

MARINA BERRETTINI PAES DE BARROS

**Estudo da dinâmica folicular no protocolo de nove dias de sincronização de
cios com o uso de um novo dispositivo de liberação sustentada de
progesterona, associado ou não ao eCG, em ovelhas Santa Inês**

São Paulo

2010

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

MARINA BERRETTINI PAES DE BARROS

Estudo da dinâmica folicular no protocolo de nove dias de sincronização de cios com o uso de um novo dispositivo de liberação sustentada de progesterona, associado ou não ao eCG, em ovelhas Santa Inês

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Departamento:

Reprodução Animal

Área de concentração:

Reprodução Animal

Orientador:

Prof. Dr. Cláudio Alvarenga de Oliveira

São Paulo

2010



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

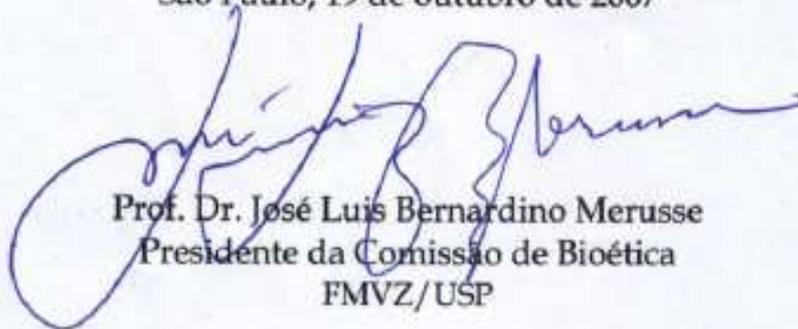
Comissão Bioética

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Efeitos do dispositivo de liberação lenta de progesterona e administração de hCG pós-monta na dinâmica folicular, concentração de progesterona plasmática e performance reprodutiva de ovelhas Santa Inês", protocolado sob o nº1205/2007, utilizando 242 (duzentos e quarenta e duas) ovelhas, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Cláudio Alvarenga de Oliveira, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 17/10/07.

We certify that the Research "Effects of slow release progesterone device and hCG administration post mating on follicular dynamics plasma progesterone concentration and reproductive performance of Santa Inês ewes", protocol number 1205/2007, utilizing 242 (two hundred two) ewes, under the responsibility Prof. Dr. Cláudio Alvarenga de Oliveira, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved in the meeting of day 10/17/07.

São Paulo, 19 de outubro de 2007



Prof. Dr. José Luis Bernardino Merusse
Presidente da Comissão de Bioética
FMVZ/USP

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: Paes de Barros, Marina Berrettini

Título: Estudo da dinâmica folicular no protocolo de nove dias de sincronização de cios com o uso de um novo dispositivo de liberação sustentada de progesterona, associado ou não ao eCG, em ovelhas Santa Inês

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

| | | | |
|-------------|-------|--------------|-------|
| Prof. Dr | _____ | Instituição: | _____ |
| Assinatura: | _____ | Julgamento: | _____ |
| Prof. Dr | _____ | Instituição: | _____ |
| Assinatura: | _____ | Julgamento: | _____ |
| Prof. Dr | _____ | Instituição: | _____ |
| Assinatura: | _____ | Julgamento: | _____ |

Dedico este trabalho a toda minha família, mas principalmente ao meu marido Henrique que sempre me apoiou e esteve ao meu lado na minha decisão de voltar a estudar e abraçar novos desafios. A todos que acreditaram em mim eis o resultado do meu esforço e trabalho, nesta etapa da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha mãe, meu marido, a toda minha família e amigos.

Ao professor Dr. Claudio Alvarenga de Oliveira pela oportunidade e carinho com que me conduziu ao longo destes anos.

Aos amigos da Tecnopec que se não fossem vocês, nada disso teria acontecido. À Isabel, Renato, Cassio e Felix, muito obrigada. A amiga Katia, grande beijo.

À Lilian, o destino nos colocou juntas para trilhar o meu mestrado e o seu doutorado. Obrigada pelo seu esforço, carinho e dedicação. Você foi fundamental para que tudo isso ocorresse da melhor maneira possível. Estará eternamente no meu coração. Obrigada amiga!

À Priscila, você sempre esteve ao meu lado para tirar dúvidas ou acalmar as angústias dos momentos. Obrigada de coração por toda sua ajuda!

Aos amigos e professores do Departamento de Reprodução Animal (VRA), agradeço a todos que participaram desta estória. Muito obrigada!

À Harumi pela amizade e auxílio nos momentos mais difíceis. Burocraticamente falando, sem você tudo seria mais complicado. Obrigada pela paciência!

Às secretárias Taís e Alice pelo auxílio a todo momento. Obrigada!

Aos funcionários Belau, Ira e Luis, obrigada por cuidarem com tanto carinho das nossas meninas. Certamente vocês fizeram a diferença nos resultados finais.

A todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, AGRADEÇO DE CORAÇÃO! MEU ETERNO MUITO OBRIGADA!

RESUMO

PAES DE BARROS, M. B. **Estudo da dinâmica folicular no protocolo de nove dias de sincronização de cios com o uso de um novo dispositivo de liberação sustentada de progesterona, associado ou não ao eCG, em ovelhas Santa Inês.** [Study of follicular dynamics during nine day estrus synchronization protocol using a new progesterone sustained release device, associated or not with eCG, in Santa Inês ewes]. São Paulo, 2010. 81 f Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

O presente trabalho teve como objetivo o estudo da dinâmica folicular da ovelha Santa Inês no protocolo de nove dias de sincronização de cios, com e sem a administração do eCG, utilizando um novo dispositivo intravaginal de silicone Primer-PR[®] (Tecnopec – Brasil). No experimento 1, dez ovelhas receberam o dispositivo vaginal no D0, retirada no D9 e aplicação de 0,4mL de d-cloprostenol. Os exames ultrassonográficos foram diários, desde D-3 da colocação do dispositivo vaginal até o D9 e a partir deste, de 12 em 12 horas até a ovulação. Concomitantemente ao experimento 1, as coletas de sangue foram realizadas entre as ovelhas que receberam o dispositivo (grupo GP, n=10) e àquelas em estado fisiológico (grupo GF, n=12). No experimento 2, nove ovelhas receberam igual tratamento do experimento 1 e 250UI de eCG na retirada do dispositivo. Os exames ultrassonográficos para o acompanhamento da dinâmica folicular ocorreram de 12 em 12 horas do D9 até a ovulação. Neste experimento, o sangue foi coletado em dias intervalados desde D-1 até D13. No experimento um, a emergência folicular ocorreu em 8,5 dias \pm 16 horas após a colocação do dispositivo vaginal. As ovelhas entraram e saíram do cio, respectivamente, 45,6 \pm 12,71h e 72 \pm 12,96h após a retirada do mesmo e a ovulação ocorreu em 73 \pm 14,38 h. O diâmetro inicial médio do folículo foi de 3,48 \pm 0,28 mm e do ovulatório de 5,22 \pm 0,72 mm, diferindo significativamente (p=0,006) entre o primeiro e o segundo folículo ovulatório e entre o primeiro folículo de animais com simples (5,77 \pm 0,34mm) ou dupla (4,83 \pm 0,18mm) ovulação (P=0,003). A taxa de crescimento no período foi 0,73 \pm 0,43 (mm/dia). No experimento 2, o estro iniciou-se às 36 \pm 6,4h, finalizou às 81 \pm 8,46h com a ovulação em 74,3 \pm 7,56 h após a retirada do dispositivo vaginal. O diâmetro inicial médio do folículo foi de 4,04 \pm 0,78 mm e do ovulatório de 5,40 \pm 0,59 mm,

diferindo significativamente entre o primeiro folículo de animais com simples ($5,91 \pm 0,27\text{mm}$) ou dupla ($5,2 \pm 0,22\text{mm}$) ovulação ($P=0,007$). A taxa de crescimento folicular no período foi de $0,66 \pm 0,43$ mm ao dia. No experimento 1, o dispositivo Primer-PR[®] elevou a concentração plasmática de progesterona do grupo GP a $6,56 \pm 2,32$ ng/mL, enquanto o grupo fisiológico (GF) ficou em $3,8 \pm 2,69$ ng/mL no mesmo período. No experimento 2 a concentração plasmática de progesterona durante a permanência do dispositivo vaginal foi de $11,50 \pm 3,11\text{ng/mL}$. Conclui-se que foi possível realizar o acompanhamento da dinâmica folicular dentro do protocolo de nove dias de sincronização de cios na ovelha Santa Inês e que o novo dispositivo utilizado foi eficiente em sincronizar a emergência da onda folicular ovulatória.

Palavras chave: Ovelhas. Protocolo de sincronização. Dinâmica folicular. Raça Santa Inês.

ABSTRACT

PAES DE BARROS, M. B. **Study of follicular dynamics during nine day estrus synchronization protocol using a new progesterone sustained release device, associated or not with eCG, in Santa Inês ewes.** [Estudo da dinâmica folicular no protocolo de nove dias de sincronização de cios com o uso de um novo dispositivo de liberação sustentada de progesterona, associado ou não ao eCG, em ovelhas Santa Inês]. São Paulo, 2010. 81 f Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

The present study aimed the assessment of follicular dynamics in Santa Inês ewes during the nine day estrus synchronization protocol, with or without the administration of eCG, using a new intravaginal silicon device, Primer-PR[®] (Tecnopec – Brasil). In Experiment 1, ten ewes received the vaginal device on D0, which was removed on D9 and received 0,4mL of d-cloprostenol. Ultrasound exams were performed daily, since D-3 of the device placement until D9 and every 12 hours thereafter, until ovulation. During Experiment 1, blood samples were taken from the ewes that received the device (grupo GP, n=10) and the ewes that were in physiological state (grupo GF, n=12). In Experiment 2, nine ewes received the same treatment in Experiment 1 and 250UI of eCG on the day of the device removal. Ultrasound exams for follicular development were performed every 12 hours starting on D9 until ovulation. Blood samples were taken every other day from D-1 until D13. In Experiment 1, follicular emergence occurred in 8,5 days \pm 16 hours after the vaginal device placement. The ewes started and ended estrus at, respectively, 45,6 \pm 12,71h and 72 \pm 12,96h after device removal and ovulation was detected in 73 \pm 14,38 h. The mean initial follicle diameter was 3,48 \pm 0,28 mm and the mean ovulatory follicle diameter was 5,22 \pm 0,72 mm, being statistically different (p=0,006) between the first and second ovulatory follicle and between the first follicle of single ovulation (5,77 \pm 0,34mm) or double ovulation individuals (4,83 \pm 0,18mm) (P=0,003). The follicular growth rate during this period was 0,73 \pm 0,43 (mm/day). In Experiment 2, estrus started at 36 \pm 6,4h, ended at 81 \pm 8,46h with ovulation occurring in 74,3 \pm 7,56 h after the vaginal device removal. The mean initial follicle diameter was 4,04 \pm 0,78 mm and the mean diameter ovulatory follicle was 5,40 \pm 0,59 mm, differing statistically between the first follicle of single ovulation individuals (5,91 \pm 0,27mm) or

double ovulation individuals ($5,2 \pm 0,22\text{mm}$) ($P=0,007$). Follicular growth rate during the period was $0,66 \pm 0,43$ mm per day. In Experiment 1, Primer-PR[®] device increased plasmatic progesterone concentration in group GP to $6,56 \pm 2,32$ ng/mL, whereas physiological group (GF) had $3,8 \pm 2,69$ ng/mL during the same period. In Experiment 2 plasmatic progesterone concentration throughout the vaginal device use was $11,50 \pm 3,11\text{ng/mL}$. It can be concluded that it was possible to perform ultrasound evaluation of follicular dynamics during the nine day estrus synchronization protocol in Santa Inês ewes and that the new device used was efficient in synchronizing the emergence of ovulatory follicular wave.

Key words: Ewe. Synchronization protocol. Follicular dynamic. Santa Inês breed

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO | 14 |
| 2 REVISÃO DE LITERATURA | 18 |
| 2.1 O Rebanho ovino brasileiro e a raça Santa Inês | 18 |
| 2.2 Ciclo estral | 20 |
| 2.3 Regulação endócrina do ciclo estral e a dinâmica folicular | 21 |
| 2.4 O uso do eCG (Gonadotrofina Coriônica Equina) | 31 |
| 2.5 Ultrassonografia nos ovinos | 33 |
| 3 OBJETIVO..... | 36 |
| 4 MATERIAL E MÉTODO | 38 |
| 4.1 Animais e instalações experimentais | 38 |
| 4.1.1 Experimento 1 | 38 |
| 4.1.2 Experimento 2 | 39 |
| 4.2 Manejo de adaptação dos animais ao novo ambiente | 40 |
| 4.3 Sincronização do estro | 40 |
| 4.3.1 Experimento 1 | 41 |
| 4.3.2 Experimento 2 | 42 |
| 4.4 Ultrassonografia | 43 |
| 4.4.1 Experimento 1 | 43 |
| 4.4.2 Experimento 2 | 43 |
| 4.4.3 Manejo dos animais na ultrassonografia | 44 |
| 4.5 Rufiação e monta natural..... | 45 |
| 4.6 Coleta de sangue e armazenamento das amostras | 46 |
| 4.6.1 Experimento 1 | 46 |
| 4.6.2 Experimento 2 | 47 |
| 4.7 Análise da progesterona por radioimunoensaio (RIE)..... | 47 |
| 4.8 Metodologias das análises | 47 |
| 4.8.1 Momento da entrada e saída do estro..... | 48 |
| 4.8.2 Concentração de progesterona entre os grupos GP e GF | 48 |
| 4.8.3 Determinação da dinâmica folicular | 48 |
| 4.8.4 Taxas de crescimento folicular pós dispositivo vaginal | 49 |
| 4.8.5 Taxas de desenvolvimento folicular pré dispositivo vaginal | 51 |

| | |
|--|-----------|
| 4.9 Análise Estatística | 51 |
| 5 RESULTADOS | 54 |
| 5.1 Resultados do Experimento 1 | 54 |
| 5.2 Resultados do Experimento 2 | 59 |
| 6 DISCUSSÃO | 62 |
| 7 CONCLUSÃO..... | 69 |
| REFERÊNCIAS..... | 81 |

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

A necessidade de expansão da oferta de alimentos devido a um crescimento populacional estimado em 9 bilhões de indivíduos até 2050, segundo a FAO (Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação), aliada a uma produção sustentável e com baixo impacto ambiental, são parte dos desafios que as cadeias produtivas, da agricultura à pecuária, precisam enfrentar.

A produção de ovinos segue esta tendência FAO (2009), impulsionada pelo crescimento demográfico e pelas variações naturais das preferências e dos hábitos alimentares. Estima-se durante o período de 2005 a 2014, um crescimento anual de 2,1% na produção de carne ovina principalmente nos países em desenvolvimento (VIANA, 2008).

Esta é uma excelente oportunidade para a expansão e o aprimoramento da ovinocultura brasileira. Há uma imperiosa necessidade de assistir a reprodução dos animais para aumentar as eficiências produtivas (ganho genético) e reprodutivas do rebanho (3 partos em 2 anos). Além disso, uma melhor organização estrutural desta cadeia produtiva é imprescindível para que o Brasil inverta o papel de importador de carne ovina, sendo em um primeiro momento capaz de fornecer produtos de melhor qualidade para o mercado interno e em um segundo momento passar a exportar o excedente da produção.

Neste contexto, o manejo reprodutivo através da aplicação da sincronização dos cios, uma das biotécnicas aplicadas ao manejo reprodutivo das ovelhas, tem um papel importante no aumento da produtividade e na tecnificação do rebanho. A sincronização de cios, objetiva controlar a reprodução e concentrar a parição em épocas desejáveis.

Esta técnica vem sendo aprimorada através de estudos da dinâmica folicular via ultrassom retal, que deram grandes passos à compreensão dos mecanismos fisiológicos da reprodução ovina, amparados na melhoria da qualidade dos equipamentos de ultra-sonografia, desde a década de 90.

Muito há para se descobrir dentro da espécie e entre as raças, uma vez que são notórias as diferenças observadas a campo quanto ao manejo reprodutivo das mesmas, nas diferentes regiões do Brasil e estações do ano.

Atualmente no Brasil, a sincronização de cios é adotada em pequenos ruminantes pelo uso de pressários intravaginais em esponja impregnadas com progestágenos, tais como acetato de medroxiprogesterona (MAP), implantes vaginais de silicone impregnados de progesterona (CIDR[®] - Pfizer) ou implantes auriculares de norgestomet (Crestar[®] - Intervet). No manejo reprodutivo, os dispositivos vaginais comumente são utilizados associados à prostaglandina F_{2α} (PGF_{2α}) e à gonadotrofina coriônica eqüina (eCG) de acordo com o estágio reprodutivo da fêmea e protocolo adotado.

Entre os hormônios utilizados nos programas reprodutivos para pequenos ruminantes, os dispositivos vaginais apresentam a maior disponibilidade para estudos e redução de custos. Comercialmente, as esponjas apresentam o menor custo, porém, levam à ocorrência de vaginites e, com frequência, aderem à mucosa vaginal causando transtornos no momento da sua retirada. Já os dispositivos em silicone são fáceis de aplicar e retirar da vagina, seguros e higiênicos, porém, de maior custo ao consumidor.

Estruturalmente, o dispositivo de silicone (CIDR[®]) é composto por uma alma plástica rígida (responsável por manter a pressão elástica do dispositivo e evitar sua saída da vagina) revestida por uma membrana de silicone inerte e impregnada por progesterona. Em estudo comercial sobre a fabricação desse dispositivo constatou-se que o custo correspondente às frações alma plástica, membrana de silicone e progesterona representam, respectivamente, 10%; 64% e 26% (VALENTIM, 2004). Isto significa que a queda do valor desse tipo de produto está relacionada à modificação de sua estrutura, com a retirada da alma plástica, cujo processo de injeção do silicone ao seu redor é muito custoso. Neste trabalho utilizou-se um novo dispositivo de silicone impregnado com progesterona (0,4g) cuja estrutura dispensa a alma plástica rígida (Primer-PR[®] - Tecnopec) possibilitando a redução nos custos deste tipo de produto.

Nos programas de sincronização de cios das ovelhas, o tempo de manutenção dos dispositivos vaginais e a aplicação dos demais hormônios ainda são muito variáveis. Tradicionalmente, os protocolos para sincronizar os cios de ovinos são de 12 a 14 dias de manutenção do dispositivo vaginal ou auricular. Porém, os estudos da fisiologia da reprodução e o acompanhamento da dinâmica folicular dos ovinos vêm aos poucos colocando em dúvida se este longo período de exposição à progesterona ou progestágenos é realmente necessário (MENCHACA;

RUBIANES, 2004). Diversos trabalhos apontam uma mesma eficiência na sincronização desta espécie entre diferentes períodos de manutenção dos dispositivos: 6 e 9 dias (considerados períodos curtos) ou 12 e 14 dias, períodos longos (VIÑALES et al., 2001). Entretanto, faltam estudos para atingir um consenso entre os pesquisadores e definir um protocolo base para a sincronização reprodutiva dos pequenos ruminantes.

A ovelha Santa Inês é uma raça brasileira de grande expressão nacional por ser prolífica, resistente e de boa adaptabilidade a todos os climas (ROCHA; AMARANTE; BRICARELLO, 2004). Ela participa da pecuária como raça pura ou como formadora de base do rebanho para cruzamentos industriais. Muitos estudos relativos à produção e manejo da Santa Inês existem em nosso país, contudo, trabalhos relacionados à fisiologia da reprodução e dinâmica folicular ainda são carentes.

O objetivo do presente trabalho foi estudar a dinâmica folicular de ovelhas Santa Inês no protocolo de nove dias de sincronização de cios com o uso de um novo dispositivo vaginal de progesterona (Primer-PR[®]), associado ou não à administração da gonadotrofina coriônica eqüina (eCG).

REVISÃO DE LITERATURA

2 REVISÃO DE LITERATURA

A revisão de literatura foi dividida em tópicos e abordará os temas sobre o rebanho ovino brasileiro e a raça Santa Inês, ciclo estral e sua regulação endócrina, dinâmica folicular, o uso da gonadotrofina coriônica eqüina (eCG) e a ultrassonografia nos ovinos.

2.1 O Rebanho ovino brasileiro e a raça Santa Inês

O rebanho ovino nacional está crescendo. Segundo dados fornecidos pelo IBGE no senso da Produção da Pecuária Municipal (PPM) de 2008, houve um crescimento de 2,4% do rebanho ovino, perante 2007, atingindo um total de 16.628.571 de cabeças. Individualizando as regiões geográficas brasileiras observamos os resultados na tabela 1 a seguir:

Tabela 1 – Efetivo do rebanho nacional de ovinos por região geográfica

| Região Geográfica | Ano | | Variação (%) |
|--------------------------|-------------|-------------|---------------------|
| | 2007 | 2008 | |
| Norte | 521.640 | 534.478 | 2,46 |
| Nordeste | 9.286.258 | 9.371.905 | 0,92 |
| Sudeste | 742.078 | 764.971 | 3,08 |
| Sul | 4.603.241 | 4.846.667 | 5,29 |
| Centro Oeste | 1.086.238 | 1.110.550 | 2,24 |

Fonte: IBGE

Atualmente, o Brasil é um país importador de carne ovina, sendo o Uruguai e a Nova Zelândia, os principais fornecedores. Apesar do crescimento do rebanho nos últimos anos, o número de cabeças ainda permanece muito aquém da necessidade potencial de consumo. A organização da cadeia do pequeno ruminante é urgente, em todas as áreas e segmentos do mercado. Considerando a criação do ovino, a base da cadeia, a escolha da raça a ser multiplicada é muito

importante uma vez que irá interferir diretamente na produtividade e qualidade final do produto.

Dentro do efetivo do rebanho nacional, a raça Santa Inês, considerada raça nacional deslanada de origem tropical, tem demonstrado uma notável dominância no cenário nacional (ROCHA; AMARANTE; BRICARELLO, 2004). Destaca-se a raça por seu potencial de uso, tanto pura, como em cruzamentos, mostrando sua criação em grande escala na região Nordeste, sua expansão no Centro-Oeste e mais recentemente na região Sudeste do país (RAMOS et al., 2007). É uma raça muito promissora para a produção de carne, pois demonstra precocidade, boa prolificidade (freqüentes partos gêmeos), bom rendimento de carcaça, boa adaptabilidade às condições climáticas do Brasil, grande resistência a doenças ambientais e em condições favoráveis, podem ser férteis durante todo ano (ROCHA; AMARANTE; BRICARELLO, 2004).

Um dos maiores problemas para a indústria dos ovinos é a parasitose gastrointestinal que causa grandes perdas em produtividade e mortalidade dos animais. Ainda, o uso indiscriminado de agentes anti-helmínticos levou à disseminação de parasitas resistentes a alguns princípios ativos (GETACHEW; DORCHIES; JACQUIET, 2007). Uma das alternativas para contornar este problema é a seleção de raças resistentes às infecções gastrointestinais como a Santa Inês, que comparada a algumas raças de origem europeia, demonstrou melhor resistência aos parasitas gastrointestinais (AMARANTE et al., 2004; ROCHA; AMARANTE; BRICARELLO, 2004; BRICARELLO et al., 2005; COSTA et al., 2007). Um recente trabalho publicado por Amarante et al. (2009) mostraram que a Santa Inês no cruzamento com Dorper, Ille de France, Suffolk e Texel manteve satisfatório grau de resistência à infecção contra *H. contortus*, principal parasita gastrointestinal dos ovinos, comparado às raças puras.

A reprodução da ovelha Santa Inês pouco segue o padrão da espécie cujo ciclo anual é determinado pelo fotoperíodo (horas luz/dia). Em geral, o início da estação reprodutiva se dá no outono à medida que a luminosidade diária diminui, obedecendo ao fotoperíodo decrescente.

Em regiões tropicais, próximos a linha do Equador, onde não existe variação da luminosidade diária ao longo do ano, existe uma tendência das raças nativas apresentarem-se como poliéstricas não estacionais, ou seja, os ciclos estrais ocorrem o ano todo. Nesse caso, a estacionalidade da atividade reprodutiva está

condicionada a outros fatores, tais como, a temperatura e a nutrição (ROCHA; AMARANTE; BRICARELLO, 2004) .

Na região Sudeste do Brasil, por outro lado, as particularidades da atividade reprodutiva das ovelhas deslanadas ainda não são totalmente conhecidas. Trabalhos realizados no estado de São Paulo que estudaram a atividade cíclica reprodutiva ao longo do ano de fêmeas das raças Suffolk, Romney Marsh e Santa Inês, demonstraram diferenças consideráveis na incidência de estros entre raças lanadas e deslanadas (COELHO; RODRIGUES; SASA, 2001). Eles demonstraram que a maioria dosaios observados nas fêmeas lanadas se concentrou durante o outono e inverno, enquanto nas fêmeas da raça Santa Inês, o percentual de estros foi distribuído equitativamente ao longo do ano. Observações de campo mostram que a fêmea Santa Inês pode ter atividade reprodutiva ao longo do ano, nas regiões Sudeste e Centro – Oeste do Brasil, contanto que receba nutrição adequada nos períodos da contra estação reprodutiva.

2.2 Ciclo estral

O ciclo estral é um conjunto de eventos que se repetem sucessivamente. Nas ovelhas, em média, o intervalo entre ciclos é de 17 ± 2 dias e se divide entre fase luteal, do dia 2 (estro = dia 0) até o dia 13 do ciclo e em fase folicular do dia 14 até o dia primeiro (RUBIANES, 2000). Segundo (TRALDI, 1990) os ciclos estrais têm duração média de 17 dias, variando de 14 a 19, independente da origem do animal. Porém, a duração do cio é variável entre de 24 a 36 horas nas raças tropicais e cerca de 45 horas, variando de 12 a 72 horas, nas raças de clima temperado. A tabela 2 apresenta a divisão do ciclo estral dos ovinos e as principais características observadas em cada fase.

Tabela 2 – Ciclo estral da ovelha

| <i>Fases</i> | <i>Período</i> | <i>Duração (dias)</i> | <i>Hormônio predominante</i> | <i>Ovário</i> | <i>Cérvix</i> | <i>Vagina</i> | <i>Genitais externos</i> | <i>Comportamento</i> |
|------------------|----------------|-----------------------|---|--|--|--------------------------|--------------------------|--|
| FOLICULAR | Proestro | 2,5 | LH FSH Estrógeno | Corpo lúteo em regressão. Máximo desenvolvimento do folículo pré-ovulatório | Secreta muco | Secreção | Normais | Animal inquieto. Pode buscar o carneiro. |
| | Estro | 1 – 2 (± 30h) | Descarga pré-ovulatória de LH (6 – 12 horas de iniciado o estro) | Ovulação (24 a 30 horas após o início do estro) | Muco espesso, congestão das pregas do colo | Secreção copiosa de muco | Vulva congesta | Aceita a monta |
| LÚTEA | Metaestro | 2 – 4 | Progesterona, FSH | Formação de um novo corpo lúteo. Desenvolvimento de ondas foliculares. | Fecha o orifício uterino | Epitélio pálido | Vulva normal | Fêmea inativa |
| | Diestro | 10 – 12 | Progesterona, FSH, Prostaglandina (luteólise) | Corpo lúteo funcional. Desenvolvimento de ondas foliculares | Orifício uterino fechado | Pálida | Vulva normal | Fêmea inativa |

Fonte: Morello e Chemineau, 2008

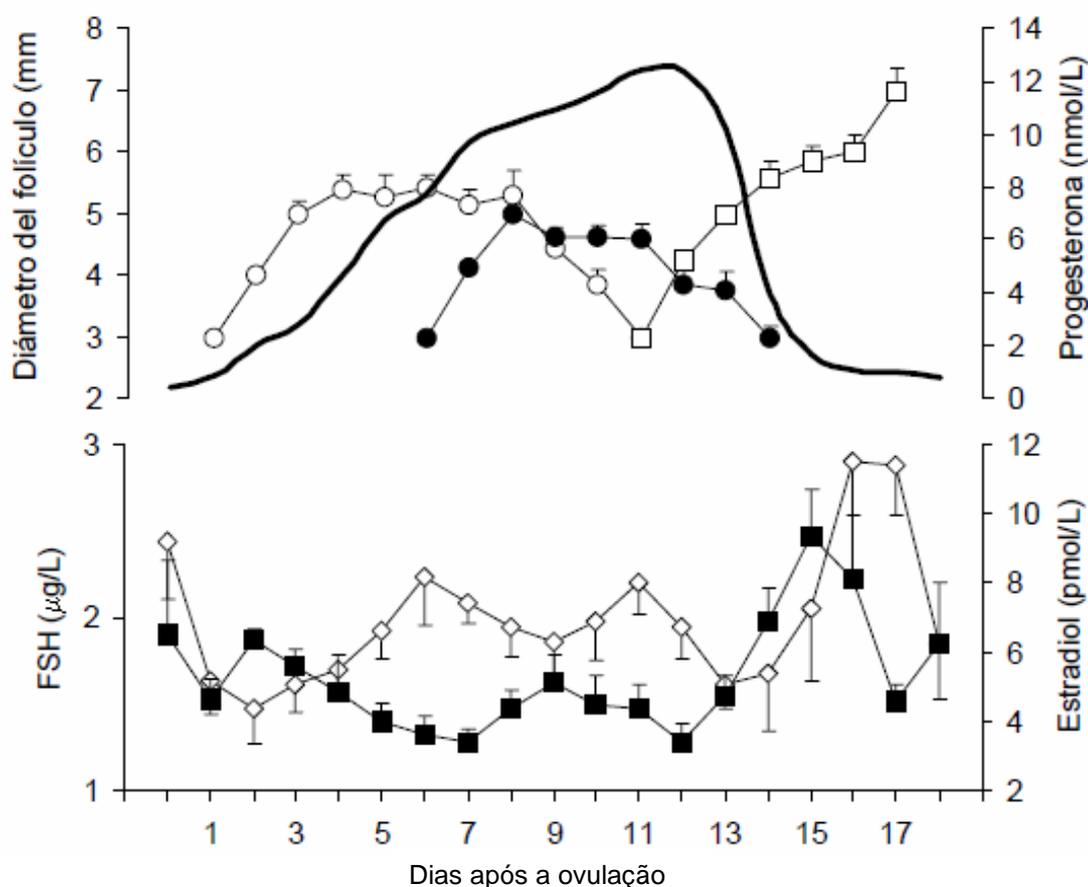
2.3 Regulação endócrina do ciclo estral e a dinâmica folicular

Os ciclos estrais estão associados a múltiplas modificações neuroendócrinas e dependem da interação coordenada de diversos órgãos. O sistema nervoso central, por ação do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH), estimula a adenohipófise à síntese e secreção dos hormônios luteinizante (LH) e folículo estimulante (FSH). Essas gonadotrofinas hipofisárias estimulam os ovários à esteroidogênese dos hormônios progesterona e estrógeno e junto a estes promovem o desenvolvimento dos folículos ovarianos e a ovulação (MORELLO; CHEMINEAU, 2008).

A fase folicular inicia-se quando a concentração dos níveis plasmáticos de progesterona diminui abaixo de 1ng/mL (SOUZA et al., 2008) como consequência da ação da prostaglandina uterina sobre o corpo lúteo. Isso permite a elevação da concentração plasmática de estrógeno, importante na aparição do comportamento

sexual e o incremento da frequência dos pulsos de LH. A secreção de LH, uma vez iniciado o estro, aumenta até alcançar uma descarga pré - ovulatória. A duração do pico varia entre 8 e 12 horas e a ovulação ocorre 24 horas após o pico de LH (CUMMING et al., 1971). Godfrey et al. (1999) após tratamento com CIDR por 12 dias, obteve o pico de LH entre 30 e 48 horas da retirada do dispositivo vaginal. A ovulação ocorreu 27 horas após o pico de LH.

Após a ovulação inicia-se a fase lútea do ciclo estral. Ela corresponde a 80% do ciclo e irá finalizar com a lise do corpo lúteo pela liberação uterina de prostaglandina (PGF2 α). Nesta fase, está presente o corpo lúteo responsável pela secreção de progesterona. Sua formação ocorre em seguida da ovulação com a luteinização das células da granulosa do folículo ovulatório. O corpo lúteo é constituído de células grandes, oriundas da granulosa, maiores produtoras de progesterona e insensíveis aos pulsos de LH e de células pequenas, oriundas da teca, pouco produtoras de progesterona, porém sensíveis ao LH (BAIRD, 1992; SANGHA, 2002). Com o desenvolvimento do corpo lúteo, o nível plasmático de progesterona secretada por ele aumenta (VIÑOLES; FORSBERG; RUBIANES, 2000) e alcança um platô no oitavo dia do ciclo a uma concentração de 3 – 4 ng/mL (MORELLO; CHEMINEAU, 2008). Na fase luteal folículos ovarianos emergem sob aumento da concentração de FSH. Devido à alta concentração de progesterona neste período e por isso a diminuição da frequência de liberação dos pulsos de LH, os maiores folículos dependentes deste hormônio regridem e uma nova emergência folicular se inicia. Esse padrão de crescimento e involução folicular é conhecido como ondas foliculares, observado tanto na estação reprodutiva (GINTHER; KOT; WILTBANK, 1995; EVANS et al., 2000) quanto no anestro sazonal (SOUZA; CAMPBELL; BAIRD, 1996; BARTLEWSKI et al., 1998). As ondas emergem em intervalos de 4 a 6 dias, sendo mais freqüente três ondas foliculares por ciclo (LEYVA; BUCKRELL; WALTON, 1998; VIÑOLES; FORSBERG; RUBIANES, 2000) (Figura 1).



Fonte: (VIÑALES; FORSBERG; RUBIANES, 2000).

Figura 1 – Dinâmica folicular [maior folículo da onda 1 (○), maior folículo da onda 2 (●) e folículo ovulatório (□)] e sua relação com as concentrações circulantes de progesterona (linha preta), FSH (◇) e estrógeno (■) em ovelhas durante o intervalo interovulatório

Obs: A concentração de progesterona desta figura está em nmol/L cuja conversão para ng/mL pode ser feita dividindo o valor observado no gráfico pela constante 3.18. Fonte – GlobalRPh.com

Nos pequenos ruminantes, uma onda folicular é definida como a emergência de um grupo de pequenos folículos antrais (2 a 3mm) que atingem um diâmetro ≥ 5 mm até a regressão ou ovulação. Destes folículos, de um até três continuam o crescimento (são chamados de dominantes) e adquirem diâmetro ≥ 5 mm, enquanto os restantes médios (4 – 5mm) e pequenos (2 – 4mm) entram em atresia. Por sua vez, o folículo dominante ovula ou entra em atresia e uma nova onda inicia-se num intervalo de aproximadamente 5 dias (entre 3 a 7 dias) (MENCHACA et al., 2010).

O folículo dominante é aquele que, para finalizar seu crescimento, tem a habilidade de alterar sua dependência do FSH pelo LH, adquirindo receptores nas células da granulosa para este hormônio. A dominância folicular é o processo onde

um ou mais folículos antrais numa onda excedem os demais folículos (subordinados) em taxa de crescimento e tamanho, em ambos os ovários (GINTHER et al., 1996).

A dominância folicular em pequenos ruminantes é um assunto controverso (THATCHER et al., 1991). Apesar de evidências mostrarem este efeito entre os pequenos ruminantes (EVANS et al., 2000; RUBIANES; MENCHACA; CARBAJAL, 2003) algumas comparações com os bovinos sugerem uma dominância atenuada nos ovinos. A habilidade do folículo dominante em bloquear a emergência da primeira onda folicular nos ovinos foi demonstrada por Evans et al. (2002) e da segunda onda folicular por (SEEKALLU; TOOSI; RAWLINGS, 2009). González-Bulnes e Veiga-Lopez (2008) relataram evidências do efeito intraovariano do folículo dominante bloqueando outros folículos no ovário ipsilateral a ele.

Menchaca e Rubianes (2004) em um trabalho de revisão reuniram as características mais freqüentes da dinâmica folicular ovina a seguir: 1) pelo menos um folículo atinge o diâmetro ≥ 5 mm por onda; 2) o maior folículo de cada onda cresce por 5-7 dias, com uma taxa de crescimento por volta de 1mm/dia; 3) o diâmetro máximo do maior folículo difere entre as ondas; 4) à medida que a fase luteal avança, a concentração plasmática de progesterona eleva-se, o “turnover” folicular (renovação folicular) é facilitado e os intervalos entre as ondas tornam-se menores do que durante a fase luteal inicial; 5) durante as fases luteal intermediária e final, os folículos que não crescem acima de 4mm não fazem parte do fenômeno da onda. Sugere-se neste caso que estes folículos representam um pool de folículos em dinâmica subjacente; 6) os maiores folículos, presentes nos ovários no dia da luteólise, são aqueles que irão ovular; 7) na maioria dos ciclos com duas ovulações, os folículos ovulatórios emergem como parte da mesma onda folicular, mas em alguns casos eles podem ter emergido em ondas foliculares diferentes; 8) as duplas ovulações ocorrem com um intervalo de 24 horas entre as mesmas.

A emergência da onda folicular é precedida por um aumento na concentração de FSH, que tende a diminuir devido a uma correlação negativa com o estradiol e a inibina produzidos pelo maior folículo da onda (VIÑALES et al., 2002). Segundo Bartlewski et al. (1999) existem grandes variações na amplitude do pico endógeno de FSH entre as ovelhas e Gintner, Kot e Wiltbank (1995) comentam que o ritmo endógeno da secreção deste hormônio estimula e sincroniza a emergência de ondas dentro e fora da estação de monta. Assim como a emergência folicular depende do FSH, o crescimento e a maturação final dos folículos a partir dos três milímetros de

diâmetro dependem do LH (PICTON; TSONIS; MCNEILLY, 1990; MCNEILLY; CROW; CAMPBELL, 1991)

Regulado pela progesterona a frequência de secreção de LH é baixa durante a fase luteal do ciclo, na ordem de 1 a 2 pulsos a cada 6 horas. Por outro lado, durante a fase folicular, a frequência de pulsos de LH aumenta para ≥ 1 pulso por hora, mas com reduzida amplitude se comparado à fase luteal (RAWLINGS; COOK, 1993). Portanto, a menor frequência de pulsos de LH durante a fase luteal impede o desenvolvimento final do folículo enquanto o aumento da frequência destes pulsos, na fase folicular, permite a maturação final e a ovulação. Evidências mostram que, na ovelha, a principal atuação da progesterona na fase luteal ocorre no hipotálamo, decrescendo a frequência dos pulsos de LH e aumentando sua amplitude, enquanto na fase folicular, o E2 atua na hipófise diminuindo a amplitude dos pulsos sem afetar a frequência (GOODMAN; KARSCH, 1980; GOODMAN; BITTMAN; FOSTER, 1982).

Seekallu, Toosi e Rawlings (2009) demonstram que o aumento da frequência de pulsos de LH durante a fase luteal, induzido pela administração exógena do GnRH, permite o crescimento folicular a tamanhos ovulatórios. Eles observam também que a secreção de progesterona na ovelha durante a fase lútea é pulsátil, sendo cada pulso correlacionado a um pulso de secreção de LH. Com isso, aumentando-se a frequência de pulsos de LH durante a fase luteal, a valores similares aos da fase folicular, aumenta - se a habilidade do corpo lúteo em secretar progesterona.

Na fase folicular a queda do nível plasmático de progesterona promove um *feedback* positivo entre o estradiol produzido pelo folículo dominante, o GnRH e o LH produzidos a partir do eixo-hipotalâmico-hipofisário. O gradual aumento na secreção de estrógeno pelo folículo ovariano eleva a frequência dos pulsos de LH e ambos hormônios em seus maiores níveis plasmáticos culminam nos principais eventos deste período: estro e ovulação.

Os estrógenos regulam diretamente a foliculogênese, a ovulação, a formação do corpo lúteo, a expressão dos receptores para gonadotrofinas nas células da granulosa, a apoptose destas e a produção de esteróides pelas células da teca, da granulosa e lúteas (JANSEN et al., 2001; ROSENFELD et al., 2001). Este hormônio é liberado durante todo o ciclo estral e duas elevações maiores são observadas dentro do ciclo. A maior delas ocorre no início da fase lútea, isto é, do quarto ao sexto dia após o pico de LH, enquanto a outra durante o segundo ou terceiro dia

antes do pico pré-ovulatório de LH. Nos demais momentos da fase lútea, o E2 permanece em nível basal, sem alterações consistentes (HAUGER; KARSCH; FOSTER, 1977).

2.3 Protocolos hormonais de sincronização do estro

A sincronização do estro é um procedimento de manejo reprodutivo para aumentar a proporção de ovelhas gestantes em um curto espaço de tempo e proporcionar o nascimento uniforme de cordeiros. Para isso, são utilizados protocolos hormonais que controlam ou mimetizam a atividade ovariana com o objetivo de melhorar a taxa de fertilidade e a eficiência reprodutiva destes animais, durante ou fora da estação reprodutiva.

A manipulação reprodutiva das ovelhas pode ser obtida com o uso de prostaglandina em dose única, em duas doses intervaladas de dez dias durante a estação de monta (FONSECA; BRUSCHI, 2006) ou ainda por uma combinação dos hormônios prostaglandina e progesterona (ou progestágenos), além do uso ou não do eCG (gonadotrofina coriônica eqüina). Existem vários protocolos de sincronização de estro e estes variam também quanto a sua duração.

A eficácia da aplicação da prostaglandina depende da funcionalidade do corpo lúteo que responde melhor a partir do 5º dia do ciclo estral (RUBIANES, 2000). O intervalo entre a aplicação e a observação do cio é variável, entre 24 e 72 horas, devido à fase de desenvolvimento folicular no momento da aplicação. Portanto, é necessário associar a prostaglandina a outros hormônios para conferir uma melhor sincronização do estro (BICUDO; SOUSA, 2003).

Em programas reprodutivos tradicionais a progesterona e seus análogos são utilizados por períodos de 12 a 14 dias, equivalendo ao tempo de vida de um corpo lúteo. Estes protocolos se mostram eficientes na sincronização do estro, porém com resultados de fertilidade variáveis (AINSWORTH; WOLYNETZ, 1982; LEYVA; BUCKRELL; WALTON, 1998; RUBIANES, 2000; BOSCO et al., 2002). Segundo Menchaca e Rubianes (2004) os protocolos tradicionais são antigos e não consideram os conhecimentos da dinâmica folicular.

Ungerfeld e Rubianes (1999) avaliaram a eficácia dos tratamentos com esponjas de medroxiprogesterona (MAP) por 6, 9 e 12 dias com a administração do eCG, durante o anestro estacional. Os resultados mostraram-se semelhantes entre os tratamentos, concluindo que estes protocolos podem ser utilizados na indução do estro em ovelhas. Analisando diversos estudos, Viñoles et al. (2001) atribuíram os bons resultados das taxas de fertilidade dos protocolos curtos (87% de prenhez) em comparação aos longos (63% de prenhez) principalmente pela ovulação de folículos mais jovens. Ungerfeld e Rubianes (2002), no anestro sazonal de 2002, obtiveram no protocolo de 6 dias e 380UI de eCG na retirada do CIDR, 95% de estro 40 horas após a retirada do dispositivo vaginal e taxa de concepção de 59,6%.

Estudo dos efeitos da progesterona sobre a dinâmica folicular em ovinos demonstram que protocolos longos e concentrações subluteais de progesterona promovem um excessivo crescimento folicular e persistência do maior folículo comenta Viñoles (1999), pois aumentam a frequência dos pulsos de LH, mas não ocasionam a ocorrência do pico de LH (MENCHACA; RUBIANES, 2004). Trabalhos com sincronização de cios em que foram utilizados 12 dias de progestágenos, provocaram a ovulação de “folículos velhos” (FLYNN et al., 2000). Em bovinos, a ovulação destes “folículos velhos” é seguida por baixa fertilidade (AUSTIN et al., 1999). Estas observações indicam que os tratamentos com elevados níveis de progesterona, por períodos curtos, podem controlar melhor a dinâmica folicular e aumentar a taxa de concepção, quando comparado aos tratamentos por longos períodos (MENCHACA; RUBIANES, 2004). Contrariamente, Evans et al. (2001) concluíram que dentro do protocolo de sincronização de 14 dias de progestágeno algumas ovelhas irão ovular folículos velhos, mas isto não causará nenhum efeito adverso na fertilidade, incluindo taxa de fecundação e início do desenvolvimento embrionário.

Bicudo e Souza (2003) constataram diferença entre os protocolos de 6 e 12 dias no número de ovelhas em estro, observando menor dispersão para o protocolo de curta duração. Concluíram que o protocolo de seis dias foi eficaz na sincronização do estro de ovelhas Suffolk durante a estação de reprodução, com a totalidade delas manifestando cio em até 72 horas após a retirada da esponja de medroxiprogesterona. Contrariamente, Ustuner et al. (2007) observaram que o protocolo de 12 dias resultou em maior sincronização do estro quando comparado ao de 6 dias, contudo, ambos os tratamentos resultaram em taxas de prenhez

semelhantes. Recentemente, Santos et al. (2009) compararam os dispositivos de MAP e CIDR entre os protocolos de 6 e 14 dias, todos recebendo 300UI de eCG na retirada do dispositivo e prostaglandina apenas no grupo D6. Este trabalho realizado em ovelhas Santa Inês resultou em diferença significativa para a apresentação do estro, superior para o grupo CIDR em relação ao MAP. O tempo de tratamento não influenciou os resultados assim como as taxas de prenhez foram semelhantes. Os trabalhos de Ustuner et al. (2007) e Santos et al. (2009) concluíram que os protocolos de curta duração podem ser utilizados como alternativa aos de longa duração e por facilitar o manejo, Santos recomenda o de curta duração com CIDR.

As controvérsias apresentadas quanto ao tempo de exposição dos dispositivos vaginais nas ovelhas reforçam a idéia de que não há um protocolo definido de sincronização de cios até o momento. Sendo assim, atribui-se a escolha da duração do protocolo sobre fatores como (1) o crescimento dos folículos em padrão de ondas, (2) a emergência folicular a cada 3 e 7 dias, (3) o aumento da concentração de progesterona causar um *turn over* folicular (VIÑOLES; FORSBERG; RUBIANES, 2000), (4) o aumento dos índices de vaginites e aderências quanto maior for a exposição do dispositivo na vagina e (5) o manejo do período de serviço pós parto (Figura 2).

O manejo reprodutivo dentro do período de serviço (intervalo entre o parto e a nova concepção) contribui diretamente para o sucesso da produção dos ovinos, cujo objetivo final é a reprodução atingir os 3 partos em 2 anos. Medeiros e Espírito Santo (2004) destacam a importância da eficiência produtiva no resultado econômico global da ovinocultura e ressaltam o uso intensivo de tecnologia no sistema de produção. Eles demonstraram que a reprodução tecnificada com manejo reprodutivo acelerado é uma alternativa viável para a atividade, indicando que a aplicação de recursos em ativos produtivos gera maior rentabilidade, pois diminui a proporção dos ativos imobilizados em relação à escala de produção.

De maneira geral, o sucesso da produção acelerada em ovinos ou 3 partos em 2 anos pode ser entendida se for comparada a uma referência conhecida, os bovinos. A proporção de ovelhas para cada vaca é de 8:1 aproximadamente, um valor obtido pela divisão do peso de uma vaca adulta (450 kg) pelo peso de uma ovelha adulta (50 kg). A diferença do resultado obtido nesta conta é corrigida pelo maior consumo percentual de matéria seca por Kg nos ovinos (3 a 4% de matéria seca) em comparação aos bovinos (2,5 a 3%) (ASSUMPÇÃO, 2006).

Se considerarmos o período médio de 36 meses, que equivale à venda de um novilho com peso médio de 15 arrobas (225 Kg de peso limpo), cada ovelha no sistema 3 partos em 2 anos pariu em média 4 vezes. Na proporção 8:1, haverá uma média de 32 borregos nascidos, que no peso de abate de 30kg, produzirá 960 Kg de peso vivo ou 480 kg de peso limpo. A venda da carne, por motivo de uma cadeia produtiva desorganizada tem seu valor depreciado e não existem índices oficiais. Por exemplo, se considerarmos o preço do quilo limpo a R\$ 5,00 o produtor de ovino terá uma receita bruta de R\$ 2400,00 em venda de carne ao passo que o produtor de bovino terá um receita de R\$ 1155,75 (1@ = R\$ 77,05 na cotação BM&FBovespa de 01 de fevereiro de 2010) no mesmo período de produção.

Contudo, conseguir os 3 partos em 2 anos e aumentar a produtividade depende de manejo nutricional e sanitário eficientes, adoção de protocolos de sincronização na estação e contra estação reprodutiva e o melhor aproveitamento da estação de monta com protocolos que se adéquem a ela (Figuras 2 e 3).

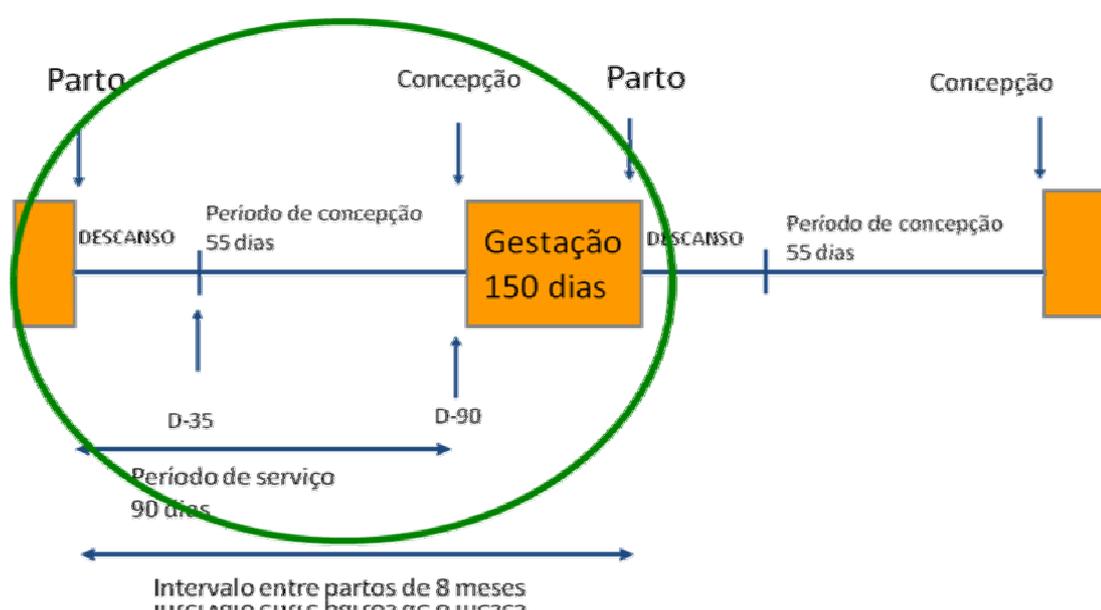


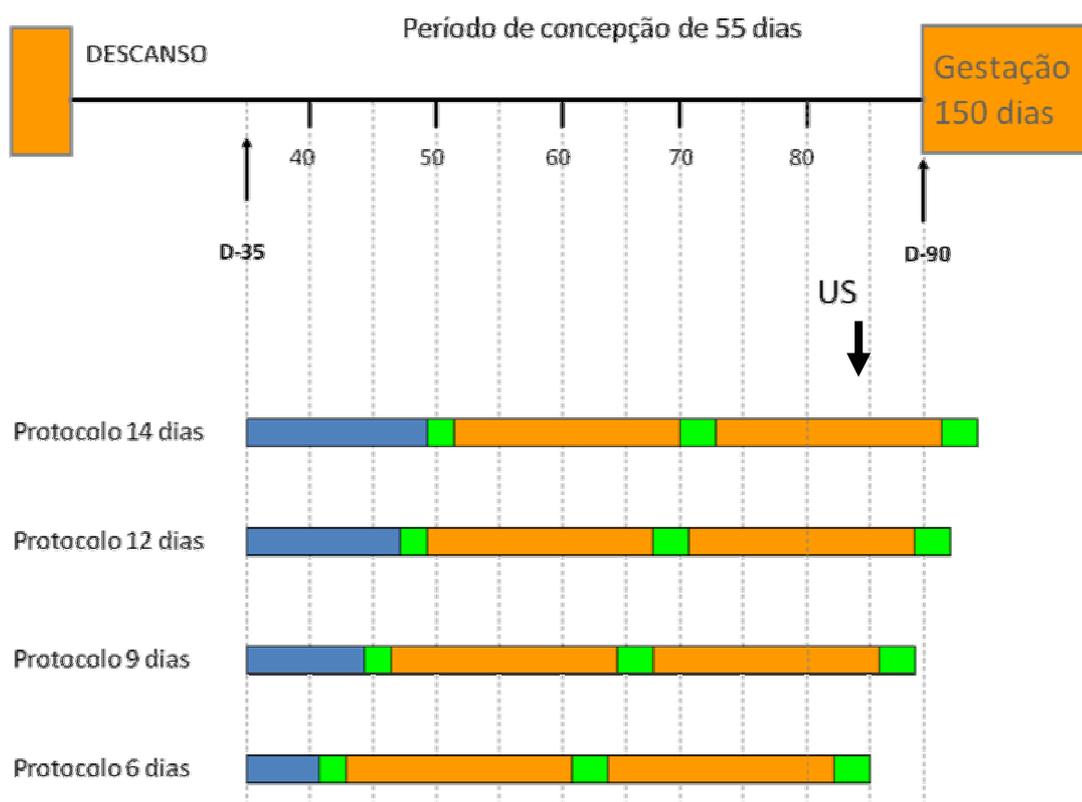
Figura 2 – Manejo reprodutiva para 3 partos em 2 anos para ovinos

A gestação dos ovinos é de 150 dias ou 5 meses. Após o parto existe um período chamado de anestro pós parto definido como o período transcorrido do parto até a manifestação do primeiro estro fértil (HAFEZ; HAFEZ, 2004). Esse período

estende-se aproximadamente por 25 dias até ocorrer o restabelecimento do eixo hipotálamo – hipófise – gonadal (ANDRIOLI; SIMPLÍCIO; MACHADO, 1989). Contudo, ele pode variar devido à lactação ou um inadequado ambiente uterino (ANGULO; GALLEGOS; PALOMARES, 2008). A primeira ovulação pós-parto em ovelhas que parem durante a estação de monta ocorre dentro de 20 dias e não está associada com cio evidente. Outros fatores que influem sobre o retorno da atividade ovariana incluem a amamentação, a raça, a nutrição e a temperatura ambiente (HAFEZ; HAFEZ, 2004). Simplício e Souza (1999) observaram em ovelhas, da raça Santa Inês, um intervalo médio entre o parto e o primeiro estro pós-parto de $40,70 \pm 3,18$ dias para animais que ficaram no grupo de amamentação contínua e $28,30 \pm 2,92$ dias para os de amamentação controlada. Ainda, o grupo que recebeu tratamento de amamentação contínua, o primeiro estro teve 80% dos folículos ovulatórios e 20% não ovulatórios, e no grupo da amamentação controlada 97% dos estros foram ovulatórios e 3,0% não ovulatórios.

A duração do anestro pós-parto dependerá do manejo nutricional prévio e da condição corporal ao parto e está regulado pela época, estágio de lactação, número de crias amamentadas como também pela presença do macho.

Um longo anestro pós parto prejudica a estação de monta e os 3 partos em 2 anos. Ao mesmo tempo, a escolha do protocolo de sincronização para o período de serviço influi no manejo da propriedade. A estação de monta (EM), em particular quando implantada conjuntamente com a inseminação artificial (IA), leva a programação de atividades e contribui fortemente para a organização e gestão da unidade produtiva. A estação de monta para a fêmea ovina pode ter uma duração de 35 dias a 49 dias (SIMPLÍCIO; FREITAS; FONSECA, 2007). A figura 3 mostra o protocolo de 9 dias como alternativa racional para o manejo reprodutivo na estação de monta. Ele permite uma rápida sincronização no início da estação e dois manejos reprodutivos subsequentes antes do diagnóstico de gestação aos 35 dias pós monta natural ou inseminação artificial. Como as fêmeas permanecem sincronizadas, um último manejo de repasse é possível no protocolo de nove dias, antes do término da estação de monta.



Legenda: A duração do protocolo está representado em (■), o ciclo estral de 17 dias em (■) e a duração do estro em (■)

Figura 3 – Intervalo parto concepção das ovelhas e os diferentes protocolos de sincronização de ciclos

2.4 O uso do eCG (Gonadotrofina Coriônica Equina)

O eCG é um hormônio glicoprotéico secretado pelos cálices endometriais de éguas gestantes. É uma gonadotrofina capaz de se ligar aos receptores foliculares de LH e FSH, ou seja, possui atividades folículo-estimulante e luteinizante, com meia-vida de aproximadamente 46 horas (MURPHY; MARTINUK, 1991). Ele interfere no eixo hipotalâmico-hipofisário-ovariano e nos mecanismos regulatórios intraovarianos, devido à sua vida média longa e a sua atividade de FSH e LH. Estas propriedades não são somente benéficas, mas também têm seus efeitos negativos na seqüência fisiológica normal do desenvolvimento folicular e maturação oocitária (DONROV; BATSAIHAN, 1998). Driancourt, Gougeon e Royère (1993) relataram

que as gonadotrofinas do tipo eCG podem afetar os mecanismos responsáveis pelo crescimento folicular e aumentar a taxa ovulatória pelo recrutamento de folículos de menor diâmetro com oócitos imaturos. Também concluíram que o emprego do eCG resultou em maior taxa de partos gemelares atribuída ao efeito superovulatório dessa gonadotrofina.

Muitos dos tratamentos de sincronização incorporam uma injeção de gonadotrofina coriônica eqüina (eCG) a qual aumenta a ocorrência e a velocidade da ovulação, além de favorecer a fertilidade. Rubianes, Castro e Kmaid (1998) e Marques, Campos Filho e Baruselli (2003) constataram que o uso isolado de eCG produz uma resposta menos eficiente quando comparado ao hormônio combinado à progesterona/progestágenos exógenos, aumentando a fertilidade. Além disso, a administração desta gonadotrofina ao final do protocolo longo de sincronização pode compensar os efeitos deletérios do longo período de exposição ao progestágeno recrutando novos folículos (NOEL et al., 1994). Cardwell, Fitch e Geisert (1998) mostraram que o início do estro e a ovulação se manifestou mais rápida e uniformemente como resultado da combinação do progestágeno com o eCG, em ovelhas, e que o seu uso favorece a fertilidade durante o anestro sazonal (BOLAND; LEMAINQUE; GORDON, 1978; ZELEKE, 2005).

Rodrigues et al. (2004) em um trabalho realizado em Belém (Brasil) concluíram que a utilização da eCG associada ao progestágeno é necessária para uma eficiente indução e sincronização do estro em ovelhas das raças Morada Nova e Santa Inês e que as doses de 200, 300 e 400 UI desta gonadotrofina permite taxa de ovulação satisfatória, sem risco de superovulação. Langford, Hinsworth e Wolynetz (1982) comentaram que os protocolos de sincronização de cios com eCG estão bem estabelecidos sendo que uma única aplicação no dia da retirada do dispositivo intravaginal, é suficiente para melhorar a resposta ovariana, taxa de prenhez e aumento da prolificidade. Monreal, Leite e Bakarji (2008) compararam o uso do dispositivo CIDR por 9 dias e a aplicação do eCG 48 horas antes da retirada do dispositivo vaginal ou no dia da retirada do mesmo. Concluíram que a aplicação de eCG (300 UI) no dia da retirada do dispositivo intravaginal apresentou melhor resultado para fertilidade (81%) em relação ao outro grupo.

2.5 Ultrassonografia nos ovinos

Os primeiros estudos para entender o que ocorria durante o ciclo estral dos ovinos foram realizados por laparotomias exploratórias, laparoscopias seriadas ou através de materiais obtidos em frigoríficos (BRAND; JONG, 1973; DRIANCOURT; GIBSON; CAHILL, 1985; NOEL; BISTER; PAQUAY, 1993). Apesar de algumas informações adquiridas por estes meios serem contraditórios, a primeira inferência sobre o desenvolvimento folicular dos ovinos seguir um padrão de ondas foi feita em 1973 por Brand e Yong. A confirmação desta observação ocorreria por volta dos anos 90 com a incorporação da ultrassonografia transretal (GINTHER; KOT, 1994; RAVINDRA et al., 1994; RUBIANES; DE CASTRO; CARBAJAL, 1996) promovendo grandes avanços no conhecimento da fisiologia reprodutiva desta espécie.

A ultrassonografia retal é uma técnica não-invasiva que tem sido utilizada para o freqüente monitoramento de mudanças morfológicas nos órgãos reprodutivos de animais conscientes e com mínimo estresse. Esta técnica facilitou o estudo do controle endócrino de folículos antrais em desenvolvimento durante todo o ciclo estral assim como os efeitos ovarianos de vários tratamentos hormonais nas ovelhas (WU et al., 2009).

A imagem ultrassonográfica é o produto da reflexão e dispersão dos pulsos ultrassonográficos de alta freqüência pelas interfaces de tecidos acústicos. Quando os pulsos (ecos) refletidos alcançam o transdutor, eles são convertidos em impulsos elétricos que são transmitidos ao processador do computador para gerar as imagens. A imagem ultrassonográfica bidimensional consiste em múltiplos quadros de elementos de figuras chamados pixels, que diferem em valor numéricos de 0 (zero) (preto absoluto) a 255 (branco absoluto). Tecidos de diferentes densidades causam diferentes reflexões; interfaces largas e lisas são geralmente mais brilhantes do que as menores interfaces (LIU, 2007).

Em estudo para determinar a confiabilidade da técnica ultrassonográfica retal (SOUSA et al., 2006) avaliaram a morfometria das estruturas ovarianas em cabras da raça Saanen.

Eles encontraram uma correlação de 0,86 entre corpos hemorrágicos verificados por ultrassom e posteriormente por laparotomia. Viñoles e Forsberg

(2004) concluíram que o ultrassom transretal é um método preciso para estimar o tamanho e o número de corpos lúteos e folículos ovarianos na ovelha.

Hoje, a ultrassonografia transretal é aplicada em diversos segmentos com eficiência comprovada para diagnóstico gestacional em ovinos, segundo Dias et al. (2009) e é descrita por Wurst, Dixon e Inskeep (2007) como uma técnica segura e de baixo estresse, uma vez que para exames gestacionais não foi observado diferença estatística entre a taxa de gestação e a prolificidade das ovelhas submetidas ou não ao exame ultrassonográfico retal.

OBJETIVO

3 OBJETIVO

Os objetivos do presente estudo foram:

1. Caracterizar a dinâmica folicular da ovelha Santa Inês no protocolo de 9 dias de dispositivo vaginal, sem e com a administração do eCG.
2. Avaliar o novo dispositivo Primer - PR[®].

MATERIAL E MÉTODOS

4 MATERIAL E MÉTODO

O material e método abordará os temas relacionados ao manejo e execução deste trabalho assim como as metodologias empregadas para a elaboração das análises estatísticas.

4.1 Animais e instalações experimentais

A realização deste trabalho contou com 22 ovelhas da raça Santa Inês. Ambos os experimentos foram conduzidos no período da estação de monta, entre março e abril de 2009.

4.1.1 Experimento 1

O experimento 1 foi realizado no Hospital Veterinário de Ruminantes da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP (FMVZ/USP) em São Paulo (23°34'S; 46°44'O), no mês de março de 2009. Dez fêmeas ovinas (n=10) da raça Santa Inês com escore variando entre 2,5 e 3 e comprovada fertilidade (multíparas), foram aleatoriamente distribuídas em 2 baias. Previamente ao início das atividades as fêmeas foram ambientadas ao local recebendo visitas constantes dos integrantes da pesquisa. Ração e feno consistiram à base da alimentação; sal mineral (Ovinofós[®] – Tortuga) e água eram fornecidos à vontade.

4.1.2 Experimento 2

Realizou-se este experimento nas instalações do Departamento de Reprodução Animal (VRA) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP em São Paulo (23°34'10"S; 46°44'20"O). Doze fêmeas ovinas da raça Santa Inês, de comprovada fertilidade (múltiparas) e escore entre 2,5 e 3, foram alojadas em baia na presença das ovelhas existentes no departamento (Figura 4). Os animais deste experimento também receberam visitas diárias dos participantes para costume e ambientação com o manejo que iriam receber. As ovelhas foram tratadas com ração e feno. Sal mineral (Ovinofós[®] - Tortuga) e água eram mantidos à vontade.



Figura 4 - Ovelhas do Experimento 2

4.2 Manejo de adaptação dos animais ao novo ambiente

Os animais de ambos os experimentos foram trazidos de propriedades localizadas no interior de São Paulo onde se encontravam soltas em piquetes. O manejo de adaptação ao novo ambiente durou aproximadamente 30 dias. Consistiu na ida diária dos participantes ao encontro das ovelhas de forma a elas acostumarem com a presença dos pesquisadores. Na nossa chegada, antes do contato visual, o termo “oi meninas” era aclamado. Posteriormente entrávamos na baía e esperávamos elas se acalmarem. Em seguida, fornecíamos ração em nossas mãos e aguardávamos pacientemente a coragem de uma delas vir buscar o alimento para que as outras a seguisse. No momento que comiam a ração, passávamos a mão nelas para costume do contato. Com a repetição deste método observamos calma e confiança dos animais para realização dos exames retais ou coletas de sangue (Figura 4). Isto contribuiu para a execução dos repetidos exames, uma vez que o acompanhamento das estruturas ovarianas nos ovinos é um procedimento demorado e requer além da experiência do operador, paciência e tranqüilidade de todos (pessoas e animais).

4.3 Sincronização do estro

Previamente ao início dos experimentos observou-se o estágio reprodutivo das fêmeas via exame ultrassonográfico. Todas estavam ciclando pela presença de corpos lúteos nos ovários.

4.3.1 Experimento 1

Neste experimento 10 ovelhas foram utilizadas. No dia denominado como dia zero ou D0, introduziu-se o dispositivo de progesterona 0,4g (Primer-PR[®] - Tecnopec) com auxílio de um aplicador e lubrificação com gel (GLT[®] – Tecnopec) (Figura 5).



Figura 5 – Passos para colocação do dispositivo vaginal

Os mesmos permaneceram na vagina por 9 dias e juntamente com sua retirada (D9), aplicou-se por via intramuscular, 0,4mL de prostaglandina (*d*-cloprostenol - Prolise[®] - Tecnopec) (Figura 6).

4.3.2 Experimento 2

Previamente ao início do experimento 2 as ovelhas foram sincronizadas com duas doses de prostaglandina (Prolise[®] - Tecnopec) com intervalo de 7 dias. Ao constatar o cio por rufiação, o protocolo foi iniciado nos mesmos moldes do experimento 1. Além da prostaglandina no D9, houve também a aplicação de 250UI ou 1,0mL de eCG (Folligon[®] – Intervet) por via intramuscular (Figura 7)

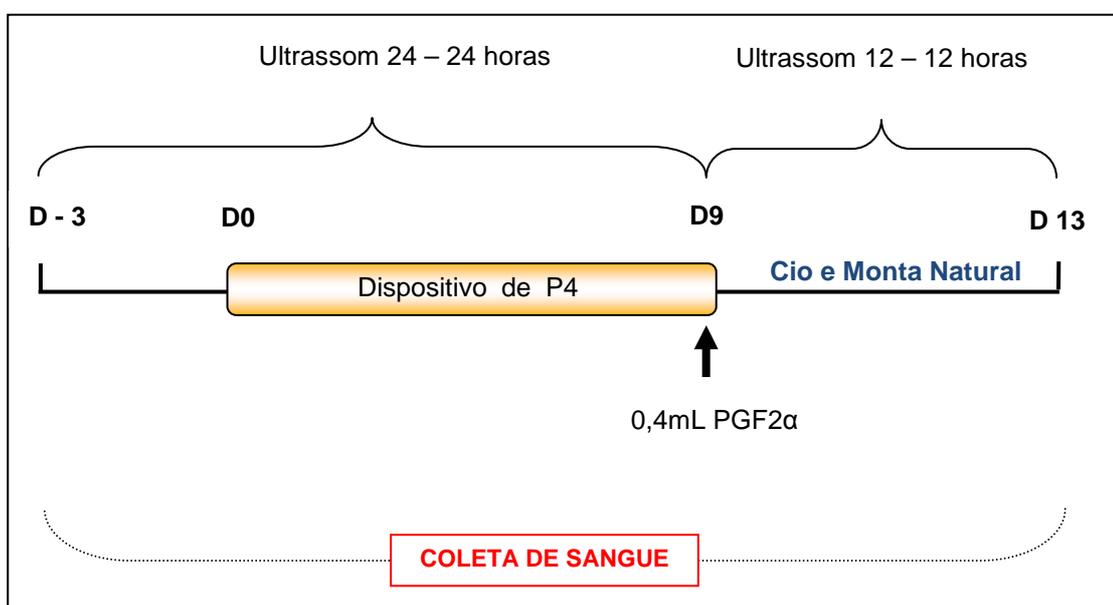


Figura 6 – Fluxograma de trabalho do Experimento 1

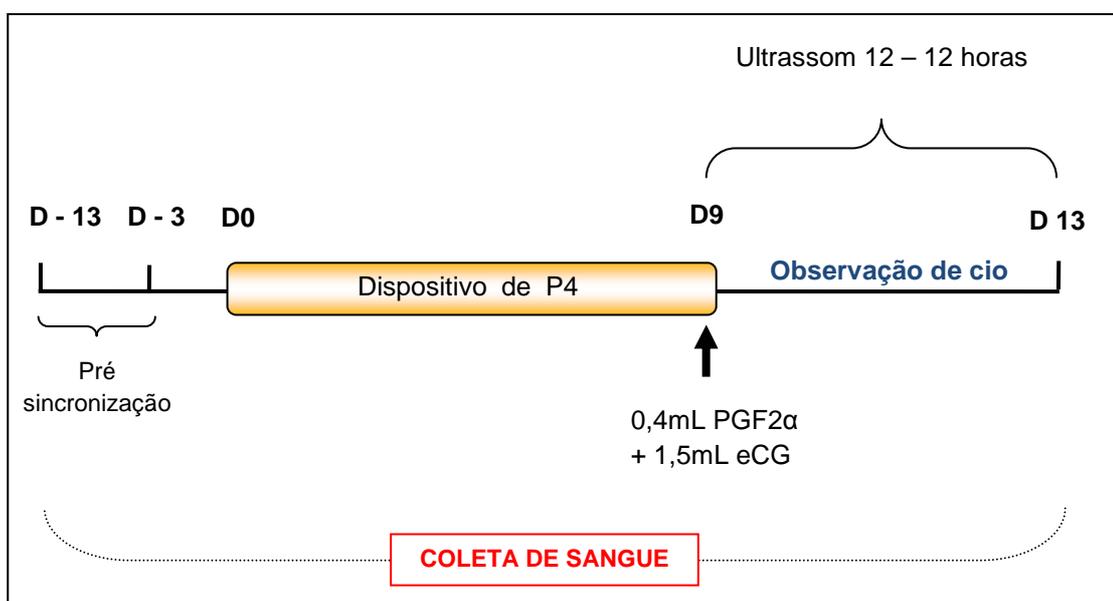


Figura 7 – Fluxograma de trabalho do Experimento 2

4.4 Ultrassonografia

Para os exames ultrassonográficos, as ovelhas foram divididas em 2 grupos sendo 10 ovelhas para o experimento 1 e 12 ovelhas para o experimento 2. No momento do exame elas eram posicionadas dentro do tronco de manejo específico para facilitar o manejo (Figura 8).

4.4.1 Experimento 1

Os exames ultrassonográficos para o acompanhamento da dinâmica folicular foram realizados de 24 em 24 horas desde 3 dias (D – 3) antes da colocação do dispositivo vaginal (D0) até a sua retirada 9 dias após (D9). Deste momento em diante, os exames passaram a ser realizados de 12 em 12 horas até a ocorrência da ovulação.

No momento do exame, o transdutor posicionado via retal, foi rotacionado lateralmente e, quando apropriado, a imagem foi congelada para que as medidas através da média entre altura e largura da cavidade antral folicular fossem realizadas. Desenhos esquematizados dos ovários com a posição relativa dos folículos foram anotados em fichas individuais.

O equipamento ultrassonográfico utilizado neste trabalho foi o ALOKA SSD-500, Berger, Brasil, com *scanner* no modo-B, equipado com transdutor linear de 5,0 MHz adaptado a um suporte para facilitar a manipulação no reto do animal. Para a lubrificação do transdutor foi utilizado gel específico para este fim.

4.4.2 Experimento 2

Neste experimento os exames ultrassonográficos foram realizados após a retirada do dispositivo vaginal, de 12 em 12 horas, até a ocorrência da ovulação. Todos os cuidados e procedimentos são iguais aos descritos para o experimento um.

4.4.3 Manejo dos animais na ultrassonografia

Em ambos os experimentos, em alguns momentos houve dificuldade na visualização dos ovários ou estes pareciam invertidos de posição. Para contornar esta situação, três procedimentos foram realizados para conseguir um eventual deslocamento ovariano para uma posição visível:

- a) Levantar a barriga: Como se fosse um abraço, a barriga da ovelha era levantada ou levantada e chacoalhada.
- b) Tronco com palanque: A ovelha era posicionada num palanque na tentativa de deslocar o útero para trás e permitir a visualização ovariana. Este método mostrou-se bastante eficaz no decorrer dos experimentos (Figura 8).
- c) Trote: em algumas situações as ovelhas eram colocadas para trotar ou correr na expectativa de mover as alças intestinais da frente dos ovários.



Figura 8 – Tronco de manejo com o palanque

As metodologias descritas nos tópicos a e c foram comprovadas por Karen et al. (2004) como maneiras para facilitar a visualização ultrassonográfica das estruturas ovarianas.

4.5 Rufiação e monta natural

O manejo de rufiação teve como objetivo conhecer os momentos (em horas) da entrada e saída das ovelhas do estro. Para o manejo de rufiação e monta natural controlada (no experimento 1) três machos de comprovada libido e fertilidade foram utilizados. Duas técnicas de rufiação foram preconizadas de acordo com as necessidades de cada experimento:

a) Rufiação coletiva – Experimento 1

Devido às ovelhas estarem separadas em 2 baias com 5 animais cada e na logística deste experimento ser mais fácil a rufiação coletiva, optou-se por este procedimento. Em três diferentes momentos do dia - 10 horas da manhã, 6 horas da tarde e meia noite – um macho era introduzido na baia. Os sinais observados da fêmea em estro foram: imobilidade, abanar de cauda e proximidade voluntária ao macho. Caso a fêmea dominante não permitisse a rufiação de outra ovelha no cio, esta era retirada da baia. Enquanto permaneciam no cio foram cobertas pelos machos.

b) Rufiação individual – Experimento 2

Neste experimento a rufiação individual com o macho preso a uma corda foi a melhor opção. Em três diferentes momentos do dia - 10 horas da manhã, 6 horas

da tarde e meia noite - o macho era colocado em uma baia com o auxílio de uma corda. As ovelhas ficavam separadas em outra baia e uma a uma eram introduzidas naquela em que o carneiro estava. Rapidamente ocorria a rufiação. Os sinais de urinar e sair correndo correspondiam às fêmeas fora do cio e o abanar de cauda ou imobilidade, de ovelha no cio.

4.6 Coleta de sangue e armazenamento das amostras

As coletas de sangue, de ambos os experimentos, foram realizadas por punção da veia jugular externa por meio de agulha e tubo a vácuo, sem anticoagulante, do sistema Vacutainer (BD®). Em seguida, o sangue era levado ao Laboratório de Dosagens Hormonais (LDH) e após 1 hora de descanso, centrifugado a 4500 rpm por 20 minutos. Observou-se que o descanso do sangue antes da centrifugação facilitava a separação do soro das demais partes constituintes do mesmo. Em seguida o soro era retirado com auxílio de pipeta e ponteira individual, colocado em tubo Eppendorf®, identificado e armazenado em *freezer* a – 20°C.

Em ambos os experimentos, a coleta de sangue no D0 e D9 foi em momento anterior à colocação ou retirada do dispositivo vaginal, respectivamente.

4.6.1 Experimento 1

Neste experimento, 22 ovelhas foram utilizadas. Foi coletado sangue diariamente desde 3 dias antes do início do protocolo de sincronização ou D - 3 até 3 dias depois do seu término. Para efeito de estudo, o grupo que recebeu o protocolo de sincronização de cios foi denominação GP (grupo protocolo) e o grupo, sem prévia sincronização ou aplicação de hormônio, de grupo GF (grupo fisiológico).

4.6.2 Experimento 2

No experimento 2, o sangue foi colhido nos dias D – 1, D1, D3, D5, D7, D9 e D11 sendo o D0 o dia da colocação do dispositivo vaginal e D9 o dia da retirada.

4.7 Dosagem da progesterona por radioimunoensaio (RIE)

Para dosagem da progesterona sérica utilizou-se a técnica de radioimunoensaio (RIE) em “fase sólida” por meio de conjunto diagnóstico comercial da Siemens® (COAT – A – COUNT, Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA, USA) desenvolvido para avaliação quantitativa de progesterona no soro humano, e validado previamente para uso em soro de ovinos por (GARÓFALO; TASENDE, 1996). Os ensaios hormonais foram realizados de acordo com o protocolo fornecido pelo fabricante.

Todos os parâmetros de controle de qualidade dos ensaios hormonais foram analisados conforme rotina empregada no Laboratório de Dosagens Hormonais. Foram calculados os Coeficientes de Variação (CV) intra-ensaio, utilizando-se valores altos e baixos, no início e final de cada ensaio. Foi também calculada a porcentagem de ligação B/BO, a sensibilidade e a dose mínima detectada para cada ensaio. A sensibilidade do ensaio para P4 foi de 0,01ng/mL e o coeficiente de variação intra-ensaio para valor baixo foi de 3,21% e valor alto de 1,93% .

4.8 Metodologias das análises

A seguir são descritas as metodologias de análise dos dados para a realização da análise estatística.

4.8.1 Momento da entrada e saída do estro

Os momentos de entrada e saída do estro foram calculados pela média dos dois últimos horários onde se observou a mudança do comportamento da ovelha em aceitar ou não a presença do carneiro.

4.8.2 Concentração de progesterona entre os grupos GP e GF

Para a análise estatística entre os grupos GP e GF, o dia1 (D1) foi considerado como o dia posterior à colocação do dispositivo vaginal para o grupo protocolo (GP) ou o primeiro dia com concentração plasmática de progesterona acima de 1ng/mL para o grupo fisiológico (GF).

O grupo GF passou por uma normalização dos dados para coincidir o início da fase luteal das ovelhas quando a progesterona fosse superior a 1ng/mL (FURTADO, 2007).

4.8.3 Determinação da dinâmica folicular

O dia da emergência da onda folicular foi considerada aquela em que o folículo apresentava 3mm de diâmetro seguido por aumento em seu diâmetro para valores iguais ou superiores a 4 mm (MENCHACA; RUBIANES, 2004). A determinação da emergência folicular assemelhou-se à técnica descrita por (LETELIER et al., 2009). O momento da emergência foi encontrado pelo acompanhamento retrógrado do maior folículo nos diversos tempos, desde o folículo ovulatório até ser encontrado um folículo de 3 mm.

A ovulação foi definida como o desaparecimento do maior folículo acompanhando a cada 12 horas. Ela foi calculada pela média entre o horário da última visão do folículo ovulatório e o horário onde se detectou a ovulação.

Para a análise do desenvolvimento e regressão folicular após a colocação do dispositivo vaginal no dia zero (DO), acompanhou-se os folículos ≥ 3 mm desde -24

horas da colocação do dispositivo. Foi considerado folículo regredido (GR) quando às 72 horas após a colocação do dispositivo estes atingiram diâmetro inferior a 3mm e não regredido (NR) quando permaneciam com diâmetro superior a 3mm até este momento.

4.8.4 Taxas de crescimento folicular pós dispositivo vaginal

Para o estudo da taxa de crescimento folicular pós dispositivo vaginal foram criadas as seguintes variáveis baseadas nos dados de tamanho folicular mensurados por ultrassom em diferentes tempos, -48, -24, 0, 6, 18, 30, 42, 54, 66, 78, 90 e 102 h após a colocação do dispositivo: 1) Taxa de crescimento no período: definiu-se como taxa de crescimento no período a velocidade de incremento do tamanho do folículo visível por ultrassom em função do período de mensuração de -48 a 102 h da retirada do dispositivo ou período total 2) Taxa de crescimento folicular máximo: definiu-se como taxa de crescimento folicular máximo a velocidade de incremento do tamanho do folículo visível por ultrassom em função do ponto de mensuração correspondente ao menor tamanho folicular ao ponto de mensuração correspondente ao maior tamanho folicular 3) Taxa de crescimento folicular das últimas 36 h: definiu-se como taxa de crescimento folicular das últimas 36 h a velocidade de incremento do tamanho do folículo visível por ultrassom nos últimos três tempos de mensuração de cada folículo 4) Taxa de contração folicular: definiu-se como taxa de contração folicular a velocidade de contração folicular visível por ultrassom em função do ponto de mensuração correspondente ao maior tamanho folicular ao ponto de mensuração correspondente ao menor tamanho folicular (Figura 9).

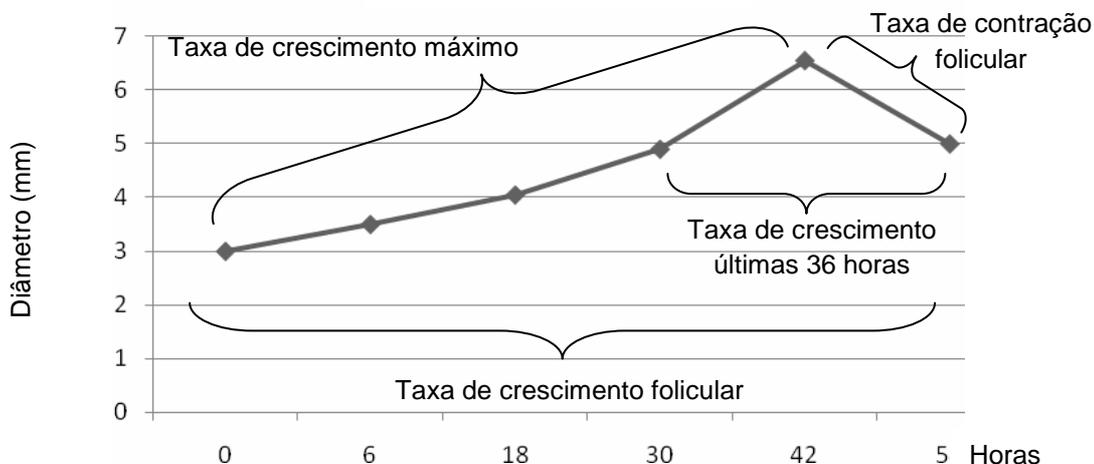


Figura 9 – Dinâmica folicular após a retirada do dispositivo vaginal e as respectivas taxas.

Para o cálculo das taxas de desenvolvimento e crescimento foliculares, os dados de tempo e tamanho correspondentes do folículo foram submetidos à análise de regressão linear simples, obtendo-se o parâmetro “b” através procedimento REG do SAS (SAS Institute Inc., 2001) (Figura 10).

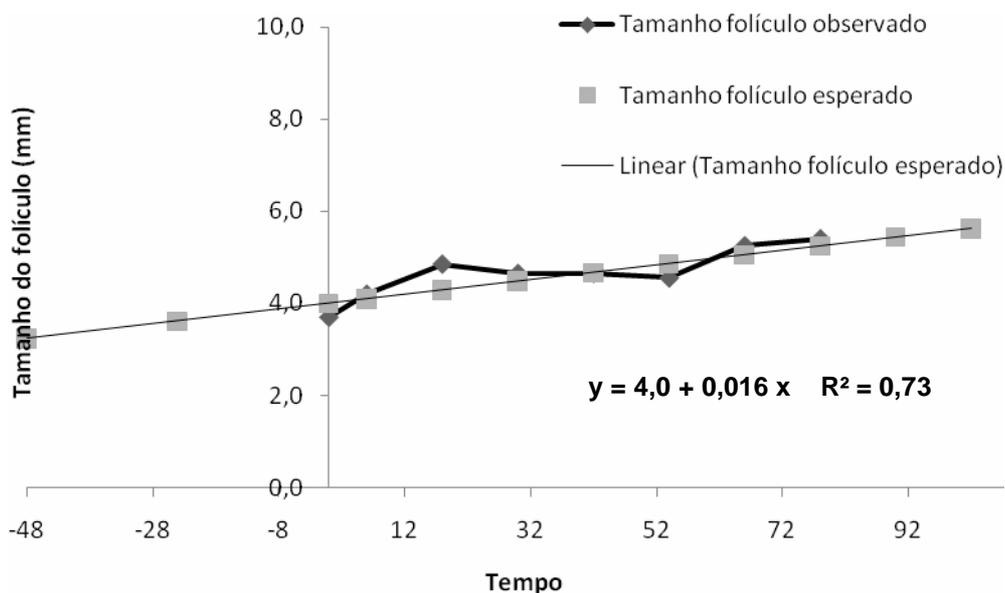


Figura 10 - Gráfico que representa os tamanhos dos folículos observados (—◆—), os esperados (■) (extraídos da equação $y = 4 + 0,016x$, onde x é o momento das observações) e a linha de aderência (—)

4.8.5 Taxas de desenvolvimento folicular *pré* dispositivo vaginal

Para o estudo da taxa de desenvolvimento folicular *pré* dispositivo vaginal foi criada a variável baseada nos dados de tamanho folicular mensurados por ultrassom em diferentes tempos: - 24 e 0h antes da colocação do dispositivo vaginal e 24, 48 e 72h após a colocação do dispositivo. O resultado negativo desta taxa refere-se à taxa de regressão folicular e o resultado positivo à taxa de crescimento folicular.

4.9 Análise Estatística

Os dados foram analisados através do programa computacional Statistical Analysis System (SAS Institute Inc., 2001), sendo anteriormente verificada a normalidade dos resíduos pelo Teste de SHAPIRO-WILK (PROC UNIVARIATE). Os dados (variável dependente) que não atenderam a estas premissas foram submetidos à transformação logarítmica [$\text{Log}(X+1)$] ou pela raiz quadrada [$\text{RQ}(X+1/2)$]. As variáveis relacionadas ao folículo e as taxas de crescimento foliculares originais ou transformadas, foram submetidas ao teste para média igual a zero e à análise de variância que separou como fonte de variação o efeito, o número de ovulação ou de folículos.

A variável concentração de progesterona para os grupos regrediu (GR) e não regrediu (NR) foi submetida à análise de variância que separou como fonte de variação o efeito da regressão ou não dos folículos após a colocação do dispositivo vaginal. Por sua vez, a variável concentração de progesterona para os grupos protocolo (GP) e fisiológico (GF) passou pela análise de variância que separou como fonte de variação o efeito do tratamento com o dispositivo vaginal ao longo do tempo de sua permanência.

Para ambas as análises, foi adicionado ao modelo o fator medidas repetidas no tempo, referentes aos diferentes tempos de amostragem. Tal análise foi realizada utilizando-se o procedimento MIXED do SAS. A análise por tempo somente foi

realizada quando as interações entre efeito de tempo e efeito de tratamento foram significativas.

As variáveis relacionadas ao folículo e as taxas de crescimento foliculares originais ou transformadas, quando este último procedimento for necessário, foram submetidas ao teste para média igual a zero e à análise de variância que separou como fonte de variação o efeito, o número de ovulação ou de folículos.

Foi utilizado um nível de significância de 5% para todos os testes realizados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

5 RESULTADOS

Os resultados dos experimentos 1 e 2 estão descritos a seguir.

5.1 Resultados do Experimento 1

No experimento 1, entre as dez ovelhas monitoradas, cinco foram consideradas com folículos regredidos e cinco não regredidos.

Anterior à colocação do Primer-PR[®], a média do tamanho folicular entre os grupos regrediu (GR) e não regrediu (NR) era de $3,82 \pm 0,49$ mm e $4,11 \pm 1,12$ mm, respectivamente, não diferindo significativamente ($P=0,462$). Às 72 horas da inserção do dispositivo, o acompanhamento dos folículos revelou uma média de $2,59 \pm 0,37$ mm de diâmetro para o grupo GR e $4,3 \pm 0,97$ mm para o grupo NR, diferindo significativamente ($P=0,017$). Por outro lado, a taxa de regressão ($-0,021$ mm/dia) do grupo GR e de desenvolvimento folicular ($0,001$ mm/dia) do grupo NR, não apresentou diferença estatística ($P=0,056$) e pelo teste “T” suas médias não diferiram de zero a 5% de significância.

A concentração plasmática de progesterona diferiu significativamente ($P=0,046$) entre os grupos R ($3,03 \pm 0,80$ ng/mL) e NR ($0,83 \pm 0,49$ ng/mL) no dia da colocação do dispositivo vaginal (D0). Este dado mostra que as ovelhas dos diferentes grupos apresentavam-se em distintos estágios do ciclo reprodutivo; umas em fase luteal, com progesterona acima de 1ng/mL e outras em fase folicular com progesterona abaixo de 1ng/mL. Nos demais dias do protocolo até a ovulação o nível de progesterona plasmática não diferiu ($P>0,05$) entre os grupos (Tabela 3).

A análise da concentração plasmática de progesterona (ng/mL) entre o grupo que recebeu o tratamento hormonal por 9 dias (GP) e o grupo que teve o sangue coletado em condição fisiológica ou sem tratamento (GF), respectivamente, mostrou diferença nos dias D0 ($1,93 \pm 1,82$ e $0,50 \pm 0,21$, $P=0,017$); D1 ($6,68 \pm 1,35$ e $1,21 \pm 0,23$, $P=0,001$); D3 ($8,01 \pm 1,79$ e $3,04 \pm 0,88$, $P=0,001$), D5 ($8,07 \pm 2,31$ e $5,55 \pm 1,85$, $P=0,019$) e D11 ($0,30 \pm 0,11$ e $6,96 \pm 1,01$, $P=0,001$) após a colocação do dispositivo

vaginal. No D7 a média de progesterona encontrada foi de $6,72 \pm 2,10$ ng/mL e no D9 de $7,33 \pm 2,60$ ng/mL, sem diferença entre os grupos ($P > 0,05$) (Tabela 4 e Figura 11).

O dispositivo Primer-PR[®] representado na Figura 11 pelo grupo GP, entre os dias D0 e D9, manteve em média a concentração plasmática de progesterona em $6,56 \pm 2,32$ ng/mL, atingindo um pico entre o D3 e D5 após a colocação do dispositivo vaginal. A concentração média do grupo GF no mesmo período ficou em $3,8 \pm 2,69$ ng/mL.

As ovelhas entraram no estro em média $45,6 \pm 12,71$ horas após a retirada do dispositivo vaginal. Permaneceram aceitando monta por $26,40 \pm 9,47$ horas e deixaram o cio em $72 \pm 12,96$ horas. A média das ovulações ficou em $1,3 \pm 0,48$ por animal e o intervalo entre a primeira e a segunda ovulação em $16 \pm 6,93$ horas (Tabela 5). Neste experimento a taxa de ovulação foi de 92,3% (12/13) confirmada pela gestação das ovelhas sendo observada a prenhez de 90% delas (9/10) confirmando as duplas ovulações com duplas gestações.

Entre o primeiro e o segundo folículos ovulatórios, o momento médio da emergência folicular ocorreu 203 ± 16 horas após a colocação do dispositivo vaginal. A média do diâmetro inicial foi de $3,48 \pm 0,28$ mm e do diâmetro máximo de $5,63 \pm 0,66$ mm, não diferindo significativamente ($P > 0,05$). O momento da ovulação ocorreu em média $73 \pm 14,38$ h após a retirada do dispositivo vaginal (Tabela 6).

Entre os animais que tiveram simples ou dupla ovulação, a emergência folicular ocorreu em média $203,67 \pm 15,10$ horas. O primeiro folículo ovulatório não diferiu ($P > 0,05$) quanto ao diâmetro inicial ($3,43 \pm 0,31$ mm) e o diâmetro máximo ($5,78 \pm 0,69$ mm). O momento da ovulação ocorreu em média $71,50 \pm 15,27$ horas após a retirada do dispositivo vaginal (Tabela 7).

Os diâmetros dos folículos ovulatórios diferiram ($P = 0,006$) entre o primeiro ($5,49 \pm 0,54$ mm) e o segundo ($4,32 \pm 0,51$ mm) folículos e entre o primeiro folículo dos animais que tiveram simples ($5,77 \pm 0,35$ mm) ou dupla ($4,83 \pm 0,18$ mm) ovulação ($P = 0,003$) (Tabelas 6 e 7).

As taxas de crescimento e contração folicular entre o primeiro e segundo folículos não diferiram significativamente ($P > 0,05$). A média para a taxa de crescimento no período foi de $0,73 \pm 0,43$ mm por dia, para a taxa de crescimento máximo de $1,14 \pm 0,73$ mm por dia, para a taxa de crescimento nas últimas 36h de $0,34 \pm 0,92$ mm por dia e para a taxa de contração folicular de $-1,37 \pm 1,04$ mm por dia.

O teste T indicou que todas as variáveis diferiram de zero, a 5% de significância, exceto para a taxa de crescimento nas últimas 36 horas (Tabela 5).

Tabela 3 – Média \pm desvio padrão da concentração plasmática de progesterona (ng/mL) entre os grupos regrediu (GR) e não regrediu (NR) após a colocação do dispositivo vaginal, no experimento 1

| Tempo | Regrediu (GR) (n=5) | Não Regrediu (NR) (n=5) | Média \pm DP | P |
|-------------|------------------------------|------------------------------|-----------------|-------|
| (D-1) - 24h | 2,60 \pm 0,66 | 0,78 \pm 0,48 | 1,69 \pm 0,48 | 0,057 |
| (D 0) 0h | 3,03 \pm 0,80 ^a | 0,83 \pm 0,49 ^b | - | 0,046 |
| (D 1) 24h | 7,23 \pm 0,47 | 6,12 \pm 0,67 | 6,67 \pm 0,43 | 0,209 |
| (D 3) 72h | 8,93 \pm 0,83 | 7,08 \pm 0,58 | 8,01 \pm 0,57 | 0,105 |
| (D 5) 120h | 8,41 \pm 1,06 | 7,73 \pm 1,12 | 8,07 \pm 0,73 | 0,666 |
| (D 7) 168h | 7,38 \pm 0,97 | 7,03 \pm 1,09 | 7,20 \pm 0,69 | 0,818 |
| (D 9) 216h | 7,36 \pm 0,77 | 7,62 \pm 1,75 | 7,49 \pm 0,90 | 0,895 |
| (D11) 264h | 0,26 \pm 0,01 | 0,35 \pm 0,06 | 0,30 \pm 0,03 | 0,211 |
| (D13) 312h | 0,28 \pm 0,04 | 0,23 \pm 0,02 | 0,25 \pm 0,02 | 0,270 |

^{a,b} Linhas com letras sobrescritas diferem significativamente (5%)

(P = probabilidade)

Tabela 4 – Média \pm desvio padrão (DP) da progesterona plasmática (ng/mL) dos Grupos GP e GF durante a permanência do dispositivo vaginal, no experimento 1

| Tempo | Grupo GP (n=10) | Grupo GF (n=11) | Média \pm DP | P |
|------------|------------------------------|------------------------------|-----------------|-------|
| (D 0) 0h | 1,93 \pm 1,82 ^a | 0,50 \pm 0,21 ^b | - | 0,017 |
| (D 1) 24h | 6,68 \pm 1,35 ^a | 1,21 \pm 0,23 ^b | - | 0,001 |
| (D 3) 72h | 8,01 \pm 1,79 ^a | 3,04 \pm 0,88 ^b | - | 0,001 |
| (D 5) 120h | 8,07 \pm 2,31 ^a | 5,55 \pm 1,85 ^b | - | 0,019 |
| (D 7) 168h | 7,20 \pm 2,19 | 5,92 \pm 1,81 | 6,72 \pm 2,10 | 0,247 |
| (D 9) 216h | 7,49 \pm 2,85 | 7,06 \pm 2,35 | 7,33 \pm 2,60 | 0,759 |
| (D11) 264h | 0,30 \pm 0,11 ^b | 6,96 \pm 1,01 ^a | - | 0,001 |

^{a,b} Linhas com letras sobrescritas diferem significativamente (5%)

(P = probabilidade)

Tabela 5 – Características do ciclo estral e ovulação das ovelhas do experimento 1, expressos em média±desvio padrão (DP), valores mínimos e máximos das observações, após a retirada do dispositivo vaginal.

| | Média±DP | Mínimo | Máximo |
|---|-----------------|---------------|---------------|
| Momento da entrada no estro (h) | 45,6±12,71 | 30 | 66 |
| Momento da saída do estro (h) | 72,0±12,96 | 54 | 102 |
| Tempo de duração do estro (h) | 26,4±9,47 | 12 | 48 |
| Número de ovulações | 1,3±0,48 | 1 | 2 |
| Intervalo entre as ovulações (h) | 16±6,93 | 12 | 24 |

Tabela 6 – Média ± desvio padrão (DP) das características do desenvolvimento folicular entre o 1º e o 2º folículos ovulatórios, no experimento 1

| | 1º Folículo (n=10) | 2º Folículo (n=3) | Média±DP | P |
|---|-------------------------------|------------------------------|-----------------|----------|
| Emergência (horas da colocação do dispositivo) | 204±15,10 | 200±27,6 | 203±16,17 | 0,760 |
| Diâmetro inicial (mm) | 3,43±0,31 | 3,65±0,09 | 3,48±0,28 | 0,264 |
| Diâmetro máximo (mm) | 5,78±0,69 | 5,13±0,23 | 5,63±0,66 | 0,145 |
| Diâmetro ovulatório (mm) | 5,49±0,54 ^a | 4,32±0,51 ^b | - | 0,006 |
| Momento da ovulação (horas da retirada do dispositivo) | 71,50±15,27 | 78,00±12,00 | 73±14,38 | 0,516 |
| Taxa crescimento no período (mm/24h) | 0,80±0,38 | 0,49±0,61 | 0,73±0,43* | 0,305 |
| Taxa crescimento máximo (mm/24h) | 1,15±0,84 | 1,10±0,16 | 1,14±0,73* | 0,920 |
| Taxa crescimento últimas 36horas (mm/24h) | 0,57±0,68 | -0,42±1,41 | 0,34±0,92 | 0,103 |
| Taxa contração folicular (mm/24h) | -1,44±1,33 | -1,22±0,18 | -1,37±1,04* | 0,841 |

^{a,b} Linhas com letras sobrescritas diferem significativamente

* Médias diferem significativamente de zero pelo Teste "T" a 5% de significância

Os animais com dupla ovulação (n=3), não houve diferença entre o 1º e o 2º folículos ovulatórios (P>0,05).

(P = probabilidade)

Tabela 7 – Média \pm desvio padrão (DP) das características do desenvolvimento do 1º folículo ovulatório entre animais com ovulação simples ou dupla, no experimento 1

| | Ovulação simples (n=7) | Ovulação dupla (n=3) | Média \pm DP | P |
|---|------------------------------|------------------------------|--------------------|-------|
| Emergência (horas da colocação do dispositivo) | 198,50 \pm 15,46 | 214,00 \pm 8,67 | 203,67 \pm 15,10 | 0,158 |
| Diâmetro inicial (mm) | 3,48 \pm 0,32 | 3,32 \pm 0,33 | 3,43 \pm 0,31 | 0,488 |
| Diâmetro máximo (mm) | 5,97 \pm 0,46 | 5,35 \pm 1,04 | 5,78 \pm 0,69 | 0,209 |
| Diâmetro ovulatório (mm) | 5,77 \pm 0,35 ^a | 4,83 \pm 0,18 ^b | - | 0,003 |
| Momento da ovulação (horas da retirada do dispositivo) | 75,57 \pm 13,16 | 62,00 \pm 18,33 | 71,50 \pm 15,27 | 0,216 |

^{a,b} Linhas com letras sobrescritas diferem significativamente (P = probabilidade)

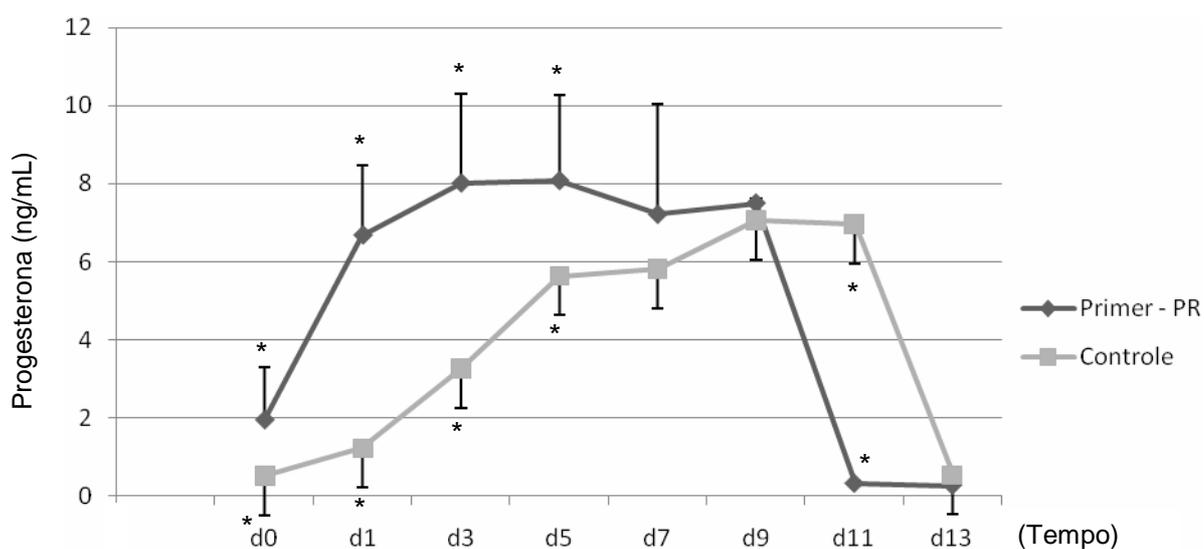


Figura 11 – Concentração plasmática de progesterona (ng/mL) em ovelha Santa Inês entre o grupo tratado com o dispositivo Primer-PR[®] (Grupo GP) e o grupo no estado fisiológico (Grupo GF).

As barras verticais correspondem ao desvio padrão.

* P < 0,05

5.2 Resultados do Experimento 2

No experimento 2, o estro iniciou-se às $36 \pm 6,41$ horas após a retirada do dispositivo vaginal. As fêmeas permaneceram em cio por $45 \pm 10,64$ horas e em média, às $81 \pm 8,46$ horas, deixaram de aceitar a monta do macho (Tabela 8). A média das ovulações neste experimento foi de $1,63 \pm 0,51$ por ovelha e o intervalo ovulatório de $4,8 \pm 6,57$ horas.

A taxa de ovulação foi de 86% (13/15) feita pela visualização ultrassonográfica dos corpos lúteos ipsilaterais aos das ovulações, sete dias após a retirada do dispositivo vaginal. Neste experimento, 13,3% (2/15) dos folículos apresentaram cisto sendo os diâmetros observados de 10,5mm e 11,8mm.

Entre o primeiro e o segundo folículos ovulatórios, a média do diâmetro inicial ($4,04 \pm 0,78$ mm), do diâmetro máximo ($5,86 \pm 0,63$ mm) e do diâmetro ovulatório ($5,40 \pm 0,59$ mm), não diferiram significativamente ($P > 0,05$). O momento da ovulação ocorreu em média $74,3 \pm 7,56$ horas após a retirada do dispositivo vaginal ($P > 0,05$).

Entre os animais que tiveram simples ou dupla ovulação, o primeiro folículo ovulatório não diferiu ($P > 0,05$) quanto ao diâmetro inicial ($4,22 \pm 0,49$ mm) e diâmetro máximo ($6,03 \pm 0,59$ mm). Em contra partida, o diâmetro do folículo ovulatório diferiu significativamente ($P = 0,007$) para os animais de ovulação simples ($5,91 \pm 0,27$ mm) e dupla ($5,20 \pm 0,22$ mm). O momento da ovulação ocorreu em média $73,50 \pm 8,9$ h após a retirada do dispositivo vaginal (Tabela 10).

As taxas de crescimento e contração folicular, entre o primeiro e segundo folículo ovulatório, não diferiram significativamente ($P > 0,05$). A média para a taxa de crescimento no período foi de $0,66 \pm 0,43$ mm por dia; taxa de crescimento máximo de $1,11 \pm 0,38$ mm por dia, taxa de crescimento nas últimas 36h de $0,39 \pm 1,01$ mm por dia e taxa de contração folicular foi de $-1,20 \pm 0,85$ mm por dia. O teste T indicou que todas as variáveis diferiram de zero, a 5% de significância, exceto para a taxa de crescimento nas últimas 36 horas (Tabela 9).

Neste experimento, o dispositivo Primer-PR[®] manteve entre os dias D0 e D9, a concentração plasmática de progesterona média em $11,50 \pm 3,11$ ng/mL, atingindo um pico entre o D3 e D5 após a colocação do dispositivo vaginal (Figura 12).

Tabela 8 – Características do ciclo estral e ovulação das ovelhas do experimento 2, expressos em média±desvio padrão (DP), valores mínimos e máximos das observações, após a retirada do dispositivo vaginal

| | Média±DP | Mínimo | Máximo |
|---|-----------|--------|--------|
| Momento de entrada no estro (h) | 36±6,41 | 30 | 42 |
| Momento de saída do estro (h) | 81±8,46 | 66 | 90 |
| Tempo de duração do estro (h) | 45±10,64 | 24 | 60 |
| Número de ovulações | 1,63±0,51 | 1 | 2 |
| Intervalo entre as ovulações (h) | 4,8±6,57 | 0 | 12 |

Tabela 9 – Média±desvio padrão (DP) das características do desenvolvimento folicular entre o 1º e o 2º folículos ovulatórios, no experimento 2

| | 1º Folículo (n=8) | 2º Folículo (n=5) | Média±DP | P |
|---|----------------------|----------------------|--------------|-------|
| Diâmetro inicial (mm) | 4,23±0,49 | 3,79±1,08 | 4,04±0,78 | 0,363 |
| Diâmetro máximo (mm) | 6,03±0,59 | 5,58±0,66 | 5,86±0,63 | 0,226 |
| Diâmetro ovulatório (mm) | 5,47±0,43 | 5,30±0,85 | 5,40±0,59 | 0,642 |
| Momento da ovulação (horas da retirada do dispositivo) | 73,5±8,93 | 75,6±5,37 | 74,3±7,56 | 0,646 |
| Taxa crescimento no período (mm/24h) | 0,64±0,45 | 0,68±0,44 | 0,66±0,43* | 0,890 |
| Taxa crescimento máximo (mm/24h) | 1,10±0,34 | 1,12±0,47 | 1,11±0,38* | 0,933 |
| Taxa crescimento últimas 36horas (mm/24h) | 0,09±0,87 | 0,87±1,15 | 0,39±1,01 | 0,193 |
| Taxa contração folicular (mm/24h) | - 1,25±0,93 | - 0,90±0,00 | - 1,20±0,85* | 0,741 |

^{a,b} Linhas com letras sobrescritas diferem significativamente

* Médias diferem significativamente de zero pelo Teste "T" a 5% de significância

Os animais com dupla ovulação (n = 5), não houve diferença entre o 1º e o 2º folículos ovulatórios (P = probabilidade)

Tabela 10 – Média \pm desvio padrão (DP) das características do desenvolvimento do 1º folículo ovulatório entre animais com ovulação simples ou dupla, no experimento 2

| | Ovulação simples (n=3) | Ovulação dupla (n=5) | Média \pm DP | P |
|---|------------------------------|------------------------------|-----------------|-------|
| Diâmetro inicial (mm) | 4,30 \pm 0,69 | 4,17 \pm 0,40 | 4,22 \pm 0,49 | 0,773 |
| Diâmetro máximo (mm) | 6,41 \pm 0,72 | 5,80 \pm 0,42 | 6,03 \pm 0,59 | 0,176 |
| Diâmetro ovulatório (mm) | 5,91 \pm 0,27 ^a | 5,20 \pm 0,22 ^b | 5,47 \pm 0,43 | 0,007 |
| Momento da ovulação (horas da retirada do dispositivo) | 78,00 \pm 0,00 | 70,80 \pm 10,73 | 73,50 \pm 8,9 | 0,304 |

^{a,b} Linhas com letras sobrescritas diferem significativamente (P = probabilidade)

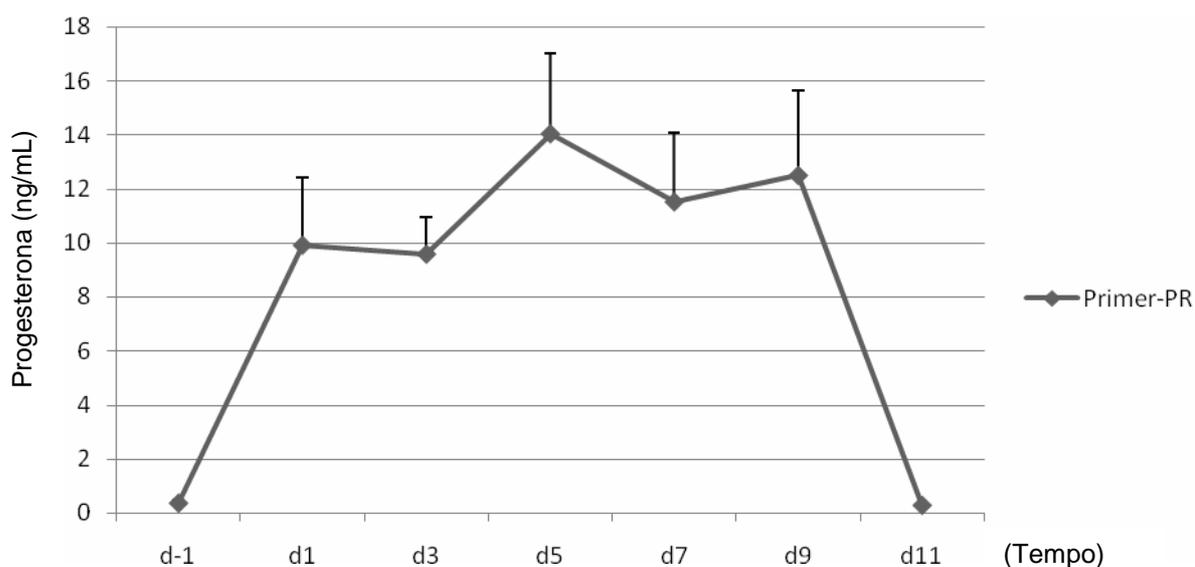


Figura 12 – Concentração plasmática de progesterona (ng/mL) em ovelhas Santa Inês durante a permanência do dispositivo vaginal Primer-PR®, no experimento 2. As barras verticais correspondem ao desvio padrão.

6 DISCUSSÃO

Com base nos resultados obtidos foi possível observar no experimento 1 que, após a colocação do dispositivo vaginal Primer-PR[®], houve regressão folicular em 50% (5/10) das fêmeas. Maffili (2004) utilizando um protocolo de 5 dias de dispositivo em caprinos demonstrou que os níveis supra luteais de progesterona ($7,11 \pm 2,28$ ng/mL) alcançados 24 horas após a colocação do dispositivo CIDR-G[®], promoveu a regressão folicular em 50% (9/18) dos animais tratados, com a emergência de uma nova onda em $3,5 \pm 0,53$ dias.

Neste trabalho, observou-se regressão folicular pela mensuração da média do diâmetro folicular inicial, não diferindo significativamente entre os grupos ($P=0,462$) e final, diferindo significativamente entre os grupos regrediu (GR) e não regrediu (NR) às 72 horas da colocação do dispositivo vaginal ($P=0,017$). Por outro lado, as taxas de crescimento e regressão foliculares não diferiram significativamente ($P=0,056$) pode ser atribuído a um número pequeno de observações.

Uma possível explicação para os diferentes destinos tomados pelos folículos entre os grupos R e NR é a fase do ciclo estral das ovelhas, no início do protocolo. Observando a tabela 3, o grupo GR encontrava-se na fase luteal (progesterona = $2,60$ ng/mL) enquanto o grupo NR estava na fase folicular (progesterona = $0,83$ ng/mL), diferindo significativamente ($P=0,047$).

Na fase luteal, folículos superiores a 3mm são dependentes de LH para seu desenvolvimento Picton, Tsonis e McNeilly (1990) e McNeilly, Crow e Campbell (1991) e durante este período a alta concentração de progesterona plasmática promove a diminuição da frequência dos pulsos de LH, fundamentais para o desenvolvimento final dos folículos (GOODMAN; KARSCH, 1980). No grupo GR, o dispositivo Primer-PR[®] elevou a concentração de progesterona para níveis superiores a 6 ng/mL, o que pode ter promovido o bloqueio da pulsatilidade de LH e a atresia folicular observada até 72 horas da colocação do dispositivo.

O grupo NR, por outro lado, encontrava-se na fase folicular do ciclo estral. Goodman et al. (1980 e 1982) mostraram que a liberação do LH durante o ciclo varia quanto à frequência e a amplitude. Na fase luteal, a progesterona aumenta a amplitude e decresce a frequência dos pulsos, enquanto na fase folicular, o

estrógeno diminui a amplitude sem afetar a frequência. Isto sugere para o grupo NR que a alta concentração de progesterona proporcionada pela colocação do dispositivo durante a fase folicular bloqueou o aumento da frequência dos pulsos de LH, impedindo a ovulação. Porém, o *feed back* positivo ao alto nível de estrógeno liberado pelos folículos nesta fase, pode ter sido suficiente para manter os níveis plasmáticos de LH elevados e os folículos por até 72 horas após a colocação do dispositivo vaginal.

Com relação à progesterona entre o grupo sincronizado (GP) e o fisiológico (GF), a concentrações plasmática foi mais elevada para as ovelhas que receberam dispositivos (grupo GP) nos dias D0, D1, D3 e D5, diferindo significativamente ($P < 0,05$) (Tabela 4 e Figura 11). Entende-se que os níveis mais baixos verificados no ciclo natural são compatíveis com o fato de não haver influência da progesterona exógena. Por outro lado, nos dias D7 e D9, não houve diferença na concentração de progesterona entre os grupos ($P > 0,05$). Este fato pode ser atribuído à biodisponibilidade da progesterona neste grupo de ovelha sugerindo trabalhos para saber a concentração de progesterona liberada pelo dispositivo Primer-PR[®] em ovelhas ovariectomizadas ou sem a interferência da progesterona endógena. A princípio, os dados obtidos neste trabalho foram favoráveis ao dispositivo Primer uma vez que este elevou a concentração de progesterona a nível supra luteal durante todo o tratamento, o que favoreceu o *turn over* folicular e a sincronização da onda ovulatória. Permitiu após a sua retirada, o rápido declínio da concentração de progesterona plasmática a níveis fisiológicos, o que favoreceu a posterior ovulação.

A concentração plasmática média de progesterona para o grupo fisiológico GF foi de $3,8 \pm 2,69$ ng/mL atingindo a máxima concentração entre os dias D8 e D9 com média de $7,33 \pm 3$ ng/mL. Esses dados são compatíveis com o desenvolvimento do corpo lúteo cujo nível plasmático de progesterona secretada aumenta, segundo Rubianes (2000) e alcança um platô no oitavo dia do ciclo a uma concentração de 3 – 4 ng/mL (MORELLO; CHEMINEAU, 2008). Furtado (2007) observou em ovelhas Santa Inês a média da progesterona fisiológica de $5,48 \pm 0,36$ ng/mL com pico próximo dos 7,2 ng/mL.

Por sua vez, a concentração plasmática média da progesterona para o grupo GP foi de $6,56 \pm 2,32$ ng/mL. Souza et al. (2008) em ovelhas cruzas de Suffolk com Ile de France utilizando o CIDR[®], obtiveram concentração média de 5,62 ng/mL com o protocolo de 13 dias. No experimento 2 deste trabalho observou-se média de

progesterona plasmática de $11,50 \pm 3,11$ ng/mL durante a permanência do dispositivo vaginal (Figura 12).

Leyva, Buckrell e Walton (1998) relataram a inadequada sincronização do estro e da ovulação, após a remoção do dispositivo em esponja com medroxiprogesterona, devido ao estágio do ciclo estral da ovelha no momento da inserção do dispositivo. Da mesma forma, Letelier et al. (2009) descreve que os folículos ovulatórios no protocolo de 6 dias derivaram de folículos antrais presentes no momento da inserção do dispositivo vaginal. Estes dados vão de encontro ao observado no presente experimento. A manutenção da elevada concentração de progesterona plasmática ao longo dos 9 dias do protocolo de sincronização, foi eficiente para promover a regressão de todos os folículos observados no momento da inserção do dispositivo, independente da fase do ciclo estral que as ovelhas se encontravam. Contudo, apesar desta elevada concentração de progesterona, foi possível observar a emergência de novos folículos e crescimento médio até $3,78 \pm 0,59$ mm, após as 72 horas da colocação do dispositivo vaginal. Este dado concorda com Seekallu, Toosi e Rawlings (2009) que demonstraram que após a colocação de implante subcutâneo de progesterona (0,125g) em ovelhas cíclicas, ocorreu uma diminuição da frequência de pulsos de LH pela metade daquela vista no grupo controle, mas esta supressão dos pulsos não resultou em nenhum efeito na emergência, crescimento ou regressão dos folículos. Eles concluíram que em ovelhas cíclicas são necessários poucos pulsos e baixas concentrações séricas de LH para manter a emergência e o crescimento folicular. Apesar da observação dos novos folículos, não foi possível precisar o momento da emergência ou o padrão de onda folicular.

Morello e Chemineau (2008) descreveram a duração do cio das ovelhas entre 24 e 36 horas e a ovulação entre 24 e 30 horas do início do estro. No experimento 1, o tempo médio para apresentação do cio após a retirada do dispositivo vaginal foi de $45,6 \pm 12,71$ horas, a duração do estro de $26,4 \pm 9,47$ horas e a ovulação $73 \pm 14,38$ horas da retirada do dispositivo vaginal (ou 27,4 horas após o início do estro) (Tabelas 5 e 6). No experimento 2, as ovelhas entraram no cio em média $36 \pm 6,41$ horas após a retirada do dispositivo vaginal, permaneceram neste estado por $45 \pm 10,64$ horas e a ovulação ocorreu $74,3 \pm 7,56$ horas da retirada do dispositivo (ou 38,3 horas após o início do estro) (Tabela 8).

Embora comparações de resultados sejam difíceis entre os experimentos e os trabalhos de literatura, devido as diferenças tanto na raça de ovelhas utilizadas, como no protocolo de sincronização e metodologias de análises estatísticas Souza et al. (1995) acompanharam a dinâmica folicular via laparoscopia de ovelhas Corriedale após o protocolo de 12 dias de medroxiprogesterona e 500UI de eCG na retirada do dispositivo. Na presença ou não de carneiros vasectomizados ao final do protocolo, houve diferença estatística entre os momentos da ovulação, em média $65,2 \pm 2,2$ horas para fêmeas na presença dos carneiros e $73,8 \pm 3,2$ h na ausência dos mesmos. Biehl (2009) observou que ovelhas Santa Inês tratadas com CIDR por 7 ou 11 dias e 300UI de eCG na retirada do dispositivo vaginal, apresentaram estro $35,51 \pm 6,15$ horas após a retirada do mesmo para o grupo D7 e $38,11 \pm 6,24$ horas para o grupo D11, não diferindo significativamente. Em outro momento deste trabalho, com CIDR por 7 dias e 300 UI de eCG na retirada, este mesmo autor observou o estro em média $45 \pm 14,30$ horas após o término do protocolo.

No experimento 1, o diâmetro folicular inicial ($3,48 \pm 0,28$ mm) não diferiu significativamente entre o primeiro e o segundo folículo ovulatório e entre o primeiro folículo ovulatório dos animais com simples ou dupla ovulação ($3,43 \pm 0,31$ mm). Por outro lado, houve diferença estatística ($P < 0,05$) entre o diâmetro ovulatório do primeiro ($5,49 \pm 0,54$ mm) e do segundo folículo ($4,32 \pm 0,51$ mm) e entre o primeiro folículo da ovulação simples ($5,77 \pm 0,34$ mm) ou dupla ($4,83 \pm 0,18$ mm) (Tabelas 6 e 7). No experimento 2, as medidas de diâmetro inicial ($4,04 \pm 0,78$ mm) e ovulatório ($5,40 \pm 0,59$ mm) entre o primeiro e segundo folículo ovulatório, não apresentaram diferença estatística. O diâmetro ovulatório para o primeiro folículo entre a ovulação simples ($5,91 \pm 0,27$ mm) ou dupla ($5,2 \pm 0,22$ mm), diferiram significativamente ($P = 0,007$) (Tabela 10).

Evans et al. (2000) relatou o diâmetro ovulatório em 6,2 mm. Takada (2009) observou o diâmetro inicial em $4,46 \pm 0,18$ mm e o ovulatório em $5,36 \pm 0,14$ mm no protocolo de 12 dias de esponja com eCG na retirada do dispositivo vaginal, em ovelhas Suffolk. Letelier (2009) relata folículos iniciais de $4,6 \pm 0,6$ mm e ovulatórios de $5,7 \pm 0,22$ mm, no protocolo de 6 dias de esponja com 40mg de acetato de fluorogesterona.

O fato dos experimentos 1 e 2 apresentarem folículos ovulatórios diferentes significativamente em diâmetro, porém aptos a ovular, desperta a atenção entre a relação do folículo dominante e do subordinado previamente à ovulação, cujos

motivos ainda precisam ser elucidados. Folículos dominantes são a principal fonte de estrógeno e inibina, que leva ao *feedback* negativo na secreção do FSH. A continuidade do seu crescimento baseia-se no aumento dos receptores para FSH e a troca dos mesmos para receptores sensíveis a LH, tornando-os altamente responsivos a este hormônio e diferenciando-os dos subordinados (GONZALEZ-BULNES et al., 2004). Este processo é controlado pela interação de sinais endócrinos e a produção local de fatores de crescimento (IGFs). A resposta das células da teca e da granulosa são reguladas pela produção local destes fatores e os mecanismos para o controle da ação dos IGFs ocupam a questão central da regulação da foliculogênese (ARMSTRONG; WEBB, 1997). Segundo Monget, Monniaux e Durand (1989) as células da granulosa de ovelhas possuem receptores tipo 1 e proteínas ligantes de IGF-1 que poderiam modular a ação deste fator de crescimento no processo de desenvolvimento folicular e atresia. Na fase antral do folículo, embora a expressão de receptores para LH em células da granulosa seja importante para que o LH mantenha o crescimento do folículo dominante, este evento não parece ser necessário à seleção folicular. Peptídeos intra-ovarianos como o IGF-2, as IGFbps e os FGFs participam de mecanismos de controle que, associados à ação gonadotrópica, determinam o recrutamento, seleção e dominância folicular (BURATINI JR., 2007). Assim, a diferença de diâmetro folicular observado neste experimento sugere uma dominância atenuada do maior folículo sobre o subordinado, durante a fase folicular do ciclo estral, cujos mecanismos regulatórios poderão ser elucidados em futuros trabalhos.

O restabelecimento do eixo hipotálamo – hipófise – gonadal após a retirada do dispositivo vaginal de progesterona promoveu a emergência do folículo ovulatório em média $8,5 \pm 0,67$ dias ou 203 ± 16 horas após a colocação do dispositivo vaginal. Takada et al. (2009) observaram o início da onda $-2,08 \pm 0,48$ dias antes da retirada da esponja de MAP mantida por 12 dias. A emergência folicular é dependente do FSH e com 3mm os folículos são dependentes de LH (PICTON; TSONIS; MCNEILLY, 1990). Como o aumento da frequência dos pulsos de LH ocorre sob baixa concentração de progesterona e com isso o desenvolvimento final do folículo, a emergência da onda ovulatória próxima da retirada do dispositivo vaginal sugere a hipótese de que não importando o tempo do protocolo, enquanto houver alta concentração de progesterona, a emergência desta onda ocorrerá próximo à retirada do dispositivo vaginal. Contudo, apesar da sincronização da emergência folicular, os

momentos ovulatórios apresentaram maior dispersão. No experimento 1, a ovulação ocorreu em média $73 \pm 14,38$ horas e no experimento 2, $74,3 \pm 7,56$ horas após a retirada do dispositivo vaginal. Isto sugere que para viabilizar uma inseminação em tempo fixo com sêmen congelado existe a necessidade da aplicação de um indutor para concentrar melhor as ovulações.

O crescimento folicular apresentou uma taxa média no período de $0,73 \pm 0,43$ mm por dia (Tabela 6). No experimento 2, com o uso do eCG, esta taxa foi de $0,66 \pm 0,43$ mm por dia (Tabela 9). Evans et al. (2000) analisando a dinâmica folicular dentro de um ciclo estral fisiológico, encontraram uma taxa de crescimento folicular de 0,9mm/dia em ovelhas com duas ondas foliculares, sendo o mesmo valor encontrado por (BARTLEWSKI et al., 1999). A taxa de crescimento folicular observada por (LETELIER et al., 2009) foi de $0,88 \pm 0,1$ mm por dia no protocolo de 6 dias com FGA 40mg.

No presente estudo, a elaboração da taxa de crescimento máximo foi uma alternativa para justificar uma observação de campo quanto à contração folicular pré ovulatória. A taxa de crescimento máximo foi de $1,14 \pm 0,73$ mm por dia para o experimento 1 e $1,11 \pm 0,38$ mm por dia para o experimento 2.

De maneira análoga, a taxa das últimas 36 horas veio de uma percepção no momento da realização dos exames ultrassonográficos que ocorria uma estagnação do crescimento folicular, 36 horas antes da ovulação. No experimento 1, a taxa de crescimento nas últimas 36 horas antes da ovulação foi de $0,34 \pm 0,92$ mm por dia e no experimento 2, esta taxa foi de $0,39 \pm 1,01$ mm por dia. Alguns autores também sugerem a fase estática folicular pré ovulatória em ovinos (EVANS et al., 2000; DUGGAVATHI et al., 2004).

A taxa de contração folicular observada no experimento 1 foi de $-1,37 \pm 1,04$ mm por dia e no experimento 2 de $-1,20 \pm 0,85$ mm por dia. Durante o processo de ovulação ocorrem mudanças cíclicas na população de leucócitos no ovário e estes tipos celulares participam de forma ativa nas mudanças funcionais e estruturais do folículo e corpo lúteo. No período pré-ovulatório e após o pico de LH ocorre um marcado influxo de monócitos e neutrófilos no folículo. Após sua ativação secretam mediadores que facilitam a degradação tecidual e promovem mudanças vasculares que são críticas para o final do processo ovulatório e ruptura folicular (BRÄNNSTRÖM; ENSKOG, 2002). A diminuição do diâmetro folicular encontrado neste experimento foi um achado já relatado, na prática, por outros pesquisadores

que trabalham com ultrassonografia. Alguns fatores responsáveis pela cascata de eventos que culminam na ovulação em ovinos devem causar esta regressão do diâmetro folicular, embora os fatores específicos e os mecanismos de ação envolvidos, ainda não sejam conhecidos.

7 CONCLUSÃO

De acordo com as condições em que foram conduzidas este experimento podemos inferir que:

1. Foi possível caracterizar a dinâmica folicular da ovelha Santa Inês dentro do protocolo de 9 dias, sem e com a administração do eCG.
2. O novo dispositivo de progesterona Primer-PR[®] foi eficiente em manter altos níveis de progesterona durante todo o protocolo, o que garantiu a regressão folicular e a sincronização da emergência da onda ovulatória.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

REFERÊNCIAS

- AINSWORTH, L.; WOLYNETZ, M. S. Synchronization of estrous and reproductive performance of ewes treated with synthetic progestogens administered by subcutaneous ear implant or by intravaginal sponge pessary. **Journal of Animal Science**, v. 54, n. 1, p. 1120-1127, 1982.
- AMARANTE, A. F. T.; BRICARELLO, P. A.; ROCHA, R. A.; GENNARI, S. M. Resistance of Santa Ines, Suffolk and Ile de France lambs to naturally acquired gastrointestinal nematode infections. **Veterinary Parasitology**, v. 120, n. 1, p. 91-106, 2004.
- AMARANTE, A. F. T.; SUSIN, I.; ROCHA, R. A.; SILVA, M. B.; MENDES, C. Q.; PIRES, A. V. Resistance of Santa Ines and crossbred ewes to naturally acquired gastrointestinal nematode infections. **Veterinary Parasitology**, v. 165, n. 1, p. 273-280, 2009.
- ANDRIOLI, A.; SIMPLÍCIO, A. A.; MACHADO, R. **Comportamento reprodutivo pós-parto em cabras sem raça definida mantidas em pastagem nativa no Nordeste do Brasil**. Sobral: EMBRAPA - CNPC, 1989. 18 p. (Boletim de Pesquisa, 14)
- ANGULO, V. M.; GALLEGOS, R.; PALOMARES, M. D. P. G. Fatores que interferem na fertilidade da inseminação artificial. In: AISEN, E. G. (Ed.). **Reprodução ovina e caprina**. São Paulo: MedVet, 2008. p.133-141.
- ARMSTRONG, D. G.; WEBB, R. Ovarian follicular dominance: the role of intraovarian growth factors and novel proteins. **Reproduction**, v. 2, n. 1, p. 139-146, 1997.
- ASSUMPÇÃO, A. Onde se cria uma vaca, cabem quantas ovelhas? **Jornal Cabra & Ovelha**, v. 1, n. 12, p. 1, 2006. Disponível em: <www.cabaeovelha.com.br/edição12.htm>. Acesso em: 19 nov. 2009
- AUSTIN, E. J.; MIHM, M.; RYAN, M. P.; WILLIAMS, D. H.; ROCHE, J. F. Effect of duration of dominance of the ovulatory follicle on onset of estrus and fertility in heifers. **Journal of Animal Science**, v. 52, n. 1, p. 1129-1135, 1999.
- BAIRD, D. T. Luteotropic control of the corpus luteum. **Animal Reproduction Science**, v. 28, n. 1, p. 95-102, 1992.

BARTLEWSKI, P. M.; BEARD, A. P.; COOK, S. J.; CHANDOLIA, R. K.; HONARAMOOZ, A.; RAWLINGS, N. C. Ovarian antral follicular dynamics and their relationships with endocrine variables throughout the oestrous cycle in breeds of sheep differing in prolificacy. **Journal Reproduction Fertility**, v. 115, n. 1, p. 111-124, 1999.

BARTLEWSKI, P. M.; BEARD, A. P.; COOK, S. J.; RAWLINGS, N. C. Ovarian follicular dynamics during anoestrous in ewes. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 113, n. 1, p. 275-285, 1998.

BICUDO, S. D.; SOUSA, D. B. Associação de progestágeno, prostaglandina e eCG em protocolo de curta duração para indução/sincronização do estro em ovelhas Suffolk. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL (CBRA), 15., 2003, Porto Seguro. **Anais...** Belo Horizonte: CBRA, [2003]. p. 15-17.

BIEHL, M. V. **Uso de protocolos reprodutivos em ovelhas da raça Santa Inês sobre a sincronização e tempo médio para aparecimento do estro e a taxa de prenhez na IATF e no repasse**. 2009. 86 p. (Mestrado).- Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

BOLAND, M. P.; LEMAINQUE, F.; GORDON, I. Comparison of lambing outcome in ewe after synchronization of oestrus by progestagen or prostaglandin treatment. **Journal of Agricultural Science Cambridge**, v. 91, n. 3, p. 765-766, 1978.

BOSCOS, C. M.; SAMARTZ, F. C.; DELLIS, S.; ROGGE, A.; STEFANAKIS, A.; KRAMBOVITIS, E. Use of progestagen-gonadotrophin treatments in estrous synchronization of sheep. **Theriogenology**, v. 58, n. 1, p. 1261-1272, 2002.

BRAND, A.; JONG, W. H. R. Qualitative and quantitative micromorphological investigation of tertiary follicle population during the oestrous cycle in sheep. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 33, n. 1, p. 431-439, 1973.

BRÄNNSTRÖM, M.; ENSKOG, A. Leukocyte networks and ovulation. **Journal Reproduction Immunology**, v. 57, n. 1-2, p. 47-60, 2002.

BRICARELLO, P. A.; AMARANTE, A. F. T.; ROCHA, R. A.; CABRAL FILHO, S. L.; HUNTLEY, J. F.; HOUDIJK, J. G. M.; ABDALLA, A. L.; GENNARI, S. M. Influence of dietary protein supply on resistance to experimental infections with *Haemonchus contortus* in Ile de France and Santa Ines lambs **Veterinary Parasitology**, v. 134, n. 1, p. 99-109, 2005.

BURATINI JR., J. Controle endócrino e local da foliculogênese em bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 31, n. 2, p. 190-196, 2007.

CARDWELL, B. E.; FITCH, G. Q.; GEISERT, R. D. Ultrasonic evaluation for the time of ovulation in ewes treated with norgestomet and norgestomet followed by pregnant mare's serum gonadotropin. **Journal of Animal Science**, v. 76, n. 1, p. 2235-2238, 1998.

COELHO, L. D. A.; RODRIGUES, P. A.; SASA, A. Concentração plasmática de progesterona em borregas deslanadas durante a estação reprodutiva. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 43., 2001, Viçosa. **Anais...** Viçosa:SBZ, [2001]. p. 153-155.

COLLET, R. A.; LAND, R. B.; BAIRD, D. T. The pattern of progesterone secretion by the autotransplanted ovary of the ewe in response to ovine luteinizing hormone. **Journal of Endocrinology**, v. 56, n. 1, p. 403-411, 1973.

COSTA, R. L. D.; BUENO, M. S.; VERISSIMO, C. J.; CUNHA, E. A.; SANTOS, L. E.; OLIVEIRA, S. M.; SPOSITO FILHA, E.; OTSUK, I. P. Performance and nematode infection of ewe lambs on intensive rotational grazing with two different cultivars of *Panicum maximum*. **Tropical Animal Health Production**, v. 39, n. 1, p. 255-263, 2007.

CUMMING, I. A.; BROWN, J. M.; BLOCKEY, M. A.; GODING, J. R. Regulation of oestrous cycle in the ewe. **Journal Reproduction Fertility**, v. 24, n. 1, p. 148-159, 1971.

DIAS, L. M. K.; SOUZA, J. C.; ASSIS, R. M.; RAYMUNDO, C. M. Pregnancy diagnosis, fetal quantification and gender estimation by ultra-sonography in ewes. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, n. 3, p. 911-916, 2009.

DONROV, T. S.; BATSAIHAN, D. Gonadotrophin extraction from pregnant mare's serum and effect of PMSG preparation on the fertility of Mongolian native ewes. **Small Ruminant Research**, v. 28, n. 1, p. 61-66, 1998.

DRIANCOURT, M.-A.; GIBSON, W. R.; CAHILL, L. P. Follicular dynamics throughout the oestrous cycle in sheep. A review. **Reproduction Nutrition Development**, v. 25, n. 1A, p. 1-15, 1985.

DRIANCOURT, M. A.; GOUGEON, A.; ROYÈRE, D. Ovarian function. In: THIBAUT, C. e LEVASSEUR, M. C. (Ed.). **Reproduction in mammals and man**. Amsterdam: Elsevier, 1993, p. 283-305

DUGGAVATHI, R.; BARTLEWSKI, P. M.; BARRETT, D. M. W.; GRATTON, C.; BAGU, E. T.; RAWLINGS, N. C. Patterns of antral follicular wave dynamics and accompanying endocrine changes in cyclic and seasonally anestrous ewes treated

with exogenous ovine follicle-stimulating hormone during the inter-wave interval. **Biology of Reproduction**, v. 70, n. 1, p. 821-827, 2004.

EVANS, A. C. O.; DUFFY, P.; HYNES, N.; BOLAND, M. P. Waves of follicle development during the estrous cycle in sheep. **Theriogenology**, v. 53, n. 1, p. 699-715, 2000.

EVANS, A. C. O.; FLYNN, J. D.; DUFFY, P.; KNIGHT, P. G.; BOLAND, M. P. Effects of ovarian follicle ablation on FSH, oestradiol and inhibin A concentrations and growth of other follicles in sheep. **Reproduction**, v. 123, n. 1, p. 59-66, 2002.

EVANS, A. C. O.; FLYNN, J. D.; QUINN, K. M.; DUFFY, P.; QUINN, P.; MADGWICK, S.; CROSBY, T. F.; BOLAND, M. P.; BEARD, A. P. Ovulation of aged follicles does not affect embryo quality or fertility after a 14-day progestagen estrus synchronization protocol in ewes. **Theriogenology**, v. 56, n. 1, p. 923-936, 2001.

FAO. FOOD OUTLOOK: meat and meat products. 2009. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/012/ak341e/ak341e09.htm>>. Acesso em: 12 jan. 2010.

FLYNN, J. D.; DUFFY, P.; BOLAND, M. P.; EVANS, A. C. O. Progestagen synchronisation in the absence of a corpus luteum results in the ovulation of a persistent follicle in cyclic ewe lambs **Animal Reproduction Science**, v. 62, n. 1, p. 285-296, 2000.

FONSECA, J. F.; BRUSCHI, J. H. Reprodução assistida em pequenos ruminantes. In: CONGRESSO NORTE NORDESTE DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 3., 2006, Belém, PA. **Anais...** Belém: CBRA/Regional Norte-Nordeste, [2006], p. 13.

FURTADO, P. V. **Perfil analítico de estrógenos e progestinas em diferentes matrizes biológicas na espécie ovina (Ovis aires)**. 2007. 96 p. tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

GARÓFALO, E. G.; TASENDE, C. Uterine estrogen and progesterone receptors in prepubertal ewes: distribution in myometrium, endometrium and caruncles. **Veterinary Research**, v. 27, n. 1, p. 177-183, 1996.

GETACHEW, T.; DORCHIES, P.; JACQUIET, P. Trends and challenges in the effective and sustainable control of *Haemonchus contortus* infection in sheep. **Parasite**, v. 14, n. 1, p. 3-14, 2007.

GINTHER, J.; WILTBANK, M. C.; FRICKE, P. M.; GIBBONS, J. R.; KOT, K. Selection of the dominant follicle in cattle. **Biology of Reproduction**, v. 55, n. 1, p. 1187-1194, 1996.

GINTHER, O. J.; KOT, K. Follicular dynamics during the ovulatory season in goats. **Theriogenology**, v. 42, n. 1, p. 987-1001, 1994.

GINTHER, O. J.; KOT, K.; WILTBANK, M. C. Associations between emergence of follicular waves and fluctuations in FSH concentrations during the estrous cycle in ewes. **Theriogenology**, v. 43, n. 1, p. 689-703, 1995.

GODFREY, R. W.; COLLINS, J. R.; HENSLEY, E. L.; WHEATON, J. E. Estrus synchronization and artificial insemination of hair sheep ewes in the tropics. **Theriogenology**, v. 51, n. 1, p. 985-997, 1999.

GONZALEZ-BULNES, A.; SOUZA, C. J. H.; CAMPBELL, B. K.; BAIRD, D. T. Systemic and intraovarian effects of dominant follicles on ovine follicular growth. **Animal Reproduction Science**, v. 84, n. 1, p. 107-119, 2004.

GONZÁLEZ-BULNES, A.; VEIGA-LOPEZ, A. Evidence of intraovarian follicular dominance effects during controlled ovarian stimulation in a sheep model. **Fertility and Sterility**, v. 89, n. 1, p. 1507-1513, 2008.

GOODMAN, R. L.; BITTMAN, E. L.; FOSTER, D. L. Alterations in the control of luteinizing hormone pulse frequency underline the seasonal variation in estradiol negative feedback in the ewe. **Biology of Reproduction**, v. 27, n. 1, p. 580-590, 1982.

GOODMAN, R. L.; KARSCH, F. J. Pulsatile secretion of luteinizing hormone: differential suppression by ovarian steroids. **Endocrinology**, v. 107, n. 1, p. 1286-1291, 1980.

HAFEZ, B.; HAFEZ, E. S. E. **Reprodução animal**. Barueri: Manole, 2004. 513 p.

HAUGER, R. L.; KARSCH, F. J.; FOSTER, D. L. A new concept for control of the estrous cycle of the ewe based on the temporal relationships between luteinizing hormone, estradiol and progesterone in peripheral serum and evidence that progesterone inhibits tonic LH secretion. **Endocrinology**, v. 101, n. 3, p. 807-817, 1977.

JANSEN, H. T.; WEST, C.; LEHMAN, M. N.; PADMANABHAN, V. Ovarian estrogen receptor- β (ER β) regulation. Changes in ER β messenger RNA expression prior to ovulation in the ewe. **Biology of Reproduction**, v. 65, n. 3, p. 866-872, 2001.

KAREN, A.; SZABADOS, K.; REICZIGEL, J.; BECKERS, J.-F.; SZENCI, O. Accuracy of transrectal ultrasonography for determination of pregnancy in sheep: effect of fasting and handling of the animals. **Theriogenology**, v. 61, n. 1, p. 1291-1298, 2004.

LANGFORD, G. A.; HINSWORTH, L.; WOLYNETZ, M. S. Reproductive response of progestagen-treated sheep in confinement to a single and double insemination. **Journal of Animal Science**, v. 54, n. 1, p. 12-17, 1982.

LETELIER, C. A.; CONTRERAS-SOLIS, I.; GARCÍA-FERNÁNDEZ, R. A.; ARIZNAVARRETA, C.; TRESGUERRES, J. A. F.; FLORES, J. M.; GONZALEZ-BULNES, A. Ovarian follicular dynamics and plasma steroid concentrations are not significantly different in ewes given intravaginal sponges containing either 20 or 40 mg of fluorogestone acetate. **Theriogenology**, v. 71, n. 1, p. 676-682, 2009.

LEYVA, V.; BUCKRELL, B. C.; WALTON, J. S. Regulation of follicular activity and ovulation in ewes by exogenous progestagen. **Theriogenology**, v. 50, n. 1, p. 395-416, 1998.

LIU, X. D. Q.; HART, E. J.; BARRETT, D. M.; RAWLINGS, N. C.; PIERSON, R. A.; BARTLEWSKI, P. M. Ultrasonographic characteristics of ovulatory follicles and associated endocrine changes in cyclic ewes treated with medroxyprogesterone acetate (MAP)-releasing intravaginal sponge and equine chorionic gonadotropin (eCG). **Reproduction Domestic Animal**, v. 42, n. 1, p. 393-401, 2007.

MAFFILI, V. V. **Protocolos de sincronização e indução do estro e ovulação em cabras**. 2004. 93 p (Doutorado).- Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2004.

MARQUES, M. O.; CAMPOS FILHO, E. P.; BARUSELLI, P. S. Efeitos da administração de eCG e de benzoato de estradiol para sincronização da ovulação em vacas *Bos taurus* X *Bos indicus* no período pós-parto. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCIÓN ANIMAL, 2003, Córdoba. **Anais.**, p. 392.

MCNEILLY, A. S.; CROW, W.; CAMPBELL, B. K. Effect of follicular fluid and inhibin immunoneutralization on FSH-induced preovulatory follicle growth in the ewe. **Journal of Endocrinology**, v. 131, n. 1, p. 401-409, 1991.

MEDEIROS, J.; ESPIRITO SANTO, E. **Análise econômica da ovinocultura no DF: sistemas de referência para apoio à tomada de decisão na cadeia produtiva - produtores rurais e frigoríficos**. Brasília: UnB/SEBRAE/SEAPA, 2004, 89 p.

MENCHACA, A.; RUBIANES, E. New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 16, n. 1, p. 403-413, 2004.

MENCHACA, A.; VILARIÑO, M.; CRISPO, M.; DE CASTRO, T.; RUBIANES, E. New approaches to superovulation and embryo transfer in small ruminants.

Reproduction, Fertility and Development, v. 22, n. 1, p. 113-118, 2010.

MONGET, P.; MONNIAUX, D.; DURAND, P. Localization, characterization and qualification of insulin-like growth factor-I-binding sites in the ewe ovary.

Endocrinology, v. 125, n. 5, p. 2484-2493, 1989.

MONREAL, A. C. D.; LEITE, L. R. C.; BAKARJI, E. W. B. Efeito do eCG na fertilidade de ovelhas mestiças inseminadas com sêmen congelado em tempo fixo durante a transição anestro-estro. **Agrarian**, v. 1, n. 1, p. 79-90, 2008.

MORELLO, H. H.; CHEMINEAU, P. Características Anatômicas e Funcionais do Sistema Reprodutor da Fêmea. In: AISEN, E. G. (Ed.). **Reprodução ovina e caprina**. São Paulo: MedVet, 2008, p.11-25.

MURPHY, B. D.; MARTINUK, S. P. Equine Chorionic gonadotrofin. **Endocrine Reviews**, v. 12, n. 1, p. 27-44, 1991.

NOEL, B.; BISTER, J. L.; PAQUAY, R. Ovarian follicular dynamics in Suffolk ewes at different periods of the year. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 99, n. 1, p. 695-700, 1993.

NOEL, B.; BISTER, J. L.; PIERQUIN, B.; PAQUAY, R. Effects of FGA and PMSG on follicular growth and LH secretion in Suffolk ewes. **Theriogenology**, v. 41, n. 3, p. 719-727, 1994.

PICTON, H. M.; TSONIS, C. G.; MCNEILLY, A. S. The antagonistic effect of exogenous LH pulses on FSH-stimulated preovulatory follicle growth in ewes chronically treated with a gonadotrophinreleasing hormone agonist. **Journal Endocrinology**, v. 127, n. 1, p. 273-283, 1990.

RAMOS, A. K. M.; NEVES, J. P.; MCMANUS, C.; LUCCI, C. M.; CARNEIRO, H. C. R.; AMARAL, R. S. Avaliação dos parâmetros ecográficos de desenvolvimento gestacional de ovinos da raça Santa Inês. **Ciência Animal Brasileira**, v. 8, n. 3, p. 537-543, 2007.

RAVINDRA, J. P.; RAWLINGS, N. C.; EVANS, A. C. O.; ADAMS, G. P. Ultrasonographic study of ovarian follicular dynamics in ewes during the oestrous cycle. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 101, n. 1, p. 501-509, 1994.

RAWLINGS, N. C.; COOK, S. J. LH secretion around the time of the preovulatory gonadotrophin surge in the ewe. **Animal Reproduction Science**, v. 30, n. 1, p. 289-299, 1993.

- ROCHA, R. A.; AMARANTE, A. F. T.; BRICARELLO, P. A. Influence of reproduction status on susceptibility of Santa Inês and Ile de France ewes to nematode parasitism. **Small Ruminant Research**, v. 55, n. 1-3, p. 65-75, 2004.
- RODRIGUES, L. F. D. S.; ARAUJO, A. A.; NUNES, J. F.; MOURA, A. A. A.; MOREIRA, E. P. Sincronização do estro em ovelhas deslanadas: efeito de diferentes doses de gonadotrofina coriônica equina sobre a taxa de ovulação. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 41, n. 1, p. 215-222, 2004.
- ROSENFELD, C. S.; WAGNER, J. S.; ROBERTS, R. M.; LUBAHN, D. B. Intraovarian actions of oestrogen. **Reproduction**, v. 122, n. 2, p. 215-226, 2001.
- RUBIANES, E. Nociones básicas de fisiología reproductiva em cabras y ovejas. In: SIMPÓSIO SOBRE CONTROLE FARMACOLÓGICO DO CICLO ESTRAL EM RUMINANTES, 2000, São Paulo. **Anais...** [2000]. São Paulo:USP, [2000]. p. 255-282.
- RUBIANES, E.; CASTRO, T.; KMAID, S. Estrus response after a short progesterone priming in seasonally anestrous goats. **Theriogenology**, v. 49, n. 1, p. 356-362, 1998.
- RUBIANES, E.; DE CASTRO, T.; CARBAJAL, B. Effect of high progesterone levels during the growing phase of the dominant follicle of wave 1 in ultrasonically monitored ewes. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 76, n. 1, p. 473-475, 1996.
- RUBIANES, E.; MENCHACA, A.; CARBAJAL, B. Response of the 1–5 day-aged ovine corpus luteum to prostaglandin F₂ α . **Animal Reproduction Science**, v. 78, n.1, p. 47-55, 2003.
- SANGHA, G. K. S., SHARMA, R. K.; GURAYA, S. S. Biology of corpus luteum in small ruminants. **Small Ruminant Research**, v. 43, n. 1, p. 53-64, 2002.
- SANTOS, J. S.; HELOU, J. B.; CAVALCANTI, M. V. F. L.; FERREIRA, J. L.; CORDEIRO, M. F.; CAVALCANTE, T. V. Desempenho reprodutivo de ovelhas Santa Inês após sincronização de estro e indução da ovulação com progestágeno e progesterona. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA, 8., 2009, Belo Horizonte. **Anais...** p. 821-825.
- SEEKALLU, S. V.; TOOSI, B. M. T.; RAWLINGS, N. C. LH pulse frequency and the emergence and growth of ovarian antral follicular waves in the ewe during the luteal phase of the estrous cycle. **Reproduction Biology and Endocrinology**, v. 7, n. 1, p. 1-10, 2009.

SIMPLÍCIO, A. A.; FREITAS, V. J. F.; FONSECA, J. F. Biotécnicas da reprodução como técnicas de manejo reprodutivo em ovinos. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, v. 31, n. 2, p. 234-246, 2007.

SIMPLÍCIO, A. A.; SOUZA, P. H. F. Efeito da amamentação sobre o desempenho reprodutivo pós-parto em ovelhas da raça Santa Inês. **Ciência Veterinária dos Trópicos**, v. 2, n. 2, p. 115-124, 1999.

SOUZA, F. C.; PINHEIRO, E. S. P.; RONDINA, D.; FREITAS, V. J. F.; TEIXEIRA, D. I. A. Morfometria das estruturas ovarianas em cabras Saanen doadoras de embriões pelo uso da ultrassonografia em tempo real. **Acta Scientiae**, v. 34, n. 1, p. 291, 2006.

SOUZA, C. J.; CAMPBELL, B. K.; BAIRD, D. T. Follicular dynamics and ovarian steroid secretion in sheep during anoestrus. **Journal Reproduction Fertility**, v. 108, n. 1, p. 101-106, 1996.

SOUZA, C. J. H.; CHAGAS, L. M.; MOURA, A.; MORAES, J. C. F. Momento de ovulação em ovelhas Corriedale após o cio natural. **Ciência Rural**, v. 25, n. 2, p. 277-281, 1995.

SOUZA, M. I. L.; URIBE-VELÁSQUEZ, L. F.; OBA, E.; SÁ FILHO, O. G.; RAMOS, A. A. Secreção de esteróides ovarianos, em ovelhas mestiças de raças exploradas para corte, em distintos momentos reprodutivos, no Estado de São Paulo. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 4, p. 1107-1113, 2008.

TAKADA, L.; BICUDO, S. D.; RODRIGUES, C. F. C.; COELHO, L. A.; PERRI, S. H. V. Sincronização do estro e da ovulação utilizando protocolos de curta duração durante a pré-estação reprodutiva em ovelhas Suffolk. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 31, n. 4, p. 453-460, 2009.

THATCHER, W. W.; DRIANCOURT, M. A.; TERQUI, M.; BADINGA, L. Dynamics of ovarian follicular development in cattle following hysterectomy and during early pregnancy. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 8, n. 1, p. 223-234, 1991.

TRALDI, A. S. **Produção de ovinos: aspectos reprodutivos dos ovinos. Performance reprodutiva dos ovinos deslançados no Brasil**. 1990, Jaboticabal: FUNEP, [1990]. p. 81-124.

UNGERFELD, R.; RUBIANES, E. Effectiveness of short-term progestogen priming for the induction of fertile oestrous with eCG in ewes during late seasonal anoestrous. **Animal Science**, v. 68, n. 1, p. 349-353, 1999.

UNGERFELD, R.; RUBIANES, E. Short term primings with different progestogen intravaginal devices (MAP, FGA and CIDR) for eCG-estrous induction in anestrus ewes. **Small Ruminant Research**, v. 46, n. 1, p. 63-66, 2002.

USTUNER, B.; GUNAY, U.; NUR, Z.; USTUNER, H. Effects of long and short-term progestagen treatments combined with PMSG on oestrus synchronization and fertility in Awassi ewes during the breeding season. **Acta Veterinaria Brunensis**, v. 76, n. 1, p. 391-397, 2007.

VALENTIM, R. **Concentrações plasmáticas de progesterona e eficiência reprodutiva de diferentes dispositivos de liberação lenta de progesterona usados em inseminação artificial em tempo fixo**. 2004. 88 p. (Doutorado).- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

VIANA, J. G. A. Panorama geral da ovinocultura no mundo e no Brasil: **Revista Ovinos**, v. 4, n. 12, p.10, 2008.

VIÑALES, C.; FORSBERG, M.; BANCHERO, G.; RUBIANES, E. Effect of long-term and short-term progestagen treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. **Theriogenology**, v. 55, n. 1, p. 993-1004, 2001.

VIÑALES, C.; FORSBERG, M.; BANCHERO, G.; RUBIANES, E. Ovarian follicular dynamics and endocrine profiles in Polwarth ewes in high and low body condition. **Animal Science**, v. 74, n. 1, p. 539-545, 2002.

VIÑALES, C.; FORSBERG, M.; RUBIANES, E. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in the ewe. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION, 14, 2000, Estocolmo. **Anais...** p. 26-30.

VIÑALES, C.; MEIKLE, A.; FORSBERG, M. Accuracy of evaluation of ovarian structures by transrectal ultrasonography in ewes. **Animal Reproduction Science**, v. 80, n. 1, p. 69-79, 2004.

VIÑALES, C.; MEIKLE, A.; FORSBERG, M.; RUBIANES, E. The effect of subluteal levels of exogenous progesterone on follicular dynamics and endocrine patterns during the early luteal phase of the ewe. **Theriogenology**, v. 51, n.1, p. 1351-1361, 1999.

WU, D.; BARRETT, D. M. W.; RAWLINGS, N. C.; GIFFIN, J. L.; BARTLEWSKI, P. M. Relationships of changes in ultrasonographic image attributes to ovulatory and steroidogenic capacity of large antral follicles in sheep. **Animal Reproduction Science**, v.116, n.1, p.73-84, 2009.

WURST, A. K.; DIXON, A. B.; INSKEEP, E. K. Lack of effect of transrectal ultrasonography with restraint on lambing rate and prolificacy in ewes.

Theriogenology, v. 68, n. 1, p. 1012-1016, 2007.

ZELEKE, M. G., GREYLING, J.P.C.; SCHWALBACH, L.M.J.; MULLER, T.; J.A.

ERASMUS. Effect of progestagen and PMSG on oestrous synchronization and fertility in Dorper ewes during the transition period. **Small Ruminant Research**, v. 56, n. 1, p. 47-53, 2005.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)