



Indução da ovulação em éguas: uma revisão

Induction of ovulation in mares: a review

Lidia Dutra Farias^{1,2}, Adriana Pires Neves¹, Sandra Mara da Encarnação Fiala Rechsteiner²,
Adriana Kroef Tarouco^{1,3,4}

¹Programa de Pós-Graduação em Produção Animal, Universidade Federal do Pampa, Dom Pedrito, RS, Brasil.

²Historep – Departamento de Morfologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil.

³Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária, Fepagro Campanha, Hulha Negra, RS, Brasil

⁴Correspondência: adriana-tarouco@fepagro.rs.gov.br

Resumo

O crescimento da indústria equina se deve, em parte, ao desenvolvimento e utilização de novas biotecnologias, necessárias para aumentar a eficiência reprodutiva e, conseqüentemente, os ganhos da produção. A grande variação na duração do estro e no intervalo entre seu início e ovulação na espécie equina, e a difícil competência da sua previsão pelos métodos de palpação e ultrassonografia, torna necessário o uso de procedimentos para estimar o momento desta com a finalidade de obtenção de taxas de concepção superiores. Neste sentido, a utilização de hormonioterapia para indução da ovulação permite a previsão do momento desta em um intervalo de tempo específico. Atualmente, os hormônios mais utilizados para tal fim são o análogo do Hormônio Liberador de Gonadotropina (GnRH) denominado Deslorelina, e a Gonadotrofina Coriônica Humana (hCG). O objetivo do presente estudo será abordar aspectos relacionados à utilização de hormônios na indução da ovulação em éguas.

Palavras-chave: equinos, hormonioterapia, manipulação, ovulação, programação, reprodução.

Abstract

The growth of the equine industry is due partially to the development and application of new biotechnologies, necessary to increase reproductive efficiency and, consequently, the production gains. The wide variation in estrus length and the interval between onset and ovulation in the equine species, and the difficult competency of the prediction of ovulation by methods of palpation and ultrasonography, makes it necessary to use procedures to estimate the time of ovulation with purpose of obtaining higher conception rates. In this sense, the use of hormone therapy for ovulation induction allows to predict the time in a specific time interval. Currently, the most used hormones with this purpose are the gonadotropin-releasing hormone (GnRH) analog called Deslorelin, and Human Chorionic Gonadotropin (hCG). The objective of this study is to discuss aspects related to the use of hormones in the induction of ovulation in mares.

Keywords: horses, hormone therapy, manipulation, ovulation, programming, reproduction.

Introdução

O desenvolvimento e a utilização de novas biotecnologias contribuíram para o crescimento da indústria equina. Biotecnologias de reprodução assistida são necessárias para aumentar a eficiência reprodutiva e, conseqüentemente, os ganhos da produção.

A hormonioterapia para indução da ovulação, por permitir estimar o momento em um intervalo de tempo específico (McKinnon e McCue, 2011), é de extrema importância. Esta revisão tem como objetivo abordar aspectos relacionados à utilização de hormônios na indução da ovulação em éguas.

Uso de agentes indutores da ovulação

Na espécie equina, há grande variabilidade na duração do período estral e no período entre seu início e a ovulação (Ginther, 1992). Tal variação, aliada à dificuldade do profissional de estimar a ovulação pelos métodos de palpação e ultrassonografia (Newcombe, 2007), torna necessário o emprego de estratégias para defini-la com maior precisão, especialmente para que maiores taxas de concepção sejam obtidas (Woods et al., 1990; Squires, 2008).

Agentes indutores de ovulação geralmente antecipam o evento que ocorreria normalmente em 3-5 dias. O folículo dominante sofre maturação mais cedo e a ovulação ocorre dentro de um prazo previsível de 24-48 horas (McKinnon e McCue, 2011).

A utilização de tais agentes se dá em várias situações (Samper, 2008; McKinnon e McCue, 2011), como em casos com meta de uma única monta natural ou inseminação artificial, especialmente no uso de garanhões com alta demanda ou com particularidades reprodutivas, ou na necessidade de transporte da égua ou do garanhão para a cobertura, e em casos de éguas que sejam susceptíveis à endometrite pós-cobertura. Tal uso ainda

contribui para evitar a disseminação de doenças (Samper e Tibary, 2006) e na aplicação de outras biotécnicas como transferência, congelamento, e vitrificação de embriões, além da fertilização *in vitro* (Faria e Gradela, 2010).

Os benefícios gerados pelos agentes indutores também envolvem profissionais e proprietários de animais (Faria e Gradela, 2010). O uso destes agentes permite planejamento e agendamento dos serviços e, consequentemente, redução da mão-de-obra despendida (Samper, 2008; McKinnon, 2009).

Na criação atual de cavalos, onde a previsão da ovulação é um pré-requisito em sistemas de gestão eficientes, Campbell (2012) menciona que a escolha do agente indutor de ovulação não deve ser baseada somente em custos. Para maximizar sua eficiência é importante uma compreensão em fisiologia e crescimento folicular durante o ciclo estral (Samper, 2008), além do entendimento básico de tais agentes e dos mecanismos pelo qual estimulam a ovulação (McCue et al., 2007).

A razão mais comum para o aparente “fracasso” no uso dos agentes indutores é sua administração em momento inadequado (McKinnon e McCue, 2011). Segundo os referidos autores, entre os requisitos para o uso dos mesmos considera-se a presença de um folículo pré-ovulatório e de edema uterino, e suficiente relaxamento de cérvix.

Após indução da ovulação, a maioria das éguas ovula dentro de 36-48 horas. A amplitude do intervalo entre administração e ovulação pode estar relacionada à variação individual na responsividade do folículo ao Hormônio Luteinizante (LH) e presença de folículos com diâmetros compatíveis com a indução da ovulação (Samper, 1997).

Existem vários agentes hormonais disponíveis para indução de ovulação na indústria equina. Atualmente, as drogas utilizadas comumente incluem a Gonadotrofina Coriônica Humana e análogos do GnRH, especialmente a Deslorelina.

Hormônios disponíveis para indução da ovulação

Gonadotrofina Coriônica Humana (hCG)

A hCG é uma glicoproteína produzida pela placenta humana e, na espécie equina, possui semelhanças com o LH (Wilson et al., 1990), iniciando a maturação do oócito (Carnevale e Cox, 2008) e consequente ovulação (McCue et al., 2007).

O hormônio está disponível comercialmente como preparação liofilizada e solvente, devendo ser ressuspenso antes da administração (Newcombe, 2011).

Após administração do hCG é descrita taxa de ovulação que varia de 70 a 100% (Barbacini et al., 2000; Awan et al., 2016). A média de respostas ovulatórias ao hCG fica em torno de 36 horas, mas há relatos da distribuição destas em um intervalo de tempo maior (Samper et al., 2002). De acordo com McCue et al. (2004), éguas que ovulam antes das 24 horas após administração do hormônio não responderam ao tratamento, tendo ovulado espontaneamente devido a um pico endógeno de LH.

O tratamento geralmente é feito na presença de folículos com mais de 35mm de diâmetro (Newcombe, 2011). Sucesso é relatado pelo referido autor quando utilizada via intramuscular, intravenosa ou subcutânea, e doses variando de 1000 a 5000 UI. Usualmente, veterinários utilizam uma dose de 1500 UI, mas foi demonstrada eficácia em doses mais baixas, como 750 UI (Morel e Newcombe, 2008).

A capacidade de resposta ovariana à administração de hCG parece variar conforme a estação, sendo menos eficaz no início e no final da temporada reprodutiva (Barbacini et al., 2000). A dose também influencia no tempo da administração à ovulação, Gastal et al. (2006) descreveram um período menor quando administrado 2500 UI ou 1500 UI comparado a 500 UI, dose não adequada para induzir uma alta taxa de ovulação no prazo de 48 horas, mas ainda suficiente para reduzir o intervalo até a ovulação, quando comparado com éguas sem tratamento.

Apesar de ser o agente indutor de ovulação mais utilizado, discute-se sobre uma potencial perda da eficácia do uso de hCG relacionada à formação de anticorpos após sucessivas administrações, considerando que é uma proteína (Wilson et al., 1990; Barbacini et al., 2000; Carnevale e Cox, 2008; McKinnon, 2009).

Os resultados obtidos por Wilson et al. (1990), embora mostrem que a administração consecutiva de hCG pode não ser benéfica, indicam que a presença anticorpos pode não estar correlacionada ao tempo de ovulação após administração do hormônio. Outros autores também relatam que o uso de hCG não afeta a fertilidade de éguas (Barbacini et al., 2000; Newcombe, 2011).

Embora doses elevadas ainda sejam comumente utilizadas, estudos relataram a relação de tal efeito com a dose de hCG utilizada. O uso de doses menores além de minimizar o efeito relatado (Gastal et al., 2006), também reduz custos e talvez a preocupação com formação de anticorpos (Morel e Newcombe, 2008). Alguns autores ainda relatam evidências de que éguas mais velhas respondem de forma menos confiável à administração de hCG (Barbacini et al., 2000). Em razão da ocorrência de tais inconvenientes, McCue et al. (2004), recomendam a aplicação do hCG por apenas dois ciclos estrais em cada estação de monta.

Além da indução da ovulação, em casos de transferência de embriões, o uso de hCG pode ter outros



benefícios. Sua administração já foi associada a uma maior incidência de múltiplas ovulações (Perkins e Grimmet, 2001; Veronesi et al., 2003), as quais favorecem a recuperação embrionária. Também é relatado um aumento na produção de progesterona logo após a ovulação e um melhor desenvolvimento do concepto quando utilizado hCG (Köhne et al., 2014).

Hormônio Liberador das Gonadotrofinas (GnRH) e seus análogos

Na espécie equina, o uso do GnRH natural não foi associado a resultados interessantes na sincronização e indução da ovulação devido a sua curta meia-vida e potência (Samper, 2008), sendo necessárias aplicações repetidas. Entretanto, análogos do GnRH são relatados na indução de ovulação com eficácia, estes aceleram a ovulação de folículos pré-ovulatórios, especialmente a Deslorelina, pelo fato de estimularem a liberação de LH e Hormônio Folículo Estimulante (FSH) a partir da glândula hipófise anterior (Campbell, 2012).

Inicialmente, a Deslorelina foi fornecida como um pequeno implante subcutâneo e, mais recentemente, o produto tornou-se disponível na forma injetável (McCue et al., 2007). O hormônio pode ser utilizado em folículos menores (<35mm). Em estudo realizado por Cuervo-Arango e Newcombe (2008) eficiência foi demonstrada quando diâmetros foliculares no momento da aplicação do implante variaram entre 30-35 mm.

Quando a administração do agente farmacológico ocorrer em momento adequado, a indução da ovulação com uso de Deslorelina se dá em um intervalo de tempo muito estreito, 36-42 horas com implante (2,1 mg; Samper et al., 2002;) e 40-46 horas quando utilizada na forma injetável (1,5 mg, IM; McCue et al., 2007).

Embora os dados sejam limitados, a eficiência de Deslorelina e hCG pode estar relacionada ao período de administração. Segundo Squires (2008), hCG parece funcionar melhor no início da temporada reprodutiva, comparado com a Deslorelina, o que parece estar relacionado ao local de ação; hCG atua diretamente no ovário, e Deslorelina estimula a hipófise anterior a liberar LH. Enquanto que estudo mais recente demonstrou não haver diferença entre as taxas de ovulação obtidas com Deslorelina e hCG no período transicional ou na estação ovulatória (Gomes et al., 2014)

A falta de resposta após o uso de Deslorelina em vários ciclos é descrita (Mumford et al., 1995; McKinnon e McCue 2011). A influência da idade na eficácia deste hormônio foi relatada (Farquhar et al., 2000), entretanto, foi observada resposta semelhante em éguas jovens e idosas (McCue et al., 2007).

Efeito adverso com uso de implante de Deslorelina é relatado em éguas que não gestaram, podendo ocorrer ocasional aumento no intervalo inter-ovulatório posterior. O mecanismo de tal efeito ainda não está completamente esclarecido (Campbell, 2012), mas há relação com diminuição da regulação da hipófise em consequência da aparente liberação de GnRH por alguns dias após a ovulação (Squires, 2008).

Contrastando com as observações do uso de Deslorelina na forma de implantes, não há evidências de que o produto na forma injetável prolongue o retorno ao estro (Kölling e Allen, 2005). Provavelmente o produto disponibilizado na forma injetável tem uma biodisponibilidade mais curta e não causa diminuição na regulação da hipófise (McCue et al., 2007; McKinnon e McCue 2011).

Também é relatada uma maior probabilidade de ovulações múltiplas utilizando o acetato de Deslorelina na indução de ovulação (McKinnon e McCue, 2011). Segundo Nagao et al. (2012), a eficiência na indução de ovulações duplas é relacionada ao momento do início do tratamento; melhores taxas são observadas quando o protocolo iniciou com no mínimo dois folículos entre 20 e 25mm.

Além da Deslorelina, a utilização de outros análogos do GnRH também é descrita com objetivo de induzir ovulação. Estudo recente demonstrou que a administração de uma única injeção contendo 0,5 mg de buserelina foi eficiente na indução de ovulação em 82,6% das éguas tratadas (Newcombe e Cuervo-Arango, 2016), em jumentas a dose mínima capaz de induzir a ovulação é de 0,04 mg (Camillo et al., 2014). Quarenta e oito horas após o tratamento, ovulação foi observada em 90% das éguas em que foi feita administração de 100 mcg de fertilirina (Santos et al., 2008) e em todas éguas tratadas com duas doses de acetato de lecorelina com intervalo de 12 horas (Awan et al., 2016). Outro análogo do GnRH possivelmente útil para indução de ovulação em éguas é o acetato de triptorelina, entretanto, pesquisas adicionais são necessárias com intuito de alcançar taxas comparáveis às obtidas com outros produtos (Sinclair et al., 2015).

Outros agentes indutores de ovulação

Outras alternativas na indução de ovulação em éguas foram propostas, entretanto, algumas desvantagens são relatadas.

Análogos de Prostaglandina F2 alfa (Samper, 2008) e preparados hormonais à base de estrógeno (cipionato de estradiol e benzoato de estradiol; Segismundo et al., 2003) são inconsistentes como indutores de ovulação na espécie equina.

A kisspeptina, um hormônio/neuropeptídeo revelado recentemente, exerce grande influência no controle da secreção de GnRH, estando envolvida em todas fases da vida reprodutiva (McKinnon e McCue, 2011). Entretanto, o kisspeptídeo equino foi descrito como incapaz de induzir ovulação em éguas (Decourt et al., 2014).

O uso de extrato de pituitária equina (EPE) com a finalidade de induzir ovulação em éguas também é



descrito. Embora tenha sido demonstrada sua eficiência (Alvarenga et al., 2005), a heterogeneidade das amostras de tal hormônio deve ser levada em consideração, além da indisponibilidade comercial e associação com transmissão de doenças (McKinnon e McCue, 2011).

Uma cadeia simples de LH equino recombinante (reLH), geneticamente modificada e clonada, demonstrou possuir atividade biológica e foi relatada com a finalidade de induzir ovulação em éguas (Niswender et al., 2006). Yoon et al (2007) descreveram o agente hormonal como confiável e eficiente devido não alteração significativa dos níveis hormonais endógenos e influência no intervalo inter-ovulatório posterior, além da possibilidade de produção em grandes quantidades, ser livre de FSH, outros hormônios hipofisários e patógenos que poderiam interferir nos resultados.

Segundo McKinnon e McCue (2011), grande potencial é relatado em qualquer produto sintético que pode ser produzido com baixo custo, eliminando a necessidade do uso de fontes de abastecimento humano.

Considerações finais

A utilização de tratamentos hormonais no manejo reprodutivo das fêmeas da espécie equina é, sem dúvida, de extrema importância para um aumento da eficiência reprodutiva. Agentes indutores de ovulação eficazes e confiáveis geram benefícios para profissionais e proprietários, permitindo avanços na produção de equinos.

Novas alternativas têm sido desenvolvidas e inúmeras são as situações em que a indução de ovulação é utilizada com benefícios. Entretanto, entendimento teórico-prático da anatomofisiologia da égua e dos exames utilizados para prever a ovulação, conhecimento dos agentes indutores disponíveis no mercado, incluindo resultados e efeitos adversos, além de avaliação individual do animal e do manejo são fundamentais para o sucesso do tratamento.

Referências

- Alvarenga MA, Farinasso A, Rumpf, R.** Utilização de baixas doses de extrato de pituitária equino (EPE) para indução de ovulações múltiplas em éguas. *Acta Sci Vet*, v.33, p.135-138, 2005.
- Awan FS, Mehmood MU, Sattar A, Ahmad N.** Comparative efficacy of hCG or GnRH analogue (lecirelin acetate) on follicular dynamics, degree of endometrial edema, sexual behavior, ovulation and pregnancy rate in crossbred broodmares. *J Equine Vet Sci*, v.41, p.71-72, 2016.
- Barbacini S, Zavaglia G, Gulden P, Marchi V, Necchi D.** Retrospective study on the efficacy of hCG in an equine artificial insemination programme using frozen sêmen. *Equine Vet Educ*, v.12, p.312-317, 2000.
- Camillo F, Vanzozi I, Tesia M, Sabatini C, Rota A, Paciolla E, Dang-Nguyen I, Panzani D.** Induction of ovulation with buserelin in jennies: In search of the minimum effective dose. *Anim Reprod Sci*, 151:56-60, 2014.
- Campbell M.** It's all in the timing: ovulation induction in the mare. *Vet Rec*, v.170, p.538-539, 2012.
- Carnevale EM, Cox TJ.** How to do induction of ovulation. *Proceedings of the European Equine Meeting - XIV SIVE - FEEVA Congress, Venice, Italy*, p.307-309, 2008.
- Cuervo-Arango J, Newcombe JR.** Repeatability of preovulatory follicular diameter and uterine edema pattern in two consecutive cycles in the mare and how they are influenced by ovulation inductors. *Theriogenology*, v.69, p.681-687, 2008.
- Decourt C, Carat A, Brian C, Guillaum D, Lome D, Chesnea D, Lardi L, Duchamp G, Reigner F, Monget P, Dufourny L, Beltramo M, Dardente H.** Acute injection and chronic perfusion of kisspeptin elicit gonadotropins release but fail to trigger ovulation in the mare. *Biol Reprod*, v.90, p.36, 2014.
- Faria DR, Gradela A.** Hormonioterapia aplicada à Ginecologia equina. *Rev Bras Reprod Anim*, v.4, p.114-122, 2010.
- Farquhar VJ, McCue PM, Vanderwal, DK, Squires EL.** Efficacy of the GnRH analogue deslorelin acetate for inducing ovulation in mares relative to age of mare and season. *J Equine Vet Sci*, v.20, p.722-725, 2000.
- Gastal EL, Silva LA, Gastal MO, Evans MJ.** Effect of different doses of hCG on diameter of the preovulatory follicle and interval to ovulation in mares. *Anim Reprod Sci*, v.94, p.186-190, 2006.
- Ginther OJ.** *Reproductive Biology of the Mare: Basic and Applied Aspects*. 2nd. Cross Plains, Wisconsin: Equiservices Publishing, 642pp. 1992.
- Gomes RG, Oliveira RL, Schutzer CGC, Barreiros TRR, MM Seneda.** Effect of deslorelin and/or human chorionic gonadotropin on inducing ovulation in mares during the transition period versus ovulatory season. *J Equine Vet Sci*, v.34, p.1140-1142, 2014.
- Köhne M, Kuhl J, Illec N, Erberb R, Aurichb C.** Treatment with human chorionic gonadotrophin before ovulation increases progesterin concentration in early equine pregnancies. *Anim Reprod Sci*, v.149, p.187-193, 2014.
- Kölling M, Allen WR.** Ovulation induction for embryo transfer: hCG versus GnRH analogue. In: *International Equine Gametes Group, Proceedings of a Kuhlungsborn, Germany*, p.54-55, 2005.
- McCue PM, Hudson JJ, Bruemmer JE, Squires EL.** Efficacy of hCG at inducing ovulation: a new look at an old issue. *Proceedings of the 50th Convention of the American Association of Equine Practitioners*, p.510-513,



2004.

McCue PM, Magee C, Gee EK. Comparison of compounded deslorelin and hCG for induction of ovulation in mares. *J Equine Vet Sci*, v.27, p.58-61, 2007

McKinnon AO. Hormonal Control of Equine Reproduction. Proceedings of the Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners Annual Resort Symposium, Vail, Colorado, USA, p.139-186, 2009.

McKinnon AO, McCue PM. Induction of Ovulation. In: McKinnon, A.O., Squires, E. L., Vaala, W. E., Varner, D. V. *Equine Reproduction*. 2 Ed. Wiley-Blackwell, p.1858-1869, 2011.

Morel MCGD, Newcombe JR. The efficacy of different hCG dose rates and the effect of hCG treatment on ovarian activity: Ovulation, multiple ovulation, pregnancy, multiple pregnancy, synchrony of multiple ovulation; in the mare. *Anim Reprod Sci*, v.109, p.189-199, 2008.

Mumford EL, Squires EL, Jöchle W, Harrison LA, Nett TM, Trigg TE. Use of deslorelin short-term implants to induce ovulation in cycling mares during three consecutive estrous cycles. *Anim Reprod Sci*, v.39, p.129-140, 1995.

Nagao JF, Neves Neto JR, Papa FO, Alvarenga MA, Freitas-Dell'Aqua CP, Dell'Aqua Junior JA. Induction of double ovulation in mares using deslorelin acetate. *Anim Reprod Sci*, v.136, p.69-73, 2012.

Newcombe JR. The follicle: practical aspects of follicular control. In: Samper JC, Pycock, JF, McKinnon, AO. *Current therapy in equine reproduction*. St. Louis: Saunders Elsevier, p.14-21, 2007.

Newcombe JR. Human chorionic gonadotropin. In: McKinnon, AO, Squires, EL, Vaala, WE, Varner, DV. *Equine Reproduction*. 2Ed. Wiley-Blackwell, p.1858-1869, 2011.

Newcombe JR, Cuervo-Arango J. Comparison of the efficacy of different single doses of buserelin with hCG for timed ovulation induction in the mare. *Anim Reprod Sci*, v.41, p57, 2011.

Niswender KD, Roser JF, Boime I, Colgin M. Induction of ovulation in the mare with recombinant equine luteinizing hormone. Proceedings of the 52nd Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners, San Antonio, Texas, USA, p.387-388, 2006.

Perkins NR, Grimmer JB. Pregnancy and twinning rates in Thoroughbred mares following administration of human chorionic gonadotrophin (hCG). *New Zeal Vet J*, v.49, p.94-100, 2001.

Samper JC. Ultrasonographic appearance and the pattern of uterine edema to time ovulation in mares. Proceedings of the 43rd Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners, p.41-43, 1997.

Samper JC. Induction of estrus and ovulation: why some mares respond and others do not. *Theriogenology*, v.70, p.445-447, 2008.

Samper JC, Tibary A. Disease transmission in horses. *Theriogenology*, v.66, p.551-559, 2006.

Samper JC, Jensen S, Sergenat J. Timing of induction of ovulation in mares treated with ovuplant or chorulon. *J Equine Vet Sci*, v.22, p.320-323, 2002.

Santos RS, Marchiori MO, Brum C, Amaral LA, Torres AJ, Boff ALN, Nogueira CEW. Eficácia do Acetato de Fertirelina como Indutor de Ovulação em Éguas. In: 35º Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 2008, Gramado. 35º Combravet, 2008.

Segismundo R, Alvarenga MA, Gomes GM. Avaliação do cipionato e benzoato de estradiol na indução e sincronização de ovulações em éguas. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.31, p.562, 2003.

Sinclair CD, Kouba JM, Murray LW, Douthit TL, Grieger DM, Webel SK. Use of intravaginal triptorelin gel for ovulation induction in mares. *J Equine Vet Sci*, v.35, p.437-438, 2015.

Squires EL. Hormonal manipulation of the mare: a review. *J Equine Vet Sci*, v.28, p.627-634, 2008.

Veronesi MC, Battocchio M, Faustini M, Gandini M, Cairoli F. Relationship between pharmacological induction of estrous and/or ovulation and twin pregnancy in the Thoroughbred mare. *Domest Anim Endocrinol*, v.25, p.133-140, 2003.

Yoon MJ, Boime I, Colgin M, Niswender KD, King SS, Alvarenga MA, Jablonka-Shariff A, Pearl CA, Roser JF. The efficacy of a single chain recombinant equine luteinizing hormone (reLH) in mares: Induction of ovulation, hormone profiles and inter-ovulatory intervals. *Domest Anim Endocrinol*, v.33, p.470-479, 2007.

Wilson CG, Downie CR, Hughes JP, Roser JF. Effects of repeated hCG injections on reproductive efficiency in mares. *J Equine Vet Sci*, v.10, p.301-308, 1990.

Woods J, Bergfelt, DR, Ginther OJ. Effect of time of insemination relative to ovulation on pregnancy rate and embryonic loss rate in mares. *J Equine Vet Sci*, v.22, p.410-415, 1990.