

SECREÇÃO DIÁRIA DE ESTRADIOL, PROGESTERONA E HORMÔNIO FOLÍCULO ESTIMULANTE (FSH) EM OVELHAS DURANTE O ANESTRO ESTACIONAL

Maria Inês Lenz Souza

Eunice Oba

Luis Fernando Uribe-Velásquez

Alcides de Amorim Ramos

SOUZA¹, M.I.L.; OBA², E.; URIBE-VELÁSQUEZ³; L.F.; RAMOS⁴, A.A. Secreção diária de estradiol, progesterona e hormônio folículo estimulante (FSH) em ovelhas durante o anestro estacional. *Arg. ciên. vet. zool. UNIPAR*, 5(1): p. 015-020, 2002.

RESUMO: As alterações produzidas na atividade hormonal pulsátil e a sensibilidade aos seus efeitos de *feed-back* negativos são os principais determinantes das modificações ocorridas durante o anestro em ovelhas. Seis ovelhas da raça Ideal foram estudadas para determinar a concentração de estradiol, progesterona e hormônio folículo estimulante (FSH), durante o anestro estacional. O sangue foi colhido por venopunção jugular a cada duas horas, durante 24 horas (12h até 10h do dia seguinte), no mês de agosto, na estação anestral. O plasma foi separado e estocado a -20°C até a determinação de estradiol, progesterona e FSH por radioimunoensaio. A concentração de progesterona foi basal, independentemente do momento de colheita ou do animal. O estradiol e o FSH mostraram correlação inversa, com curvas de comportamento linear crescente (estradiol) e decrescente (FSH). O período de 24 horas de colheita coincidiu com o momento fisiológico de aumento do estradiol e queda do FSH visto que, durante o anestro, a secreção de FSH é principalmente controlada pelo estradiol. A variação nos níveis plasmáticos de FSH durante o anestro foi semelhante às variações verificadas durante o ciclo estral, porém com valores mais baixos.

PALAVRAS-CHAVE: ovelhas, anestro, FSH, estradiol, progesterona

DAILY SECRETION OF PLASMA OESTRADIOL, PROGESTERONE AND FSH IN EWES DURING SEASONAL ANOESTRUS

SOUZA, M.I.L.; OBA, E.; URIBE-VELÁSQUEZ, L.F.; RAMOS, A.A. Daily secretion of plasma oestradiol, progesterone and FSH in ewes during seasonal anoestrus. *Arg. ciên. vet. zool. UNIPAR*, 5(1): p. 015-020, 2002.

ABSTRACT: The alterations produced in pulsatile hormone activity and sensitiveness to the negative feed-back effects, are the main determinant of the changes occurred during anoestrus in the ewe. Six Ideal ewes were studied to plasmatic concentrations of oestradiol, FSH and progesterone, during seasonal anoestrus. Blood was collect by jugular puncture every two hours for 24 hours (12h PM until 10h AM on the following morning) in august, seasonal anoestrus. Plasma was separated and stored at -20°C until radioimmunoassay. The progesterone concentration was basal independently of collection time or animal. Oestradiol and FSH showed inverse correlation as was verified by the linear behavior of crescent curves (oestradiol) and decrescent (FSH). The 24 hours period of collection coincided with the physiological moment of increase of oestradiol and fall of FSH since during anoestrus FSH secretion is mainly controlled by oestradiol. The variation in FSH plasma levels during anoestrus were similar to the changes seen during the oestrous cycle but with lower values.

KEY-WORDS: ewes, anoestrus, FSH, oestradiol, progesterone

1 Médica Veterinária, Doutora, Pesquisadora Associada do IPEAC, Brasil, mlenz@laser.com.br

2 Professora, Depto. de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, FMVZ/UNESP, Botucatu – SP – Brasil.

3 Bolsista de Pós-Doutoramento – FAPESP, FMVZ/UNESP, Botucatu – SP - Brasil

4 Professor, Depto. de Produção e Exploração Animal, FMVZ/UNESP, Botucatu – SP – Brasil.

SECRECIÓN DIARIA DE ESTRADIOL, PROGESTERONA Y FSH EN OVEJAS DURANTE EL ANESTRO ESTACIONAL

SOUZA, M.I.L.; OBA, E.; URIBE-VELÁSQUEZ, L.F.; RAMOS, A.A. Secreção diária de estradiol, progesterona FSH en ovejás durante el anestro estacional. *Arq. ciên. vet. zool. UNIPAR*, 5(1): p. 015-020, 2002.

RESUMEN: Las alteraciones producidas en la actividad hormonal pulsátil y la sensibilidad a los efectos de *feed-back* negativos, son los principales determinantes de las modificaciones ocurridas durante el anestro en ovejás. Seis ovejás de la raza Ideal fueron estudiadas para la determinación de concentraciones de estradiol, FSH y progesterona durante el anestro sazonal. La colecta de sangre fue realizada por venopunción yugular cada dos horas, por 24 horas (12h PM hasta las 10h AM del día siguiente), en agosto, en la estación anestral. El plasma fue separado y almacenado a -20°C hasta la determinación de estradiol, progesterona y FSH por radioinmunoensayo. La concentración de progesterona fué basal, independientemente del momento de la colecta o del animal. Estradiol y FSH mostraron correlación inversa, con curvas de comportamiento lineal creciente (estradiol) y decreciente (FSH). El período de 24 horas de colecta coincidió con el momento fisiológico de aumento de estradiol y queda del FSH, siendo que, durante el anestro, la secreción de FSH es principalmente controlada por el estradiol. La variación en los niveles plasmáticos de FSH durante el anestro fue semejante a las variaciones observadas durante el ciclo estral, solamente con valores más bajos.

PALABRAS-CLAVE: ovejás, anestro, FSH, estradiol, progesterona

Introdução

Na maioria dos mamíferos, a duração do anestro pós-parto ou o intervalo entre o parto e a primeira ovulação constitui relevante importância na reprodução, repercutindo no desempenho reprodutivo das espécies. Vários fatores como genética, meio ambiente e manejo atuam sobre a duração destes períodos (GOMEZ-BRUNET *et al.*, 1992). Na ovelha, associado ao anestro pós-parto, inclui-se o anestro estacional, pois o seu modelo de atividade reprodutiva é, principalmente, determinado por modificações na duração do dia. Durante o anestro, o efeito inibitório das gônadas femininas ocorre sob a ação de *feed-back* negativo dos esteróides, estradiol e progesterona, inibindo a liberação de gonadotrofinas hipofisárias (FSH e LH). Este evento neuroendócrino governa a reprodução estacional, e deve-se ao fotoperíodo (SCARAMUZZI & BAIRD, 1977; GOODMAN & KARSCH, 1980; WEBSTER & HARESIGN, 1983; RUBIANES, 2000).

O anestro está associado a uma sensibilidade aumentada ao *feed-back* negativo do estradiol secretado pelo maior folículo não atrésico e à queda na progesterona, pela ausência do corpo lúteo (BAIRD *et al.*, 1976; SCARAMUZZI & BAIRD, 1977; LEGAN & KARSCH, 1979; WEBSTER & HARESIGN, 1983; RUBIANES,

2000). Durante a estação anestral, a hipófise contém quantidades elevadas de FSH e LH; os ovários contêm pequeno número de grandes folículos, mas não há corpos lúteos e, conseqüentemente, os níveis de progesterona são baixos, ou seja, basais (FIELDEN, 1986). Um declínio significativo da sensibilidade folicular ovariana às gonadotrofinas circulantes pode ocorrer no início do anestro, em ovelhas (BARTLEWSKI *et al.*, 2000).

O FSH, responsável pelo crescimento e maturação folicular apresenta uma secreção pulsátil na ovelha. As variações nas concentrações plasmáticas de FSH, durante o anestro e a transição para a estação reprodutiva, ocorrem de forma semelhante àquela seqüência apresentada ao longo do ciclo estral (EVANS & MAXWELL, 1987; SCHIRAR *et al.*, 1990). Na estação reprodutiva, a concentração média de FSH foi de 117 ± 8 ng/mL, no experimento de McNATTY *et al.* (1984), significativamente inferior àquela da estação anestral (158 ± 16 ng/mL). Estes autores citam que a variação para cada animal, em 9 horas de dosagens, foi menor que 20%, enquanto que a variação mensal entre animais chegou a 300%.

A secreção de FSH requer estimulação mínima de fatores liberadores de gonadotrofinas (GnRH) e é, principalmente, controlada pelos efeitos de *feed-back* negativos de esteróides e

peptídeos, especialmente a inhibina (SCHIRAR *et al.*, 1990; BARATTA *et al.*, 2001). As concentrações plasmáticas de FSH exibem marcantes flutuações diárias durante o anestro e a estação reprodutiva, confirmadas pelos achados de WALTON *et al.* (1980), cujas concentrações médias variaram de 50-80ng/mL, no período de 24 horas, na metade do anestro. O FSH (e também o LH) parecem ser produzidos por um único tipo celular na hipófise anterior, com sua regulação relacionada às respostas intracelulares diferentes aos vários estímulos, principalmente ao estradiol, mediado por fatores intra-hipofisários, tais como a folistatina e a ativina (BARATTA *et al.*, 2001).

No anestro estacional da ovelha, há uma desorganização da capacidade funcional do sistema hipotálamo-hipófise-ovários, não havendo ovulação e estro. Porém, alguns mecanismos hormonais deste sistema não parecem ser afetados, uma vez que continuam ocorrendo normalmente durante o período de inatividade sexual (AGUADÉ, 1983). O crescimento de folículos antrais ovarianos, em ovelhas Finn no anestro estacional, até aos tamanhos periovulatórios de 5mm ou mais, foi observado por BARTLEWSKI *et al.* (2000), em todos os estágios do anestro, com as ondas de emergência periódicas correlacionadas a um ritmo endógeno de secreção de FSH.

O grau de inatividade dos ovários pode ser medido através dos níveis periféricos de progesterona, sendo os mesmos inferiores a 0,5ng/mL (ABELLA, 1986). Estes mesmos valores já haviam sido encontrados no trabalho de YUTHASASTRAKOSOL *et al.* (1977) com ovelhas em anestro. Anteriormente, YUTHASASTRAKOSOL *et al.* (1975) haviam detectado valores de progesterona que variaram de 0,10±0,01ng/mL no dia -25 do anestro até 4,28±1,27ng/mL no dia -5 do anestro, comparados com valores que oscilaram de 0,25±0,05ng/mL a 5,67±0,94ng/mL durante o ciclo estral.

EZZO & SHALABY (1990), avaliando a progesterona no sangue de ovelhas, entre 2-5 semanas pós-parto, observaram 0,12ng/mL. Após

4-42 dias do parto, KRAJNICKAKOWA *et al.* (1992) verificaram níveis de progesterona de 0,037-0,080nmol/L, enquanto que, aos 51 dias pós-parto, os níveis foram de 0,013nmol/L.

Na quantificação dos níveis de estradiol em ovelhas, YUTHASASTRAKOSOL *et al.* (1975) encontraram 4,40±0,1pg/mL no anestro, em comparação aos valores de até 13,3±0,7pg/mL durante o ciclo estral. Já SCARAMUZZI & BAIRD (1977) determinaram os valores de estradiol 3 meses após o último cio da estação, e bem antes do início da próxima, obtendo taxas de secreção basal de 0,53-1,27ng/min., considerando-se o período completo de colheitas.

Entre 4 e 42 dias pós-parto, os níveis de estradiol variaram de 0,09-0,25nmol/L e, aos 51 dias pós-parto, foram de 0,20nmol/L, segundo os resultados de KRAJNICKAKOWA *et al.* (1992).

As alterações produzidas na atividade pulsátil, assim como na sensibilidade frente aos efeitos de *feed-back* negativo, são os principais determinantes das trocas ocorridas durante os períodos de transição entre o anestro e a atividade normal do ovário (ABELLA, 1986; RUBIANES, 2000).

O objetivo do presente experimento foi verificar os níveis de FSH, progesterona e estradiol em ovelhas desmamadas, no anestro estacional, durante um período de 24 horas de avaliação.

Material e Métodos

Durante a estação anestrál (agosto de 1995), foram utilizadas seis ovelhas da raça Ideal, com idade entre 4 e 5 anos, cujos cordeiros haviam sido previamente desmamados, pertencentes ao Departamento de Produção e Exploração Animal da UNESP-Botucatu.

O sangue foi colhido por venopunção jugular, em tubo heparinizado, a cada duas horas, por um período de 24 horas (colheita 1 - às 12 horas PM/colheita 12 - às 10 horas AM do dia seguinte). Os animais foram cateterizados e, após cada colheita, injetou-se heparina diluída em solução fisiológica (1:500) no cateter⁴, para evitar-se a coagulação sanguínea no mesmo.

4 Cateter intravenoso Teflon FEP A-Cath TecnoBio. Rua Estela B. Morato, 336 - São Paulo - SP - 02722-000.

5 FSH, CIS-bio internacional - ORIS Group - B.P. 32 - F91192 - GIF-SUR-YETTE CEDEX - France.

6 Progesterona, CIS-bio internacional - ORIS Group - B.P. 32 - F91192 - GIF-SUR-YETTE CEDEX - France.

7 Coat-A-Count Estradiol Fase Sólida - DPC - Los Angeles. CA 90045.

Posteriormente, o sangue colhido foi centrifugado por 15 minutos (4250 rpm) e o plasma dividido em alíquotas e estocado a -20°C até o momento da dosagem. Esta, foi realizada por radioimunoensaio (RIA), utilizando-se kits comerciais para o FSH⁶, para a progesterona⁷ e para o estradiol⁸.

Para a análise estatística utilizou-se a decomposição do tempo de colheita dos dados em polinômios não ortogonais, com o objetivo de conhecer a tendência ou o comportamento das concentrações de FSH, progesterona e estradiol no período em estudo. Para progesterona e FSH, os dados foram transformados através da adição de 0,5 e extração da raiz quadrada, para separar os efeitos de animais e de momentos. Os dados foram analisados por ANOVA, utilizando-se o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ij} = m + A_i + M_j + E_{ij}$$

Y_{ij} = valores observados na parcela do animal i na colheita j

m = média da população

A_i = efeito do animal i aplicado na parcela

M_j = efeito da colheita j aplicada na parcela

E_{ij} = efeito dos fatores não controlados na parcela.

Resultados e Discussão

Os níveis médios de estradiol e FSH, com suas respectivas curvas, durante o período de 24 horas (12 colheitas), estão representados nas figuras 1 e 2, respectivamente. Pelo resumo da análise de variância, verifica-se que os níveis de FSH apresentaram efeito significativo para as variáveis animal e momento de colheita ($p < 0,05$), conforme a Tabela 1. A análise de variância dos níveis de estradiol sofreu efeito significativo ($p < 0,05$) para momentos de colheita, e verificou-se um comportamento linear ($p < 0,01$). Para a concentração de raiz de FSH+0,5 houve efeito linear significativo para animal.

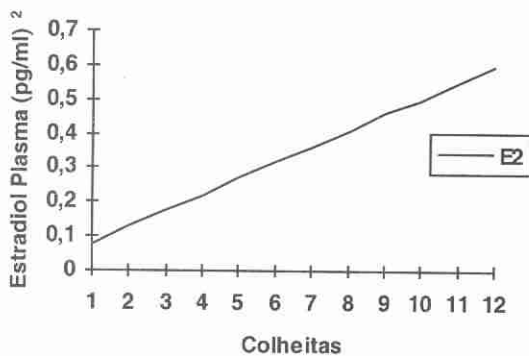


Figura 1 - Concentrações plasmáticas de estradiol (pg/mL) em 24 horas de avaliação em ovelhas durante o anestro estacional ($\hat{y} = 0,3443 + 0,0465(X - 6,5)$; $r^2 = 68,32$; $p < 0,0001$)

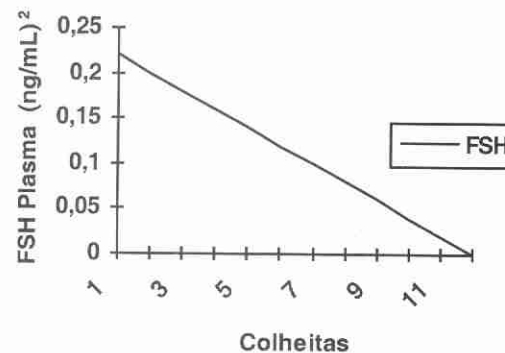


Figura 2 - Concentrações plasmáticas de FSH (ng/mL) em 24 horas de avaliação em ovelhas durante o anestro estacional ($\hat{y} = 0,7299 - 0,0109(X - 6,5)$; $r^2 = 56,59$; $p < 0,02$)

Tabela 1 - Análise de variância dos níveis de estradiol (pg/mL), raiz quadrada de progesterona (ng/mL) e raiz quadrada de FSH (mUI/mL) no plasma de ovelhas. Botucatu, SP, 1995

Causas de variação	GL	QM Estradiol	QM $\sqrt{\text{Progesterona} + 0,5}$	QM $\sqrt{\text{FSH} + 0,5}$
Animal	5	0,0526	0,0011	0,0492**
Momento	11	0,2472*	0,0007	0,0163
Linear	1	1,8582**	0,0060	0,0778
Erro	55	0,1089	0,0007	0,0098

* $p < 0,05$ e ** $p < 0,01$

A progesterona apresentou-se em níveis basais, independentemente do momento da colheita ou da variação do animal e sem comportamento linear, como era esperado para animais em anestro estacional, ou seja, na ausência de corpo lúteo amplamente funcional, corroborando com as afirmações de SCARAMUZZI & BAIRD (1977) e GOODMAN & KARSCH (1980). A manutenção de concentrações séricas baixas de progesterona, podendo detectar algumas elevações esporádicas acima dos níveis basais, durante o anestro, é reportada por BARTLEWSKI *et al.* (2000). Ainda estes autores verificaram a presença de uma relação temporal entre elevações rítmicas nas concentrações circulantes de progesterona e o final da fase de ondas de crescimento dos grandes folículos ovarianos. Este fato não ficou evidenciado no presente experimento, podendo resultar da coincidência das colheitas de sangue com o momento de crescimento folicular, visto que o FSH e o estradiol apresentaram comportamento condizente com este período.

O estradiol e o FSH demonstraram correlação inversa, como pode ser verificado pelas curvas com comportamento linear crescente ($\hat{y} = 0,3443 + 0,0465 (X - 6,5)$; $r^2 = 68,32$; $p < 0,0001$) e decrescente, ($\hat{y} = 0,7299 - 0,0109 (X - 6,5)$; $r^2 = 56,59$; $p < 0,02$), respectivamente, ou seja, à medida em que o estradiol aumentava, o FSH reduzia-se. Cultivando células hipofisárias ovinas com estradiol, BARATTA *et al.* (2001) observaram redução na secreção de FSH, concluindo que a secreção de gonadotrofinas pode ser induzida pelo estradiol, atuando diretamente ao nível hipofisário, indiretamente mediado pela ativina. O período de colheitas (24 horas) coincidiu com o momento fisiológico de aumento do estradiol e inibição do FSH, uma vez que, este último, tem sua secreção controlada pelos efeitos *feed-back* negativos de esteróides e peptídeos, de acordo com ABELLA (1986), SCHIRAR *et al.* (1990), RUBIANES (2000) e BARATTA *et al.* (2001). Estas curvas inversas podem ser explicadas pela manutenção do efeito *feed-back* negativo do estradiol sobre as gonadotrofinas porque, durante o período de anestro, os órgãos reprodutivos da ovelha não permanecem em repouso, e a maior parte dos elementos essenciais do eixo hipotálamo-hipófise-ovário mantém-se funcional. Os folículos ovarianos

desenvolvem-se, produzem esteróides e são capazes de ovular; os hormônios gonadotróficos são secretados e os efeitos de *feed-back* positivo e negativo dos esteróides ovarianos sobre a secreção de gonadotrofinas são demonstráveis (RUBIANES, 2000), como pode ser observado nestes resultados. Porém, a interrupção de algumas etapas na seqüência pré-ovulatória impedem a ciclicidade estral (LEGAN & KARSCH, 1979). A secreção de FSH, segundo BARTLEWSKI *et al.* (2000), parece não ser pulsátil no anestro; aumentos episódicos nas concentrações médias deste hormônio continuam a ocorrer em intervalos relativamente regulares ao longo deste período.

Os níveis basais de progesterona foram semelhantes aqueles encontrados por YUTHASASTRAKOSOL *et al.* (1975), YUTHASASTRAKOSOL *et al.* (1977) e ABELLA (1986), em ovelhas em anestro e, também, aos valores verificados por EZZO & SHALABY (1990) e KRAJNICKAKOWA *et al.* (1992), com ovelhas desmamadas, seguidas de anestro.

As concentrações de FSH (Figura 2) foram muito menores que aquelas citadas por WALTON *et al.* (1980) e por McNATTY *et al.* (1984), o que pode ser devido ao comportamento linear decrescente, com valores basais, corroborando com as afirmações de ABELLA (1986) e SCHIRAR *et al.* (1990). A variação entre as colheitas foi pequena, à semelhança dos resultados de McNATTY *et al.* (1984), os quais citam ser menores que 20% em 9 horas de observações. Na ovelha, as concentrações sanguíneas de FSH variam durante o anestro e a transição para a estação reprodutiva, e isto ocorre de forma muito semelhante à variação apresentada durante o ciclo estral apenas com valores mais baixos, que não permitem a ciclicidade estral (EVANS & MAXWELL, 1987).

Os níveis de estradiol encontrados (em média 0,34pg/mL) aproximaram-se daqueles obtidos por SCARAMUZZI & BAIRD (1977), três meses após o último cio da estação. Contrariamente, os resultados de YUTHASASTRAKOSOL *et al.* (1975) foram muito mais elevados, associados aos altos níveis de LH durante o anestro, particularmente no dia – 24. Os autores sugerem que havia um incremento na sensibilidade, particularmente do hipotálamo ou

da hipófise, ao estrógeno, por causa de estímulos externos, como a diminuição da duração do dia neste momento.

Conclusões

Estes resultados demonstram que, durante a estação anestrual, em ovelhas, a hipófise contém quantidades de FSH suficientes para estimular os folículos ovarianos a desenvolverem-se e a produzirem estradiol. Ao mesmo tempo, na ausência de ovulações e, conseqüentemente, de corpos lúteos, a progesterona mantém-se em níveis basais durante este período.

Referências

- ABELLA, D.H.F. *Princípios de fisiologia reproductiva ovina*. Montevideo: Hemisferio Sur, 1986, 247p.
- AGUADÉ, P.J.J. Aspectos endocrinos en diversas fases reproductivas de las ovejas. 2. Anestro estacional. *Vet. Mex.*, v. 14, p. 253-40, 1983.
- BAIRD, D.T., SWANSTON, I., SCARAMUZZI, R.J. Pulsatile release of LH and of secretion ovarian steroids in sheep during the luteal phase of the estrous cycle. *Endocrinol.*, v. 98, p. 1490-6, 1976.
- BARATTA, M., WEST, L.A., TURZILLO, A.M., NETT, T.M. Activin modulates differential effects of estradiol on synthesis and secretion of follicle-stimulating hormone in ovine pituitary cells. *Biol. Reprod.*, v.64, p.714-9, 2001.
- BARTLEWSKI, P.M., VANDERPOL, J., BEARD, A.P., COOK, S.J., RAWLINGS, N.C. Ovarian antral follicular dynamics and their associations with peripheral concentrations of gonadotropins and ovarian steroids in anoestrous Finnish Landrace ewes. *Anim. Reprod. Sci.*, v.58, p.273-91, 2000.
- EVANS, G. & MAXWELL, W.M.C. *Salamon's artificial insemination of sheep and goats*. Sydney: Butterworths, 1987. 194p.
- EZZO, O.H. & SHALABY, S.I.A. Peripheral concentration of progesterone and cortisol in plasma of Barki ewes and Baladi goats during late pregnancy and post partum period. *Egyptian J. Vet. Sci.*, v. 27, p. 47-56, 1990.
- FIELDEN, E.D. Section ovine. In: MORROW, D.A. *Current therapy in theriogenology*. Philadelphia, W.B.Saunders Company, 1986. 574p.
- GOMEZ-BRUNET, A., LOPEZ SEBASTIAN, A., HERRANDO, E.M., *et al.* Function luteal y secrecion de LH durante el anoestro post-parto en ovejas Manchega: influencia de la epoca del parto y tipo de destete. *Invest. Agr. Prod. Sanid. Anim.*, v. 7, p. 169-83, 1992.
- GOODMAN, R.L. & KARSCH, F.J. Pulsatile secretion of luteinizing hormone: differential suppression by ovarian steroids. *Endocrinol.*, v. 107, p. 1286-90, 1980.
- KRAJNICKAKOWA, M., BEKEOVA, E., MARACEK, I., *et al.* Changes in the cytological picture of vaginal swabs and in ovarian hormones in the circulating blood during the puerperal period in ewes. *Veterinari Med.*, v. 37, p. 449-58, 1992.
- LEGAN, S.J. & KARSCH, F.J. Neuroendocrine regulation of the estrous cycle and seasonal breeding in the ewe. *Biol. Reprod.*, v. 20, p. 74-85, 1979.
- McNATTY, K.P., HUDSON, N.L., HENDERSON, K.M., *et al.* Changes in gonadotrophin secretion and ovarian antral follicular activity in seasonality breeding sheep throughout the year. *J. Reprod. Fert.*, v. 70, p. 309-21, 1984.
- RUBIANES, E. Nociones basicas de fisiologia reproductiva en cabras y ovejas. In: SIMPÓSIO SOBRE CONTROLE FARMACOLÓGICO DO CICLO ESTRAL EM RUMINANTES, 1, *Anais...* São Paulo: Fundação da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, USP, p.255-282, 2000.
- SCARAMUZZI, R.J. & BAIRD, D.T. Pulsatile release of luteinizing hormone and the secretion of ovarian steroids in sheep during anestrus. *Endocrinol.*, v. 101, p. 1801-6, 1977.
- SCHIRAR, A., COGNIÉ, Y., LOUAULT, F., *et al.* Resumption of gonadotrophin release during the post-partum period in suckling and non-suckling ewes. *J. Reprod. Fert.*, v. 88, p. 593-604, 1990.
- WALTON, J.S., EVINS, J.D., FITZGERALD, B.P., *et al.* Abrupt decrease in daylength and short-term changes in the plasma concentrations of FSH, LH and prolactin in anoestrous ewes. *J. Reprod. Fert.*, v. 59, p. 163-71, 1980.
- WEBSTER, G.M. & HARESIGN, W. Seasonal changes in LH and prolactin concentrations in ewes of two breeds. *J. Reprod. Fert.*, v. 67, p. 465-71, 1983.
- YUTHASASTRAKOSOL, P., PALMER, W.M., HOWLAND, B.E. Luteinizing hormone, oestrogen and progesterone levels in peripheral serum of anoestrous and cyclic ewes as determined by radioimmunoassay. *J. Reprod. Fert.*, v. 43, p. 57-65, 1975.
- YUTHASASTRAKOSOL, P., PALMER, W.M., HOWLAND, B.E. Release of LH in anoestrous and cyclic ewes. *J. Reprod. Fert.*, v. 50, p. 319-21, 1977.

Recebido para publicação em 02/12/00.
 Received for publication on 02 December 2000.
 Recibido para publicación en 02/12/00.
 Aceito para publicação em 02/07/01.
 Accepted for publication on 02 July 2001.
 Acepto para publicación en 02/07/01.