

CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS E RITMO CIRCADIANO DE CORTISOL E PROLACTINA (PRL) EM OVELHAS, DURANTE O ANESTRO ESTACIONAL

Eunice Oba
 Maria Inês Lenz Souza
 Luis Fernando Uribe-Velásquez
 Alcides de Amorim Ramos

OBA, E.¹, SOUZA, M.I.L.², URIBE-VELÁSQUEZ, L.F.V.³, RAMOS, A.A.⁴ Concentrações plasmáticas e ritmo circadiano de cortisol e prolactina (PRL) em ovelhas, durante a anestro estacional. *Arq. ciên. vet. zool., UNIPAR*, 4(2): p. 169-174, 2001.

RESUMO: O objetivo do presente estudo foi avaliar as concentrações plasmáticas e o ritmo circadiano de cortisol e prolactina em ovelhas isoladas do rebanho e estabuladas, durante o anestro estacional. Amostras de plasma foram colhidas de seis ovelhas Ideal, a cada duas horas, por um período de 24 horas, iniciando às 12 horas de um dia e terminando às 10 horas AM do dia seguinte, e analisadas por radioimunoensaio. A análise de variância revelou efeito significativo de momento ($p < 0,05$) para cortisol e ($p < 0,001$) para prolactina. O cortisol teve comportamento quadrático, de acordo com a equação $Y = 1,325 - 0,0364(X - 6,5) - 0,0147(X - 6,5)^2$, onde o ponto máximo ocorreu às 20 horas, ou seja, oito horas após o início da colheita (1,35 µg/dL), e o ponto mínimo 14 horas depois, ou seja, na última colheita (0,68 µg/dL). Já a prolactina também apresentou efeito significativo linear e quadrático, conforme a equação $Y = 39,58 - 5,945(X - 6,5) + 1,121(X - 6,5)^2$, onde o ponto máximo ocorreu na primeira colheita (12 horas; 106,19 µU/mL), e o mínimo às 04 horas (31,73 µU/mL). Para a causa do animal somente o cortisol apresentou diferença significativa ($p < 0,01$). Conclui-se dos resultados que os dois hormônios comportaram-se de forma independente ($r = -0,11$) e que prolactina mostrou-se mais elevada nas colheitas efetuadas durante o dia.

PALAVRAS-CHAVE: ovinos, cortisol, prolactina, ritmo circadiano

PLASMA CONCENTRATIONS AND CIRCADIAN RHYTHM OF CORTISOL AND PROLACTIN (PRL) IN EWES DURING SEASONAL ANOESTRUS

OBA, E., SOUZA, M.I.L., URIBE-VELÁSQUEZ, L.F., RAMOS, A.A. Plasma concentrations and circadian rhythm of cortisol and prolactin (PRL) in ewes during seasonal anoestrus. *Arq. ciên. vet. zool., UNIPAR*, 4(2) : p. 169-174, 2001.

ABSTRACT: The aim of the present study was to evaluate plasma concentrations of cortisol and prolactin and circadian rhythm in ewes in isolation from the flock and confined, during seasonal anoestrus. Plasma samples were obtained from 6 Ideal ewes every 2 hours for 24 hours, beginning at 12:00 PM and ending at 10:00 AM. The analysis of variance showed a significant effect of the time for cortisol ($p < 0.05$) and for 24 hours, beginning at 12:00 PM and ending at 10:00 AM. The analysis of variance showed a significant effect of the time for cortisol ($p < 0.05$) and for prolactin ($p < 0.01$). The cortisol had a quadratic effect ($p < 0.01$) according to the equation $Y = 1.325 - 0.0364(X - 6.5) - 0.0147(X - 6.5)^2$ where the maximum concentration at 08:00 PM, that is 8 hours after the beginning of the collection (1.35 µg /dL) and the minimum concentration 14 hours later (0.68 µg /dL). The prolactin showed a significant linear and quadratic effect,

¹ Médica Veterinária, Mestre Doutora, Professora do Depto. de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, FMVZ, UNESP, Distrito de Rubião Júnior, s/nº, 18618-000, Botucatu – SP – Brasil.

² Médica Veterinária, Mestre, Doutora, FMVZ, UNESP, Botucatu – SP – Brasil. mlenz@laser.com.br

³ Mestre Doutor, FMVZ, UNESP, Botucatu – SP – Brasil.

⁴ Engenheiro Agrônomo Doutor do depto.de Produção e Exploração Animal, FMVZ, UNESP, Botucatu – SP – Brasil.

conforming the equation $Y = 39.58 - 5.945 (X - 6.5) + 1.121 (X - 6.5)^2$, where the peak occurred in the first collection, 12:00 AM (106.19 $\mu\text{U/mL}$) and the minimum at 04:00 AM (31.73 $\mu\text{U/mL}$). It can be concluded from this study that both hormones acted independently ($r = -0.11$) and that the prolactin was higher in the sampling performed during the day.

KEY-WORDS: ovine, cortisol, prolactin, circadian rhythm.

CONCENTRACIONES PLASMATICAS Y RITMO CIRCADIANO DE CORTISOL Y PROLACTINA (PRL) EN OVEJAS DURANTE EL ANESTRO ESTACIONAL

OBA, E., SOUZA, M.I.L., URIBE-VELÁSQUEZ, L.F., RAMOS, A.A. Concentraciones plasmáticas y ritmo circadiano de cortisol y prolactina (PRL) en ovejas durante el anestro estacional. *Arq. ciên. vet. zool., UNIPAR*, 4(2): p. 169-174, 2001.

RESUMEN: El objetivo del presente estudio fue evaluar las concentraciones plasmáticas y el ritmo circadiano de cortisol y prolactina en ovejas aisladas del rebaño y estabuladas, durante el anestro estacional. Las muestras de plasma sanguíneo fueron colectadas de seis ovejas Ideal, cada dos horas, por un período de 24 horas, iniciando a las 12 horas de un día y terminando a las 10 horas am del día siguiente, y analizadas por radioinmunoensayo (RIA). El análisis de varianza reveló efecto significativo de momento ($p < 0.05$) para cortisol y ($p < 0.001$) para prolactina. Cortisol presentó comportamiento cuadrático, de acuerdo con la ecuación $Y = 1.325 - 0.0364 (X - 6.5) - 0.0147 (X - 6.5)^2$, donde el punto máximo ocurrió a las 20 horas, o sea, ocho horas después del inicio de la colecta (1.35 $\mu\text{g/dL}$), y el punto mínimo 14 horas después, o sea, en la última colecta (0.68 $\mu\text{g/dL}$). La prolactina presentó efectos significativos lineal y cuadrático, conforme la ecuación $Y = 39.58 - 5.945 (X - 6.5) + 1.121 (X - 6.5)^2$, donde el punto máximo ocurrió en la primera colecta (12 horas; 106.19 $\mu\text{U/mL}$), y el mínimo a las 04 horas (31.73 $\mu\text{U/mL}$). Para la causa del animal solamente el cortisol mostró diferencia significativa ($p < 0.01$). Podemos concluir que las dos hormonas se comportaron de forma independiente ($r = -0.11$) y que la prolactina se presentó mas elevada en las colectas efectuadas durante el día.

PALABRAS-CLAVE: ovinos, cortisol, prolactina, ritmo circadiano

Introdução

Os fatores estressantes ambientais, quando identificados por receptores específicos, acionam os mecanismos de regulação endócrina que produzem uma resposta no organismo animal. A área de controle hormonal inclui o hipotálamo, a hipófise e outras glândulas endócrinas, principalmente as adrenais (GÜNTHER, 1988). Os glicocorticóides e a prolactina (PRL) séricos aumentam drasticamente após situações de estresse, partindo de níveis normais de 1,1-3,7 ng/mL de cortisol e 2,6-21,5 ng/mL de PRL (SILVA *et al.*, 1983).

A PRL é um hormônio polipeptídico, produzido na hipófise anterior, com sua regulação e síntese controladas pela dopamina (YEN & JAFFE, 1978; CURLEWIS, 1992). O cortisol é um hormônio glicocorticóide, produzido pelo

córtex da adrenal (GÜNTHER, 1988). Segundo WEBSTER & HARESIGN (1983), as alterações estacionais nas concentrações de PRL são grandemente esteróide-independentes. O modelo circanual de concentrações de PRL na ovelha é, primariamente, determinado pelo fotoperíodo, do qual a glândula pineal é um importante sinalizador (MUNRO *et al.*, 1980; BOSC *et al.*, 1982; CURLEWIS, 1992) e, à medida que diminuem os níveis de melatonina, decrescem também os de PRL, como acontece na estação anestrál. Já, WEBSTER & HARESIGN (1983) afirmam que a queda estacional nas concentrações plasmáticas de PRL precedem o início da atividade reprodutiva na ovelha. A presença de um ritmo noturno de secreção de PRL foi observada em ovelhas Manchega por SANTIAGO-MORENO *et al.* (1999), onde as concentrações deste hormônio aumentaram significativamente entre as ho-

ras anterior e posterior ao pôr-do-sol, nas diferentes estações do ano. BOBEK *et al.* (1986) verificaram que ovelhas separadas e isoladas do rebanho sofrem um processo de estresse, com conseqüente aumento nas taxas de cortisol sanguíneo, havendo uma elevação abrupta durante as primeiras horas deste estresse (de $46,28 \pm 4,23$ para $132,90 \pm 10,42$ nmol/L, após a primeira hora de isolamento), refletindo a reação emocional dos animais à condição estressante. Com o passar das horas houve uma adaptação dos animais ao processo de estresse e diminuição nos níveis de cortisol ($69,49 \pm 13,25$ nmol/L, após 5 horas de isolamento). Em 19 horas após o final do período de isolamento, os valores de cortisol corresponderam a $99,22 \pm 11,46$ nmol/L. Isto demonstra que as concentrações séricas de cortisol podem servir como indicadores de estresse em ovinos. Conforme GÜNTHER (1988), o comportamento de animais sob estresse é caracterizado por uma variação endócrina. O confinamento de ovelhas realizado no experimento de RAWLINGS & COOK (1991) não afetou significativamente as concentrações séricas de cortisol em nenhum estágio do ciclo estral, apesar de constituir-se em uma situação estressante, com os níveis variando de $13,90 \pm 2,32$ a $26,08 \pm 4,65$ ng.mL⁻¹ com dois dias de confinamento e de $14,43 \pm 0,50$ a $29,18 \pm 3,10$ ng.mL⁻¹ com quatro dias. Os autores sugerem a existência de um ciclo do eixo hipófise-adrenal sincronizado ao ciclo estral, que poderia refletir o estresse, através da liberação de cortisol associado ao estro e diminuição na sua secreção durante a fase luteal do ciclo estral. Também OBA *et al.* (2000), avaliando ovelhas Bergamácia submetidas à ultra-sonografia diária, observaram concentrações de cortisol apenas nos primeiros dias, como reação ao agente estressante.

A função calorígenica dos hormônios adrenocorticais é citada por SALEM *et al.* (1991), que encontraram níveis plasmáticos de cortisol mais altos no inverno ($2,96 \pm 0,13$ - $3,54 \pm 0,28$ µg/dL) que no verão ($2,00 \pm 0,13$ - $2,39 \pm 0,15$ µg/dL), independentemente do comprimento da lã dos animais. A exposição ao frio da noite, que resultou em valores mais altos entre 24h e 4h, demonstrou uma resposta imediata ao estresse da temperatura, indicando que a córtex adrenal ativa-se sob estas condições, con-

OBA, SOUZA, URIBE-VELÁSQUEZ & RAMOS 171

tribuindo para aumentar a produção de calor e manter a homeotermia. Os valores mínimos foram verificados às 8h da manhã, quando já há aumento de temperatura ambiente. Durante o verão, os resultados indicaram um ritmo diurno para o cortisol plasmático, sendo os níveis da manhã mais altos que os da tarde. A exposição de ovelhas cíclicas ao estresse térmico, em temperaturas ambientais acima de 32°C, foi acompanhada de modificações consistentes nos perfis de liberação de PRL mas não de cortisol, no trabalho de SHEIKHHELDIN *et al.* (1988). Resultados diferentes foram encontrados por BELL *et al.* (1989) trabalhando com ovelhas prenhes submetidas ao estresse térmico, nas quais as concentrações plasmáticas de cortisol diminuíram e as de PRL aumentaram grandemente, indicando uma adaptação dos tecidos calorígenos (resultando em queda do cortisol) ou osmorregulação (resultando em aumento da PRL). Contrariamente, GÜNTHER (1988) afirma que o efeito dos fatores estressantes exógenos é mais centrado sobre a síntese de hormônios na adrenal, que são substancialmente aumentados.

Concentrações de PRL consistentemente baixas durante os meses de fotoperíodo curto (inverno) em relação aos de fotoperíodo longo (verão), foram verificadas por MUNRO *et al.* (1980). Considerando animais em anestro, WALTON *et al.* (1980) encontraram concentrações mais elevadas de PRL durante as horas de escuridão e no começo da manhã. No experimento de PIRAUX *et al.* (1987), os modelos de secreção de PRL variaram entre animais em diferentes fases do ciclo reprodutivo. Em geral, os valores foram mais baixos durante o dia e altos à noite em ovelhas cíclicas ou durante o anestro lactacional. Em ovelhas lactantes, analisadas por RHIND *et al.* (1980), o aumento nas concentrações plasmáticas de PRL foi menor que em ovelhas no estro ou cobertas, sugerindo que as diferenças nos níveis de PRL podem ser responsáveis pelos efeitos da estação e lactação na fertilidade dos ovinos. EZZO & SHALABY (1990) encontraram, em ovelhas, taxas de cortisol de $0,13$ µg 2-5 semanas pós-parto.

No presente experimento, os níveis de cortisol e PRL de ovelhas adultas, na estação anestrual, separadas do rebanho e estabuladas, foram verificados a cada duas horas, por um pe-

riodo de 24 horas e avaliados por radioimunoensaio.

Material e Métodos

Foram utilizadas seis ovelhas Ideal, com idades entre 4 e 5 anos, desmamadas previamente, pertencentes ao Departamento de Produção e Exploração Animal da UNESP-Botucatu, em bom estado clínico e sanitário, durante a estação anestrual (agosto). As ovelhas foram separadas do rebanho e colocadas em estabulação, com água e alimento *ad libitum*, cerca de 24 horas antes de iniciar o período de colheita de sangue. Os valores médios de temperaturas ambientes e suas amplitudes, nos dias 11 e 12 de agosto, foram verificados pelo Departamento de Ciências Ambientais da UNESP-Botucatu.

Durante um período de 24 horas, o sangue foi colhido por venopunção jugular, em tubos de ensaio, a cada duas horas (colheita 1 - às 12 horas PM/colheita 12 - às 10 horas AM do dia seguinte). Os animais foram mantidos cateterizados⁵, sendo injetada heparina diluída em solução fisiológica (1:500) após cada colheita, para evitar a coagulação sangüínea no catéter. Uma vez colhido, o sangue foi centrifugado a 4250 rpm por 15 minutos, e o plasma obtido dividido em alíquotas e estocado a -20°C até o momento da dosagem, através de radioimunoensaio (RIA), com kits comerciais para o cortisol⁶ e para a PRL⁷.

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 cortisol e PRL no período em estudo. 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

As temperaturas médias e suas amplitudes nos dias 11 e 12 de agosto foram, respectivamente, 20,8°C (15,4-27,8°C) e 23,3°C (18,4-29,0°C), sem precipitações pluviométricas.

Os níveis estimados de cortisol e PRL, com suas respectivas curvas, durante o período de 24 horas (12 colheitas), estão representados nas figuras 1 e 2, respectivamente. Tanto o cortisol quanto a PRL apresentaram efeitos significativos com relação ao momento de colheita (respectivamente $p < 0,05$ e $p < 0,001$). O cortisol demonstrou um comportamento quadrático, conforme a equação: $Y = 1,325 - 0,0364(X - 6,5) - 0,0147(X - 6,5)^2$. Já, a PRL evidenciou comportamento linear e quadrático, com a equação: $Y = 39,58 - 5,945(X - 6,5) + 1,121(X - 6,5)^2$.

As concentrações de cortisol demonstraram um progressivo aumento a partir da segunda colheita (14 horas; Figura 1), chegando a um máximo no quinto momento de colheita (1,35 µg/dL; 20 horas), período em que as ovelhas estavam sob forte influência estressante do isolamento do rebanho, transporte, estabulação e dos procedimentos de colheita. Isto, como relataram SILVA *et al.* (1983), BOBEK *et al.* (1986), GÜNTHER (1988) e OBA *et al.* (2000), caracterizaria uma resposta endógena dos animais às condições estressantes, com o cortisol demonstrando um ajustamento na reação endócrina. Na última colheita, às 10 horas, obtiveram-se os menores níveis de cortisol (0,68 µg/dL), que começaram a diminuir a partir da sexta colheita (22 horas), demonstrando uma adaptação das ovelhas aos procedimentos e stressantes com o decorrer do tempo, assim como BOBEK *et al.* (1986) já haviam observado.

⁵ Cateter intravenoso Teflon FEP A-Cath Tecnobio. Rua Estela B. Morato, 336 - São Paulo - SP - 02722-000.

⁶ Coat-A-Count Cortisol - DPC - Los Angeles, CA 90045.

⁷ RIA-gnost Prolactin - CIS bio international - B.P. 32-91192 GIF-SUR-YETTE CEDEX - France.

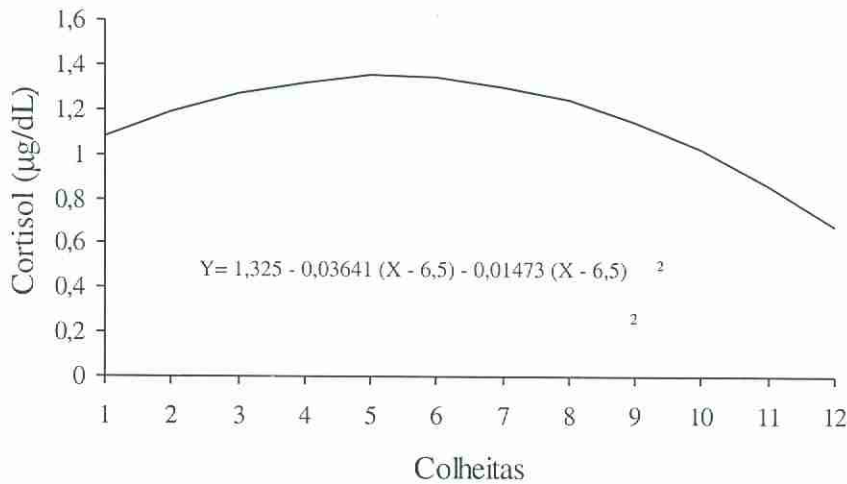


Figura 1 - Concentrações plasmáticas de cortisol ($\mu\text{g/dL}$) em ovelhas durante o anestroestacional em um período de 24 horas de colheita

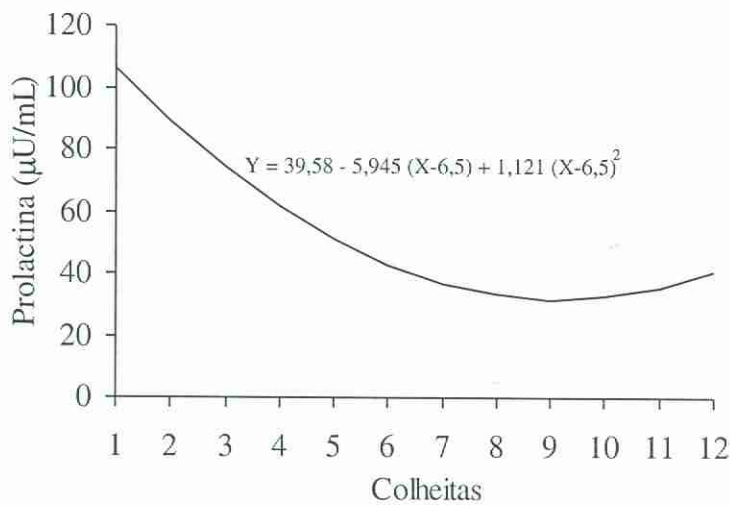


Figura 2 - Concentrações plasmáticas de prolactina ($\mu\text{U/mL}$) em ovelhas durante o anestroestacional em um período de 24 horas de colheita

Com relação ao período do dia (ritmo circadiano), pode-se dizer que as concentrações de cortisol, apresentaram o seu pico no período da noite, demonstrando um comportamento semelhante aos resultados de SALEM *et al.* (1991). O crescente aumento nos níveis de cortisol durante o período da tarde poderia estar mais relacionado ao processo de estresse, pela manipulação dos animais, provenientes de rebanho geral, criados extensivamente, no período da noite, provavelmente correspondeu à atividade calorigênica atribuída aos hormônios adrenocorticais (GÜNTHER, 1988). A temperatura ambiente, entre 20,8 e 23,3°C não pode ser considerada suficientemente baixa para estimular uma significativa produção de calor em ovelhas lanadas; isto pode ser observado nas concentrações médias de cortisol nos diferentes momentos que, numericamente, não foram muito discrepantes, apresentando apenas ligeiros aumentos no período noturno (Tabela 1).

A PRL apresentou seus níveis máximos (106,19

$\mu\text{U/mL}$) no primeiro momento de colheita, às 12 horas, e mínimos às 04 horas (31,73 $\mu\text{U/mL}$), como pode ser verificado na Figura 2 e na Tabela 1. Estes resultados de concentrações diurnas de PRL mais elevadas em relação às noturnas são diametralmente opostos aos de WALTON *et al.* (1980) e de PIRAUX *et al.* (1987) para animais em anestro, e de SANTIAGO-MORENO *et al.* (1999) em ovelhas Manchega em diferentes momentos do ano. Os comportamentos de cortisol e PRL foram independentes ($r = -0,11$), corroborando com as afirmações de GÜNTHER (1988) de que os fatores estressantes exógenos desencadeariam suas principais reações endócrinas sobre a adrenal, resultando no aumento dos níveis de seus hormônios.

O cortisol apresentou diferença amplamente significativa em relação aos animais ($p < 0,01$), indicando que a resposta endócrina ao estresse varia individualmente. Já, a PRL não demonstrou nenhum efeito da variabilidade individual em suas concentrações ($p > 0,05$).

Tabela 1 - Concentrações médias do cortisol e prolactina em ovelhas, no anestro estacional, em 12 momentos de colheita durante 24 horas. Botucatu – SP, 2000

MOMENTO	HORÁRIO	CORTISOL ($\mu\text{g/dL}$)	PROLACTINA ($\mu\text{U/mL}$)
01	12 horas	1,08	106,19
02	14 horas	1,19	89,03
03	16 horas	1,27	74,12
04	18 horas	1,32	61,45
05	20 horas	1,35	51,02
06	22 horas	1,34	42,83
07	24 horas	1,30	36,89
08	02 horas	1,24	33,18
09	04 horas	1,14	31,73
10	06 horas	1,02	32,50
11	08 horas	0,86	35,53
12	10 horas	0,68	40,79

Conclusões

Os comportamentos isolados de cortisol e PRL resultaram independentes. A PRL mostrou-se mais elevada nas colheitas realizadas durante o dia, caracterizando o seu ritmo circadiano como máximo no período diurno. As concentrações de cortisol responderam prontamente aos processos estressantes, sugerindo que podem servir como indicadores desta síndrome, e mantiveram-se elevadas, em seu ritmo circadiano, nos períodos de maior necessidade de produção de calor pelo animal, durante a noite.

Referências

- BELL, A.W., McBRIDE, B.W., SLEPETIS, R., EARLY, R.J., CURRIE, W.B. Chronic heat stress and prenatal development in sheep: I. Conceptus growth and maternal plasma hormones and metabolites. *J. Anim. Sci.*, Savoy v. 67, p. 3289-99, 1989.
- BOBEK, S., NIEZGODA, J., PIERZCHALA, K., LITYNSKI, P., SECHMAN, A. Changes in circulating levels of iodothyronines, cortisol and endogenous thiocyanate in sheep during emotional stress caused by isolation of the animals from the flock. *J. Vet. Med. A.*, Berlin v. 33, p. 698-705, 1986.
- BOSC, M.J., DIJANE, J., DURAND, P., PELLETIER, J., RAVAUULT, J.P. Influence of season on mean plasma levels of prolactin, placental lactogen hormone and luteinizing hormone during the second half of gestation in the ewe. *Reprod. Nutr. Develop.* Jouy-en-Josas, v. 22, p. 485-93, 1982.
- CURLEWIS, J.D. Seasonal prolactin secretion and its role in seasonal reproduction: a review. *Reprod. Fert. Dev.* Coolingwool, v.4, p.1-23, 1992.
- 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.*, Cairo v. 27, p. 47-56, 1990.
- GÜNTHER, K.D. Stress behaviour of animals and its effect on the mineral balance. *Anim. Res. Develop.*, Tubingen v. 27, p. 16-33, 1988.
- MUNRO, C.J., McNATTY, K.P., RENSHAW, L. Circa-annual rhythms of prolactin secretion in ewes and the effect of pinealectomy. *J. Endocr.* Bristol, v. 84, p. 83-9, 1980.
- OBA, E., URIBE-VELÁSQUEZ, L.F., VILLA-VELÁSQUEZ, H., LARA-HERRERA, L.C., SOUZA, M.I.L., TRINCA, L.A. Effect of stress due ultrasonography on plasma cortisol and progesterone (P₄) concentrations in Bergamasca ewes. In: INTERNATIONAL CONGRESS ANIMAL REPRODUCTION, 14, Stockolm, Abstracts... 2000, v.1, p.263.
- PIRAUX, C., BISTER, J.L., PAQUAY, R. Pattern of PRL secretion in the Texel ewe. *Arch. Int. Phys. Bioch.*, Lege v. 95, p. 24-6, 1987.
- RAWLINGS, N.C. & COOK, S.J. The effects of acclimation to confinement on gonadotrophin and cortisol secretion during the estrous cycle of the ewe. *Can. J. Anim. Sci.*, Ohawa v. 71, p. 327-32, 1991.
- RHIND, S.M., ROBINSON, J.J., CHESWORTH, J.M., CROFTS, R.M.J. Effects of season, lactation and plane nutrition on prolactin concentrations in ovine plasma and the role of prolactin in the control of ewe fertility. *J. Reprod. Fert.*, Cambridge v. 58, p. 145-52, 1980.
- SALEM, M.H., EL-SHERBINY, A.A., KHALIL, M.H., YOUSSEF, M.K. Diurnal and seasonal rhythm in plasma cortisol, triiodothyronine and thyronine as affected by the wool coat in Barki sheep. *Indian J. Anim. Sci.*, New Delhi v. 61, p. 946-51, 1991.
- SANTIAGO-MORENO, J., GONZÁLEZ-DE-BULNES, A., GOMEZ-BRUNET, A., CAMPO, A. del, LÓPEZ-SEBASTIAN, A. Secreción nocturna de melatonina y prolactina en la muflona (*Ovis gmelini musimon*) y la oveja Manchega (*Ovis aries*). *ITEA*, Zaragoza v.20, n.2, p.657-658, 1999.
- SHEIKHELDIN, M.A., HOWLAND, B.E., PALMER, W.M. Effects of heat stress on serum progesterone in cyclic ewes and on progesterone and cortisol response to ACTH in ovariectomized ewes. *J. Reprod. Fert.*, Cambridge v. 84, p. 521-29, 1988.
- SILVA, M.de, KALTENBACH, C.C., DUNN, T.G. Serum cortisol and progesterone after administration of adrenocorticotrophin and (or) prolactin to sheep. *J. Anim. Sci.*, Savoy v. 57, p. 1525-9, 1983.
- WALTON, J.S., EVINS, J.D., FITZGERALD, B.P., CUNNINGHAM, F.J. Abrupt decrease in daylength and short-term changes in the plasma concentrations of FSH, LH and prolactin in anoestrous ewes. *J. Reprod. Fert.*, Cambridge, 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.*, Cambridge, v. 67, p. 465-71, 1983.
- YEN, S.C. & JAFFE, R.B. *Reproductive endocrinology*. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1978, p. 3-61.

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 19/06/01.
 Accepted for publication on 19 June 2001.
 Acepto para publicación en 19/06/01.