

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**USO DE eCG EM OVELHAS SUFFOLK NO PERÍODO
ESTACIONAL**

*USE OF eCG IN SUFFOLK EWES DURING SEASONAL
TRANSITION*

William Villalba Salazar

**CAMPO GRANDE
MATO GROSSO DO SUL – BRASIL
JUNHO - 2006**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**USO DE eCG EM OVELHAS SUFFOLK NO PERÍODO
ESTACIONAL**

*USE OF eCG IN SUFFOLK EWES DURING SEASONAL
TRANSITION*

William Villalba Salazar

Prof. Dr. Antônio Carlos Duenhas Monreal
Orientador

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de
Mato Grosso do Sul, como
requisito à obtenção do
título de Mestre em
Ciência Animal.
Área de concentração:
Produção Animal

**CAMPO GRANDE
MATO GROSSO DO SUL – BRASIL
JUNHO - 2006**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Coordenadoria de Biblioteca Central – UFMS, Campo Grande, MS, Brasil)

S161a Salazar, William Villalba
Uso do eCG em ovelhas Suffolk no período de transição
estacional/ William Villalba Salazar. -- Campo Grande, MS,
2006.
42 f. ; 30 cm.

Orientador: Antônio Carlos Duenhas Monreal.
Dissertação (mestrado) -- Universidade Federal de Mato
Grosso do Sul. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia.

1. Ovino – Reprodução. I. Monreal, Antônio Carlos

WILLIAM VILLALBA SALAZAR

“Uso do eCG em ovelhas Suffolk no período de transição estacional”.

“Use of eCG in Suffolk ewes during seasonal transition”.

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como parte dos requisitos do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal para obtenção do título de Mestre.

Área de concentração: Produção Animal

APROVADA: 23/06/2006



Dr. Antonio Carlos Duenhas Monreal
Orientador



Dra. Maria Ines Lenz Sousa



Dr. Charles Ferreira Martins

Aos meus pais pelo exemplo de
dignidade e perseverança.

À minha namorada Susana, pelo amor,
paciência, compreensão e apoio nesta
caminhada dura e de muitos sacrifícios.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus...

Ao Prof. Dr. Antônio Carlos Duenhas Monreal pela orientação, que foi fundamental para a realização deste trabalho.

À Prof^a. Dra. Maria Inês Lenz Souza pela grande ajuda nas correções, sempre precisas e detalhadas, e por estar sempre disponível para sanar minhas dúvidas.

À Universidade Federal de Mato Grosso do Sul pela oportunidade.

À Prof^a. Dra. Maria da Graça Moraes, lutadora incansável e exemplo a ser seguido, pela dedicação e devoção à ciência, e pela serenidade e organização que conduz o mestrado.

À minha amiga Marilete, funcionária do mestrado, pelo carinho, preocupação, e disposição de sempre ajudar.

Aos meus irmãos Franklin e Wellington pela compreensão e ajuda nas coletas de dados.

Ao meu amigo Nelson Gaspar Dip Jr. a quem, não tenho palavras para expressar tanta gratidão.

Aos meus amigos Flávio Amaral Castilho, Luiz Henrique Mantovani, Cássio Coelho da Silva, Cristiano Mores, Alexandra de Oliveira, Áureo Ribeiro Vieira da Silva, pelo apoio incondicional e companheirismo nesta empreitada.

Ao Prof. Dr. José Roberto Zorzatto pelo auxílio com as análises estatísticas.

Aos Professores do Mestrado em Ciência Animal pelos ensinamentos.

À Cabanha Santa Suzana e ao amigo Geremias Francisco Rigon pela confiança, oportunidade e apoio na disponibilidade de toda a infra-estrutura para o desenvolvimento do experimento.

Aos meus amigos e colegas do mestrado pela unidade de objetivos e convivência harmoniosa.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste e que não tiveram os nomes aqui citados meu muito obrigado.

SUMÁRIO

“Páginas”

LISTA DE TABELAS	iv
LISTA DE FIGURAS.....	v
RESUMO.....	vi
ABSTRACT	vii
CAPÍTULO 1. Considerações Iniciais.....	1
1.1. Ciclo Estral	1
1.2. Desenvolvimento Folicular.....	3
1.3. Sincronização e Indução de Estro.....	6
1.4. Objetivos	9
1.5. Referências Bibliográficas.....	10
CAPÍTULO 2. Artigo: Detecção da estacionalidade reprodutiva em ovelhas Suffolk na transição estacional.....	16
2.1 Resumo	16
2.2 Abstract.....	17
2.3. Introdução	18
2.4. Material e Métodos	20
2.5. Resultados e Discussão	23
2.6. Conclusão.....	27
2.7. Referências bibliográficas.....	28
CAPÍTULO 3. Artigo: Avaliação da aplicação de eCG em dois momentos distintos da sincronização do estro em ovelhas.....	31
3.1 Resumo	31
3.2 Abstract.....	32
3.3. Introdução	33
3.4. Material e Métodos	35
3.6. Conclusão.....	40
3.7. Referências Bibliográficas.....	41

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

TABELA 1. Taxas de fertilidade, prolificidade, ocorrência total (OT) e percentual (OP) de estro após a aplicação de $\text{PGF}_2\alpha$ (G_1) e/ou após retirada do CIDR [®] (G_2).....	23
---	----

CAPÍTULO 3

TABELA 1. Taxas de fertilidade, prolificidade, ocorrência total (OT) e percentual (OP) de estro após a retirada do CIDR [®] (G_1 e G_2).....	37
---	----

LISTA DE FIGURAS

CAPITULO 1

FIGURA 1 – Eventos em um ciclo estral com duas ondas foliculares em uma fêmea ovina. Fonte: Adaptado de Moraes *et al.*(2002).....5

CAPITULO 2

ESQUEMA 1 – Cronograma de sincronização de estro com fêmeas Suffolk do Grupo G₁.....21

ESQUEMA 2 – Cronograma de sincronização de estro com fêmeas Suffolk do Grupo G₂.....22

FIGURA 1 – Concentração do estro em ovelhas Suffolk sincronizadas com prostaglandina (G₁) e CIDR (G₂) observados em relação a sua concentração (%) pelo tempo.....24

CAPITULO 3

ESQUEMA 1 – Cronograma de sincronização de estro com fêmeas Suffolk do Grupo G₁.....36

ESQUEMA 2 – Cronograma de sincronização de estro com fêmeas Suffolk do Grupo G₂.....36

FIGURA 1 – Aparecimento do estro após a retirada do dispositivo intravaginal nos grupos G₁ e G₂.....37

RESUMO

USO DE eCG EM OVELHAS SUFFOLK NO PERÍODO ESTACIONAL

A maioria das raças de ovinos é poliéstrica estacional de dias curtos, apresentando um modelo de reprodução sazonal, com incidência de ciclos estrais concentrada durante o outono e o inverno, permanecendo em anestro estacional durante o restante do ano. O objetivo deste trabalho foi verificar se existe estacionalidade reprodutiva em ovelhas Suffolk na fase de transição estacional sob latitude 20°31'47"S (dezembro de 2004 a fevereiro de 2005). O experimento foi desenvolvido na Cabanha Santa Suzana, localizada em Campo Grande, MS (latitude 20°31'47"S), com 70 ovelhas Suffolk múltiparas, na estação de transição (novembro de 2004 a fevereiro de 2005). As fêmeas foram distribuídas em dois grupos de 35 animais cada, sendo o grupo G₁ sincronizado com duas doses intervaladas por 10 dias de 125 µg de um análogo de PGF₂α; a sincronização do estro no grupo G₂ foi efetuada com a aplicação de CIDR[®] durante 9 dias, sendo o dia zero (D₀) considerado o dia da aplicação do dispositivo. Após esse período, as fêmeas receberam aplicação de 250 UI de eCG. Após a aplicação do cloprostenol (G₁) e/ou da retirada do CIDR[®] + aplicação do eCG (G₂), as fêmeas foram cobertas por monta natural. A fertilidade e a prolificidade dos animais G₁ foram, respectivamente, 8,57% e 1,0; e, dos animais G₂, de 73,53% e 1,06. Pelos resultados é possível concluir-se que a estacionalidade reprodutiva está presente no período de transição na latitude estudada. Os protocolos de sincronização de cio utilizando progestágenos associados à gonadotrofina coriônica eqüina (eCG) melhoram os resultados na indução e sincronização do estro no anestro estacional em ovelhas. O objetivo deste trabalho foi avaliar a viabilidade – medida pela fertilidade, prolificidade e aparecimento do estro – da utilização de eCG no momento da retirada do progestágeno e 48 h antes, em ovelhas Suffolk, sob latitude 20°31'47"S. O experimento foi realizado em Campo Grande, MS, Brasil, durante o período de transição estacional (dezembro de 2004 a fevereiro de 2005) com dois grupos experimentais (G₁ e G₂). A sincronização do estro nos grupos G₁ e G₂ foi efetuada com o emprego de CIDR[®] durante nove dias. Após esse período, as fêmeas receberam aplicação de 250 UI de eCG no momento da retirada de CIDR[®] (G₁) e 48 h antes da retirada (G₂). Após 24 h da retirada do dispositivo, os machos foram introduzidos aos grupos para cobertura natural. Obteve-se 100% de estro para os grupos G₁ e G₂. Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) para indução de estro, taxa de fertilidade (73,53% e 77,14%) e prolificidade (1,08 e 1,04) entre os grupos G₁ e G₂. Houve diferença significativa ($p < 0,05$) para o tempo entre a retirada do dispositivo e o início do estro entre os grupos G₁ e G₂, sendo que G₂ apresentou estro em 24 h e em G₁ este variou de 36 a 72 h após a retirada do dispositivo intravaginal. Os resultados obtidos permitem concluir que, ovelhas tratadas com aplicação de eCG 48 h antes da retirada de CIDR[®], tiveram seu estro concentrado em até 24 h após retirada do progestágeno.

Palavras-chave: sincronização de estro, ovelhas, eCG

ABSTRACT

USE OF eCG IN SUFFOLK EWES DURING SEASONAL TRANSITION

Most ovine breeds are seasonally polyestrous short-day breeders, exhibiting a seasonal pattern marked by a concentration of estrous cycles in autumn and winter months and remaining in seasonal anestrus for the rest of the year. The purpose of this study was to determine the occurrence of breeding seasonality in Suffolk ewes in the period of seasonal transition at latitude 20°31'47"S (December 2004–February 2005). The experiment was conducted at Cabanha Santa Suzana, located in Campo Grande, MS, Brazil (latitude 20°31'47"S), with 70 Suffolk multiparous ewes in the transition season (November 2004–February 2005). They were distributed into two groups of 35 animals each. Those in group G₁ were timed with two 125-μg doses of PGF₂α spaced 10 days apart; those in group G₂, with the use of a CIDR[®] device for nine days (the first day of use being counted as day 0). After this period, the ewes were given 250 IU of eCG. After administration of cloprostenol (G) or removal of CIDR[®] and eCG injection (G₂), all ewes were mated by natural service. Among G₁ animals, fertility and litter size were respectively 8.57% and 1.0; in group G₂, 73.53% and 1.06. Based on the results, it was possible to conclude that breeding seasonality is present in the transitional period at the latitude investigated. Protocols for estrus synchronization using progestagens associated with equine chorionic gonadotropin (eCG) improve the results of induction and synchronization of estrus in seasonal anestrus in ewes. The purpose of this study was to evaluate the viability – measured by fertility rate, lambing rate, and estrus onset – of the use of eCG at the time of progestagen withdrawal or 48 h earlier, in Suffolk ewes living at latitude 20°31'47"S. The experiment was conducted in Campo Grande, MS, southwestern Brazil, during the period of seasonal transition (December 2004 through February 2005) in two experimental groups (G₁ and G₂). In both groups, estrus synchronization was promoted with the use of a CIDR[®] device for nine days. After this period, the ewes were given 250 IU of eCG either upon CIDR[®] withdrawal (G₁) or 48 h earlier (G₂). Rams were introduced to the groups 24 h after withdrawal of the device, for natural service. Estrus was induced in 100% of animals in both groups. No significant differences ($p > 0.05$) in estrus induction, fertility rate (73.53% and 77.14%), or lambing rate (1.08 and 1.04) were found between groups. A significant difference ($p < 0.05$) between groups was found in the time elapsed between progestagen withdrawal and the onset of estrus: G₂ animals exhibited estrus within 24 h, whereas in G₁ the onset occurred from 36 to 72 h after removal of the intravaginal device. The results showed that in ewes treated with eCG 48 h before CIDR[®] removal estrus was concentrated within 24 h after progestagen withdrawal.

Key words: estrus synchronization, sheep, eCG

CAPÍTULO 1. Considerações Iniciais

1.1. Ciclo Estral

As ovelhas são poliéstricas estacionais de dias curtos. O estímulo para a manifestação e/ou intensificação dos fenômenos reprodutivos é o decréscimo no número de horas de luz por dia. As maiores possibilidades de sobrevivência das espécies recaem sobre aquelas capazes de gestar e parir em épocas favoráveis ao desenvolvimento de suas crias (Mies Filho *et al.*, 1989). Desta forma, segundo Fonseca (2002), a atividade reprodutiva de ovinos e caprinos é dividida em estações de anestro (início do inverno ao início do verão), de transição (verão) e de acasalamento (final do verão ao início do inverno), com o pico reprodutivo ocorrendo, em geral, no outono.

A atividade reprodutiva nos machos também é afetada pelo fotoperíodo. Embora haja produção espermática durante todo o ano, os valores dos ejaculados mostram-se superiores no outono e inferiores na primavera, não somente na quantidade como na qualidade, apresentando espermatozóides anormais incapazes de fecundar (Fowler, 1962, 1965; Colas e Courot, 1977; Schanbacher, 1979; Garde *et al.*, 1993), atestando o efeito do fotoperíodo. À medida que se aproxima da Linha do Equador, esta estacionalidade é diminuída ou findada (Pérez e Mateos, 1995). Desta forma, em áreas subequatoriais, desde que haja aporte nutricional em quantidade e qualidade suficientes, ovelhas ciclarão durante todo o ano e machos apresentarão sêmen de boa qualidade (Mies Filho *et al.*, 1989).

A ciclicidade também é fortemente influenciada pelo fator raça. Por exemplo, ovinos de raças nativas (adaptadas) brasileiras apresentam atividade reprodutiva durante todo o ano, mesmo em áreas próximas aos trópicos, o que não acontece com ovinos lanados (Ile de France e Suffolk), por consequência do efeito local de origem da raça (Bicudo, 1999).

O ciclo estral na ovelha tem duração média de 17 dias, apresentando fase luteínica de 13 dias e uma fase folicular de 4 dias (Hafez, 1952). Durante esse período, os hormônios gonadotróficos folículo estimulante (FSH) e luteinizante (LH), secretados pela hipófise anterior, controlam o desenvolvimento folicular e a esteroidogênese, culminando na secreção de estrógenos pelas células da granulosa dos folículos

ovarianos e córtex da adrenal, que levam ao comportamento de estro (receptividade sexual). O pico pré-ovulatório de LH leva à ovulação dos folículos pré-ovulatórios e à luteinização da estrutura folicular remanescente, com a subsequente formação do corpo lúteo (Rubianes, 2000a e b; Moraes *et al.* 2002; Menchaca e Rubianes, 2004). Enquanto o corpo lúteo se desenvolve, as quantidades de progesterona secretadas por ele aumentam. Segundo Rubianes (2000a), a progesterona secretada durante a fase luteal exerce vários efeitos durante o ciclo estral: 1) realizam um “*priming*” sobre os centros cerebrais, de tal forma, que o comportamento do estro será induzido pelo aumento posterior dos estrógenos na fase folicular; 2) modulam o desenvolvimento folicular de forma que o próximo pico de LH induzirá a formação de um corpo lúteo normal (CL); 3) inibem a secreção uterina de $\text{PGF}_2\alpha$ durante os primeiros dias da fase luteal, e 4) suprimem as frequências de pulsos do GnRH inibindo a secreção tônica do LH.

Para os dias 11-12 do ciclo estral, engatilha-se o mecanismo de retro-alimentação positiva ocitocina luteal/ $\text{PGF}_2\alpha$ endometrial que culmina com a lise do CL, levando a uma queda brusca da progesterona plasmática ao redor do dia 13 (Wathes *et al.*, 1996). Neste mecanismo estão envolvidos tanto a progesterona como o estrógeno, o qual controla os receptores de ocitocina em nível das células endometriais (Lamming e Mann, 1995). A queda da progesterona permite o aumento do GnRH e, conseqüentemente, os pulsos de LH, que estimula a secreção do estradiol pelo ovário (Rubianes, 2000a e b). O aumento do estradiol estimula o comportamento estral e os aumentos pré-ovulatórios de GnRH e LH. O aumento do LH induz à ovulação e luteinização, com a diminuição da secreção do estradiol, iniciando-se um novo ciclo (Lamming e Mann, 1995; Wathes e Lamming, 1995).

O papel preponderante dos esteróides ovarianos fica evidenciado em três eventos críticos do ciclo estral: luteólise, comportamento estral e processo de ovulação/luteinização (Rubianes, 2000a). A progesterona regula o mecanismo ocitocina luteal/ $\text{PGF}_2\alpha$ endometrial, que controla a luteólise, enquanto o aumento do estradiol da fase folicular é responsável pelo comportamento estral e pelo aumento dos níveis de LH, que conduzem à ovulação (Lamming e Mann, 1995; Wathes e Lamming, 1995).

Durante o anestro estacional, a interação entre o eixo hipotálamo-hipofisário e os estrógenos secretados por um folículo em crescimento será predominantemente negativa, não produzindo a cascata desencadeante da ovulação (Souza *et al.*, 1996; De

Castro *et al.*, 1999). Este fenômeno é controlado pelas características do fotoperíodo, isto é, a relação luz/escuridão diária.

A melatonina é secretada durante as horas de escuridão pela glândula pineal, e o aumento ou encurtamento do tempo de secreção determina a mudança na sensibilidade pelo eixo hipotálamo-hipofisário aos estrógenos (Bubenik e Purtil, 1980; Stéfano, 1985). A melatonina tem efeito preponderante na reprodução de pequenos ruminantes, determinando o período de reprodução estacional e anestro (Malpaux *et al.*, 1999). A estacionalidade em ovelhas e outros mamíferos envolve profundas variações na melatonina, apetite e pelagem, assim como no *status* reprodutivo (Williams e Helliwell, 2003). O hormônio melatonina, produzido pela pineal, influencia todas essas variações e atos como uma reflexão do ambiente fotoperiódico (Bittman *et al.*, 1983; Thiéry *et al.*, 2002; Williams e Helliwell, 2003). Evidências demonstram que o fotoperíodo histórico dos animais começa no útero, sendo o feto receptível ao sinal maternal de melatonina do início da gestação. É provável que a experiência fotoperiódica da mãe seja transmitida ao feto, e altere a subsequente resposta do neonato para o fotoperíodo (Williams e Helliwell, 2003).

1.2. Desenvolvimento Folicular

Nas ovelhas o desenvolvimento folicular ocorre em ondas, tanto na estação reprodutiva e anestro estacional, como durante o início da gestação e pós-parto (Ginther e Kot, 1994; Ginther *et al.*, 1995, Souza *et al.*, 1996; Lopez Sebastian *et al.*, 1997; Leyva *et al.*, 1998; Bartlewsky *et al.*, 1998, 1999, 2000; Gibbons *et al.*, 1999; de Castro *et al.*, 1999; Gonzáles de Bulnes *et al.*, 1999; Viñoles *et al.*, 2000; Evans, 2003), as quais, sob estímulo do FSH, emergem em intervalos de 4-6 dias, variando de duas a quatro ondas (Ginther e Kot, 1994; Deshpande *et al.*, 1999; Evans, 2003), sendo mais freqüente três ondas foliculares por ciclo (Rubianes, 2000b). Na fase luteal as concentrações de FSH devem ser suficientes para assegurar que hajam folículos capazes de iniciar a fase final do desenvolvimento pré-ovulatório, se as secreções tônicas e pulsos de LH aumentarem, como ocorre na fase folicular (Rubianes, 2000a,b), em que os níveis de FSH controlam o número de folículos que maturam (Campbell *et al.*, 1995). A taxa ovulatória é, também, determinada por outros fatores, tais como genéticos,

nutricionais e de relações endócrinas entre folículos, tanto intra como interovulatórias que, entre outras coisas, determinam a sensibilidade do FSH. A secreção do FSH é regulada por estrógenos e inibina, oriundos dos folículos (Souza *et al.*, 1996; Rubianes, 2000b).

Existe forte evidência experimental que, durante a primeira e a última onda folicular, ocorre o mecanismo denominado dominância (Ginther *et al.*, 1996). É selecionado um folículo, de vários recrutados, que continuará crescendo, enquanto os outros entram em atresia (Menchaca e Rubianes, 2002). O folículo dominante é dependente da pulsatilidade do FSH na sua fase final de crescimento (Baird e McNeilly, 1981). O folículo dominante de uma onda será o folículo ovulatório, se conseguir estabelecer uma cascata endócrina com o LH, que desemboque no pico pré-ovulatório de LH. Caso não aconteça, ele entrará em atresia, enquanto emerge outra onda folicular (Ginther *et al.*, 1996). A respeito das ondas intermediárias durante o ciclo estral é sustentado que a dominância não está presente, porque as mesmas possuem aporte gonadotrófico inadequado (LH insuficiente) (Rubianes, 2000b).

A relação entre as concentrações séricas de progesterona e o padrão de ondas foliculares nos ovinos, mostra que os níveis supra-luteais de esteróides são superiores, afetando o crescimento do folículo dominante (Rubianes *et al.*, 1996), promovendo a seleção folicular. O folículo dominante induz níveis subluteais de progesterona, prolongando sua vida e mantendo, assim, o efeito da dominância sobre os folículos subordinados (Viñoles *et al.*, 1999). O conjunto dessas informações sustenta o conceito da concentração de progesterona circulante no papel preponderante na seleção folicular. O crescimento folicular é dependente da pulsatilidade do LH e está negativamente correlacionada com as concentrações de progesterona circulante. A redução da pulsatilidade provoca a regressão do folículo dominante da onda e, conseqüentemente, aumenta a retroinibição que os estrógenos, produzidos por ele, provocam na liberação do FSH (Rubianes, 2000a; Moraes *et al.*, 2002). Desse modo o FSH incrementa-se e, uma nova onda folicular, emerge (Rubianes 2000b).

Durante a fase progesterônica ocorre produção e acúmulo de ocitocina luteal, porém a progesterona inibe a expressão uterina de receptores endometriais para ocitocina (Wathes *et al.*, 1996), os quais aumentam em número e atividade em função de estrógenos, à medida que o ciclo estral aproxima-se da fase folicular e luteólise. Neste momento, pulsos iniciais de prostaglandina (PG F₂α), produzida pelo endométrio, disparam a liberação de ocitocina luteal que, por sua vez, intensifica a produção de

PGF2 α e a luteólise, determinando o crescimento e a maturação folicular, bem como a ovulação (Lamming e Mann, 1995; Wathes e Lamming, 1995).

A ovulação pode ser única ou múltipla e ocorre, predominantemente, no final do estro ou logo após o seu final (Viñoles *et al.*, 2000; Fonseca, 2002). Após a ovulação, formam-se os corpos lúteos que aumentam seu diâmetro e atividade progesterônica, a qual será findada, a menos que ocorra o reconhecimento e manutenção da gestação. A prolificidade, conseqüente do número de ovulações, parece estar mais vinculada ao fator raça, tendo-se raças ovinas com maior ou menor prolificidade (Moraes *et al.* 2002).

A fig. 1, representa, resumidamente, duas das quatro ondas foliculares de uma fêmea ovina.

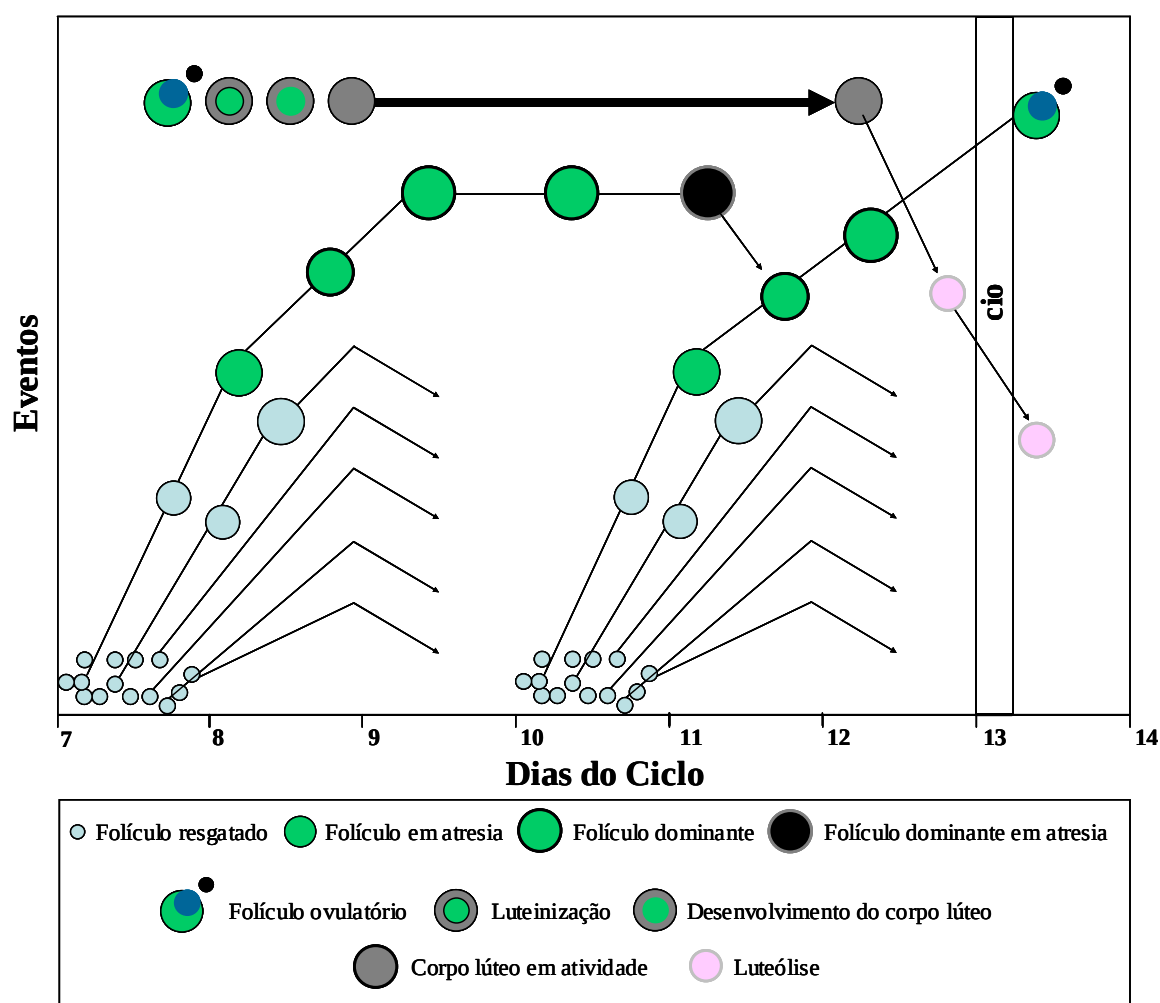


Figura 1: Eventos em um ciclo estral com duas ondas foliculares em uma fêmea ovina. Fonte: adaptado de Moraes *et al.* (2002).

1.3. Sincronização e Indução de Estro

Em ovinos e caprinos, o estro pode ser eficientemente sincronizado por várias técnicas. Normalmente, sincronização refere-se à concentração de animais em estro em intervalo de tempo restrito, encurtando ou alongando o ciclo estral através da utilização de hormônios ou associações hormonais que induzam à luteólise ou prolonguem a vida do corpo lúteo (Moraes *et al.*, 2002). Não obstante, a indução de estros consiste em induzir o cio em ovelhas que estejam em anestro, através da utilização de hormônios ou práticas de manejo (Menchaca e Rubianes, 2004).

A estacionalidade reprodutiva em ovinos deve ser considerada, uma vez que, dependendo da época do ano, será peculiar à técnica a ser empregada. Segundo Moraes *et al.* (2002), existem dois conjuntos de métodos de manipulação do ciclo estral em ovinos: um natural, que emprega o chamado efeito macho, e outro que inclui métodos artificiais, que empregam progesterona, progestágenos e prostaglandinas ($\text{PGF}_2\alpha$).

No anestro transicional, técnicas que utilizam manipulações hormonais, programas de luz artificial e efeito macho (isolamento das fêmeas em anestro estacional do contato com carneiros e apresentação 30 dias depois; Evans e Maxwell, 1987) podem, de forma isolada ou em associação, induzir à manifestação de estro, que poderá ser ou não de forma sincronizada (Rubianes, 2000a; Moraes *et al.*, 2002; Menchaca e Rubianes, 2004).

Durante a estação reprodutiva, a sincronização de estro em ovinos e caprinos, pode ser empregada com o uso de $\text{PGF}_2\alpha$, em dose única ou duas doses intervaladas de 10 dias (Fonseca *et al.*, 2003; Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2005), induzindo a regressão do corpo lúteo (CL; MacCracken *et al.*, 1972), resultando em taxas aceitáveis de nascimentos (67-86%) (Hughes *et al.*, 1976; Hackett e Robertson, 1980; Godfrey *et al.*, 1997). O encurtamento desse intervalo para 7 dias tem apresentado melhores resultados, sobretudo por permitir maior sincronia de ovulações, abrindo a possibilidade de inseminação artificial em tempo fixo. Isto é possível por que a segunda dose de $\text{PGF}_2\alpha$ é administrada entre o terceiro e o quinto dia do ciclo estral. Nesse período, os folículos dominantes da primeira onda folicular ainda estão em fase de crescimento e os corpos lúteos já estão responsivos à ação da $\text{PGF}_2\alpha$ (Hackett e Robertson, 1980; Naasz e Slyter, 1987; Rubianes *et al.*, 2003; Menchaca e Rubianes, 2004).

No caso de duas aplicações de $\text{PGF}_2\alpha$, a utilização ou não do estro após a primeira aplicação é facultativa. Contudo, a fertilidade das ovelhas ao primeiro serviço mostrou ser reduzida quando comparada às espojas vaginais de progestágeno (Boland *et al.*, 1978; Godfrey *et al.*, 1997). Após a segunda dose, há maior concentração de animais em estro (Fonseca *et al.*, 2003; Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2005).

A duração do ciclo estral em ovelhas varia de 15 a 24 dias e, dependendo do comprimento do ciclo de cada ovelha, a sua sensibilidade precoce à $\text{PGF}_2\alpha$ no ciclo, presumivelmente, variará com a maturidade fisiológica ou com a falta de maturidade do corpo lúteo (Pope e Cárdenas, 2004). O corpo lúteo forma-se mais lentamente em ovelhas com ciclos estrais mais longos, em relação às fêmeas com ciclos mais curtos, respectivamente, que a média ovina (Cárdenas *et al.*, 1993; Wiley e Pope, 1997). A habilidade da $\text{PGF}_2\alpha$ exógena de causar a regressão do corpo lúteo é dia (dia do ciclo estral), dose, frequência da exposição e via (útero / sistêmica) - dependente (Pope e Cárdenas, 2004).

Fator limitante para o uso deste fármaco é que as ovelhas estejam ciclando e apresentem um corpo lúteo funcional nos ovários, ou seja, estejam entre os dias 5 a 14 do ciclo (Hoppe e Slyter, 1989), reiterando-se, neste contexto, que é uma tecnologia que apenas pode ser empregada durante a estação reprodutiva. Há uma variabilidade ou desuniformidade de resposta luteolítica, ou seja, o intervalo entre a administração da $\text{PGF}_2\alpha$ e o início do estro tem sido bastante variado (24-72h), devido ao estágio de desenvolvimento folicular de quando a luteólise é induzida (Rubianes, 2000a).

Existem vários protocolos de indução e sincronização de estro que utilizam variações na dose, na duração, no tipo e na via de administração de progestágenos, no momento de aplicação de gonadotrofinas e no uso ou não de $\text{PGF}_2\alpha$. Mais comumente são utilizadas esponjas impregnadas com acetato de fluorogesterona (FGA) (Freitas *et al.*, 1996) ou acetato de medroxiprogesterona (MAP) (Robinson *et al.*, 1967), implantes auriculares de norgestomet (Freitas *et al.*, 1997), administrações diárias de progesterona (P4) por via intramuscular (Patil *et al.*, 2000), administrações orais diárias de MAP (Goswami *et al.*, 1998) e o CIDR[®], um dispositivo intravaginal liberador de progesterona natural, com custo superior ao da esponja. Este produto, no término do tratamento de curta duração, pode ser reutilizado após a sua higienização (Rubianes, 2000a).

Em ovinos e caprinos, a sincronização de estro pode ser eficientemente obtida por meio da utilização de progestágenos, em associação com gonadotrofinas e/ou prostaglandinas. O hormônio eCG (gonadotrofina coriônica eqüina), extraído do soro de égua prênhe, apresenta uma dupla atividade (FSH e LH) e sua meia-vida é bastante longa (120 horas), por consequência da sua cadeia polissacarídica, que a mantém na circulação (Combarnous, 1993). Atualmente, é a gonadotrofina mais utilizada (Moraes *et al.*, 2002). Todavia, a hCG (gonadotrofina coriônica humana) também pode ser utilizada com sucesso (Fonseca *et al.*, 2005b), principalmente naqueles animais submetidos à repetidas induções e que apresentam títulos de anticorpos anti-eCG (Baril *et al.*, 1992; Baril *et al.*, 1996; Bodin *et al.*, 1997).

A associação de PGF₂ α e dispositivos intravaginais contendo progestágenos ou progesterona é outra possibilidade, segundo Fonseca *et al.* (2004), desde que estes animais estejam na estação reprodutiva.

A sincronização do estro e ovulação com progestágenos análogos induz uma baixa qualidade dos folículos pré-ovulatórios, quando comparado à administração de prostaglandina (González-Bulnes *et al.*, 2005). Um incremento no desenvolvimento folicular pode ser alcançado com o uso de gonadotrofinas e progestágenos exógenos e, essa associação, é imprescindível fora da estação reprodutiva, tendo grande impacto sobre a exploração de animais que apresentem estacionalidade reprodutiva (Godfrey *et al.*, 1997; Leyva *et al.*, 1998; Rubianes, 2000a; Viñoles *et al.*, 2001). O uso desta associação por período prolongado acima de 13 dias altera o número e o tempo de persistência dos folículos em desenvolvimento, retardando assim a sua ovulação. A ovulação destes folículos envelhecidos não é desejável e compromete a fertilidade, fazendo com que protocolos de curta duração sejam mais eficientes que os de longa duração (Corteel *et al.*, 1988; Viñoles *et al.*, 2001).

Menor fertilidade tem sido observada quando utiliza-se protocolos tradicionais longos com progestágenos; uma das prováveis causas seria baixos níveis hormonais no final do tratamento, prolongando a vida do folículo pré-ovulatório, provocando alterações no ovócito ovulado (Viñoles *et al.*, 1999). Ungerfeld e Rubianes (1999) avaliaram a eficácia dos tratamentos de curta e de longa duração (tradicionais) com esponjas de MAP por 6, 9 e 12 dias com administração de eCG, durante o anestro estacional. Tratamentos com esponjas por 6 dias apresentaram resultados tão bons como os tratamentos de 9 e 12 dias, concluindo que os tratamentos de curta duração podem ser utilizados para indução do estro em ovelhas. Ungerfeld e Rubianes (2002) utilizando

protocolo de curta duração com CIDR[®] por 6 dias e aplicação de 380 UI de eCG no momento da retirada da fonte de progesterona, obtiveram manifestação de estro 40 horas após a retirada do dispositivo em 95% das ovelhas, apresentando taxa de concepção de 59,6%, durante o anestro estacional. Bicudo e Sousa (2003) propuseram um protocolo de curta duração (seis dias) aplicando-se PGF₂ α e eCG dois dias antes da retirada da esponja e constataram menor dispersão de ocorrência do estro, quando comparado ao protocolo de 12 dias. Concluíram que o protocolo proposto foi eficaz na indução/sincronização do estro de ovelhas Suffolk durante a estação de reprodução, com a totalidade delas manifestando estro em até 72 horas após a retirada do dispositivo intravaginal.

Gonadotrofinas e PGF₂ α são administradas 24 a 48 horas antes ou no momento da retirada do dispositivo. Todos têm apresentado elevados índices de animais em estro após a retirada do progestágeno ou progesterona, e taxas de gestação que variam de 50 a 80%, tanto com acasalamento natural como inseminação artificial (Moraes *et al.*, 2002). O uso de PGF₂ α é importante para obter a lise do corpo lúteo, garantindo elevado número de animais que entram em estro precocemente, após a retirada do progestágeno (Fonseca *et al.*, 2005b).

Segundo Bicudo (1999), o conhecimento dos comportamentos que governam, direta ou indiretamente, a atividade reprodutiva é essencial para estabelecer normas adequadas de manejo, bem como a eficiência na aplicação das biotécnicas utilizadas na reprodução assistida.

1.4. Objetivos

- ❖ Verificar se existe estacionalidade reprodutiva em ovelhas Suffolk sob latitude 20°31'47"S, na fase de transição estacional (dezembro/2004-fevereiro/2005).
- ❖ Avaliar a viabilidade da utilização de eCG, no momento da retirada do CIDR[®] e 48h antes, em ovelhas Suffolk, no período de transição estacional (dezembro/2004-fevereiro/2005), medida pela fertilidade, prolificidade e aparecimento do estro, sob latitude 20°31'47"S.

1.5. Referências Bibliográficas

Baird, D.T.; McNeilly, A.S. 1981. Gonadotrophic control of follicular development and function during the oestrus cycle of the ewe. *J. Reprod. Fertil. Suppl* 30:119-133.

Baril, G.; Remy, B.; Vallet, J.C.; Beckers, J.F. 1992. Effect of repeated use of progestagen-PMSG treatment for estrous control in dairy goats out of the breeding season. *Reprod. Domest. Anim.*, 27:161-168.

Baril, G.; Remy, B.; Leboeuf, B.; Beckers, J.F.; Saumande, J. 1996. Synchronization of estrus in goats: the relationship between Ecg binding in plasma, time of occurrence of estrus and fertility following artificial insemination. *Theriogenology*.45:1553-1559.

Bartlewski, P.M.; Beard, A.P.; Cook, S.J.; Rawlings, N.C. 1998. Ovarian follicular dynamics during anoestrus in ewes. *J. Reprod. Fertil.* 113:275-285.

Bartlewski, P.M.; Beard, A.P.; Cook, S.J.; Chandolia, R.K.; Honoramooz, A.; Rawlings, N.C. 1999. Ovarian antral follicular dynamics and their relationships with endocrine variables throughout the estrus cycle in breeds of sheep differing in prolificacy. *J. Reprod. Fertil.* 115:111-124.

Bartlewski, P.M.; Beard, A.P.; Rawlings, N.C. 2000. Ultrasonographic study of ovarian function during early pregnancy and after parturition in the ewe. *Theriogenology*.53:673-689.

Bicudo, S. D. 1999. Estudo da estacionalidade reprodutiva em carneiros Ideal: níveis séricos de testosterona, androstenediona, triiodotironina, tiroxina; biometria testicular; avaliação das características do sêmen e de parâmetros indicativos de adaptação ao clima.107p. Tese. FMVZ-UNESP.

Bicudo, S.D.; Sousa, D.B. 2003. Associação de progestágeno, prostaglandina e eCG em protocolo de curta duração para indução/sincronização do estro em ovelhas Suffolk. *Anais CBRA*, 15, Porto Seguro – BA.

Bittman, E.L.; Karsch, F.J.; Hopkins, J.W. 1983. Role of the pineal gland in ovine photoperiodism: regulation of seasonal breeding and negative feedback effects of estradiol upon lutenizing hormone secretion. *Endocrinology*. 113:329-336.

Bodin, L., Drion, P.V., Remy, B.1997. Anti-PMSG antibody levels in sheep subjected annually to oestrus synchronization. *Reprod. Nutr. Dev.* 37:651-660.

Boland, M.P.; Gordon, I.R.; Kellcher, D.L. 1978. The effect of treatment by prostaglandin analogue (ICI-80996) or progestagen (SC-9880) on ovulation and fertilization in cyclic ewes. *J. Agric. Sci. Camb.* 91:727-730.

Bubenik, G.A.; Purtil, R.A. 1980. The role of melatonin and dopami in retinal physiology. *Can. J. Phys. Pharm.* 58:1457-1462.

- Campbell, B.K.; Scaramuzzi, R.J.; Webb, R. 1995. Control of antral follicle development and selection in sheep and cattle. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 49:335-350.
- Cárdenas, H.; McClure, K.E.; Pope, W.F. 1993. Luteal function and Blastocyst development in ewes following treatment with PGF_{2α} and GnRH. *Theriogenology*. 40:865-872.
- Colas, G.; Courot, M. 1977. Production of spermatozoa, storage of sêmen and artificial insemination in the sheep. In: *Symposium of Management of reproduction in Sheep and Goats*. Proceedings pp: 31-40. University of Wisconsin.
- Combarnous, Y. 1993. Gonadotropins: structure, synthesis, functions. In: Thibault, C.; Levasseur, M.C.; Hunter, R.H.F. *Reprod.mam. man.* pp: 61-78. Paris: Ellipses.
- Corteel, J.M.; Leboeuf, B.; Baril, G. 1988. Artificial breeding of adult goats and kids induced with hormones to ovulate outside the breeding season. *Small Rumin Res*, 1:19–35.
- De Castro, T.; Rubianes, E.; Menchaca, A.; Rivero, A. 1999. Ovarian dynamics, serum estradiol and progesterone concentrations during the interovulatory interval in goats. *Theriogenology* 52:399-411.
- Deshpande, D.; Ravindra, J.P.; Narendranath, R.; Narayana, K. 1999. Ovarian antral follicular dynamics and serum progesterone concentration during the oestrous cycle of Bannur ewes. *Indian J. Anim. Sci.*, 69:932-934.
- Evans, A.C.O. 2003. Ovarian follicle growth and consequences for fertility in sheep. *Anim. Reprod. Sci.*, 78:289-306.
- Fonseca, J.F. 2002. Controle e perfil hormonal do ciclo estral e performance reprodutiva de cabras Alpinas e Saanen. Thesis (PhD) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- Fonseca, J.F.; Torres, C.A.; Rodrigues, M.T.; Santos, A .D.F.; Fürst, R.; Prosperi, C.P.; Maffili, V.V.; Rovay, H. 2003. Estrus, ovulation time and progesterone in Alpine and Saanen nulliparous goats synchronized with prostaglandin. *Acta Sci. Vet.*, 31:377
- Fonseca, J.F.; Bruschi, J.H.; Santos, A .F.A; Maffili, V.V.; Moraes, E.A; Pontes, R.A.M.; Prosperi, C.P. 2004. Sincronização de estro em cabras Toggenburg durante a estação de acasalamento. *Acta Sci. Vet.*, 31:238
- Fonseca, J.F.; Bruschi, J.H.; Zambrini, F.N.; Demczuk, E.; Viana, J.H.M.; Palhão, M.P. 2005a. Induction of synchronized estrus in dairy goats with different gonadotrophins. *Anim. Reprod. Sci.*, 85:117-124
- Fonseca, J.F.; Torres, C.A.A.; Maffili, V.V.; Rodrigues, M.T.; Santos, A.D.F.; Amorim, L.S.; Moraes, E.A. 2005b. Progesterone and behavioral features of estrous-induced Alpine goats. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, 28, n.4. (in press).

Fowler, D.G. 1962. The effect of light on semen characteristics of the Merino ram. In: Conference of the University of New South Wales. Proceedings. pp: 113-117.

Fowler, D.G. 1965. Semen quality of Merino rams. 2. The effects of seasonal changes in changes in day length on semen quality. *Aus. J. Exp. Agr. And Anim. Husb.* 5:142-148.

Freitas, V.J.F.; Baril, G.; Bosc, M.; Saumande, J. 1996. Induction and synchronization of estrus in goats: the relative efficiency of one versus two fluorogestone acetate-impregnated vaginal sponges. *Theriogenology*, 45:1251-1256.

Freitas, V.J.F.; Baril, G.; Saumande, J. 1997. Estrus synchronization in dairy goats: use of fluorogestone acetate vaginal sponges or norgestomet ear implants. *Anim. Reprod. Sci.*, 46:237-244.

Garde, J.; Atiga, C.G.; Guzmán, M.D.P.; Aguado, M.J.; Ângulo, C.; Montoro, V.; Vasquez, I. 1993. Influencia de la variaciones estacionales de la calidad seminal sobre el rendimiento de la técnica de congelación en el sêmen de morueco da raza Manchega: Resultados preliminares. In jornadas sobre producción animal. *Anais... Zaragoza*. 2:465-467.

Gibbons, J.R.; Kot, K.; Thomas, D.L.; Wiltbank, M.C.; Ginther, O.J. 1999. Follicular and FSH dynamics in ewes with a history of high and low ovulation rates. *Theriogenology* 52:1005-1020.

Ginther O.J.; Kot, K. 1994. Follicular dynamics during the ovulatory season in goats. *Theriogenology*, 42:987-1001.

Ginther O.J.; Kot, K.; Wiltbank, M.C. 1995. Associations between emergence of follicular waves and fluctuations in FSH concentrations during the estrous cycle in ewes. Follicular dynamics during the ovulatory season in goats. *Theriogenology*, 43:689-703.

Ginther, O.J.; Wiltbank, M.C.; Friche, P.M.; Gibbons, J.R.; Kot, K. 1996. Selection of the dominant follicle in cattle. *Biol. Reprod.*, 55:1187-1194.

Godfrey, R.W., M.L.Gray and J.R. Collins. 1997 A comparison of two methods of oestrous synchronisation of hair sheep in the tropics. *Anim. Reprod. Sci.* 47:99-106.

Gonzalez de Bulnes, A.; Santiago Moreno, J.; Gomez Brunet, A.; Inskip, E.k.; Lopez Sebastián, A. 1999. Follicular dynamic during the estrous cycle in dairy goats. *Anim. Sci.* 68:547-554.

Gonzalez-Bulnes, A.; Veiga-Lopez, A.; Garcia, P.; Garcia-garcia, R.M.; Ariznavarreta, C.; Sanchez, M.A.; Tresguerres, J.H.F.; Cocero, M.J.; Flores, J.M. 2005. Effects of progestagens and prostaglandin analogues on ovarian function and embryo viability in sheep. *Theriogenology*. 63: 2523-2534.

Goswami, J.; Sarmah, B.C.; Chakravarty, P.; Sarmah, B.K.; Goswami, R.N. 1998. Follicular growth in response to exogenous gonadotrophin in anoestrus goat. *Indian Vet. J.*, 75:311-313.

Hackett, A.J.; Robertson, H.A.1980. Effect of dose and time of injection of prostaglandin F2 in cycling ewes. *Theriogenology*.v.13, p.347-51.

Hafez, E.S.E. 1952. Studies on the breeding season and reproduction of the ewe. *J. Agric. Sci, Cambridge*, 42, 3:13-265.

Hoppe, K.F., Slyter, A. L.1989. Effects of prostaglandin dosage on synchronizing ovine estrous using a modified single injection regimen. *Theriogenology*, 31:1191-1200.

Hughes, F.; Lucas, J.M.; Netman, A.B.1976. The synchronisation of oestrus and subsequent fertility In ewes following treatment with a synthetic prostaglandin analog (ONO 453). *Prostaglandin*, v.11, p.1033-39.

Lamming, G.E.; Mann, G.E. 1995. Control of endometrial oxytocin receptors and prostaglandin PGF2 α production in cows by progesterone oestradiol. *J. Reprod. Fertil.* 103:69-73.

Leyva, L.; Buckrell, B.C.; Walton J.S. 1998. Regulation of follicular activity and ovulation in ewes by exogenous progestagen. *Theriogenology*, 50:395-416.

Lopez Sebastián, A.; Gonzalez de Bulnes, A.; Santiago Moreno, J.; Gomez Brunet, A.; Townsend, E.C.; Inskeep, E.k. 1997. Patterns of follicular development during the estrous cycle in monoovular merino del Pais ewes. *Anim. Reprod. Sci.* 48:279-291.

Malpaux, B.; Viguié, C.; Skinner, D.C.; Thiéry, J.C.;Pelletier, J.; Chemineau, P. 1999. Seasonal breeding in sheep: mechanism of action of melatonin. *Anim. Reprod. Sci.* 42:109-117.

McCracken, J.A, Carlson, J.C., Glew, M.E., Goding, J.R., Baird, D.T., Green, K., Samuelsson, B., 1972. Prostaglandin F_{2 α} identified as a luteolytic hormone in sheep. *Nature*, v.238, p.129-34.

Menchaca, A.; Rubianes, E. 2002. Follicular recruitment and ovulatory response to FSH treatment initiated on Day 0 or day 3 post-ovulation in goats. *Theriogenology* 58:1713-1721.

Menchaca, A.; Rubianes, E. 2004. New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. *Reprod. Fertil.. Devel.*, 16:403-413.

Mies Filho, A.; Endler, J.A; Moraes, J.C.F. 1989.Indução do estro ovulatório em ovelhas com emprego de estímulos elétricos e/ou hormonais – nota prévia. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, 13:229-238.

Moraes, J. C. F., Souza, C. J. H., Gonçalves, P. B. D. 2002. Controle do estro e da ovulação em bovinos e ovinos. In: Paulo Bayard Dias Gonçalves; José Ricardo de Figueiredo; Vicente José de Figueirêdo Freitas. (Org.). *Biotécnicas aplicadas à reprodução animal*. 1 ed. São Paulo, 1:25-55.

- Naasz, P.E.; Slyter, A.L.; 1987. Effect of prostaglandin $F_{2\alpha}$ administration on early pregnancy in ewes. *J. Anim. Sci.* 64:1127-1133.
- Patil, A .D.; Kurhe, B.P.; Phalak, K.R.; Dhoble, R.L. 2000. Synchronization of oestrus using progesterone and PMSG in Osmanabadi goats. *Indian J. Anim. Sci.*, 70:281-282.
- Pérez, B.; Mateos, E. 1995. Seasonal variations in plasma testosterone levels in Verata and Malagueña bucks. *Small Rum. Res.* 15:155-62.
- Pope, W.F.; Cárdenas, H. 2004. Sensitivity of sheep to exogenous prostaglandin $F_{2\alpha}$ early in the estrous cycle. *Small Ruminant research*, v.55, p245-48.
- Robinson, T.J.; Moore, N.W.; Holst, P.F.; Smith, J.F. 1967. The evaluation of several progestogens administered in intravaginal sponges for the synchronization of estrus in the entire cyclic Merino ewe. In: Robinson, T.J, editor. *Control of the ovarian cycle in the sheep*. White and Bull PTY Ltda. 76-91.
- Rubianes, E.; Castro, T.; Carbajal, B. 1996. Effect of high progesterone levels during the growing phase of the dominant follicle of wave 1 in ultrasonically monitored ewes. *Can. J. Anim. Sci.* 76:1-3.
- Rubianes, E. 2000a. Nociones básicas de fisiología reproductiva em cabras y ovejas. In: *Simposio sobre Controle Farmacológico do Ciclo Estral em Ruminantes. anais...* São Paulo-SP: FMVZ-USP.
- Rubianes, E. 2000b. Advances on ovarian physiology knowledge using transrectal ultrasonography in sheep and goat. Workshop reproduction in Small Ruminant **In:** 14 International Congress on Animal Reproduction, Stockholm, July, 266.
- Rubianes, E.; Menchaca, A.; Carbajal, B. 2003. Response of the 1-5 day-aged ovine hábeas luteum to prostaglandin $F_{2\alpha}$. *Anim. Reprod. Sci.* 78:47-55.
- Schanbacher, B.D. 1979. Increased lamb production with rams exposed to short day-lengths during the nonbreeding season. *J. Anim. Sci.* 49:927-932.
- Souza, C.J.H.; Campbell, B.K.; Baird, D.T. 1996. Follicular dynamics and ovarian steroid secretion in sheep during anestrus. *J. Reprod. Fertil.* 108:101-106.
- Stefano, F. 1985. Neurotransmisores. In: *Endocrinologia Molecular*. Calandra, R. y de Nicola, A.F. pp: 353-365. Ed. Ateneo. Buenos Aires.
- Thièry, J.C.; Chemineau, P.; Hernadez, X.; Migaud, M.; Malpoux, B. 2002. Neuroendocrine interactions and seasonality. *Domestic Anim. Endoc.* 23: 87-100.
- Ungerfeld, R.; Rubianes, E. 2002. Short term primings with different progestogen intravaginal devices (MAP, FGA e CIDR)for eCG-estrous induction in anestrus ewes. *Small Rumin. Res.*, 46:63-66.

Viñoles, C.; Meikle, A.; Forsberg, M.; Rubianes, E. 1999. The effect of subluteal levels of exogenous progesterone on follicular dynamics and endocrine patterns during the early luteal phase of the ewe. *Theriogenology*, 51:1351-1361.

Viñoles, C.; Forsberg, M.; Banchero, G.; Rubianes, E. 2000. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in the ewe. *Proceedings of the 14 International Congress on animal Reproduction*, Stockholm, July, 1:26.

Viñoles, C.; Forsberg, M.; Banchero, G.; Rubianes, E. 2001. Effect of long-term and short-term progestagen treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. *Theriogenology*, 55:993-1004.

Wathes, D.C.; Lamming, G.E. 1995. The oxytocin receptor, luteolysis and maintenance of pregnancy. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 49:53-67.

Wathes, D.C.; Mann, G.E.; Payne, J.H.; Riley, P.R., Stevenson, K.R.; Lamming, G.E. 1996. Regulation of oxytocin, oestradiol and progesterone receptor concentrations in different uterine regions by oestradiol, progesterone and oxytocin in ovariectomized ewes. *J. Endocrinol.*, 151:375-393.

Wiley, T.M.; Pope, W.F. 1997. Effect of the rate of progesterone decline at luteolysis on the ovulatory follicles and subsequent estrous cycle length in sheep. *Anim. Reprod. Sci.* 46:79-87.

Williams, L.M.; Helliwell, R.J.A. 2003. Melatonin and seasonality in the sheep. *Anim. Reprod. Sci.* 33: 159-182.

CAPÍTULO 2. Artigo: Detecção da estacionalidade reprodutiva em ovelhas Suffolk na transição estacional

Detection of breeding seasonality in Suffolk ewes during seasonal transition

2.1 Resumo

Detecção da estacionalidade reprodutiva em ovelhas Suffolk na transição estacional

A maioria das raças de ovinos é poliéstrica estacional de dias curtos, apresentando um modelo de reprodução sazonal, com incidência de ciclos estrais concentrada durante o outono e o inverno, permanecendo em anestro estacional durante o restante do ano. O objetivo deste trabalho foi verificar se existe estacionalidade reprodutiva em ovelhas Suffolk na fase de transição estacional sob latitude 20°31'47"S (dezembro de 2004 a fevereiro de 2005). O experimento foi desenvolvido na Cabanha Santa Suzana, localizada em Campo Grande, MS (latitude 20°31'47"S), com 70 ovelhas Suffolk múltiparas, na estação de transição (novembro de 2004 a fevereiro de 2005). As fêmeas foram distribuídas em dois grupos de 35 animais cada, sendo o grupo G₁ sincronizado com duas doses intervaladas por 10 dias de 125 µg de um análogo de PGF₂α; a sincronização do estro no grupo G₂ foi efetuada com a aplicação de CIDR[®] durante 9 dias, sendo o dia zero (D₀) considerado o dia da aplicação do dispositivo. Após esse período, as fêmeas receberam aplicação de 250 UI de eCG. Após a aplicação do cloprostenol (G₁) e/ou da retirada do CIDR[®] + aplicação do eCG (G₂), as fêmeas foram cobertas por monta natural. A fertilidade e a prolificidade dos animais G₁ foram, respectivamente, 8,57% e 1,0; e, dos animais G₂, de 73,53% e 1,06. Pelos resultados é possível concluir-se que a estacionalidade reprodutiva está presente no período de transição na latitude estudada.

Palavras-chave: ciclicidade reprodutiva, ovinos, sincronização de estro

2.2 Abstract

Detection of breeding seasonality in Suffolk ewes during seasonal transition

Most ovine breeds are seasonally polyestrous short-day breeders, exhibiting a seasonal pattern marked by a concentration of estrous cycles in autumn and winter months and remaining in seasonal anestrus for the rest of the year. The purpose of this study was to determine the occurrence of breeding seasonality in Suffolk ewes in the period of seasonal transition at latitude 20°31'47"S (December 2004–February 2005). The experiment was conducted at Cabanha Santa Suzana, located in Campo Grande, MS, Brazil (latitude 20°31'47"S), with 70 Suffolk multiparous ewes in the transition season (November 2004–February 2005). They were distributed into two groups of 35 animals each. Those in group G₁ were timed with two 125-µg doses of PGF₂α spaced 10 days apart; those in group G₂, with the use of a CIDR[®] device for nine days (the first day of use being counted as day 0). After this period, the ewes were given 250 IU of eCG. After administration of cloprostenol (G) or removal of CIDR[®] and eCG injection (G₂), all ewes were mated by natural service. Among G₁ animals, fertility and litter size were respectively 8.57% and 1.0; in group G₂, 73.53% and 1.06. Based on the results, it was possible to conclude that breeding seasonality is present in the transitional period at the latitude investigated.

Key words: breeding cyclicity, sheep, estrus synchronization

2.3. Introdução

Em geral, a maioria das raças de ovinos são poliéstricas estacionais de dias curtos, apresentando um modelo de reprodução sazonal com incidência de ciclos estrais concentrada durante o outono e inverno (Hafez, 1952; Sasa *et al.*, 2001). O fotoperíodo é o fator ambiental primário que controla a estação reprodutiva, não apenas em ovelhas e cabras mas, também, em muitas outras espécies de mamíferos (Turek e Campbell, 1979).

Tendo como interdependência principal a latitude, em caráter diretamente proporcional, o fotoperíodo influencia a atividade reprodutiva das fêmeas, provocando profundas variações na melatonina, no consumo voluntário de alimentos e no crescimento da pelagem. Outros fatores, tais como a altitude, linhagem, idade e nutrição, influenciam tal fenômeno, em menor extensão (Wheaton *et al.*, 1990). A melatonina, produzida pela glândula pineal na ausência de luz, influencia todas essas variações e atos como uma reflexão do ambiente fotoperiódico (Williams e Helliwell, 2003). Contrariamente à maioria dos animais domésticos, ovelhas e cabras, em latitudes mais elevadas, onde existe uma maior variação da intensidade luminosa, apresentam estacionalidade reprodutiva intimamente relacionada com o fotoperíodo, enquanto que, em baixas latitudes, esta relação é menos pronunciada (Chamineau *et al.*, 2003).

A duração da estação reprodutiva das ovelhas no Brasil varia consideravelmente, devido à grande variação na latitude. Nos Estados do Norte/Nordeste, onde existe pouca variação da relação claro/escuro (dias longos) e a latitude aproxima-se de 0° (linha do Equador), as ovelhas sofrem menor influência do fotoperíodo e, em consequência, ciclam ao longo do ano, podendo ser acasaladas mais de uma vez (Figueiredo *et al.*, 1980; Girão *et al.*, 1984). No outro extremo do país (Região Sul), onde a latitude está em torno de 30°, ocorre marcante variação da quantidade de luminosidade e, as ovelhas dessa região, acabam apresentando intensas modificações da atividade sexual, ocorrendo estro e ciclos reprodutivos restritos a estação de outono (Nunes e Figueiró, 1975; Silva e Figueiró, 1980; Ribeiro *et al.*, 1996). No Estado de Mato Grosso do Sul, situado no Centro-Sul do país, com latitude aproximada de 20°, não existe nenhum estudo com informações sobre as características de manifestação do ciclo estral em ovelhas na estação de transição estacional (dezembro – fevereiro), fazendo-se necessárias informações sobre estas características nesta região. O presente trabalho foi

conduzido com o objetivo de verificar se existe estacionalidade reprodutiva em ovelhas Suffolk, na fase de transição estacional, sob latitude 20°31'47"S (dezembro/2004 – fevereiro/2005), em função da resposta obtida com a aplicação de PGF2 α .

2.4. Material e Métodos

O experimento foi desenvolvido na Cabanha Santa Suzana, localizada em Campo Grande – MS (latitude 20°31'47"S, longitude 54°32'43" W, altitude 532 m). O clima é caracterizado como subtropical Cwa Koppen, com precipitação pluviométrica anual de 1250 mm e temperatura média de 24°C. Utilizaram-se 70 ovelhas Suffolk, múltiparas, na estação de transição (novembro/2004 a fevereiro/2005), previamente examinadas quanto ao estado clínico geral e comprovadamente aptas, sem evidências de comprometimento clínico reprodutivo. Foram utilizados 30 machos homogêneos da raça Suffolk para a monta natural e controlada.

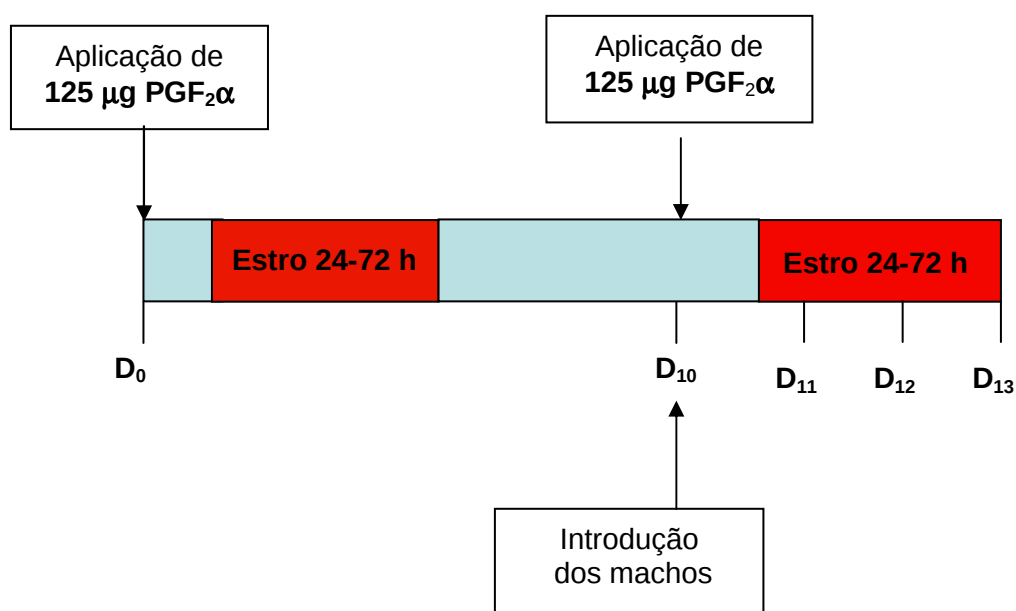
As fêmeas foram mantidas em manejo extensivo, em piquetes de capim coast-cross (*Cynodon dactylon*) e aruana (*Panicum maximum* Jacq.), com sal mineral e água *ad libitum*, além de suplemento alimentar de capim Napier (*Penisetum purpureum*) picado e ração com 16% de proteína bruta (PB), fornecido ao final do dia em abrigo para pouso.

Distribuíram-se as fêmeas em dois grupos homogêneos de 35 animais cada, sendo o grupo G₁ sincronizado com duas doses intervaladas por 10 dias, de 125 µg de um análogo de PGF₂α (Sincrocio[®], Cloprostenol sódico, Produtos Veterinários Ouro Fino Ltda, Brasil) por via intramuscular, para avaliar se estes animais possuíam estacionalidade reprodutiva nesta época e sob esta latitude (G₁; esquema 1). A sincronização do estro no grupo G₂ foi efetuada com a aplicação de CIDR[®] durante 09 dias, sendo o dia zero (D₀) considerado o dia da aplicação do dispositivo. Após esse período, as fêmeas receberam aplicação de 250 UI de eCG (Folligon[®] 5000, Intervet, Holanda) por via intramuscular, no momento da retirada do CIDR[®], ou seja, no dia 9 (D₉) (G₂; esquema 2). Após a aplicação do cloprostenol (G₁) e/ou da retirada do CIDR[®] + aplicação do eCG (G₂), os machos com tinta na região esternal, foram distribuídos e introduzidos aos grupos G₁ e G₂ para cobertura natural e controlada. Neste momento, também, começaram a ser realizadas as detecções sistemáticas do estro, com rufiões, em todas as ovelhas, com intervalos de 4 horas, durante um período de aproximadamente 72 horas, a partir do primeiro estro detectado.

O diagnóstico de gestação foi verificado através de ultra-sonografia, com transdutor trans-abdominal linear de 7,5 MHz, 55 dias após o término das coberturas, para os dois grupos.

Os resultados para fertilidade e aparecimento de estros foram avaliados pelo método não paramétrico do Qui-quadrado, enquanto a prolificidade mediu-se pelo teste de Mann-Whitney ao nível de significância $\alpha=5\%$, na tentativa de comparar-se a eficiência dos tratamentos G_1 e G_2 .

Os cronogramas de sincronização e os procedimentos estão demonstrados nos esquemas 1 e 2.



Esquema 1. Cronograma de sincronização de estro com fêmeas Suffolk do Grupo G_1 .

2.5. Resultados e Discussão

Uma fêmea do grupo G₂ morreu e foi descartada da análise estatística. Obteve-se 100% de estro para o grupo G₂ e 11,43% para o grupo G₁, demonstrado pelo teste do qui-quadrado diferença significativa ($p=0,000$) para a indução do estro entre os grupos, com influência na taxa de fertilidade entre os dois tratamentos (tab. 1). O resultado obtido confirma o período ainda de anestro, mesmo em transição primavera-verão, onde as ovelhas Suffolk do grupo G₁ não apresentaram atividade reprodutiva significativa, quando comparada ao grupo sincronizado com eCG e CIDR[®] (G₂). Sasa *et al.* (2002), também observaram os mesmos resultados encontrados neste estudo, onde a raça Suffolk, sob latitude 21° 59' S, apresentou estacionalidade reprodutiva característica, não exibindo atividade ovariana significativa. Prucolli e Baccari Jr. (1967) verificaram a incidência máxima de estros, para raças lanadas, no final da primavera e início de verão enquanto que, na mesma região, Roda *et al.* (1993), testando acasalamento durante oito meses, observaram que somente 10% das fêmeas Suffolk estudadas apresentaram cinco partos em quatro anos (intervalo de 9,6 meses) confirmando a existência de estacionalidade reprodutiva nessa raça. Portanto, parece que mecanismos fisiológicos estão envolvidos no desenvolvimento reprodutivo de raças de ovelhas geneticamente diferentes, com diferentes ambientes (Papachristoforou *et al.*, 2000).

Tabela 1. Ocorrência total (OT) e percentual (OP) de estro após a aplicação de PGF₂ α (G₁) e/ou após retirada do CIDR[®] (G₂), taxas de fertilidade e prolificidade.

Tratamentos	n	Estro		Taxa de Fertilidade	Taxa de Prolificidade
		OT	OP		
G ₁	35	4 ^a	11,43 ^a	8,57 ^a	1,0 ^a
G ₂	34	34 ^b	100 ^b	73,53 ^b	1,08 ^a

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa em nível de 5% pelo teste de χ^2 para estro e fertilidade e teste de Mann-Whitney para prolificidade.

Apesar de não ter sido realizada a dosagem hormonal de progesterona, como Gonzáles-Bulnes *et al.* (2005) avaliaram, o efeito dos progestágenos e prostaglandina pode ser observado pela manifestação do estro nos dois grupos estudados. No entanto,

as duas aplicações de 125 µg de prostaglandina em intervalos de 10 dias, não foram suficientes para promover o estro na maioria dos animais grupo G₁, pois os mesmos provavelmente não apresentaram corpo lúteo funcionante.

Na figura 1 observa-se o aparecimento do comportamento estral nos grupos G₁ e G₂, onde houve maior concentração de estro no grupo G₁ em relação ao grupo G₂.

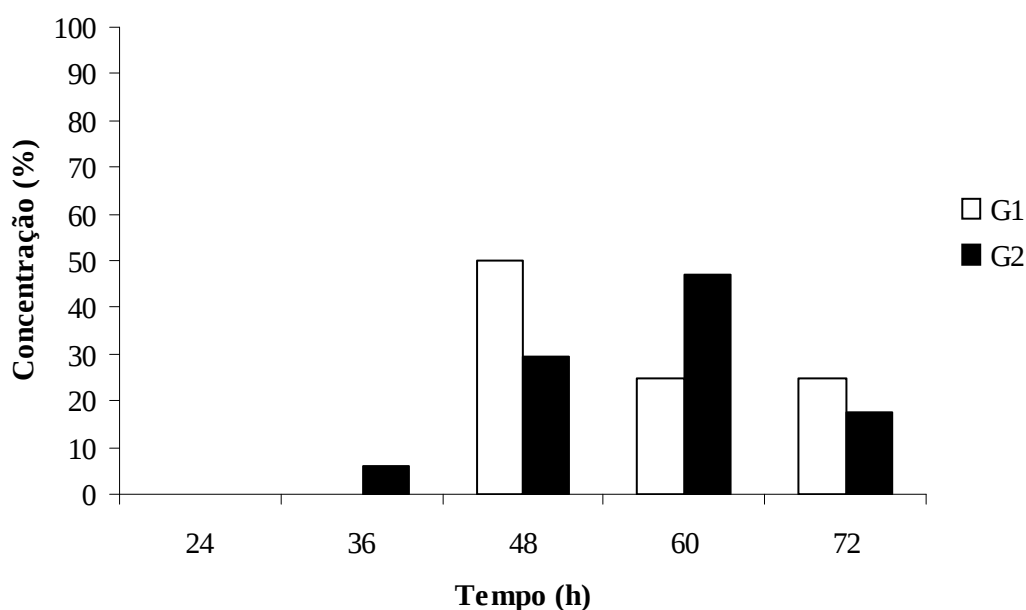


Figura 1: Concentração do estro em ovelhas Suffolk sincronizadas com prostaglandina (G₁) e CIDR (G₂) observados em relação a sua concentração (%) pelo tempo.

Para o tempo entre a retirada do CIDR[®] / aplicação de prostaglandina e o início do estro, foi observada diferença significativa, com valor $p=0,000$, entre os grupos G₁ e G₂. No grupo G₁ foi verificada uma variação de estro em 48h (50%), 60h (25%) e 72h (25%) após a aplicação da prostaglandina (fig. 1). Mann (1999) empregou prostaglandina (cloprostenol) em duas aplicações com intervalos de 12 dias, e seus resultados foram coincidentes com os deste estudo, para o grupo G₁, apresentando distribuição de estro entre 24 e 72 horas (após a aplicação do produto) em apenas 4 animais, o que reforça a hipótese de profundidade do anestro estacional. Para o grupo G₂, foi obtida uma variação de estro em 36h (5,88%), 48h (29,41%), 60h (47,06%) e

72h (17,65%) após a retirada do CIDR[®] (fig. 1). Resultados superiores aos registrados no presente trabalho foram encontrados por Viñoles *et al.* (2001) e Dias *et al.* (2001), onde são relatados intervalos para o início de estro entre 36 e 144h; já Takada (2004) relata intervalos entre 36 e 48h. Godfrey *et al.* (1997) comparando dois métodos de sincronização de estro em ovelhas lanadas nos trópicos, relataram que ovelhas tratadas com CIDR[®], exibiram resposta diferente deste estudo, com estro 1,5 dias mais precoce que as ovelhas tratadas com prostaglandinas, e que a sincronia foi maior nas ovelhas do CIDR[®] em relação às tratadas com prostaglandinas.

Para a fertilidade entre os grupos estudados, o G₁ foi estatisticamente diferente (8,57%; $p < 0,000$) quando comparado ao grupo G₂ que apresentou taxa de fertilidade de 73,53% (tab. 1). Viñoles *et al.* (2001) registraram 77% de prenhez em monta natural, com a mesma quantidade de eCG, enquanto Stellflug *et al.* (2001) empregaram 400 UI de eCG e também em monta natural, obtiveram apenas 61% de prenhez. O teste de Mann-Whitney, com valor $p = 0,8237$, não detectou diferença estatisticamente significativa no que se refere à prolificidade entre os grupos G₁ e G₂ (1,0 e 1,08 respectivamente; tab. 1). Godfrey *et al.* (1997) em um estudo com ovelhas lanadas das raças St. Croix White e Barbados Blackbelly, tratadas com prostaglandina e CIDR[®], também não encontraram diferença significativa para prolificidade entre os tratamentos.

As prostaglandinas são administradas por injeção e são efetivas somente em animais que exibem ciclicidade ovariana no período do tratamento, sendo empregadas com CIDR[®], favorecendo a uniformidade dos nascimentos (Godfrey *et al.*, 1997). Para este estudo, o período de transição foi o fator limitante na obtenção de melhor resultado, sendo que, no período avaliado, a sincronização não é possível sem utilização de progestágenos e eCG. Foster (1981), Rubianes (2000), Moraes *et al.* (2002), Bicudo e Sousa (2003) e Davies *et al.* (2005) observaram estacionalidade reprodutiva em ovelhas Suffolk, havendo necessidade de emprego dos progestágenos ou progesterona para incrementar a resposta da sincronização no anestro estacional.

O emprego de apenas uma dose de prostaglandina para promover o estro é eficaz em 75% dos casos, não havendo diferença significativa em relação à aplicação de duas doses (Das *et al.*, 1999). Neste trabalho optou-se pelo uso de duas doses, uma vez que poderia haver risco potencial de nem todos os animais estarem em atividade ovariana no momento da administração do fármaco.

De acordo com Thiéry *et al.* (2002), ovelhas descendentes de animais importados de regiões temperadas ainda manifestam estacionalidade, evidenciando a

influência de fatores genéticos na atividade reprodutiva. Através deste experimento, provavelmente há uma relação direta entre a melatonina e a latitude, onde ocorrem variações do efeito deste hormônio em relação à mesma.

2.6. Conclusão

Existe estacionalidade reprodutiva no período de transição estacional anestro-estro, sob latitude $20^{\circ}31'47''\text{S}$, em ovelhas Suffolk, nas condições efetuadas neste experimento.

2.7. Referências bibliográficas

- Bicudo, S.D.; Sousa, D.B. 2003. Associação de progestágeno, prostaglandina e eCG em protocolo de curta duração para indução/sincronização do estro em ovelhas suffolk. Anais CBRA, 15, Porto Seguro – BA.
- Chemineau, P.; Malpaux, B.; Delgadillo, J.A.; Guérin, Y.; Ravault, J.P.; Thimonier, J.; Pelletier, J. 2003. Control of sheep and goat reproduction: use of light and melatonin. Anim. Reprod. Sci. 30: 157-184.
- Das, G.K.; Naqvi, S.M.K.; Gulyani, R.; Anil, J.; Mittal, J.P. 1999. Effect of two protocols of PGF2 α treatment for synchronization of estrus in a tropical sheep. Theriogenology. 51: 283.
- Davies, K.L.; Bartlewski, P.M.; Epp, T.; Duggavathi, R.; Barret, D.M.W.; Bagu, E.T.; Cook, S.J.; Rawlings, N.C. 2005. Does injection of prostaglandin F2 α (PGF2 α) cause ovulation in anestrus Western White Face ewes? Theriogenology. article in press.
- Dias, F.E.F.; Lopes Junior, E.S.; Villaroel, A.B.S.; Rondina, D.; Lima-Verde, J.B.; Paula, N.R.O.; Freitas, V.J.F. 2001. Sincronização do estro, indução da ovulação e fertilidade de ovelhas deslanadas após tratamento hormonal com gonadotrofinas coriônica eqüina. Arq. Bras. Méd. Vet. Zootec. 53: 01-08.
- Figueiredo, E.A.D.; Oliveira, E.R.; Bellaver, C. 1980. Performance dos ovinos deslanados no Brasil. Sobral, Embrapa – SNPC. 32p. (circular técnica 01).
- Foster, D.L. 1981. Mechanism for delay of first ovulation in lambs Born in the wrong season (fall). Biol. Reprod. 25: 85-92.
- Girão, R.N.; Medeiros, L.P.; Girão, E.S. 1984. Índices produtivos de ovinos da raça Santa Inês no Estado do Piauí. Teresina, Embrapa – UEPAE. 5p.
- Godfrey, R.W.; Gray, M.L.; Collins, J.R. 1997. A comparison of two methods of oestrous synchronization of hair sheep in the tropics. Anim. Reprod. Sci. 47: 99-106.
- Gonzalez-Bulnes, A.; Veiga-Lopez, A.; Garcia, P.; Garcia-garcia, R.M.; Ariznavarreta, C.; Sanchez, M.A.; Tresguerres, J.H.F.; Cocero, M.J.; Flores, J.M. 2005. Effects of progestagens and prostaglandin analogues on ovarian function and embryo viability in sheep. Theriogenology. 63: 2523-2534.
- Hafez, E.S.E. 1952. Studies on the breeding season and reproduction of the ewe. J. Agric. Sci, Cambridge, 42, 3: 189-265.
- Mann, G.E. 1999. The role of luteal oxytocin in episodic secretion of prostaglandin F2 α at luteolysis in the ewe. Anim Reprod Sci. 57:167-75.

Moraes, J.C.F.; Souza, C.J.H.; Gonçalves, P.B.D. 2002. Controle do estro e da ovulação em bovinos e ovinos. **In:** Paulo Bayard Dias Gonçalves; José Ricardo de Figueiredo; Vicente José de Figueiredo Freitas. (Org.). Biotécnicas aplicadas à reprodução animal. 1: 25-55. 1ª ed. São Paulo.

Nunes, J.F.; Figueiró, P.R.P. 1975. Fatores que afetam o comportamento reprodutivo em ovelhas Corriedale e Polwarth. *Rev. Cien. Rural.* 5: 301-307.

Papachristoforou, C.; Koumas, A.; Photiou, C. 2000. Seasonal effects on puberty and reproductive characteristics of female Chios sheep and Damascus goat Born in autumn or in february. *Small Rumin. Res.* 38: 9-15.

Prucolli, J.O.; Baccari Jr., F.L. 1967. Estudos sobre a estação de monta em ovinos no Estado de São Paulo. *Boletim da Indústria Animal.* 24: 75-80.

Ribeiro, E.L.A.; Rocha, M.A.; Silva, L.F. 1996. Aspectos reprodutivos em ovelhas Rampshire Down submetidas à monta continua na região norte do Paraná. *Rev. Bras. Zootec.* 4, 25: 637-646.

Roda, D.S.; Santos, L.E.; Cunha, E.A. 1993. Desempenho de ovinos em sistema de acasalamento a cada oito meses. *Boletim da Indústria Animal.* 1, 50: 49-54.

Rubianes, E. 2000. Nociones básicos de fisiología reproductiva em cabras y ovejas. in: Simposio sobre Controle Farmacológico do Ciclo Estral em Ruminantes. anais... São Paulo-SP: FMVZ-USP.

Sasa, A.; Teston, D.C.; Silva, E.C.F. 2001. Perfil plasmático de progesterona e incidência mensal de ovulações silenciosas em borregas lanadas e deslanadas criadas no estado de São Paulo. **In:** Congresso Brasileiro de Zootecnia – ZOOTECA, 11., Goiânia, 2001. Anais... Goiânia ZOOTECA, 2001. p. 16.

Sasa, A.; Teston, D.C.; Rodrigues, P.A.; Coelho, L.A.; Schalch, E. 2002. Concentrações plasmáticas de progesterona em borregas lanadas e deslandas no período de Abril e Novembro, no Estado de São Paulo. *Rev. Bras. Zootec.* 3, 31: 1150-1156.

Silva, O.L.; Figueiró, P.R.P. 1980. Efeito da época de cobertura sobre a fertilidade de ovelhas e mortalidade de cordeiros na raça Corriedale. **In:** Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 17., 1980, Fortaleza. Anais... Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1980. p. 127.

Stellflug, J.N.; Hatfield, P.G.; Radcliffe, W.M.C.; Walker, J.W. 2001. Reproductive performance of ewe lambs from ewes from different selection practices with or without induced estrus. *An. Reprod. Sci.* 66: 185-196.

Takada, L. 2004. Avaliação da resposta ovariana na sincronização do estro e da ovulação utilizando protocolo de curta duração em ovelhas da raça Suffolk. 152 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

Thièry, J.C.; Chemineau, P.; Hernandez, X.; Migaud, M.; Malpoux, B. 2002. Neuroendocrine interactions and seasonality. *Domestic Anim. Endoc.* 23: 87-100.

Turek, F.W.; Campbell, C.S. 1979. Photoperiodic regulation of neuroendocrine-gonadal activity. *Biol. Reprod.* 20: 32-50.

Viñoles, C.; Forsberg, M.; Banchero, G.; Rubianes, E. 2001. Effect of long-term and short-term progestagen treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. *Theriogenology*. 55: 993-1004.

Wheaton, J.E.; Pohl, H.A.; Windels, H.F. 1990. Effects of melatonin and progesterone administered to ewes in spring and summer. *J. Anim. Sci.* 68: 923-930.

Williams, L.M.; Helliwell, R.J.A. 2003. Melatonin and seasonality in the sheep. *Anim. Reprod. Sci.* 33: 159-182.

CAPÍTULO 3. Artigo: Avaliação da aplicação de eCG em dois momentos distintos da sincronização do estro em ovelhas

Evaluation of eCG application in two different moments of estrous synchronization on sheep

3.1 Resumo

Avaliação da aplicação de eCG em dois momentos distintos da sincronização do estro em ovelhas

Os protocolos de sincronização de cio utilizando progestágenos associados à gonadotrofina coriônica equina (eCG) melhoram os resultados na indução e sincronização do estro no anestro estacional em ovelhas. O objetivo deste trabalho foi avaliar a viabilidade – medida pela fertilidade, prolificidade e aparecimento do estro – da utilização de eCG no momento da retirada do progestágeno e 48 h antes, em ovelhas Suffolk, sob latitude 20°31'47"S. O experimento foi realizado em Campo Grande, MS, Brasil, durante o período de transição estacional (dezembro de 2004 a fevereiro de 2005) com dois grupos experimentais (G₁ e G₂). A sincronização do estro nos grupos G₁ e G₂ foi efetuada com o emprego de CIDR[®] durante nove dias. Após esse período, as fêmeas receberam aplicação de 250 UI de eCG no momento da retirada de CIDR[®] (G₁) e 48 h antes da retirada (G₂). Após 24 h da retirada do dispositivo, os machos foram introduzidos aos grupos para cobertura natural. Obteve-se 100% de estro para os grupos G₁ e G₂. Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) para indução de estro, taxa de fertilidade (73,53% e 77,14%) e prolificidade (1,08 e 1,04) entre os grupos G₁ e G₂. Houve diferença significativa ($p < 0,05$) para o tempo entre a retirada do dispositivo e o início do estro entre os grupos G₁ e G₂, sendo que G₂ apresentou estro em 24 h e em G₁ este variou de 36 a 72 h após a retirada do dispositivo intravaginal. Os resultados obtidos permitem concluir que, ovelhas tratadas com aplicação de eCG 48 h antes da retirada de CIDR[®], tiveram seu estro concentrado em até 24 h após retirada do progestágeno.

Palavras-chave: sincronização de estro, ovelhas, eCG

3.2 Abstract

Evaluation of eCG application in two different moments of estrous synchronization on sheep

Protocols for estrus synchronization using progestagens associated with equine chorionic gonadotropin (eCG) improve the results of induction and synchronization of estrus in seasonal anestrus in ewes. The purpose of this study was to evaluate the viability – measured by fertility rate, lambing rate, and estrus onset – of the use of eCG at the time of progestagen withdrawal or 48 h earlier, in Suffolk ewes living at latitude 20°31'47"S. The experiment was conducted in Campo Grande, MS, southwestern Brazil, during the period of seasonal transition (December 2004 through February 2005) in two experimental groups (G₁ and G₂). In both groups, estrus synchronization was promoted with the use of a CIDR[®] device for nine days. After this period, the ewes were given 250 IU of eCG either upon CIDR[®] withdrawal (G₁) or 48 h earlier (G₂). Rams were introduced to the groups 24 h after withdrawal of the device, for natural service. Estrus was induced in 100% of animals in both groups. No significant differences ($p > 0.05$) in estrus induction, fertility rate (73.53% and 77.14%), or lambing rate (1.08 and 1.04) were found between groups. A significant difference ($p < 0.05$) between groups was found in the time elapsed between progestagen withdrawal and the onset of estrus: G₂ animals exhibited estrus within 24 h, whereas in G₁ the onset occurred from 36 to 72 h after removal of the intravaginal device. The results showed that in ewes treated with eCG 48 h before CIDR[®] removal estrus was concentrated within 24 h after progestagen withdrawal.

Key words: estrus synchronization, sheep, eCG

3.3. Introdução

A população ovina no Brasil compreende aproximadamente 16 milhões de cabeças (1,38% do efetivo mundial). A região Centro-Oeste do Brasil aumentou seu rebanho ovino entre 1980 e 2005 em 238%, com 760 mil cabeças (4,9% do rebanho nacional), e Mato Grosso do Sul possui 405 mil cabeças de ovinos (Anualpec, 2005). Dentro desta perspectiva, a reprodução destes animais é importante, seja para permitir aumento da eficiência reprodutiva e/ou produtiva dos rebanhos, seja para multiplicação mais eficiente de genótipos superiores. A indução e sincronização permitem atingir um enorme potencial de racionalização de manejo reprodutivo, segundo Bicudo e Sousa (2002), que pode representar o ponto crítico da lucratividade econômica da exploração.

As fêmeas ovinas são poliétricas estacionais de dias curtos; apresentam atividade sexual somente durante períodos de dias curtos (outono e inverno), permanecendo em anestro estacional durante o restante do ano (Rubianes, 2000). A indução e sincronização do estro pelo método hormonal, aplicada na estação reprodutiva, ou pouco antes (estação de transição), apresentam boa taxa média de fertilidade no primeiro estro (60-65%), permitindo fertilidade em 90% das ovelhas. Além disso, a aplicação de hormônios determina essa característica indispensável para a intensificação e otimização do manejo reprodutivo, com ou sem a observação dos comportamentos estrais (Moraes *et al.*, 2002). Em contrapartida, o alto custo do fármaco, a necessidade de qualificação por quem o executa, e a possível produção de anticorpos, em usos de longo prazo, limita o uso repetido dos mesmos animais ao longo do ano (Baril *et al.*, 1992; Bodin *et al.*, 1997).

Os primeiros protocolos desenvolvidos para sincronização de estro em ovinos recomendavam manter a esponja vaginal de progesterona por períodos de 12 a 14 dias (Robinson, 1967). Esses protocolos de longa duração resultavam em altas taxas de indução de cios nos animais tratados, porém com baixa taxa de concepção. Isso ocorria porque o longo tempo de manutenção da esponja gerava um excessivo aumento na vida média do folículo ovulatório, como consequência das baixas concentrações de progesterona (Viñoles *et al.*, 1999), que podem estar associadas à baixa viabilidade do oócito ovulado. Atualmente, protocolos de curta duração, de sincronização por seis a nove dias têm sido utilizados com melhores resultados na indução de estro e nas taxas

de concepção, por mostrarem altos níveis de progesterona na retirada da esponja (Ungerfeld e Rubianes, 1999).

A administração de gonadotrofina coriônica eqüina (eCG) tem sido largamente utilizada associada ao progestágeno ou à progesterona natural para induzir e estimular a atividade reprodutiva no anestro de ovelhas (Moraes *et al.*, 2002). O eCG aumenta a incidência de estro e taxa de ovulação (Husein *et al.*, 1997). Este hormônio atua simulando a atividade das gonadotrofinas FSH e LH, e consegue provocar o incremento do desenvolvimento de folículos, mesmo durante os períodos de inatividade hipofisária nesses animais. Essa associação é amplamente empregada nos programas de sincronização do estro ovino (Godfrey *et al.*, 1997; Leyva *et al.*, 1998; Rubianes, 2000; Viñoles *et al.*, 2001), diminuindo o anestro estacional, facilitando a produção de cordeiros durante todo o ano (Ungerfeld e Rubianes, 2002).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a viabilidade da utilização de eCG, no momento da retirada do CIDR[®] e 48h antes, em ovelhas Suffolk, sob latitude 20°31'47"S, em termos de fertilidade, prolificidade e aparecimento do estro.

3.4. Material e Métodos

O experimento foi desenvolvido na Cabanha Santa Suzana, localizada em Campo Grande - MS (latitude 20°31'47"S, longitude 54°32'43" W, altitude 532 m), com 70 fêmeas Suffolk multíparas, na estação de transição (novembro/2004 a fevereiro/2005), previamente examinadas quanto ao estado clínico geral e comprovadamente aptas, sem evidências de comprometimento clínico reprodutivo. Foram utilizados 30 machos homogêneos da raça Suffolk para a monta natural das ovelhas sincronizadas.

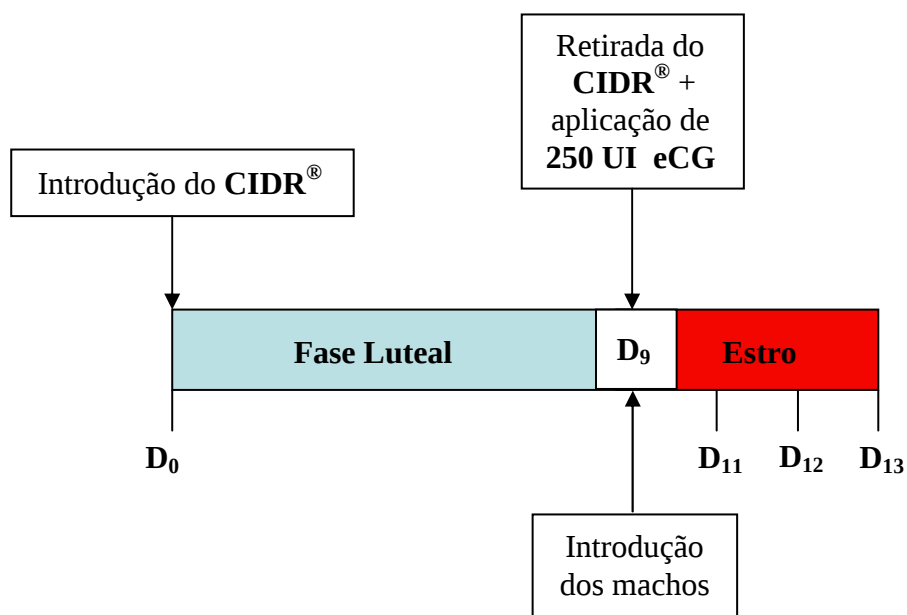
As fêmeas foram mantidas em manejo extensivo, em piquetes de capim coast-cross (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.) e aruana (*Panicum maximum* Jacq.), com sal mineral e água *ad libitum*, além de suplemento alimentar de capim Napier (*Pennisetum purpureum* Schumach.) picado e ração com 16% de proteína bruta (PB), ao fim do dia no galpão de abrigo noturno.

As fêmeas foram distribuídas em dois grupos de 35 animais cada. Todos os dois grupos (G₁ e G₂) foram sincronizados com a aplicação de CIDR[®] durante 09 dias, sendo o dia zero (D₀) considerado o dia da aplicação do dispositivo. Após esse período, as fêmeas receberam aplicação de 250 UI de eCG (Folligon[®] 5000, Intervet, Holanda) por via intramuscular, no momento da retirada do CIDR[®], ou seja, no dia 9 (D₉) (G₁; esquema 1) e 48 horas antes da retirada, no dia sete (D₇) (G₂; esquema 2). Após a retirada do CIDR[®] + aplicação do eCG (G₁ e G₂), os machos com tinta na região esternal, foram introduzidos aos grupos G₁ e G₂ para a monta natural e controlada. Neste momento, também, começaram a ser realizadas as detecções sistemáticas do estro, com rufiões, em todas as ovelhas, com intervalos de 4 horas, durante um período de aproximadamente 72 horas, a partir do primeiro estro detectado.

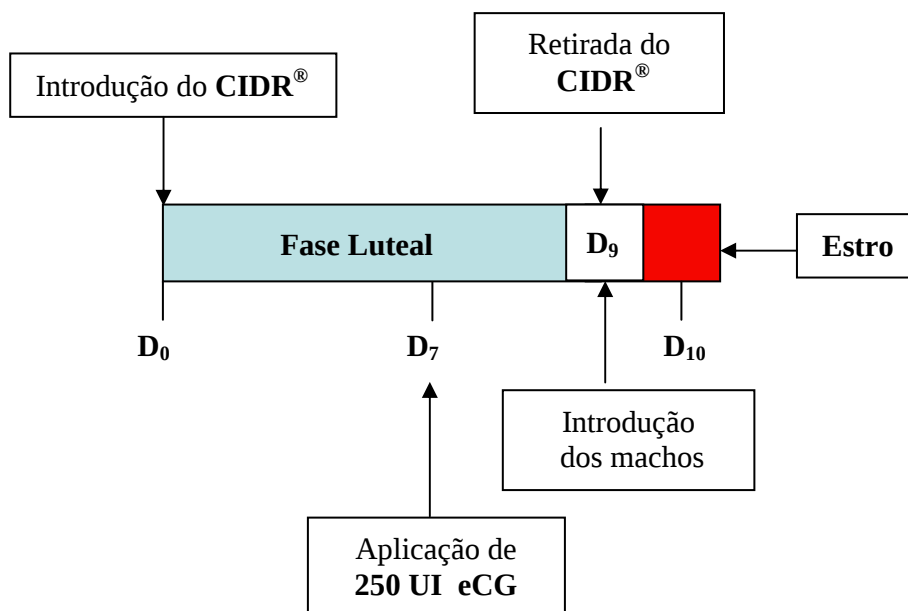
O diagnóstico de gestação realizou-se através do exame de ultra-sonografia, com transdutor trans-abdominal linear de 7,5 MHz, 55 dias após o término das coberturas.

Os resultados para fertilidade e aparecimento de estros foram avaliados pelo método não paramétrico do Qui-quadrado e para a prolificidade foi utilizado o teste de Mann-Whitney ao nível de significância $\alpha=5\%$, na tentativa de comparar-se a eficiência dos tratamentos G₁ e G₂.

Os cronogramas de sincronização e os procedimentos estão demonstrados nos esquemas 1 e 2.



Esquema 1. Cronograma de sincronização de estro com fêmeas Suffolk do Grupo G₁.



Esquema 2. Cronograma de sincronização de estro com fêmeas Suffolk do Grupo G₂.

3.5. Resultados e Discussão

Uma fêmea do grupo G₁ morreu durante o experimento e foi descartada da análise estatística. Obteve-se 100% de estros para os grupos G₁ e G₂ (tab. 1), de forma semelhante às observações de Takada (2004) em ovelhas Suffolk, e Gordiano *et al.*(2005) e Lehloenya *et al.*(2005), que registraram, em caprinos, percentagens de estro de 100 e 95%, respectivamente.

Tabela 1. Ocorrência total (OT) e percentual (OP) de estro após a retirada do CIDR[®], taxas de fertilidade e prolificidade (G₁ e G₂).

Tratamentos	n	Estro		Taxa de Fertilidade	Taxa de Prolificidade
		OT	OP		
G ₁	34	34 ^b	100 ^b	73,53%	1,08 ^a
G ₂	35	35 ^b	100 ^b	77,14%	1,04 ^a

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa em nível de 5% pelo teste de χ^2 para estro e fertilidade e teste de Mann-Whitney para prolificidade.

Através do teste do qui-quadrado, verificou-se que não houve diferença significativa ($p=1$) para a indução do estro entre os grupos G₁ e G₂ (tab. 1). Na figura 1 observa-se o aparecimento do estro nos grupos G₁ e G₂, onde houve maior concentração dos estros, num dado momento, no grupo G₂ em relação ao grupo G₁.

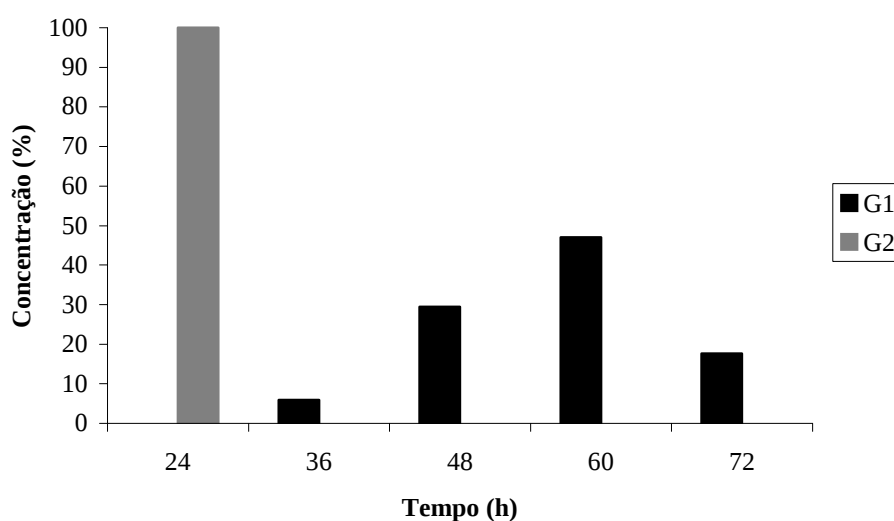


Figura 1. Aparecimento do estro após a retirada do dispositivo intravaginal nos grupos G₁ e G₂.

Para o tempo entre a retirada do dispositivo e o início do estro, foi observada diferença significativa entre os grupos G_1 e G_2 ($p=0,000$) (fig.1), que pelo teste do qui-quadrado, com valor $p = 0,000$, mostra existência de associação entre o tempo de retirada do dispositivo e início do cio. O Grupo G_2 apresentou sincronização de estro em 100% nas primeiras 24 horas, demonstrando maior eficiência, a qual pode ter sido provocada pelo efeito da gonadotrofina, interferindo no eixo hipotálamo-hipófise-ovário e pelas alterações nos mecanismos regulatórios intraovarianos, devido, principalmente, à sua meia-vida prolongada e atividade semelhante ao LH e ao FSH, que aplicada 48 horas antes da retirada abrupta da fonte de progesterona, manteve-se em níveis altos, adiantando e concentrando o estro em 12 horas em relação às ovelhas do grupo G_1 . No grupo G_1 foi observada dispersão de estros em 36h (5,88%), 48h (29,41%), 60h (47,06%) e 72h (17,65%) após a retirada do dispositivo intravaginal (CIDR[®]) (fig. 1); resultados distintos aos registrados no presente trabalho foram encontrados por Viñoles *et al.* (2001) e Dias *et al.* (2001), onde são relatados intervalos para o início de estro entre 36 e 144h, enquanto Takada (2004) relata intervalos entre 36 e 48h. Gordiano *et al.* (2005), trabalhando com fêmeas caprinas, constataram que o tempo entre a retirada da fonte progesterônica e a observação clínica do estro concentrou-se em 24h (61,7%), 36h (27,7%) e 48h (10,6%). Provavelmente a espécie influenciou essas diferenças na concentração do estro. Uma das vantagens dessa antecipação e concentração do estro em 24 horas é a de facilitar o manejo reprodutivo em relação à monta controlada, eliminando a etapa de verificação diária de cio, um trabalho demorado e que, nem sempre, é sinônimo de bons resultados. É importante ressaltar que, neste cronograma de sincronização, a propriedade necessita de vários machos aptos à reprodução, visto ocorrer o desgaste dos mesmos, uma vez que as fêmeas entrarão em estro juntas e em um curto espaço de tempo (24h). Para tal, recomenda-se a utilização de 10% de machos para a cobertura (Gordon, 1997).

Outra vantagem em aplicar-se o eCG 48h antes da retirada do dispositivo é o favorecimento da possibilidade de utilização de inseminação artificial em tempo fixo (IATF), aproveitando o ciclo reprodutivo curto desses animais, proporcionando até 1,8 partos/ano, trazendo uniformidade da prole e favorecendo bastante o manejo dos animais.

Bicudo e Sousa (2003) propuseram um protocolo de curta duração (seis dias) com MAP (Acetato de Medroxiprogesterona), aplicando-se prostaglandina e eCG 48h antes da retirada da esponja e constataram menor dispersão de ocorrência do estro, quando

comparado ao protocolo de 12 dias, concluindo que o protocolo proposto foi eficaz na indução/sincronização do estro de ovelhas Suffolk durante a estação de reprodução, com a totalidade delas manifestando estro em até 72 horas após a retirada do dispositivo intravaginal. Para este experimento, obteve-se melhores resultados na concentração do estro, talvez por coincidência da aplicação do eCG em uma etapa mais precoce do desenvolvimento da onda folicular, engrandecendo a utilização desta gonadotrofina em suas ações FSH e LH, e propiciando um crescimento e maturação folicular, culminando com a elevada produção de estradiol e, conseqüentemente, o alto índice de estro.

Não houve diferença significativa entre os grupos G_1 e G_2 ($p=0,728$) para a fertilidade (73,53% e 77,14% respectivamente) (tab. 1). Viñoles *et al.* (2001) registraram 77% de prenhez em monta natural, utilizando MAP e 250 UI de eCG, enquanto Stellflug *et al.* (2001), utilizando MAP e 400 UI de eCG, também em monta natural, obtiveram apenas 61% de prenhez. Não houve diferença significativa no que se refere à prolificidade entre os grupos G_1 e G_2 (1,08 e 1,04, respectivamente), confirmado pelo teste de Mann-Whitney com valor $p=0,7906$. No presente experimento, 250 UI de eCG foram suficientes para promover a fertilidade e a sincronização, provavelmente auxiliado pela latitude e período de transição.

O desenvolvimento folicular pode ser manipulado com o uso de gonadotrofinas e progestágenos exógenos. Isso altera o número e o tempo de persistência dos folículos em desenvolvimento. A ovulação de folículos envelhecidos não é desejável e compromete a fertilidade, fazendo com que protocolos de curta duração sejam mais eficientes que os de longa duração (Corteel *et al.*, 1988; Viñoles *et al.*, 2001). Houve um possível incremento no desenvolvimento folicular com a utilização de eCG, demonstrado pelo índice de estro, porém é importante ressaltar que, se estes animais forem submetidos repetidamente a este protocolo, necessitarão de observações reprodutivas, pois poderão produzir anticorpos anti-eCG e isso poderá comprometer novos resultados com o mesmo procedimento, de acordo com Baril *et al.* (1992 e 1996) e Bodin *et al.* (1997).

3.6. Conclusão

O tratamento com o uso do eCG aplicado 48h antes da retirada da fonte de progesterona (G_2), induziu e concentrou o estro em 24h após a retirada do dispositivo intravaginal.

3.7. Referências Bibliográficas

ANUALPEC. Anuário da Pecuária Brasileira. São Paulo, SP: FNP Consultoria e agroinformativos. 2005.

Baril, G.; Remy, B.; Vallet, J.C.; Beckers, J.F. 1992. Effect of repeated use of progestagen-PMSG treatment for estrous control in dairy goats out of the breeding season. *Reprod. Domest. Anim.*, 27:161-168.

Baril, G.; Remy, B.; Leboeuf, B.; Beckers, J.F.; Saumande, J. 1996. Synchronization of estrus in goats: the relationship between Ecg binding in plasma, time of occurrence of estrus and fertility following artificial insemination. *Theriogenology*.45:1553-1559.

Bicudo, S. D.; Sousa, D. B. 2002. Associação de progestágeno, prostaglandina e eCG em protocolo de curta duração para indução/sincronização do estro em ovelhas. In: Mostra Científica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP Anais...Botucatu:FMVZ-UNESP.

Bicudo, S.D.; Sousa, D.B. 2003. Associação de progestágeno, prostaglandina e eCG em protocolo de curta duração para indução/sincronização do estro em ovelhas suffolk. *Anais CBRA*, 15, Porto Seguro – BA.

Bodin, L., Drion, P.V., Remy, B. 1997. Anti-PMSG antibody levels in sheep subjected annually to oestrus synchronization. *Reprod. Nutr. Dev.* 37:651-660.

Corteel, J.M.; Leboeuf, B.; Baril, G. 1988. Artificial breeding of adult goats and kids induced with hormones to ovulate outside the breeding season. *Small Rumin Res*, 1:19–35.

Dias, F.E.F.; Lopes Junior, E.S.; Villaroel, A.B.S.; Rondina, D.; Lima-Verde, J.B.; Paula, N.R.O.; Freitas, V.J.F. 2001. Sincronização do estro, indução da ovulação e fertilidade de ovelhas deslanadas após tratamento hormonal com gonadotrofinas coriônica equina. *Arq. Bras. Méd. Vet. Zootec.* 53:01-08.

Godfrey, R.W.; Gray, M.L.; Collins, J.R. 1997. A comparison of two methods of oestrous synchronisation of hair sheep in the tropics. *Anim. Reprod. Sci.* 47:99-106.

Gordon, I. 1997. Controlled reproduction in sheep and goats. University Press, Cambridge.

Gordiano, H.D.; Gusmão, A.L.; Resende, J.; Mourão, J.C.A.; Biscarde, C.; Bittencourt, R.; Martins, L.; Santos, F.S.; Silva, J.C. 2005. Performance da sincronização de estro e a inseminação na espécie caprina no semi-árido baiano. *Anais CBRA*, 16, Goiânia-GO.

Husein, M.Q.; Ababneh, M.M.; Crabo, B.G.; Wheaton, J.E. 1997. Out-of-season breeding of ewes using transcervical artificial insemination. *Sheep and Goat Res. J.*, 12:39-45.

Lehloenya, K.C., Greyling, J.P.C., Schwalbach, L.M.J. 2005. Reproductive performance of South African Indigenous Goats following oestrus synchronization and A.I. *Small Rumin. Res.* 57:115-120.

Leyva, L.; Buckrell, B.C.; Walton J.S. 1998. Regulation of follicular activity and ovulation in ewes by exogenous progestagen. *Theriogenology*, 50:395-416.

Moraes, J. C. F.; Souza, C. J. H.; Gonçalves, P. B. D. 2002. Controle do estro e da ovulação em bovinos e ovinos. In: Paulo Bayard Dias Gonçalves; José Ricardo de Figueiredo; Vicente José de Figueirêdo Freitas. (Org.). *Biotécnicas aplicadas à reprodução animal* pp: 1:25-55.1 ed. São Paulo.

Robinson, J.E. 1967. The control of the ovarian cycle in the sheep. 1st ed. Sydney, pp 258 University Press.

Rubianes, E. 2000. Nociones básicas de fisiología reproductiva em cabras y ovejas. in: Simposio sobre Controle Farmacológico do Ciclo Estral em Ruminantes. anais... São Paulo-SP: FMVZ-USP.

Stellflug, J.N.; Hatfield, P.G.; Radcliffe, W.M.C.; Walker, J.W. 2001. Reproductive performance of ewe lambs from ewes from different selection practices with or without induced estrus. *Anim. Reprod. Sci.* 66:185-196.

Takada, L. 2004. Avaliação da resposta ovariana na sincronização do estro e da ovulação utilizando protocolo de curta duração em ovelhas da raça Suffolk. 152 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

Ungerfeld, R.; Rubianes, E. 1999. Effectyveness of short-term progestogen primings for the introduction of fertile oestrus with eCG in ewes during late seasonal anoestrus. *Anim. Sci.*, 68:349-353.

Ungerfeld, R.; Rubianes, E. 2002. Short term primings with different progestogen intravaginal devices (MAP, FGA e CIDR)for eCG-estrous induction in anestrus ewes. *Small Rumin. Res.*, 46:63-66.

Viñoles, C.; Meikle, A.; Forsberg, M.; Rubianes, E. 1999. The effect of subluteal levels of exogenous progesterone on follicular dynamics and endocrine patterns during the early luteal phase of the ewe. *Theriogenology*, 51:1351-1361.

Viñoles, C.; Forsberg, M.; Banchero, G.; Rubianes, E. 2001. Effect of long-term and short-term progestagen treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. *Theriogenology*, 55:993-1004.