

DESARROLLO FOLICULAR EN OVEJAS DURANTE EL CICLO ESTRAL NATURAL E INDUCIDO CON PROSTAGLANDINAS

Follicular Development in Ewes During Natural and Prostaglandins Induced Estrous Cycle

Luis Fernando Uribe-Velásquez ^{1*}, Eunice Oba ², Maria Inês Lenz Souza ³, Miryam Vélez-Marín ⁴ y Adriana Correa-Orozco ⁴

¹ Departamento de Salud Animal, Universidad de Caldas. AA 275, Manizales, Caldas, Colombia. ² Departamento de Reproducción Animal y Radiología Veterinaria, Universidad Estatal Paulista, UNESP, Botucatu, Sao Paulo, Brasil. ³ Departamento de Morfofisiología, Universidad Federal de Mato Grosso do Sul, UFMS, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, MG, Brasil.

⁴ Programa de Maestría en Ciencias Veterinarias, Universidad de Caldas, Manizales, Caldas, Colombia.

* (6) 8781516, lfuribe@ucaldas.edu.co

RESUMEN

El desarrollo folicular fue evaluado en hembras ovinas durante el ciclo estral natural e inducido con prostaglandina $F_{2\alpha}$ (PG). Las ovejas fueron distribuidas en dos tratamientos (n=7/tratamiento): T1, con ciclo estral natural y T2, sincronizado con dos inyecciones de PG. Desde el día anterior a la aplicación de PG hasta la siguiente ovulación se realizó, diariamente, ecografía transrectal. Todos los folículos ≥ 2 mm fueron monitoreados. Durante el intervalo interovulatorio, el crecimiento y la regresión folicular se presentaron en forma de ondas (2-3 ondas). El diámetro máximo del folículo mayor de la primera onda fue superior en T1 ($5,83 \pm 0,31$ mm) cuando fue comparado con T2 ($5,0 \pm 0,1$ mm; $P < 0,01$), pero esa diferencia no fue significativa en la emergencia del folículo de mayor tamaño durante la fase de crecimiento de las ondas foliculares. La duración de la fase estática en la onda 2 fue diferente entre los dos tratamientos ($P < 0,05$) presentando $0,83 \pm 0,31$ y $1,83 \pm 0,17$ días, para el ciclo natural y sincronizado, respectivamente. La tasa de crecimiento folicular no difirió entre los tratamientos. La presencia de nuevo tejido luteal fue observada a partir del tercer día después de la ovulación. En conclusión, el desarrollo folicular fue similar en hembras ovinas con ciclo estral natural e inducido con PG.

Palabras clave: Folículos, estro, prostaglandinas, sincronización.

ABSTRACT

The follicular development was evaluated in ovine females during natural and prostaglandin- $F_{2\alpha}$ (PG) induced estrous cycle. Ewes were randomly divided in two treatments (n=7/treatment): T1 with natural cycle and T2 synchronized with two injections of PG. From one day before PG injection until next ovulation, daily transrectal ultrasonography was done. All follicles ≥ 2 mm were assessed. During the interovulatory intervals, follicular growth and regression occurred in a wave like pattern (2-3 waves). The maximum diameter of the largest follicle of the first wave was greater in T1 (5.83 ± 0.31 mm) compared with T2 (5.0 ± 0.1 mm; $P < 0.01$), but there was no significant difference among the emergency day of largest follicle, during the growth phase of the follicular waves. The duration of the plateau phase in wave 2 differed between the two treatments ($P < 0.05$) showing 0.83 ± 0.31 and 1.83 ± 0.17 d, for natural and synchronized treatment, respectively. Growth rate did not differ between treatments. Presence of new luteal tissue was detected on day 3 after ovulation. In conclusion, the follicular development was similar in female ovine during natural and PG induced estrous cycle.

Key words: Follicles, estrous, prostaglandins, synchronization.

INTRODUCCIÓN

En la especie ovina (*Ovis aries*), el conocimiento de los mecanismos que regulan la dinámica folicular ha recibido especial atención en los últimos tiempos debido, principalmente, a dos razones. La primera, es el interés en el mejoramiento de la fertilidad, con la sincronización del estro, que permite una mayor precisión del momento de la ovulación, y con el aumen-

to de la respuesta superovulatoria, mediante la administración de gonadotrofinas exógenas [19, 20]. La segunda razón es que la hembra ovina (*Bos taurus-Bos indicus*) es un excelente modelo experimental para el estudio del reclutamiento, la selección y la dominancia folicular, debido a las diferentes tasas de ovulación y los altos índices de prolificidad que presentan las distintas razas y variedades genéticas [19, 20].

Los tratamientos hormonales para el control del estro permiten inducir y sincronizar el momento de la aparición del estro y de la ovulación en hembras cíclicas [1]. La sincronización del estro incrementa la cantidad de folículos reclutados, además de aumentar el diámetro máximo y la tasa de crecimiento de los folículos grandes en la primera onda folicular [31]. Una alternativa para la sincronización del estro es el uso de la prostaglandina $F_{2\alpha}$ (PG), factor luteolítico que provoca la regresión del cuerpo lúteo, interrumpiendo la fase progestacional del ciclo estral [2, 16] e iniciando por tanto, un nuevo ciclo en muchas especies, incluidas la bovina (*Bos taurus-indicus*), ovina y caprina (*Capra hircus*) [11]. González-Bulnes y col. [15], proponen que la inducción de la luteólisis durante el ciclo estral natural puede ser usada como método para la sincronización del estro en técnicas de asistencia reproductiva en ovejas.

El uso de la ecografía como instrumento de investigación ha proporcionado a partir de la última década, un significativo cambio en los conceptos vigentes sobre la fisiología ovárica y particularmente, sobre uno de sus aspectos más importantes, la dinámica folicular. Una onda folicular es caracterizada por el crecimiento sincrónico de un grupo de folículos (emergencia), que inicialmente, aumenta en tamaño durante una fase de crecimiento común y subsecuentemente, se diferencia en un solo folículo dominante que continúa creciendo, al mismo tiempo que, múltiples folículos subordinados cesan el crecimiento durante una fase estática [9, 23].

El desarrollo de métodos más efectivos para inducir el estro y la ovulación y para manipular la tasa de ovulación, dependerán de un mejor entendimiento de los mecanismos responsables del desarrollo y diferenciación folicular [28]. En la actualidad, para la especie ovina, se desconoce el mecanismo que regula el número de ondas del ciclo estral. En este sentido, Seekallu y col. [29] concluyeron que, no hay características foliculares o endocrinas que puedan explicar la regulación del número de ondas foliculares (tres vs. cuatro) durante ciclos estrales de similar duración. Sin embargo, en vacas, la duración de la fase luteal parece determinar el número de ondas durante el ciclo. Así, los ciclos con tres ondas de crecimiento presentaron fases luteales más largas que ciclos mostrando dos ondas foliculares [12].

Se sabe actualmente que, la tasa de ovulación en una hembra de cualquier especie doméstica está relacionada con el número de folículos que desarrolla hasta alcanzar el estado preovulatorio. Este número, a su vez, está condicionado por la influencia de las hormonas del eje endocrino hipófisis-ovario y

por las relaciones intraováricas entre folículos, que determinan su dinámica de crecimiento y regresión [14]. El objetivo del presente trabajo fue estudiar el desarrollo folicular durante el ciclo estral natural e inducido con PG en ovejas Bergamacia durante la estación reproductiva.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo experimental fue desarrollado en el Departamento de Reproducción Animal y Radiología Veterinaria de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia/UNESP-Botucatu, Sao Paulo, Brasil. El municipio de Botucatu se localiza a 22°31' LS y 48°15' LO, en altitud de 804 m [5]. El clima es clasificado como tropical de altitud [25], con temperatura media de 20,7°C y precipitación pluviométrica anual de 1.358,6 mm [5]. Durante la estación reproductiva fueron utilizadas 14 hembras ovinas, pertenecientes a la raza Bergamacia, con peso corporal de 60,42 ± 8,16 kg y con edades comprendidas entre los dos a cinco años, clínica, sanitaria y reproductivamente aptas. Los animales permanecieron en corrales individuales de 3x3 m, con luminosidad natural, siendo introducido un macho vasectomizado para la detección del estro, con observación dos veces por día. Las hembras ovinas fueron sometidas a un período pre-experimental de cuatro meses, para adaptación a la alimentación, y a la estabulación, siendo pesadas y distribuidas en los grupos experimentales.

La alimentación consistió en 1 Kg/animal/día de concentrado (13,28% de proteína bruta y 8,99% de fibra bruta) y 2 Kg/cabeza/día de heno de *Cynodon dactylon* (L.) Pers. cv "Coast Cross" (4,98% de proteína bruta y 35,88% de fibra bruta, en la materia seca), con disponibilidad *ad libitum* de mezcla mineral y agua.

Los animales fueron distribuidos al azar en dos tratamientos: tratamiento 1, control (n = 7) presentando estro natural; tratamiento 2, sincronizado (n = 7), sometido a dos dosis de un análogo de PG (125 µg; Ciosin®, Mallinckrodt Veterinary, São Paulo, Brasil) con intervalo de 7 días, durante la mitad de la fase luteal, para la sincronización del estro. Desde el día anterior a la aplicación de la PG, hasta la siguiente ovulación (período interovulatorio), las ovejas se monitorearon por medio de ecógrafo transrectal (SSD-500; Aloka Co. Ltda, Japón) utilizando un transductor lineal prostático humano de 7,5 Mhz (Modelo UST-660-7,5; Aloka Co. Ltda, Japón). Por vía transrectal, las imágenes ecográficas fueron grabadas en video (Panasonic NV-SD 425, Japón); una serie de diagramas diseñados en cuanto a la posición del folículo de mayor tamaño, permitieron la identificación en los días sucesivos.

El día de la ovulación (día cero) fue definido como el momento de desaparición del folículo mayor (≥ 5 mm) [3]. Todos los folículos ≥ 2 mm fueron monitoreados y mapeados diariamente. Para el análisis del día de emergencia folicular, sólo fueron incluidos los folículos que alcanzaron por lo menos 4 mm de diámetro [22, 26], e identificados en un mínimo de cua-

tro días, presentando un crecimiento promedio de 1 mm/día [24]. Una onda folicular fue definida como uno o más folículos en crecimiento con 3 a 5 mm; la primera onda después de la ovulación fue la onda 1 [13].

La duración del crecimiento fue definido como el número de días entre la primera medición del folículo mayor y el día en que el mismo cesa su crecimiento progresivo [32]. El día del diámetro máximo fue registrado cuando uno de los folículos alcanzó su mayor diámetro [33]. La tasa de crecimiento folicular resultó del diámetro mayor alcanzado por el folículo más grande, menos el menor diámetro detectable por ecografía, dividido entre la duración del crecimiento en días [32]. El número de días que el folículo mantuvo su diámetro máximo, fue definido como la fase estática [32]. El día del inicio de la regresión (atresia) se identificó como el último día de la fase estática (plato), a partir del cual el folículo mayor inicia una disminución progresiva en su diámetro [32].

El test no paramétrico de Wilcoxon-Mann-Whitney [27] fue utilizado para las variables del folículo de mayor tamaño durante las ondas foliculares: 1) día de emergencia; 2) día del diámetro máximo; 3) diámetro máximo; 4) días en la fase estática; y 5) día de regresión. Para el análisis de la tasa de crecimiento se utilizó ANOVA y, las medias, fueron comparadas por el test F. Para los efectos fijos (tratamiento, día, tratamiento x día) se utilizó el test F, y para las comparaciones múltiples de las medias el test de Tukey-Kramer [17].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se excluyó una oveja del tratamiento 2 por haber presentado un cuerpo lúteo (CL) de vida corta. En todas las hembras ovinas fue observado, a través de ecografía, por lo menos un CL en la mitad de la fase luteal, que sufrió regresión en respuesta a la dosis luteolítica del análogo de PG (cloprostenol) en el grupo sincronizado. La ovulación ocurrió 24 a 36 horas después de la manifestación del estro en todos los animales. Cuando fueron considerados los folículos con el diámetro máximo (> 5 mm), se observaron dos ondas (una oveja) y tres ondas (12 ovejas) de crecimiento folicular durante el período interovulatorio, resultados semejantes a los reportes previos

obtenidos por otros autores [6, 9], pero diferentes a los citados en cabras [10, 21]. En la oveja que presentó sólo dos ondas de crecimiento folicular, fueron observados dos momentos de emergencia en los días uno y 10, para las ondas uno y dos, respectivamente. Las variables referentes al folículo dominante son presentadas en la TABLA I.

El día de emergencia de la primera, segunda y tercera ondas foliculares no fue diferente entre los tratamientos. El diámetro máximo del folículo mayor de la primera onda fue superior en T1 (5,83 ± 0,31 mm) cuando fue comparado con T2 (5,0 ± 0,1 mm; P<0,01), pero esa diferencia no fue significativa en la emergencia del folículo de mayor tamaño durante la fase de crecimiento de las ondas foliculares. Tanto Barrett y col. [3] en ovejas sincronizadas con 500 UI de gonadotropina corionica equina (eCG) y esponjas de progesterona, como Evans y col. [9] en ovejas con dispositivo intravaginal de progesterona y Uribe-Velásquez y col. [33] en hembras ovinas con luteólisis inducida con PG, reportaron un diámetro máximo del folículo mayor de 5,4 mm, en la primera onda folicular. En la presente investigación, el menor diámetro alcanzado por el folículo grande en la primera onda del ciclo sincronizado, se podría deber a que este folículo no había adquirido el tamaño adecuado al momento de la regresión luteal inducida por la PG.

Los días plato solamente mostraron diferencia significativa en la onda dos (P<0,05), con valores para los ciclos natural y sincronizado de 0,83 ± 0,31 y 1,83 ± 0,17, respectivamente. En hembras ovinas Bergamacia sincronizadas con dos dosis de PG, se reportaron 1,86 ± 0,26 días plato en la primera onda folicular [33].

La tasa de crecimiento no mostró diferencias significativas dentro de las ondas de desarrollo folicular. Los resultados observados para la tasa de crecimiento están de acuerdo con aquellos obtenidos en hembras ovinas [9, 18, 24, 30]. Los valores para tasa de crecimiento folicular de 0,9 a 1,7 mm/día, han sido determinados en diferentes razas ovinas por Castonguay y col. [4]. Sin embargo, las tasas verificadas en la presente investigación, fueron menores a aquellas encontradas por Driancourt y Cahill [7], quienes constataron una tasa de crecimiento de 1,6 ± 0,6 mm/día en los folículos durante la fase folicular, monitoreados por laparotomía, en ovejas sincro-

TABLA I

CARACTERÍSTICAS DEL CRECIMIENTO FOLICULAR DURANTE EL CICLO ESTRAL NATURAL E INDUCIDO CON PG EN OVEJAS/ CHARACTERISTICS OF FOLLICULAR GROWTH DURING NATURAL AND PG INDUCED ESTROUS CYCLE IN EWES.

Variables	Onda 1		Onda 2		Onda 3	
	Ciclo inducido	Ciclo natural	Ciclo inducido	Ciclo natural	Ciclo inducido	Ciclo natural
Día de emergencia	0,66 ± 0,33a	0,33 ± 0,4a	6,33 ± 0,21a	6,67 ± 0,71a	9,83 ± 0,31	8,67 ± 0,67a
Día del diámetro máximo	5,83 ± 0,40a	5,67 ± 0,33a	11,00 ± 0,45a	10,33 ± 0,71a	14,83 ± 0,17a	14,86 ± 0,17a
Diámetro máximo (mm)	5,0 ± 0,1a	5,83 ± 0,31b	4,5 ± 0,18a	4,42 ± 0,15a	5,08 ± 0,24a	5,42 ± 0,30a
Días del plato	1,5 ± 0,22a	1,83 ± 0,31a	1,83 ± 0,17c	0,83 ± 0,31d	1,83 ± 0,17a	1,33 ± 0,21a
Tasa de crecimiento (mm/día)	0,99 ± 0,06a	0,88 ± 0,05a	0,98 ± 0,08a	1,14 ± 0,08a	1,06 ± 0,11a	1,0 ± 0,12a

Letras diferentes en las líneas dentro de cada onda folicular presentan diferencias estadísticamente significativas a vs b (P<0,01); y c vs d (P<0,05).

nizadas con PG. El folículo mayor aumenta su fase de crecimiento para alcanzar su diámetro máximo, fenómeno que puede ocasionar cambios en el fluido folicular, comprometiendo el desarrollo de los oocitos en el final del ciclo. En hembras bovinas, es posible constatar un mayor intervalo interovulatorio como consecuencia del aumento de la fase de crecimiento del folículo dominante [8].

CONCLUSIONES

A pesar de las diferencias encontradas entre los tratamientos, en las variables relacionadas con el diámetro del folículo mayor (primera onda) y la duración de la fase estática (segunda onda), se concluye que, el desarrollo folicular es semejante en hembras ovinas durante el ciclo estral natural e inducido con PG. El menor diámetro alcanzado por el folículo grande en la primera onda del ciclo sincronizado se podría deber a que este folículo, no había adquirido el tamaño adecuado al momento de la regresión luteal inducida por la PG.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] AISEN, E.G. Reproducción ovina y caprina. Capítulo 7. En: Figuerêdo, V., Rubianes, E. (Eds) **Preparación de las hembras. Detección y control del estro y la ovulación**, 1ª Ed. Inter-Médica S.A.I.C.I., Buenos Aires, Pp 87-98. 2004.
- [2] AMIRIDIS, G.S.; VALASI, I.; MENEGATOS, I. Luteal stage dependence of pituitary response to gonadotrophin-releasing hormone in cyclic dairy ewes subjected to synchronization of ovulation. **Reprod. Fert. Dev.** 17:769-774. 2005.
- [3] BARRETT, D.M.W.; BARTLEWSKI, P.M.; BATISTA-ARTEAGA, M.; SYMINGTON, A.; RAWLINGS, N.C. 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. **Theriogenol.** 61:311-327. 2004.
- [4] CASTONGUAY, F.; DUFOUR, J.J.; MINVIELLE, F.; ESTRADA, R. Follicular dynamics and dominance in Boorola x Finnish Landrace and Boorola x Suffolk ewes heterozygous for the F gene. **Reprod. Fert. Dev.** 89: 193-203. 1990.
- [5] CENTRO DE PESQUISAS METEOROLÓGICAS E CLIMÁTICAS APLICADAS À AGRICULTURA (CEPAGRI). Clima dos Municípios Paulistas. 2010. En línea. [Http://www.cpa.unicamp.br/outras-informacoes/clima_muni_086.html](http://www.cpa.unicamp.br/outras-informacoes/clima_muni_086.html). 15.02.2010.
- [6] CONTRERAS-SOLIS, I.; DÍAZ, T.; LÓPEZ, G.; CAIGUA, A.; LÓPEZ-SEBASTIÁN, A.; GONZÁLEZ-BULNES, A. Systemic and intraovarian effects of corpus luteum on follicular dynamics during estrous cycle in hair breed sheep. **Anim. Reprod. Sci.** 104:47-55. 2008.
- [7] DRIANCOURT, M.A.; CAHILL, L.P. Preovulatory follicular events in sheep. **J. Reprod. Fert.** 71:205-211. 1984.
- [8] DUCHENS, M.; GUSTAFSSON, H.; RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ, H.; FORSBERG, M.; EDQVIST, L.E. Effect of induced suprabaasal progesterone concentrations on follicular dynamics in heifers. **Reprod. Dom. Anim.** 29:315-325. 1994.
- [9] EVANS, A.C.O.; DUFFY, P.; HYNES, N.; BOLAND, M.P. Waves of follicle development during the estrous cycle in sheep. **Theriogenol.** 53:699-715. 2000.
- [10] FILHO, F.T.; SANTOS, M.H.B.; CARRAZZONI, P.G.; PAULA-LOPES, F.F.; NEVES, J.P.; BARTOLOMEU, C.C.; LIMA, P.F.; OLIVEIRA, M.A.L. Follicular dynamics in Anglo-Nubian goats using transrectal and transvaginal ultrasound. **Small Rumin. Res.** 72:51-56. 2007.
- [11] GINTHER, O.J.; ARAUJO, R.R.; PALHÃO, M.P.; RODRÍGUES, B.L.; BEG, M.A. Necessity of sequential pulses of prostaglandin F₂alpha for complete physiologic luteolysis in cattle. **Biol. Reprod.** 80:641-648. 2009.
- [12] GINTHER, O.J.; KNOPF, L.; KASTELIC, J.P. Temporal associations among events in cattle during oestrus cycle with two or three follicular waves. **J. Reprod. Fert.** 87:223-230. 1989.
- [13] GINTHER, O.J.; KOT, K.; WILTBANK, M.C. Associations between emergence of follicular waves and fluctuations in FSH concentrations during the estrous cycle in ewes. **Theriogenol.** 43:689-703. 1995.
- [14] GONZÁLEZ-BULNES, A.; MORENO, J.S.; GARCÍA, L.M.; GÓMEZ, B.A.; LÓPEZ, S.A. Observación del ovario en la oveja y eficacia en la detección de folículos y cuerpos lúteos mediante ecografía transrectal. **Invest. Agrar. Prod. Sanid. Anim.** 9:319-329. 1994.
- [15] GONZÁLEZ-BULNES, A.; VEIGA-LÓPEZ, A.; GARCÍA, P.; GARCÍA-GARCÍA, R.M.; ARIZNAVARRETA, C.; SÁNCHEZ, M.A.; TRESGUERRES, J.A.F.; COCERO, M.J.; FLORES, J.M. Effects of progestagens and prostaglandin analogues on ovarian function and embryo viability in sheep. **Theriogenol.** 63:2523-2534. 2005.
- [16] HERRERA, H.L.; FELDMAN, S.D.; ZARCO, Q.L. Evaluación del efecto luteolítico de la prostaglandina F₂ alfa en diferentes días del ciclo estral de la borrega. **Vet. Mex.** 21:143-147. 1990.
- [17] LATOUR, D.; LITTELL, R. Advanced general linear models with an emphasis on mixed models. Cary: Statistical Analysis System Institute. Version 6.12. 268 pp. 1996.
- [18] LEYVA, V.; BUCKRELL, B.C.; WALTON, J.S. Regulation of follicular activity and ovulation in ewes by exogenous progestagen. **Theriogenol.** 50:395-416. 1998.

- [19] LUCY, M.C.; SAVIO, J.D.; BADINGA, L.; DE LA SOTA, R.L.; THATCHER, W.W. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. **J. Anim. Sci.** 70:3615-3626. 1992.
- [20] McNATTY, K.P.; HENDERSON, K.M.; LUN, S.; HEATH, D.A.; BALL, K.; HUDSON, N.L.; FANNIN, J.; GIBB, M.; KIEBOOM, L.E.; SMITH, P. Ovarian activity in Booroola x Romney ewes which have a major gene influencing their ovulation rate. **J. Reprod. Fertil.** 73:109-120. 1985.
- [21] MEDAN, M.S.; WATANABE, G.; SASAKI, K.; GROOME, N.P.; SHARAWY, S.; TAYA, K. Follicular and hormonal dynamics during the estrous cycle in goats. **J. Reprod. Dev.** 51:455-463. 2005.
- [22] MENCHACA, A.; RUBIANES, E. Effect of high progesterone concentrations during the early luteal phase in the length of the ovulatory cycle goats. **Anim. Reprod. Sci.** 68:69-76. 2001.
- [23] PETER, A.T.; LEVINE, H.; DROST, M.; BERGFELT, D.R. Compilation of classical and contemporary terminology used to describe morphological aspects of ovarian dynamics in cattle. **Theriogenol.** 71:1343-1357. 2009.
- [24] RAVINDRA, J.P.; RAWLINGS, N.C.; EVANS, A.C.O. Ultrasonographic study of ovarian follicular dynamics in ewes during the estrous cycle. **J. Reprod. Fertil.** 101:501-509. 1994.
- [25] ROSS, J.L.S. Geografia do Brasil. Capítulo 2. En: Conti, J.B., Furlan, S.A. (Eds) **Geoecologia: O Clima, os Solos e a Biota**, 5ª Ed. Editora da Universidade de São Paulo, São Paulo, Pp. 100-108. 2005.
- [26] RUBIANES, E.; MENCHACA, A.; CARBAJAL, B. Response of the 1-5 day-aged ovine corpus luteum to prostaglandin F₂alpha. **Anim. Reprod. Sci.** 78:47-55. 2003.
- [27] SAS INSTITUTE INC. The Life Test Procedure. SAS. Institute Inc (Ed). 5th. Ed. Statistics Version 5. Pp 530-558. 1985.
- [28] SCARAMUZZI, R.J.; ADAMS, N.R.; BAIRD, D.T.; CAMPBELL, B.K.; DOWNING, J.A.; FINDLAY, J.K.; HENDERSON, K.M.; MARTIN, G.B.; McNATTY, K.P.; MCNEILLY, A.S.; TSONIS, C.G. A model for follicle selection and the determination of ovulation rate in the ewe. **Reprod. Fertil. Dev.** 5:459-478. 1993.
- [29] SEEKALLU, S.V.; TOOSI, B.M.; DUGGAVATHI, R.; BARRETT, D.M.W.; DAVIES, K.L.; WALDNER, C.; RAWLINGS, N.C. Ovarian antral follicular dynamics in sheep revisited: Comparison among estrous cycles with three or four follicular waves. **Theriogenol.** 73:670-680. 2010.
- [30] URIBE-VELÁSQUEZ, L.F.; OBA, E.; LARA-HERRERA, L.C. Respostas endócrinas e ovarianas associadas com o folículo dominante da primeira onda folicular em ovelhas sincronizadas com CIDR ou PGF₂α. **Rev. Bras. Zoot.** 31 (2):944-953. 2002.
- [31] URIBE-VELÁSQUEZ, L.F.; OBA, E.; SOUZA, M.I.L. Población folicular y concentraciones plasmáticas de progesterona (P₄) en ovejas sometidas a diferentes protocolos de sincronización. **Arch. Med. Vet.** 40:83-88. 2008a.
- [32] URIBE-VELÁSQUEZ, L.F.; OBA, E.; SOUZA, M.I.L. Efeitos da progesterona exógena sobre o desenvolvimento folicular em ovelhas. **Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.** 60 (1):58-65. 2008b.
- [33] URIBE-VELÁSQUEZ, L.F.; SOUZA, M.I.L.; OSORIO, J.H. Origem e características do folículo pré ovulatório depois de luteólise induzida em diferentes estágios da fase luteal do ciclo estral em ovelhas. **Rev. Vet. Zoot.** 2(1):44-53. 2008c.