora da estação esse valor foi de 53,40 h, determinando uma variação média de 5 h entre um grupo e outro. A variação no período de ovulação em ovinos já é descrita em outros trabalhos [6,8], mas esse mapeamento em ovelhas leiteiras é o primeiro estudo.

O número de ovulações simples ou duplas diferiu entre as estações avaliadas e entre as doses de progesterona, o que sugere um efeito direto da dose e da estação sobre o número de ovulações, isso pode ser observado pelo número de cordeiros nascidos por fêmea, inferindo que dentro da estação se encontram um maior número de partos múltiplos do que fora da estação reprodutiva, e que fora da estação reprodutiva com 120 mg se observa um maior número de cordeiros nascidos em comparação com a dose de 60 mg.

Na taxa de concepção, como esperando, dentro da estação reprodutiva o valor foi superior, uma vez que a atividade ovariana e a presença do CL no D0 fazem com que a fêmea responda melhor ao protocolo, fato esse que pode ser observado com o maior tamanho do CL aos 30 dias dentro da estação quando comparado com fora da estação. Porém fora da estação o protocolo que melhor teve resposta foi o com 120 mg determinando que nessa categoria animal, fora da estação, a dose maior de progesterona prepara melhor a onda ovulatória de cada ciclo, oportunizando a melhor viabilidade ao oócito e por conta disso, maior taxa de concepção nesse período.

CONCLUSÕES

Foi possível demonstrar que ovelhas leiteiras dentro da estação reprodutiva têm a dinâmica folicular diferente daquelas fora da estação durante a permanência do pessário vaginal. O diâmetro do folículo ovulatório dentro da estação tem tamanho maior. O momento da ovulação, após a retirada dos implantes, sofre influência da estação reprodutiva, sendo que dentro da estação a ovulação ocorre mais precocemente e ainda o número de ovulações é maior fora da estação com alta concentração de progesterona,

quando comparada com menor dose fora da estação. E que o número de cordeiros nascidos é maior dentro da estação com alta dose de progesterona e que na estação reprodutiva o tamanho do corpo lúteo é maior durante a gestação.

Foi possível concluir que fora da estação reprodutiva com alta dose de progesterona se obteve um incremento considerável na taxa de concepção e no número de cordeiros nascidos o que evidencia que é possível manter uma produção constante de leite durante todo o ano, escalonado os partos em cada estação.

MANUFACTURERS

[1]Mindray Medical International Limited /DP50. Shenzhen, Guangdong, China.

[2]Merck Sharp & Dohme. Darmstadt, Hesse, Germany.

[3]Ouro Fino Saúde Animal. Uberaba, MG, Brazil.

[4]Zoetis Saúde Animal. Campinas, SP, Brazil.

[5]SAS, Statistical Analysis System (SAS v.9.3,). Cary, NC, USA.

***Ethical approval*.** This work was approved by the ethics committee of CAV-UDESC under number 8167261118.

***Declaration of interest*.** The authors inform that there are no conflicts of interest. The authors are solely responsible for the content and writing of the paper.

REFERENCES

1 **Baby T.E. & Bartlewski P.M. 2011.** Progesterone as the driving regulatory force behind serum FSH concentrations and antral follicular development in cycling ewes. *Reproduction, Fertility and Development*. 23: 303- 310. DOI: 10.1071/RD10121.

2 **Bartlewski P.M., Aravindakshan J., Beard A.P., Nelson M.L., Batiasta-Arteaga S. & Cook J. 2004.** Effects of medroxyproges testoterone acetate (MAP) on ovarian antral follicle development, gonadotrophin secretion and response to ovulation induction with gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) in seasonally anoestrous ewes. *Animal Reproduction Science*. 81: 63-75. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2003.10.002.

3 **Bartlewski P.M., Beard A.P. & Rawlings N.C. 1999.** Ovarian function in ewes at the onset of the breeding season. *Animal Reproduction Science*. 57: 67-88. DOI: 10.1016/s0378-4320(99)00060-3.

4 **Brogni C.F. & Souza A.F.D. 2021.** Ultrasonography in Ovine Follicular Dynamics. *Open Journal of Agricultural Research*. 1(1): 25-29. DOI: 10.31586/ojar.2021.010105.

5 **Campbell B.K., Scaramuzzi R.J. & Webb R. 1995.** Control of follicle development and selection in sheep and cattle. *Journal of Reproduction and Fertility*. 49: 335-350. DOI: 10.1530/biosciprocs.3.026.

6 **Cumming I.A., Brown J.M., Blockey M.A. & Goding J.R. 1971.** Regulation of oestrous cycle in the ewe. *Journal Reproduction Fertillity*. 241: 148-159. DOI: 10.1530/jrf.0.0430583.

7 **Evans A.C. 2003.** Ovarian follicle growth and consequences for fertility in sheep. *Animal Reproduction Science*. 78: 289-306. DOI: 10.1016/s0378-4320(03)00096-4.

8 **Lassoued N., Rekik M., Khenissi S. & Merai A. 2014.** Seasonality of oestrus, ovulation and ovulation rate of Sicilo-Sarde sheep. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 98(4): 686-692. DOI: 10.1111/jpn.12123.

9 **Menchaca A. & Rubianes E. 2004.** New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. *Reproduction, Fertility and Development*. 16(1): 403-413. DOI: 10.10371/RD04037.

10 **Menchaca A., Santos Neto P.C., Cuadro F., Souza-Neves M. & Crispo M. 2018.** From reproductive technologies to genome editing in small ruminants: an embryo's journey. *Animal Reproduction*. 15: 984-995. DOI: 10.21451/1984-3143-AR2018-0022.

11 **Manca M.E., Manunta M.L., Spezzigu A., Torres-Rovira L., Gonzalez-Bulnes A., Pasciu V., Piu P., Leoni G.G., Succu S., Chesneau D., Naitana S. & Berlinguer F. 2014.** Melatonin deprival modifies follicular and corpus luteal growth dynamics in a sheep model. *Reproduction*. 147: 885-895. DOI: 10.1530/REP-13-0405.

12 **Oliveira M.E.F., Ayres H., Oliveira L.G., Oba E., Kridli R.T., Bartlewski P.M. & Vicente W.R.R. 2016.** Follicular wave emergence in Santa Inês ewes subjected to long-term, progesterone-based estrous synchronization protocols at different times of the year. *Animal Reproduction Science*. 174: 80-86. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2016.09.008.

13 **Schrick F.N., Surface R.A., Pritchard J.Y., Dailey R.A., Townsend E.C. & Inskeep E.K. 1993.** Ovarian structures during the estrous cycle and early pregnancy in ewes. *Biology of Reproduction*. 49(5): 1133-1140. DOI: 10.1095/biolreprod49.5.1133.

