

Victor Hugo Bernardoni

Avaliação da eficiência do norgestomet, valerato de estradiol e gonadotrofina coriônica humana na sincronização de estro em fêmeas eqüinas

**Dissertação
Mestrado**

**Botucatu
2007**

Victor Hugo Bernardoni

Avaliação da eficiência do norgestomet, valerato de estradiol e gonadotrofina coriônica humana na sincronização de estro em fêmeas eqüinas

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista – Unesp, campus Botucatu, para obtenção do Título de Mestre em Medicina Veterinária, Área de Reprodução Animal.

Orientador: Prof. Adjunto Cezinande de Meira

Botucatu – SP
2007

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO
DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: Selma Maria de Jesus

Bernardoni, Victor Hugo.

Avaliação da eficiência do Norgestomet, Valerato de estradiol e Gonadotrofina Coriônica Humana na sincronização de estro em fêmeas eqüinas / Victor Hugo Bernardoni. – Botucatu : [59p.], 2007.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2007.

Orientador: Cezinande de Meira

Assunto CAPES: 50504002

1. Eqüino - Reprodução

CDD 636.10824

Palavras-chave: Éguas; Estro; Norgestomet; Sincronização

DEDICO ESTE TRABALHO.....

A F.A.

**EQÜINOS, NOBRES CRIATURAS
QUE ME MOSTRARAM: O QUE SEI É
POUCO, MAS QUE AINDA TENHO
MUITO PRÁ DESCOBRIR, DEPENDE
DE MIM.....**

AGRADECIMENTOS

A DEUS, pela oportunidade da vida e por me fazer sentir cada dia mais capaz.

Aos meus Pais, José e Jacinta, e minha irmã Anna Karina pela motivação para ultrapassar os desafios da minha vida.

À minha esposa Jeane, o meu muito obrigado pelo amor, carinho, companheirismo e incentivo para me manter firme em minha caminhada e me mostrar que tudo vai ficar bem.

Ao meu orientador Prof. Cezinande de Meira, pelos ensinamentos transmitidos, amizade e pela grande compreensão como orientador.

Aos meus amigos João Neto e Edmilson Stella: sem vocês talvez não, com vocês eu pude. Muito obrigado meus irmãos.

À amiga Camila Dias Porto pela amizade sincera e exemplo de dedicação.

Aos amigos Adriano Motta, Leandro Rodello, Cássia Orlandi, Gustavo Araújo e Juliana Conceição, pela agradável convivência e troca de conhecimentos.

À Prof^ª. Titular Eunice Oba do RARV da Unesp-Botucatu, pelo empréstimo do aparelho de ultra-sonografia para realização do presente trabalho.

Aos irmãos Luiz Cláudio e Luiz Eduardo Heller pela amizade e companheirismo de todos estes anos e pela ajuda preciosa para realização deste projeto.

Aos docentes, funcionários e colegas pós-graduandos do Departamento de Reprodução Animal, o meu sincero obrigado.

Aos docentes e funcionários de outros departamentos da FMVZ Unesp-Botucatu que sempre me auxiliaram no que foi necessário.

À equipe do Haras Kawwa Master e aos proprietários Dr. Júlio Joaquim Pierin Siqueira e Daniel E.D. Siqueira, pela viabilização deste trabalho.

... A CERTEZA DE QUE ESTAMOS SEMPRE COMEÇANDO...

A CERTEZA DE QUE PRECISAMOS CONTINUAR...

A CERTEZA DE QUE SEREMOS INTERROMPIDOS ANTES DE TERMINAR...

PORTANTO DEVEMOS:

FAZER DA INTERRUPÇÃO UM NOVO CAMINHO...

DO MEDO, UMA ESCADA...

DA PROCURA, UM ENCONTRO...

(Fernando Pessoa)

RESUMO

BERNARDONI, V.H. **Avaliação da eficácia do norgestomet, valerato de estradiol e gonadotrofina coriônica humana na sincronização de estro em fêmeas eqüinas.** 2007. 62p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista – Unesp, Botucatu – SP, 2007.

Com o objetivo de avaliar diferentes protocolos de sincronização de estro em éguas cíclicas da raça Campolina, 46 animais foram divididos em 5 grupos (I, II, III, IV e V); grupo I (10 animais) recebeu uma injeção IM de 2ml de norgestomet (3 mg) + valerato de estradiol (5 mg) e um implante de silicone via SC de norgestomet (3mg) por 9 dias; grupo II (10 animais) recebeu injeção IM de 5 mg de valerato de estradiol + 3mg de norgestomet; grupo III (10 animais) recebeu implante SC de silicone de norgestomet (3mg) por 9 dias; grupo IV (8 animais) recebeu uma injeção IM única de 2ml de norgestomet (3 mg) + valerato de estradiol (5 mg) e um implante via subcutânea de norgestomet + uma injeção IM única de hCG (2.500 UI); grupo V (8 animais) recebeu injeção única de hCG (2.500 UI). Ao término do tratamento (D9), todas as éguas dos 5 grupos receberam uma injeção IM de 7,5 mg de dinoprost-trometamina. Todas as éguas foram submetidas à avaliação ultra-sonográfica de dois dias anteriores ao início do tratamento (D0), objetivando-se a análise retrospectiva dos dois maiores folículos (F1 e F2). Embora não tenha sido constatada diferença ($p>0,05$) entre os grupos experimentais quanto à frequência de sincronização, o grupo IV mostrou-se eficiente com 100% de sincronização em D15, D16, D17 e D18 após o início do tratamento (D0). Pela avaliação ultra-sonográfica constatou-se que não houve supressão da atividade folicular durante o tratamento nos diferentes grupos experimentais, embora, nos grupos onde se utilizou norgestomet e valerato de estradiol, folículos menores ou iguais a 22 mm estabilizaram seu desenvolvimento durante o tratamento.

Palavras-chave: éguas; estro; norgestomet; sincronização.

ABSTRACT

BERNARDONI, V.H. **Evaluation of the effectiveness of norgestomet, estradiol valerate and human chorionic gonadotropin in the synchronization of estrus in equine females.** 2007. 62p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista – Unesp, Botucatu – SP, 2007.

With the objective of evaluate protocols of estrus synchronization in Campolina cyclic mares, 46 animals were grouped into 5 groups (I, II, III, IV e V); group I (10 animals) was treated with 3 mg norgestomet + 5 mg estradiol valerate intramuscular injection and a subcutaneous implant of norgestomet (3mg) during 9 days; group II (10 animals) received 5 mg of estradiol valerate + 3 mg of norgestomet by intramuscular injection; group III (10 animals) consisted on mares was treated with 3 mg norgestomet + 5 mg estradiol valerate intramuscular injection and a subcutaneous implant of norgestomet during 9 days; group IV (8 animals) was received 3 mg norgestomet + 5 mg estradiol valerate intramuscular injection + intramuscular injection of hCG (2,500 UI) and a subcutaneous implant of norgestomet during 9 days; group V (8 animals) was treated with unique intramuscular injection of hCG (2,500 UI). At progestogen treatment removal (9th. day), all mares from the 5 groups received one intramuscular injection of dinoprost-trometamina (7.5 mg). All mares were daily evaluated by rectal palpation and ultrasound examination for since two days before beginning of the treatment retrospectively measurement of the largest and second largest follicles. The results had demonstrated that even so the frequency of synchronization of estrus has not presented differences between experimental groups ($p>0,05$), group IV revealed efficiency with 100% of synchronization in D15, D16, D17 and D18 after the beginning of the treatment (D0). The ultra-sonographic evaluation showed even so that there was not suppression of the follicular activity during treatment in the different experimental groups, that in the groups where norgestomet and valerato of estradiol was used follicles equal or minors 22 mm had stabilized its development during the treatment.

Key Words: mares; estrus; norgestomet; synchronization.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Representação esquemática do cronograma dos exames ultrasonográficos realizados a cada 24h dois dias antes do início do tratamento até a ovulação em todos os animais dos grupos I, II, III, IV e V.....27
- Figura 2:** Padrão do desenvolvimento folicular do F1 (folículo dominante) e F2 (segundo maior folículo) de D-2 a OV da égua 8 no grupo experimental GI.....58
- Figura 3:** Padrão do desenvolvimento folicular do F1 (folículo dominante) e F2 (segundo maior folículo) de D-2 a OV da égua 14 no grupo experimental GII.....58
- Figura 4:** Padrão do desenvolvimento folicular do F1 (folículo dominante) e F2 (segundo maior folículo) de D-2 a OV da égua 27 no grupo experimental GIII.....59
- Figura 5:** Padrão do desenvolvimento folicular do F1 (folículo dominante) e F2 (segundo maior folículo) de D-2 a OV da égua 35 no grupo experimental GIV.....59
- Figura 6:** Padrão do desenvolvimento folicular do F1 (folículo dominante) e F2 (segundo maior folículo) de D-2 a OV da égua 42 no grupo experimental GV.....59

- Figura 7:** Representação esquemática do protocolo I de sincronização de estro e ovulação em éguas do Grupo I (n=10), com emprego de implante de silicone contendo 3mg de norgestomet (NT) por 9 dias, e administração de 3 mg de norgestomet (NT) + 5 mg de valerato de estradiol (VE) no momento da colocação do implante; e 7,5 mg de dinoprost-trometamina ($\text{PGF}_{2\alpha}$) na retirada do implante (RI).....30
- Figura 8:** Representação esquemática do protocolo do II de sincronização de estro e ovulação em éguas do Grupo II (n=10), com administração de 3 mg de norgestomet (NT) + 5 mg de valerato de estradiol (VE) no dia zero (D0); e 7,5 mg de dinoprost-trometamina ($\text{PGF}_{2\alpha}$) na retirada do implante (RI).....30
- Figura 9:** Representação esquemática do protocolo III de sincronização de estro e ovulação em éguas do Grupo III (n=10), com emprego de implante de silicone contendo 3mg de norgestomet (NT) por 9 dias; e 7,5 mg de dinoprost-trometamina ($\text{PGF}_{2\alpha}$) na retirada do implante (RI).....31
- Figura 10:** Representação esquemática do protocolo IV de sincronização de estro e ovulação em éguas do Grupo IV (n=8), com emprego de implante de silicone contendo 3mg de norgestomet (NT) por 9 dias, e administração de 3 mg de norgestomet (NT) + 5 mg de valerato de estradiol (VE), e 2.500 UI de hCG no momento da colocação do implante; e 7,5 mg de dinoprost-trometamina ($\text{PGF}_{2\alpha}$) na retirada do implante (RI).....31
- Figura 11:** Representação esquemática do protocolo do V de sincronização de estro e ovulação em éguas do Grupo V (n=8), com administração de 2.500 UI de hCG no dia zero (D0); e 7,5 mg de dinoprost-trometamina ($\text{PGF}_{2\alpha}$) na retirada do implante (RI).....32

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1:** Distribuição das éguas nos cinco grupos experimentais e padrão de tamanho folicular ao início do tratamento (D0).....57
- Tabela 2:** Freqüência de manifestação de estro observada antes do início do tratamento (D-2 a D0) durante o tratamento (D1 a D9) e pós-tratamento (D10 a D22) em éguas da raça Campolina entre os diferentes grupos experimentais (G1 a GV).....34
- Tabela 3:** Freqüência de Ovulação do pré-tratamento (D-2) até o dia 22 (D22) em éguas da raça Campolina entre os diferentes grupos experimentais (G1 a GV).....34
- Tabela 4:** Média (\pm EPM) dos intervalos entre o último dia do tratamento (D9), estro e ovulação (OV) em éguas da raça Campolina entre os grupos experimentais (G1 a GV).....35
- Tabela 5:** Freqüência de sincronização de estro observados em éguas da raça Campolina no período de D10 a D22 entre os diferentes grupos experimentais (G1 a GV).....36
- Tabela 6:** Freqüência de animais com folículo ≥ 30 mm em éguas da raça Campolina no período de D10 a D22 entre os diferentes grupos experimentais (G1 a GV).....37
- Tabela 7:** Média (\pm EPM) dos parâmetros foliculares ovarianos pontuais estudados em éguas da raça Campolina durante o período de tratamento nos grupos experimentais (G1 a GV).....38

LISTA DE ABREVIATURAS

IA = Inseminação artificial
TE = Transferência de embriões
PG = Prostaglandina
PGF₂ α = Prostaglandina F₂ α
hCG = Gonadotrofina Coriônica humana
P4 = Progesterona
P = Progestágeno
E = Estradiol
VE = Valerato de estradiol
NT = Norgestomet
CL = Corpo lúteo
ng = Nanogramas
mL = Mililitros
mm = Milímetros
OV = Ovulação
GnRH = Hormônio liberador de gonadotrofina
MGA = Acetato de melengestrol
FSH = Hormônio folículo estimulante
LH = Hormônio luteinizante

SUMÁRIO

	Resumo.....	i
	Abstract.....	ii
	Lista de Figuras.....	iii
	Lista de Tabelas.....	v
	Lista de Abreviaturas.....	vi
1	Introdução.....	1
2	Objetivos.....	4
3	Revisão de Literatura.....	5
3.1	Ciclo Estral.....	5
3.2	Dinâmica Ovariana	9
3.3	Sincronização do Estro em Éguas.....	14
3.4	Hormônios Utilizados na Manipulação do Ciclo Estral.....	14
3.4.1	Prostaglandina.....	14
3.4.2	Progestágeno	16
3.4.3	Estrógeno	20
3.4.4	Protocolos Hormonais	22
3.4.5	Métodos alternativos.....	24
4	Material e Métodos	26
4.1	Animais Experimentais e Instalações	26
4.2	Delineamento Experimental.....	26
4.2.1	Controle Folicular e Avaliação Ultra-sonográfica	26
4.2.2	Deteção e cronologia das manifestações de Estro	27
4.3	Grupos experimentais e Tratamentos Hormonais	28
4.3.1	Grupo I (GI n=10).....	28
4.3.2	Grupo II (GII n= 10).....	28
4.3.3	Grupo III (GIII n=10).....	29
4.3.4	Grupo IV (GIV n=8).....	29
4.3.5	Grupo V (GV n=8).....	29
4.4	Análise Estatística	32
5	Resultados.....	33
5.1	Deteção e cronologia das manifestações de Estro e Frequência de Ovulação.....	33

5.2	Sincronização de Estro.....	35
5.3	Parâmetros Foliculares Pontuais	36
6	Discussão	39
7	Conclusão.....	43
8	Referências.....	44
9	Anexos.....	57

1 Introdução

O Brasil possui o terceiro maior rebanho eqüino do mundo, com um plantel de 5,9 milhões de animais e 3 milhões de cabeças de asininos e muares, segundo a *Food and Agriculture Organization* (FAO) (2005) e o Instituto Brasileiro de Geografia (IBGE) (2002), ficando atrás apenas da China com 8,2 milhões e do México com 6,2 milhões.

A eqüinocultura forma hoje uma importante interação dos setores ligados ao lazer, cultura e turismo, sendo uma das cadeias produtivas que oferece mais oportunidades de trabalho, conquistando posição de destaque na economia nacional. A capacidade dos criadores em produzir animais de qualidade, com visão mercadológica, incrementa a perspectiva de crescimento desse segmento da pecuária.

A espécie eqüina é um modelo para a utilização dos crescentes avanços das biotécnicas, visto que a aplicação das mesmas incrementa os índices reprodutivos e, quando utilizada em animais de alto valor zootécnico, contribui para o crescimento econômico da eqüinocultura.

Entretanto, são técnicas que apresentam uma variabilidade de resultados dificultando a sua utilização em nível comercial.

A fisiologia e atividade ovariana nas diferentes espécies animais têm sido amplamente estudadas. A caracterização do desenvolvimento folicular e dos mecanismos que a regulam é essencial para otimização dos processos artificiais de manipulação exógena das ondas foliculares, visando melhorar as taxas de fertilidade e natalidade que são os fatores principais na composição dos custos na criação comercial de animais.

A sincronização do estro é um importante instrumento para o manejo reprodutivo em animais domésticos, conduz a: redução da mão de obra para detectar o estro, concentração das partições, lotes homogêneos para cria, recria, comercialização e/ou treinamento, diminuição do número de coberturas e na implantação de programas de inseminação artificial (IA) com sêmen refrigerado ou congelado, racionalizando o tempo de mão-de-obra especializada (Oyediji et al., 1990).

À medida que os conhecimentos sobre a fisio-farmacologia da reprodução dos eqüinos avança, aumentam as possibilidades de se desenvolverem tratamentos hormonais para obtenção de melhores resultados nos programas reprodutivos aplicados a esta espécie, exigindo a aplicação de biotecnologias de reprodução cada vez mais eficientes e a custo reduzido, especialmente durante a estação reprodutiva.

A sincronização de estros em fêmeas eqüinas tem sido pouco difundida enquanto biotécnica, em face das características fisiológicas da espécie (Lindeberg et al., 1992) e mesmo pelo número limitado de estudos aprofundados na área que forneçam informações técnicas específicas para tal. A relação do momento de ovulação com o final do estro dificulta sua determinação exata, prejudicando muitas vezes a utilização de programas que envolvam sincronização de cio.

Ao contrário de outras espécies domésticas, as éguas possuem uma fase folicular longa, por esse motivo há uma dificuldade no controle dessa atividade ovariana, tornando mais complexa a sincronização das ovulações. A variação na duração do período do estro e a dificuldade de prever o momento exato da ovulação levaram ao desenvolvimento de métodos para o controle do ciclo estral e da ovulação, especialmente para melhorar e aumentar os índices reprodutivos de fêmeas eqüinas durante a estação reprodutiva (Veronesi et al., 2003).

A sincronização de estro e ovulação na espécie eqüina é aplicada visando: a) produzir um grupo de animais em um determinado período, maximizando o tempo de trabalho laboratorial e gerencial; b) nascimentos pré-determinados, devido ao calendário esportivo e de exposições; c) programação de coberturas em horas pré-determinadas, otimizando o uso da IA; d) sincronização de éguas doadoras e receptoras em um programa de transferência de embriões (TE).

Na espécie bovina, pesquisadores têm verificado os efeitos de diferentes protocolos hormonais para a sincronização do estro, que envolvem em geral a administração de progestágenos e estrógenos, seguida de agentes luteolíticos para a obtenção da sincronização de estros e ovulações, mas apresentam variações no seu resultado (Voss et al., 1979).

Palmer & Jousset (1975) descreveram inicialmente um método de sincronização baseado na administração de $PGF_{2\alpha}$, seguida de gonadotrofina coriônica humana (hCG) na espécie eqüina.

Nos programas de reprodução eqüina assistida os protocolos envolvidos na sincronização de estro normalmente utilizam duas aplicações de $PGF_{2\alpha}$ em um intervalo de 14 dias, progesterona (P4) por 18 dias ou progestágenos (P) com ou sem adição de estradiol (E) por 7 a 10 dias, protocolos estes combinados a uma aplicação de $PGF_{2\alpha}$ no último dia do tratamento (Burns & Douglas, 1981; Squires et al., 1992a).

A Gonadotrofina Coriônica Humana é utilizada em todos os protocolos de sincronização de cio na espécie equina para sincronizar a ovulação (Bristol, 1993). Entretanto, nenhum dos protocolos normalmente utilizados resulta em altas taxas de sincronia de ovulação em éguas cíclicas.

Em eqüinos, o altrenogest é o progestágeno oral de maior utilização no controle de ciclos estrais (Kilicarslan et al., 1996), assim como outros progestágenos são usados na sincronização de estros em fêmeas bovinas (Madureira et al., 1997). Na vaca, a inserção de um implante auricular de norgestomet associado a uma injeção intramuscular de valerato de estradiol (VE) e norgestomet (NT), administrada no momento da inserção, permite a manipulação do ciclo estral, visto que o implante atua como um corpo lúteo (CL) artificial, e o VE para sincronizar a onda folicular (Loy & Swan, 1966). Para avaliar a efetividade de protocolos hormonais aplicáveis à espécie eqüina, especificamente na raça Crioula, Almeida (1999) avaliou 3 protocolos para sincronização de estro utilizando-se o sistema norgestomet-estradiol, acetato de melengestrol e altrenogest, obtendo como grau de sincronização de estro, respectivamente, 85,71%; 71,42% e 66,70% no dia 5 após a administração do luteolítico.

A avaliação da eficiência de diferentes métodos de sincronização do ciclo estral foi o motivo da investigação da aplicabilidade e da eficiência de diferentes protocolos hormonais pré-definidos em éguas cíclicas, utilizando-se a avaliação ultra-sonográfica.

2 Objetivos

Utilização de protocolos hormonais com norgestomet, valerato de estradiol e gonadotrofina coriônica humana na sincronização do estro em éguas foi o intuito desse experimento. Desta forma, a comparação entre os diferentes protocolos pôde ser realizada, esperando-se a sincronização de estro, controle do desenvolvimento folicular e determinação do melhor momento com folículos responsivos aos indutores de ovulação após os tratamentos. Pela aplicação de hormônios exógenos hipotetiza-se que os protocolos hormonais sejam eficazes na inibição da liberação de FSH e LH, suprimindo o desenvolvimento folicular e ovulação durante o período do tratamento.

3 Revisão de Literatura

3.1 Ciclo Estral

A égua pertence ao grupo das fêmeas domésticas que são classificadas como monovulatórias poliéstricas estacionais por possuírem um período de atividade reprodutiva bem definida durante o ano, caracterizada por repetidos ciclos estrais durante os meses de primavera-verão e um período de inatividade ovariana durante o inverno, podendo o período de atividade reprodutiva ser alterado pela influência das condições corporais, peso, níveis de energia, ferormônio e a estação do ano Mckinnon & Voss, (1993), e latitude, temperatura, períodos luteais alterados como resultado de desordens uterinas, causando regressão prematura do corpo lúteo (CL) em função da secreção de $\text{PGF}_{2\alpha}$, ou associadas com persistência da estrutura luteal (Nagy et al., 2000).

O ciclo estral é definido como o período de uma ovulação até a outra subsequente, o qual é acompanhado pela manifestação de sinais de estro e/ou concentrações plasmáticas de progesterona abaixo de 1ng/mL (Hughes et al, 1980).

A fase folicular em éguas é caracterizada pela presença de um folículo dominante ≥ 30 mm de diâmetro (Ginther, 1992), onde são produzidos elevadas concentrações de estrógenos pelas células da granulosa, responsável pelas manifestações típicas de cio e aceitabilidade sexual. O estro é acompanhado pelo crescimento, pela seleção, pela maturação e finalmente pela ovulação, podendo variar de 3 a 8 dias na égua (Blanchard et al., 1998).

A elevação dos níveis de estrógeno durante a fase estral também é responsável pela instalação do edema uterino, o qual tende a diminuir dois dias antes da ovulação (Buratini, 1997).

A maturação final do folículo é realizada por uma diminuição na dependência gonadotrófica do folículo maduro ao FSH e aumento ao LH. Há uma diminuição marcada no número dos receptores de FSH nas células da granulosa junto com a aquisição dos receptores do LH (Samper, 2000). A ovulação ocorre aproximadamente 48 horas antes do fim do estro nas éguas (Ginther, 1992; Mckinnon & Voss, 1993).

Neely et al. (1989) postularam que a fase luteal é caracterizada pelo término das manifestações dos sinais de cio em que a égua não mais aceita a presença do garanhão, que ocorre entre as 24 e 48 horas após a ovulação, resultando na formação do CL e preparação final do trato genital para aceitar e nutrir o concepto. Sirois et al. (1989) consideraram a ovulação como o início da fase luteal. Varia em aproximadamente 13 a 16 dias, dependendo do comprimento do estro que é mais variável (Blanchard et al., 1998). Na fase luteal, o corpo lúteo produz progesterona em quantidades crescentes do segundo ao décimo dia do ciclo estral. Esta secreção se mantém estável até o décimo segundo dia (>1 ng/ml), quando ocorre uma queda acentuada nas concentrações plasmáticas de progesterona, em decorrência da luteólise que ocorre entre o décimo quarto e o décimo sexto dia do ciclo estral, momento em que a concentração plasmática de progesterona apresenta-se <1ng/ml (Ginther, 1992; Samper, 2000).

A vida útil do CL depende da liberação endógena de $PGF_{2\alpha}$ proveniente do endométrio uterino não gestante entre 13 a 16 dias pós-ovulação (Neely et al., 1979). O final da fase de diestro é caracterizado pela regressão do corpo lúteo (luteólise) transformando-se em *corpus albicans* e subsequente queda nas concentrações circulantes de P4 e o início de uma nova fase folicular (Daels & Hughes, 1993).

Os intervalos entre os ciclos estrais e a duração do estro sofrem variações de acordo com a época do ano em que são observados. Normalmente, a duração do estro ovulatório é significativamente menor nos meses de verão em relação aos de outono, inverno e início da primavera. O período do ciclo estral, estro e diestro, foram relatados por Ginther (1992) como sendo em média de 21,7; 6,5 e 14,9 dias, respectivamente.

O manejo durante o período pós-parto em éguas também é um importante fator a ser considerado. Devido ao longo período de gestação da égua, o tempo entre o parto e a nova concepção deve ser curto para centralizar a data de nascimento dos produtos, mantendo um intervalo ótimo de um ano entre partos conforme sugerido por (Nagy et al., 1998). Esta mesma equipe também observou que éguas criadas a campo têm seu comportamento sexual reprodutivo e a atividade ovariana após o parto, fortemente influenciados pela época do parto.

Caldas et al. (1994) demonstraram em uma população da raça Brasileira de Hipismo, na zona tropical do Brasil, que as éguas apresentam diferenças no aparecimento e duração do primeiro estro pós-parto de acordo com o mês em que houve o parto.

O fator determinante deste comportamento é a duração do período de luz/dia, mas outros fatores como nutrição, temperatura e estado sanitário podem alterar os padrões de ciclo estral (Adams & Bosu, 1988; Andrade, 1986; Osborne, 1966).

Alguns autores consideram que existe uma variabilidade no ciclo estral na espécie eqüina. Esta variação pode ser de origem racial, individual e principalmente da natureza dos dados computados, como é o caso das aquisições dos dados de diferentes técnicos, em diferentes ambientes e de diferentes métodos de avaliação do estro além da dificuldade de predizer as fases exatas do estro e do diestro (Ginther, 1992; Mckinnon & Voss, 1993; Neely et al., 1979; Hafez & Hafez, 2004).

A influência da temperatura ambiental na primeira ovulação da temporada é relatada no estudo efetuado por Guerin & Wang (1994) durante 10 temporadas anuais em um haras localizado à latitude 35° Sul, na Austrália. Carnevale (1997) afirmou que há menor atividade folicular em éguas idosas em relação às éguas jovens na fase transicional, e que a alimentação com pastagens verdes antecipa a primeira ovulação da temporada na primavera, quando comparadas com éguas alimentadas somente com feno.

Segundo Ginther (1979), o ciclo estral normal na égua é de um ou dois dias maior que na vaca (22 ± 3 dias), sendo que o período de estro é o fator mais variável e responsável pelas grandes variações na duração do ciclo estral, uma vez que o diestro é mais ou menos constante entre os animais desta espécie.

O período transicional de primavera, no Hemisfério Norte, inicia no final do inverno e culmina com a primeira ovulação do ano que ocorre no final de março e início de abril (Sharp, 1988). No Hemisfério Sul, foi observada uma fase transicional na atividade ovariana, durante a primavera, quando estros anovulatórios comumente ocorrem (Osborne, 1966). Um estudo encontrou um nítido aumento de peso nos ovários de julho a agosto, enquanto que a taxa ovulatória ainda estava em declínio, para somente sofrer um acréscimo no mês

de setembro; este período foi caracterizado como o transicional de primavera, onde ocorreu um aumento do número e diâmetro de folículos, refletindo no aumento de peso dos ovários, sem a ocorrência de ovulação (Tarouco et al., 1995).

Oxender et al. (1975), estudando diversas raças, encontraram uma duração de estro de $5,2 \pm 0,5$ dias, enquanto Vivo et al. (1985) relataram $5,67 \pm 1,37$ dias para éguas da raça espanhola e $5,85 \pm 1,82$ dias para éguas Árabes, enquanto que Fathalla et al. (1988) relataram uma duração média de estro de 7,07 dias, sendo que no inverno foi de 7,7; na primavera 7,8; no verão 6,5 e no outono 6,3 dias.

A estação anovulatória geralmente ocorre durante o inverno e início da primavera, com uma duração variável de 40 dias a 8 meses (Hughes et al., 1972; Baker & Kenney, 1980). Este período compreende os meses do ano nos quais menos de 25% das éguas ovulam e menos de 10% permitem a monta do garanhão, sendo que 19,9% ficam indiferentes a sua presença (Sharp, 1980). As éguas permanecem em anestro com pouca ou nenhuma atividade folicular detectável pela palpação retal, ovários pequenos, conseqüentes da queda estacional da estimulação gonadotrófica, sugerindo produção estrogênica mínima. A duração do anestro varia entre éguas e também na mesma égua durante sua vida (Daels, 2006).

Estudos indicaram que o número médio de folículos menores que 20 mm começa a diminuir no início da primavera, enquanto ocorre um rápido aumento no número de folículos maiores. Durante a fase final do período de transição de primavera, os folículos alcançam diâmetros similares aos de folículos pré-ovulatórios, porém, entram em atresia (Ginther, 1992).

Durante a fase de inatividade ovariana, a freqüência dos pulsos de hormônio luteinizante (LH) é de aproximadamente um por dia, aumentando para cerca de seis pulsos por dia durante o período transicional (Fitzgerald et al., 1987; Safir et al., 1987), e para até um pulso por hora, quando o folículo pré-ovulatório está presente (Alexander et al., 1990).

A quantidade de LH na pituitária durante o inverno é de apenas 15% em relação à quantidade encontrada no verão (Hart et al., 1984), por isso os trabalhos postulam que o LH responde de forma limitada à administração de

hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) exógeno durante a fase transicional (Nequin et al., 1989; Ginther, 1992). Já a liberação de FSH é mais complexa. Durante o inverno, a secreção de FSH é baixa provavelmente em resposta aos baixos níveis de GnRH, porém, com uma injeção de GnRH é liberado muito mais FSH do que LH, porque o conteúdo de FSH na pituitária e o número de receptores de GnRH permanecem altos até durante o inverno (Ginther, 1992).

Watson & Al-zi'abi (2002) demonstraram que existe uma diferença na morfologia e na vascularização entre os grandes folículos coletados durante a fase de transição de primavera, e os folículos pré-ovulatórios da estação reprodutiva. Há um aumento da vascularização nos folículos pré-ovulatórios comparados aos folículos transicionais, como resultado do aumento do número e do tamanho dos vasos, e/ou aumento da tortuosidade dos vasos. Além disso, os folículos transicionais apresentam pequena quantidade do fator de crescimento vascular endotelial (VEGF), que é importante para promover a angiogênese, enquanto o VEGF aparece abundantemente nos folículos pré-ovulatórios.

3.2 Dinâmica Ovariana

Nas fêmeas eqüinas geralmente podem ocorrer uma ou duas ondas foliculares dentro de um ciclo estral normal (Ginther, 1992, 1995; Ginther et al., 2004). Os ciclos estrais que apresentam duas ondas foliculares representam menos que 30% dos ciclos (Sirois et al., 1989; Buratini, 1997).

Caracterizam-se as ondas foliculares como ondas maiores e ondas menores. As ondas maiores são caracterizadas pelo desenvolvimento inicial de um grupo de folículos que cresce rapidamente (fase paralela) até que apenas um folículo, torna-se dominante sobre os outros. Estas são divididas em ondas primárias e secundárias, de acordo com o momento de sua emergência. Quando a emergência ocorre durante o cio ou no início do diestro, ela é chamada de onda folicular secundária que dá origem a um folículo dominante no diestro, que pode regredir ou, mais raramente, ovular. A emergência da onda folicular na metade do diestro é chamada de onda folicular primária, e produz um folículo dominante, que irá ovular durante o estro. As ondas que não apresentam folículos dominantes são classificadas como ondas menores Ginther (1993, 1995, 2000a).

De acordo com Buratini (1997), a duração média do intervalo interovulatório para ciclos de uma ou duas ondas foliculares maiores são de 19,4 e 23,3 dias, respectivamente em éguas da raça Mangalarga.

A concentração plasmática de FSH eleva-se e estimula a emergência da onda folicular, atinge um pico em média três dias mais tarde quando o folículo maior atinge cerca de 13 mm e então passa a declinar durante vários dias até atingir os níveis basais. Enquanto isso, os folículos crescem em paralelo até que o maior folículo atinja 22,5 mm. A partir de então, o maior folículo torna-se dominante e continua a crescer enquanto os demais folículos tornam-se subordinados, podendo apresentar redução ou interrupção do crescimento, caracterizando o fenômeno de desvio folicular (Ginther et al., 2004).

Stabenfeldt et al. (1972) demonstraram uma maior tendência de duas ondas foliculares para as raças Puro Sangue Inglês (PSI), Apaloosa e Quarto de Milha, quando comparadas com a raça Árabe (Ginther, 1992; Dimmick et al., 1993) na primeira metade da estação reprodutiva.

Para definir um modelo que descrevesse a emergência e desvio folicular, Gastal et al. (1997) utilizaram um modelo de crescimento de dois folículos e observaram que o futuro folículo dominante surgiu cerca de um dia antes do maior folículo subordinado, mantendo diâmetro superior até a divergência folicular, porém com a taxa de crescimento similar.

O desvio ou a divergência é caracterizado pela diferença em diâmetro entre o maior (F1) e o segundo maior folículo (F2), sendo observado o contínuo crescimento do F1 (folículo dominante) e a estabilização ou redução na taxa de crescimento do F2 e demais folículos subordinados (Ginther et al., 2000).

Em fêmeas bovinas existe uma associação entre as concentrações de FSH e os folículos no mecanismo de seleção folicular. O futuro folículo dominante e os subordinados contribuem para redução das concentrações de FSH da emergência até o desvio folicular, apesar de continuarem sendo estimulados por estas concentrações decrescentes. No início da divergência o futuro folículo dominante é o responsável pelo efeito depressor sobre as concentrações de FSH (produz grandes quantidades de estradiol e inibina), entretanto continua seu crescimento sob estímulo de reduzidas concentrações de FSH, enquanto os folículos subordinados não mais respondem ao baixo nível de FSH e regridem

(Ginther, 2000a). Enquanto, o aumento nas concentrações de FSH coincide com a emergência de ondas maiores e menores, a redução dos níveis de FSH coincide com o desvio nas taxas de crescimento entre o futuro folículo dominante e os folículos subordinados da onda maior. O desvio também é precedido pelo aumento nas concentrações de LH (Bergfelt, 1998; Gastal et al., 2000).

Bergfelt et al. (2001) postularam que a redução das concentrações circulantes de LH preveniu o aumento nas concentrações circulantes de estradiol e inibina antes do esperado dia do desvio folicular.

Após o desvio folicular, o crescimento do folículo dominante passa a depender aparentemente das elevadas concentrações de LH (Ginther, 2000a). A redução induzida dessas concentrações até o esperado momento do desvio folicular em éguas não impediu a ocorrência do mesmo, mas comprometeu o crescimento do maior folículo após o desvio (Gastal et al., 1999).

Por causa do diâmetro avantajado do maior folículo, Bergfelt (1998) relatou que a seleção ocorre ou se inicia antes da detecção ultra-sonográfica da emergência dos folículos, assim, o momento exato da seleção não pode ser definido, visto que outros fatores podem determinar qual dos folículos se tornará sensível a uma onda de FSH. Também é salientado que o folículo não dominante conserva sua capacidade para iniciar a dominância até após a divergência, pois quando se realiza a ablação do folículo dominante, o segundo maior folículo inicia sua dominância (Bergfelt, 1998). Além disso, iniciando-se o tratamento com FSH precocemente, ocorre o desenvolvimento da dominância por vários folículos, demonstrando a capacidade de pré-divergência dos folículos (Squires et al., 1986).

Outro fator fundamental na seleção folicular é a alteração da dependência gonadotrópica do folículo dominante. Bodensteiner et al. (1996) e Samper (2000) relataram a presença de receptores de LH nas células da granulosa de folículos dominantes, antes da divergência folicular; por isso, sugerem existir uma participação do LH no mecanismo de seleção. No momento da divergência folicular, os níveis de FSH apresentam-se baixos e os de LH altos (Donadeu & Ginther, 2003; Ginther et al., 2004).

De acordo com Webb et al. (1999), após ocorrer a divergência e a seleção do folículo dominante, os folículos subordinados sofrem atresia. A atresia

é um processo irreversível, que ocorre por morte celular através de apoptose, e que ocorre em aproximadamente 99% de todos os folículos em espécies monovulatórias.

Pierson & Ginther (1987) observaram que no momento do declínio dos folículos subordinados, o folículo dominante começa a crescer rapidamente, a uma taxa de três a cinco (mm) por dia. O controle ultra-sonográfico do folículo dominante pré-ovulatório demonstrou um aumento no volume do antro e um espessamento da parede folicular (Townson & Ginther, 1989). Em eqüinos, o folículo pré-ovulatório alcança um diâmetro superior a 35 mm, e a parede pode apresentar 6 mm de espessura. Além disso, há um aumento nas concentrações intrafoliculares de estrógenos, andrógenos e de inibina (Pierson & Ginther, 1987). Há também um expressivo aumento de receptores de LH nas células da granulosa, tornando o folículo responsivo ao LH pituitário (Webb et al., 1999).

Em muitas espécies, a ovulação ocorre após o pico de LH. Em éguas, a ovulação ocorre após uma constante e lenta elevação na concentração de LH (Ginther, 1987).

A maioria das éguas ovulam com folículo medindo 40 a 45 mm e a parede folicular pode apresentar 6 mm, no período correspondente a 24 a 48 horas do final do estro, o qual dura em média 6,5 dias. Entretanto, apesar de estes parâmetros estarem bem estabelecidos para a maioria das éguas, tanto o diâmetro folicular pré-ovulatório, bem como a duração do ciclo estral são amplamente variáveis. Algumas éguas podem ovular com um folículo de 35 mm de diâmetro e com a consistência firme, considerando que outras não ovularão até que o folículo atinja 50 mm (Samper, 1997).

Ginther et al. (2004) demonstraram pela ultra-sonografia convencional (modo-B) e eco-doppler colorido que: mudanças ultra-sonográficas normalmente visualizadas na parede do folículo pré-ovulatório não estão associadas a alterações nas concentrações de E, aumento anecóico da banda folicular e uma diminuição na circulação arterial na parede folicular durante um período de uma a quatro horas anteriores à ovulação. Os mesmos autores confirmaram a hipótese de que a concentração máxima de LH que induz a ovulação possui um efeito negativo nas concentrações sistêmicas de E, demonstrada pelo imediato decréscimo nas concentrações de E na aplicação de hCG.

O momento de induzir a ovulação com a utilização de fármacos (agentes indutores), ocorre quando um folículo de 33 mm é detectado em éguas pôneis e um de 35 mm em éguas, momento em que o folículo encontra-se responsivo ao LH (Palmer, 1993). Deste modo, após a indução da ovulação, a maioria das éguas irá ovular no período correspondente a 36 e 48 horas da indução, demonstrando uma variação individual acentuada, a qual pode estar relacionada ao diâmetro ovulatório de cada animal (Samper, 1997).

A hCG é uma proteína que encurta o período do ciclo estral e aumenta o número das ovulações que ocorrem dentro de 48 h depois do tratamento (Voss 1993), uma vez que é uma proteína humana, anticorpos são formados na égua e assim a resposta ao hCG diminui depois de usos subseqüentes (Sullivan et al., 1973; Wilson et al., 1990; Voss, 1993).

McCue et al. (2004) também observaram que repetidas doses de hCG durante a estação de monta estão relacionadas com a menor eficácia na indução da ovulação, sugerindo a utilização deste agente no máximo duas vezes por estação de monta. Os mesmos autores também observaram uma redução no percentual de ovulação entre 24 e 48 horas após a indução nas éguas com idade avançada (acima de 15 anos).

A ultra-sonografia é uma ferramenta bastante eficiente para observação do melhor momento de indução à ovulação, não somente pela acurácia proporcionada pela mensuração do diâmetro folicular Samper (1997), como também pela classificação do escore do edema endometrial (variando de 0 a 5), sendo 0 a ausência de edema e 5 o edema máximo (Ginther, 1995). De acordo com a indução da ovulação com hCG, quando o escore de edema encontra-se entre 4 e 5, associado a um folículo entre 35 a 40 mm de diâmetro, apresenta 95% de eficácia nos dois primeiros ciclos (Samper, 1997).

O hormônio GnRH e seus análogos estão se tornando objeto freqüente de estudo para que sua habilidade potencial aumente o crescimento folicular e induza a ovulação sem os problemas associados ao hCG. A administração freqüente do próprio GnRH, pode induzir o desenvolvimento folicular em éguas em anestro (Irvine, 1993).

A habilidade do GnRH ou de seus análogos em estimular a liberação de LH levou ao uso do mesmo com intuito de indução da ovulação devido ao seu

potencial menos antigênico. No entanto a forma injetável do mesmo necessita de uma administração mais freqüente, a cada 12 horas, para que seja efetiva, embora não prática (Harrison et al, 1991).

3.3 Sincronização do Estro em Éguas

Nos ruminantes, a sincronização de estro é praticada extensamente, o controle do crescimento do folículo não é tão crítico quanto nas éguas. Mesmo em tratamentos básicos de progestágenos ou de prostaglandina, onde não há essencialmente nenhum controle sobre o crescimento folicular. Na fêmea bovina os folículos são recrutados rapidamente após tratamento ocorrendo a emergência da onda folicular sincronizada. Em contraste com a fêmea bovina, a maioria das éguas apresenta somente uma onda folicular durante um ciclo estral e o tempo de recrutamento, desenvolvimento e seleção folicular é prolongado, fatores esses que podem interferir nos processos de sincronização (Douglas, 1984).

A manipulação hormonal do ciclo estral é aplicada nos processos de biotecnologia de reprodução eqüina e visa diminuir o tempo dos períodos transicionais (primeira ovulação), sincronizar o estro, induzir a ovulação e encurtar o período do ciclo estral. Regimes envolvendo a utilização de progestágenos, estrógenos e $\text{PGF}_{2\alpha}$ com ou sem o uso de hCG ou GnRH, têm sido desenvolvidos para o controle do ciclo estral em eqüinos (Meyers, 1997), assim como o uso de terapias hormonais nas fases de transição e anestro sazonal objetivando a estimulação da atividade folicular (Foglia, 1999; Burns et al., 2000).

3.4 Hormônios Utilizados na Manipulação do Ciclo Estral

3.4.1 *Prostaglandina*

No início da década de 70, a partir dos experimentos de (Allen & Rowson, 1973; Allen & Rossdale, 1973; Allen et al., 1974; Silva et al., 1980; Martins et al., 1981), efetivou-se em éguas a utilização exógena de prostaglandina (PG) e seus análogos como um potente agente luteolítico, por sua simplicidade de administração e baixo custo, induzindo o estro em éguas com diestro prolongado e permitindo o retorno à atividade cíclica.

A utilização da $\text{PGF}_{2\alpha}$ é uma prática comum na sincronização do estro em éguas, porém a resposta a este agente luteolítico depende da presença de CL funcional (Loy et al., 1979).

O intervalo entre a aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$ ou seus análogos e a manifestação do estro ocorre geralmente após três a seis dias e a ovulação entre nove a dez dias (Imel et al., 1981; Squires et al., 1985). A sincronização de estro no quarto e sexto dia após a aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$ ou fluprostenol, obteve índices de 80 e 92%, respectivamente (Hyland & Bristol, 1979).

Oxender et al. (1975) testaram diferentes doses de prostaglandina em diversas fases do ciclo estral, observando que doses entre 5 e 10 mg foram efetivamente luteolíticas para todas as éguas tratadas a partir do quarto dia após ovulação. Sendo assim, Taylor et al. (1982) descreveram que a maioria dos métodos utilizados no controle do ciclo estral e ovulação em diferentes espécies, visam primariamente modificar a fase luteal, inferindo que a associação a outros hormônios poderia melhorar os índices de sincronização do ciclo estral. O uso de dinoprost trometamina foi testado por Gusmão et al. (1987) em éguas Puro Sangue Inglês (PSI) que manifestaram sinais de estro 3 a 4 dias após a administração hormonal.

O efeito da resposta luteolítica pela frequência de injeções de PG em éguas regularmente cíclicas foi examinado por Squires et al., (1992b) comprovando que em termos de regressão luteal e manifestação do estro, não houve vantagem na aplicação de duas injeções de PG (cada 24 horas) em comparação a uma aplicação.

Bergfelt et al. (2006) delinearam um experimento aplicando $\text{PGF}_{2\alpha}$ (10mg) no 3º dia (D3) em comparação ao tratamento com aplicação no 10º dia (D10) após a ovulação, observando uma resposta similar nos dois grupos tratados em relação à diminuição abrupta nos níveis plasmáticos de P_4 , diminuição do diâmetro do CL e aumento na ecogenicidade do tecido luteal. Os autores concluíram que o tratamento com prostaglandina após a ovulação (D3) resulta em estrutural e funcional regressão do CL e diminui o intervalo interovulatório.

3.4.2 *Progestágeno*

Na medicina veterinária a progesterona é usada em vacas e éguas de forma terapêutica e zootécnica (sincronização de estro e preparação de doadoras e receptoras) em programas de TE. Pode ser utilizada em administrações intravenosas ou intramusculares, simultaneamente ao hCG ou com uso de dispositivos intravaginais ou subcutâneos. A progesterona é um hormônio que possui diferentes ações dependendo do período do ciclo estral. Regula a maturação de oócitos, ovulação, relaxamento miometrial, crescimento da glândula mamária e enzimas endometriais. A concentração fisiológica plasmática em vacas e éguas durante o ciclo estral pode variar de 0,2 a 0,8 ng/ml e 0,3 a 22 ng/ml, respectivamente e durante a gestação variam de 8 a 12 ng/ml em vacas e 7 a 25 ng/ml em éguas (EMEA, 1999).

Estudos farmacológicos para a produção de produtos comerciais mostraram que após tratamentos intravenosos, intramusculares e/ou intravaginais em fêmeas bovinas, as concentrações plasmáticas de progesterona se elevaram apenas nas primeiras horas pós-tratamento, mas não alcançaram valores maiores que os observados em condições fisiológicas (EMEA, 1999).

A progesterona e análogos sintéticos podem ser usados na sincronização e indução do estro na fêmea eqüina por várias vias de aplicação: oral (Lofstedt & Patel, 1989), intramuscular (Loy et al., 1981), subcutânea (Ball et al., 1992), esponjas e dispositivos intravaginais (Loy & Swann, 1966; Arberter et al., 1994). A estratégia do uso de progestágenos consiste em aumentar artificialmente a fase luteal, por um período superior à duração do CL normal. O bloqueio hipotalâmico-hipofisário exercido pelo progestágeno exógeno inibe a liberação do LH durante o tratamento e impede a manifestação do comportamento estral (Wilde et al., 2002). Entretanto, o tratamento somente com progestágenos não inibe a liberação de FSH (Evans & Irvine, 1975) pela adenohipófise, razão pela qual ocorre o desenvolvimento folicular. As éguas podem ovular durante o período de utilização de progestágenos, por esta razão, é recomendada a administração de prostaglandina no final do tratamento (Daels, 2004).

Segundo, Squires (1992a), o uso de progestágenos para o controle do estro em éguas cíclicas tem sido empregado e resultados similares aos obtidos

com o uso de $PGF_{2\alpha}$ indicando que, o intervalo até o estro é sincrônico após o término da exposição aos progestágenos, mas o intervalo à ovulação pode ser variável (Lofstedt & Patel, 1989).

Progestágenos em apresentação oral ou injetável são utilizados com relativo sucesso no aumento temporal da fase luteal e supressão do estro na fêmea eqüina em programas de reprodução e em animais de desempenho atlético (Roberts & Beaver, 1987).

A forma mais comum de tratamento para supressão do cio em éguas é a administração de altrenogest, um progestágeno (derivado de um potente esteróide anabólico “trembolona”), com estrutura similar à testosterona, muito utilizado em animais atletas, pois possui a capacidade de suprir o estro em fêmeas eqüinas a partir de dois a três dias do início do tratamento (Pryor & Tibary, 2005).

Webel & Squires (1982) reportaram que um progestágeno sintético (allyl trembolone), bloqueou eficientemente a manifestação de estro e ovulação em éguas cíclicas que receberam doses orais de 0,176 a 0,440 mg/Kg de peso vivo.

Em relação ao comportamento de estro, Van Niekerk et al. (1975) demonstraram que o estro normal e fértil em éguas ocorreu em três a quatro dias após o término do tratamento com injeções de 100 a 125 mg de progesterona oleosa que foram aplicadas num período de sete a nove dias. Resultados similares obtidos por Loy & Swan (1966), reportaram que o estro e a ovulação podem ser suprimidos em éguas cíclicas por injeções diárias intramusculares de 100 a 400 mg de progesterona oleosa.

Palmer (1979) utilizou um programa de luz seguido por um regime de 10 dias com progestágeno. A primeira ovulação da estação foi antecipada, porém o progestágeno não pareceu adicionar nenhum efeito ao tratamento. Turner et al. (1981) testaram a capacidade do altrenogest em estimular o início da estação ovulatória. O tratamento realizado durante 15 dias não suprimiu e não estimulou o desenvolvimento de folículos pequenos, mas suprimiu o desenvolvimento de folículos maiores que 20 mm de diâmetro. Portanto, o progestágeno não acelera o início da estação ovulatória, mas é um instrumento útil para ser utilizado no período transicional, quando se deseja suprimir o estro e sincronizar a primeira

ovulação do ano. Contudo, outros trabalhos enfatizam que o altrenogest acelera a primeira ovulação do ano (Allen et al., 1980; Webel & Squires, 1982; Lofstedt, 1988).

James et al. (1997) demonstraram que a utilização por dois dias de altrenogest (0,004 mg/Kg ou 0,088 mg/Kg), administrado no início do estro foi eficiente no aumento do número de dias para a ovulação em éguas com folículos ≥ 35 mm. Bruemmer et al. (2000) relataram que éguas tratadas com 0,088 mg/Kg de altrenogest por dois dias, houve um aumento do intervalo para a ovulação em comparação ao grupo controle. Estes estudos mostraram que a utilização em curto período de altrenogest resultou em um atraso na ovulação, após seleção do folículo dominante.

Lofstedt & Patel (1989) mostraram que a habilidade do altrenogest em inibir o crescimento folicular depende do estágio do ciclo estral que o tratamento se inicia. No experimento os autores observaram que o altrenogest não foi efetivo no controle da ovulação em 3 de 4 éguas tratadas durante 20 dias iniciando-se o tratamento nos primeiros três dias do estro, as éguas ovularam aproximadamente entre dez a quinze dias (durante o tratamento).

Recentemente um produto a base de um progestágeno combinado a um veículo de longa ação (Biorelease P4 LA150) foi utilizado em éguas cíclicas após aplicação de PG. A P4 LA em doses de 1500 mg foi administrada em intervalos de sete dias e efetivamente manteve os níveis de progesterona acima de 1ng/ml durante o tratamento e por mais 10 dias após o término do mesmo (Bringel et al., 2003).

Dispositivos intravaginais foram utilizados em éguas (Rutten et al., 1986) e mostraram um efeito positivo na supressão do estro, dois a três dias após a sua colocação.

Wilde et al. (2002) testaram em éguas um dispositivo intravaginal de liberação controlada de progesterona que é normalmente utilizado em fêmeas bovinas. Os autores observaram a supressão de estro durante o tratamento (12 dias) e 50% dos animais apresentaram comportamento de cio três dias após a retirada do implante. Entretanto, os autores relataram que as éguas apresentaram vaginite durante o tratamento.

A combinação de progesterona e estradiol através do uso de microesferas criadas para a liberação de uma dose de 1,25 g a 1,5 g de progesterona e 100 mg de estradiol em um período de 12 a 14 dias, usualmente seguido de aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$ ao término do tratamento, demonstrou resultados satisfatórios quanto ao controle do estro e das ovulações (Blanchard et al., 1992; Fleury et al., 1993). Ao avaliarem um total de 135 éguas submetidas ao tratamento com as microesferas, Fleury et al. (1993) relataram um expressivo número de éguas mostrando cio normal ao término do tratamento (87%), sendo o tratamento efetivo em controlar estro e ovulação, indicado pela significativa redução na variação dos tratamentos no que diz respeito ao intervalo ao estro, à ovulação, e o período em dias do estro após o tratamento. As taxas de prenhez foram similares entre éguas submetidas aos tratamentos (63%) e éguas controles (52%). O mesmo observado por Burns et al. (1999) para as taxas de perda embrionária, 4% para as éguas tratadas e 6% para as éguas controle. A adição do estradiol no regime de progesterona confere um atraso de 6,5 dias na ovulação quando comparado ao uso da microesfera contendo apenas progesterona (Fleury et al., 1993).

O norgestomet (análogo sintético da progesterona), utilizado para controle do estro em ruminantes, também foi testado em éguas com uma dose de 3 mg/dia durante 15 dias, não mostrou efeito sobre a atividade folicular e não suprimiu o estro efetivamente e não alterou as concentrações séricas de LH em éguas no final do período transicional de primavera (Wiepz et al., 1988)

No Brasil, Almeida (1999) testou o implante de norgestomet (Crestar[®]), (com a administração de norgestomet e valerato de estradiol no primeiro dia do tratamento), e o tratamento, via oral, com altrenogest ou com o acetato de melengestrol (MGA) em éguas crioulas durante os meses de setembro e outubro de 1998. O período de tratamento com os progestágenos foi de nove dias. Aproximadamente 86% das éguas tratadas com o norgestomet ou com o altrenogest e 43% das éguas tratadas com o MGA demonstraram sinais de estro. Os dois primeiros tratamentos também se mostraram eficazes para sincronizar o estro, sendo que o sistema norgestomet revelou tendência de maior grau de sincronização em relação ao altrenogest. Além disso, o intervalo para a ovulação após o término do tratamento e administração de um luteolítico foi menor para as

éguas tratadas com o norgestomet ($9,8 \pm 1,06$ dias) e com o altrenogest ($8,6 \pm 1,32$ dias) em comparação àquelas tratadas com o acetato de melengestrol ($11,20 \pm 1,93$ dias).

Posteriormente, Costa et al. (2003) também testaram o sistema norgestomet - valerato de estradiol (Crestar®) associado ao dinoprost trometamina com aplicação de hCG no momento em que folículo atingiu diâmetro ≥ 30 mm em éguas Quarto-de-Milha que estavam em anestro ou diestro prolongado. O protocolo hormonal suprimiu o crescimento folicular em 94,12% (16/17) das éguas durante o tratamento, porém, apenas 41,18% (7/17) apresentaram desenvolvimento significativo após a administração da $PGF_{2\alpha}$. Destas sete éguas, apenas quatro exteriorizaram sinais de estro e somente duas destas desenvolveram um folículo com diâmetro superior a 30 mm e ovularam.

Sobre a eficácia do uso prolongado (8-15 dias) de progestágenos no anestro das éguas, muitos autores relatam que este tipo de tratamento não afeta o tempo da ovulação, mas serve para sincronizar o início da atividade ovariana (Daels, 2004).

3.4.3 Estrógeno

O estradiol na fase pré-ovulatória favorece a liberação cíclica de GnRH o que induz a um pico ovulatório de LH (Sagrillo et al., 1996). O estradiol favorece a expressão de RNAm do receptor de GnRH no hipotálamo médio basal, o que sugere que a expressão deste gen que regula a sincronização da atividade neuronal de GnRH que é crucial para a geração do pico ovulatório de LH (Seong et al., 1998). A ação dos esteróides sobre a liberação de GnRH parece ser mediada pelo glutamato. Os esteróides inibem a síntese de ácido glutâmico decarboxilase que converte glutamato a GABA, e liberam o glutamato na área pré-ótica e ativam receptores específicos, sintetizando óxido nítrico e que se encontram ao redor neuromas de GnRH (Mahesh & Brann, 1998).

O comportamento de estro nas éguas durante a fase luteal pode ser induzido com estrogênio, porém doses altas são necessárias, em contrapartida éguas em anestro ou ovariectomizadas necessitam de baixas doses de estrogênio para indução do estro. O comportamento de estro geralmente começa em 8 horas após administração de estrógeno a uma concentração de 0,5 a 5 mg

de estradiol, as éguas permanecem em cio em média por 10 dias (Pryor & Tibary, 2005).

Segundo Munro et al. (1979), a intensidade ou ausência da manifestação do estro não está correlacionada com os níveis hormonais de estrogênio. A ocorrência do cio silencioso é reportada em 26% das éguas, após a indução da luteólise com a $PGF_{2\alpha}$. A observação do cio silencioso está associada a baixas concentrações de estradiol, um longo intervalo da concentração máxima de estrogênio até a ovulação e um curto intervalo da luteólise à ovulação (Nelson et al., 1985). Observações similares por ultra-sonografia foram descritas por Pryor & Tibary (2005), onde éguas induzidas ao estro pela luteólise tendem a ter menor edema uterino durante o cio induzido.

A administração de dexametasona em éguas ovariectomizadas bloqueou a síntese de esteróides pela adrenal (Asa et al., 1983) e suprimiu o comportamento sexual. Esta observação sugere que a glândula adrenal pode produzir estrogênio ou testosterona. Dehydroepiandrosterona é reduzida em éguas durante o cio depois da administração de dexametasona, entretanto, a estimulação da adrenal aumenta a concentração plasmática de testosterona, mas não a de estradiol (Munro et al., 1979).

Concentrações plasmáticas de LH, na égua, podem ser alteradas como demonstrado por Garcia & Ginther (1978). Os autores demonstraram que o estradiol 17β e progesterona regulam as concentrações de LH em éguas ovariectomizadas e que as concentrações de LH são menores quando da aplicação de progesterona isoladamente. Quando o estradiol 17β foi administrado isoladamente as concentrações de LH aumentaram. O experimento demonstrou que a progesterona possui um efeito supressor e o estradiol 17β possui um efeito positivo nas concentrações de LH em éguas ovariectomizadas.

O estradiol possui um efeito supressor limitado na inibição da liberação do FSH em éguas cíclicas (Woodley et al., 1979; Silvia et al., 1987), entretanto, o estradiol 17β pode controlar o desenvolvimento folicular em éguas quando utilizado em conjunto a progestágenos, o estradiol 17β causa supressão da liberação de FSH comparado ao uso de protocolos apenas com progestágenos (Karsch, 1984).

Um experimento foi desenvolvido por Loy et al. (1982) com a utilização de 200 mg de progesterona e 10 mg de estradiol 17 β por um período de 6 dias com aplicações diárias, 12 horas após o parto. O tratamento combinado de progesterona e estradiol resultou em um atraso quantitativo da primeira ovulação pós-parto, equivalente ao período do tratamento, provavelmente por efeito inibitório dos níveis de FSH. Após o término do tratamento houve um decréscimo ainda maior dos níveis de FSH e observou-se um aumento gradual dos níveis de LH.

3.4.4 Protocolos Hormonais

As novas estratégias de controle farmacológico do ciclo estral, tendem a controlar a ovulação, sem considerar o início do estro, para que a IA ocorra o mais próximo possível da liberação do oócito. Os novos protocolos buscam que a ovulação ocorra em todas as éguas em um mesmo momento ou dentro de um período reduzido de tempo. Isto se torna um desafio em função do estado fisiológico distinto durante as diferentes fases do ciclo estral, quando o tratamento for iniciado (Wilde et al., 2002).

Yurdaydin et al. (1993) estabeleceram 3 protocolos (A, B e C) de sincronização estral em um rebanho de 30 éguas Árabes. O grupo A recebeu duas aplicações de PGF_{2 α} intervaladas por 14 dias, o grupo B idem com 2.500 UI de hCG no quinto dia após a segunda aplicação de prostaglandina e o grupo C consistia em éguas paridas com intervalo entre si de uma semana, que receberam PGF_{2 α} três semanas após o parto. O grau de sincronização obtido após 24 a 36 horas da última aplicação de PGF_{2 α} foi de 60 e 80% para os grupos A e B, de 80% para o grupo C após 24 a 48 horas. As taxas de prenhez obtidas nos três grupos foram de 66,7%, 75% e 87,0% respectivamente, permitindo aos autores a conclusão de que tanto a presença de um crescimento viável de um folículo dominante no momento do tratamento, quanto à identificação do dia de seleção deste folículo, são extremamente importantes na obtenção de altas porcentagens no grau de sincronização e taxas de prenhez.

Administração de progesterona natural é extremamente efetiva na supressão do estro em éguas cíclicas (Loy & Swan, 1966). A P4 em veículo

oleoso, administrada IM uma vez ao dia, foi comprovadamente eficiente em todos os estudos. A dose de 100 a 150 mg é necessária para manter altos níveis de progesterona e conseqüentemente suprimir o estro (Loy e Swan, 1966; Hawkins et al., 1979). Todavia, reação e dor local são observados em tratamentos prolongados de base oleosa. Por essa razão, a progesterona oleosa não é rotineiramente usada para a supressão estral em éguas atletas. Recentemente, uma progesterona injetável de longa ação foi utilizada e os estudos demonstram que com uma única aplicação os níveis plasmáticos de progesterona ficam acima de 2ng/ml durante 10 dias (McCue, 2003).

A aplicação de esteróides exógenos pode modular a liberação de FSH e LH, foi descrito por Evans et al. (1982) que propuseram a aplicação diária de progesterona 150mg (grupo 1), 150 mg de progesterona e 10mg de estradiol 17 β (grupo 2) e 10mg de estradiol 17 β (grupo 3), verificando que teve menor eficácia em relação ao grupo 2 e 1 na supressão do crescimento do maior folículo. Para o grupo progesterona, estradiol observaram menores concentrações de LH, alterações no padrão ovariano, sugerindo que a maturação folicular final e ovulação são bloqueados pela progesterona e as baixas concentrações de LH promovidas pela presença do estradiol inibem o desenvolvimento folicular precoce.

Implantes que contêm progesterona e estradiol para a utilização em fêmeas bovinas foram administrados em fêmeas eqüinas para verificar a eficácia da supressão da manifestação de estro. A dose de 200 mg de progesterona e 20 mg de benzoato de estradiol por implante, sendo que 8 implantes não foram eficazes na prevenção do desenvolvimento folicular e na supressão do estro (McCue et al., 1997). Os mesmos autores, administrando 8, 32 ou 80 implantes não observaram sua eficácia, sendo que 8 implantes liberaram 1,3 a 2 mg de progesterona/dia.

O sistema norgestomet-estradiol foi descrito inicialmente em novilhas Wiltbank & Gonçales (1975) e testado em eqüinos por (Almeida, 1999). Associa-se prostaglandina a esse tratamento para redução do intervalo interovulatório Holtan et al. (1977) e promover a luteólise Spinosa et al. (1999), e aplicação de hCG em função do prolongado intervalo entre a manifestação de estro e a

ovulação, reduzindo o período de cio e promovendo a ovulação em até 48 horas (Voss et al., 1975; Woods et al., 1990; Almeida, 1999),

Um protocolo para eqüinos que utiliza apenas uma aplicação de PG F_{2α}, também é utilizado rotineiramente em programas de IA e TE. Neste protocolo, aplica-se uma dose 5 mg a 10 mg de dinoprost trometamina (Lutalyse®) entre o 6º e 14º dia (melhores resultados são obtidos entre o 6º e 9º dia) pós-ovulação, todavia a resposta ao tratamento depende do estágio do desenvolvimento folicular na hora da aplicação: se houver um folículo de diâmetro inferior a 30 mm a égua mostrará cio dentro de 2 a 4 dias e a ovulação ocorrerá em 8 a 10 dias; se um folículo pré-ovulatório estiver presente (≥ 35 mm), o estro ocorrerá dentro das próximas 24 horas e a ovulação dentro de 24 a 36 horas ou ainda a égua poderá ovular sem manifestar cio (prostaglandinas e análogos podem induzir a ovulação de folículos pré-ovulatórios) (Munro et al., 1979).

O protocolo mais efetivo usado para sincronização de estro em éguas consiste na administração diária de progesterona ou análogos sintéticos, altrenogest (0,044 mg/kg VO) ou 150mg de progesterona em veículo oleoso por 10 dias combinado com aplicação diária de estrogênio (10 mg estradiol 17β) pelo período do tratamento (10 dias) e uma dose (10mg IM) de prostaglandina F_{2α} é aplicada no último dia de tratamento, e quando da detecção por palpação retal e/ou ultra-sonografia de um folículo pré-ovulatório ≥ 33 mm hCG (3.000 UI) ou um análogo do GnRH (implante de deslorelina 2,1 mg) são usados para indução da ovulação (Pryor & Tibary, 2005).

3.4.5 Métodos alternativos

Métodos envolvendo a ablação folicular como uma alternativa no controle da atividade ovariana já foi testado (Gastal et al., 1997; Bergfelt & Adams, 2000b).

A aspiração de todos os folículos ≥ 10 mm de diâmetro realizada em dia aleatório do ciclo estral, associada a duas doses de PGF_{2α} no 4º e uma aplicação de hCG no 10º dia (aspiração D0) foi utilizado por Bergfelt et al. (1999), visando sincronizar uma nova onda de crescimento folicular, cujos resultados foram satisfatórios.

A ablação de folículos maiores ou iguais a 10 mm de diâmetro em diferentes estágios do ciclo estral, resultou em sincronia na emergência das ondas foliculares entre éguas, sendo o intervalo entre a ablação e a detecção de um folículo maior ou igual a 10 mm em média de 1 a 3 dias em 90% das éguas. A emergência da onda induzida pela ablação foi caracterizada pela presença de um número aumentado de folículos maiores que 10 mm, sendo observada dentro de 3 dias após a ablação, os dados foram agrupados, os resultados demonstraram que 96% (22/23) das éguas submetidas à ablação ovularam dentro de um período de 48 horas após a administração de hCG (Bergfelt & Adams, 2000b).

Segundo Fraser (1981), a baixa concentração de gonadotrofinas inibe a função reprodutiva, incluindo o desenvolvimento folicular, a ovulação e a fase luteal, seu experimento mostrou que os receptores de GnRH quando estimulados continuamente e uma eventual redução no número de receptores são fatores que levam a refratariedade deste hormônio, acarretando na supressão das gonadotrofinas endógenas. A redução de gonadotrofinas tem sido denominada de *down regulation*, o que tem sido um eficiente método contraceptivo (Irvine, 1983). Dentre as possíveis causas para a redução nas concentrações de LH e FSH encontra-se a redução na secreção endógena de GnRH pelo hipotálamo, dessensibilização da pituitária ao estímulo do GnRH e/ou a depleção de LH e FSH pela pituitária (Crowder et al., 1986).

A prolongada supressão das gonadotrofinas pela *down regulation* seguida do elevado estímulo e constante pelo GnRH geralmente é ocasionada pela redução da sensibilidade da pituitária (Heber & Swerdloff, 1981; Nett et al., 1981; Sandow, 1983), mais que pela estimulação do GnRH (Belchetz et al., 1978; Zilberstein et al., 1983).

De um modo geral, acredita-se que as éguas sejam relativamente refratárias ao *down regulation* ocasionado pelos análogos do GnRH (Fitzgerald et al., 1993; Irvine & Alexander, 1993). Em eqüinos, o tratamento com análogos de GnRH por período prolongado (28 dias) e altas doses (1,3mg/kg/dia) reduziu a concentração de LH semelhante às outras espécies (Fitzgerald et al., 1993). O tratamento de éguas com altas doses de análogo de GnRH (10mg/dia) resultou em uma supressão reversiva da atividade ovariana causando uma redução na duração do ciclo estral (Palmer & Quellier, 1988)

4 Material e Métodos

4.1 Animais Experimentais e Instalações

O experimento foi conduzido durante a estação reprodutiva 2004/2005, mais especificamente entre os meses de dezembro a fevereiro de 2005, nas dependências do Haras Kawwa Master, situado no município de Campina Grande do Sul, Pr, Brasil (25°18'21" S e 49°03'18" O).

Foram utilizadas éguas da raça Campolina (n=46) de 3 a 10 anos de idade com peso corporal entre 350 e 500 kg. Todas as éguas utilizadas estavam em plena atividade reprodutiva e não possuíam quaisquer anormalidades reprodutivas que pudessem ser observadas ao exame ultra-sonográfico e de palpação retal. Os animais foram mantidos em piquetes de coast-cross (*Cynodon dactylon*) com acesso livre a água e sal mineralizado a vontade e receberam 1 Kg de ração comercial peletizada própria para eqüinos uma vez por dia.

4.2 Delineamento Experimental

4.2.1 Controle Folicular e Avaliação Ultra-sonográfica

Cada animal foi examinado individualmente, pela técnica transretal com o auxílio de transdutor de 6 MHz (Pie Medical® 240), fazendo-se a mensuração do diâmetro dos dois maiores folículos a cada 24 horas, iniciando-se dois dias precedentes ao início do tratamento (D-2) até a ovulação (OV) pós-tratamento, considerando-se o início do tratamento (D0) e o final do tratamento (D9). A ultra-sonografia para detecção da ovulação foi realizada no período compreendido entre o 10º e o 22º dia (D10 a D22), sendo confirmada a partir do momento em que o folículo ovulatório maior ≥ 30 mm não mais foi detectado e visualizou-se o corpo hemorrágico (CH) formado (**Fig.1**).

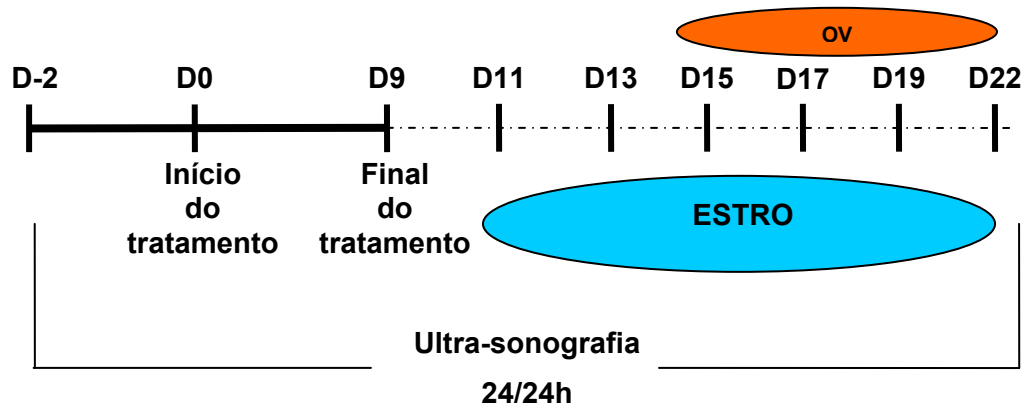


FIGURA 1 - Representação esquemática do cronograma dos exames ultra-sonográficos realizados a cada 24h dois dias antes (D-2) do início do tratamento até o 22º dia (D22) em todos os animais dos grupos I, II, III, IV e V.

As imagens obtidas dos ovários foram desenhadas em esquemas bidimensionais e os dados da mensuração das estruturas foram planilhados, permitindo a identificação e acompanhamento das estruturas durante todo o experimento. A designação dos folículos se baseou no maior diâmetro apresentado pelos mesmos, sendo denominado folículo 1 (F1) aquele que possuía maior diâmetro e folículo 2 (F2) o folículo de segundo maior diâmetro. Os diâmetros dos dois maiores folículos F1 e F2 foram determinados por meio da média aritmética entre a maior distância obtida no antro folicular e sua transversal em uma única imagem congelada no monitor do aparelho de ultra-sonografia (Ginther, 1995).

A análise ultra-sonográfica e retrospectiva individual permitiram o estabelecimento do padrão de desenvolvimento folicular do maior folículo (F1) e o segundo maior folículo (F2) no período de dois dias precedentes ao início do tratamento (D-2) até a ovulação (OV) pós-tratamento em todos os grupos experimentais (**Fig. 2 a 6; Anexo**).

4.2.2 Detecção e cronologia das manifestações de Estro

A determinação das manifestações de estro ocorreu por meio da rufiação individual direta e foi realizada diariamente a partir dos dois dias anteriores ao início do tratamento (D-2) até dois dias após a detecção da ovulação (OV) em todos os grupos, utilizando-se um garanhão da propriedade. Objetivou-se a detecção do momento de ocorrência do estro para determinar o

número de animais que apresentaram manifestações de estro no período anterior ao início do tratamento, durante o tratamento e após o tratamento até a ovulação. A avaliação temporal foi realizada para verificar o período correspondente entre o final do tratamento à ovulação, final do tratamento ao início do estro e do estro à ovulação.

4.3 Grupos experimentais e Tratamentos Hormonais

As éguas foram distribuídas aleatoriamente em cinco grupos experimentais dois dias antes ao início do tratamento (D-2), observando-se o padrão de tamanho folicular (**Tabela 1; Anexo**).

As aplicações hormonais foram realizadas por meio de injeções intramusculares (IM) profundas. O implante de silicone de liberação de progesterona Crestar[®] foi introduzido via subcutânea (SC) no terço médio do pescoço dos animais por meio de aplicador específico (Aparelho Aplicador de implante Crestar[®] Intervet), após tricotomia e anti-sepsia local.

4.3.1 Grupo I (GI n=10)

As éguas deste grupo receberam uma injeção IM de 2mL contendo norgestomet (3 mg) + valerato de estradiol (5 mg) e via SC um implante de silicone contendo 3mg de norgestomet (Crestar[®] Intervet), permanecendo implantado por nove dias, sendo reconhecido como momento inicial do tratamento (D0). No 9º dia (D9) o implante foi retirado e 7,5 mg de dinoprost-trometamina (Lutalyse[®] Merial Saúde Animal Ltda) foi administrado por via intra-muscular (IM) profunda (**Fig. 7**).

4.3.2 Grupo II (GII n= 10)

As éguas deste grupo receberam uma única injeção IM de 2ml contendo norgestomet (3 mg) + valerato de estradiol (5 mg), sendo reconhecido como dia inicial do tratamento (D0). No 9º dia (D9) 7,5 mg dinoprost-trometamina (Lutalyse[®], Merial Saúde Animal Ltda.), foram administrads por via IM profunda (**Fig. 8**).

4.3.3 Grupo III (GIII n=10)

As éguas deste grupo receberam via SC um implante de silicone contendo 3mg de norgestomet (Crestar[®] Intervet), permanecendo implantado por nove dias, sendo reconhecido como dia inicial do tratamento (D0). No 9º dia (D9) o implante foi retirado e 7,5 mg de dinoprost-trometamina (Lutalyse[®], Merial Saúde Animal Ltda.) foram administrados por via IM profunda (**Fig. 9**).

4.3.4 Grupo IV (GIV n=8)

As éguas deste grupo receberam uma injeção via IM de 2ml contendo norgestomet (3 mg) + valerato de estradiol (5 mg) e via SC um implante de silicone contendo 3mg de norgestomet (Crestar[®]) e uma injeção via IM de HCG (2.500 UI) no D0. O implante foi retirado no D9 e 7,5 mg de dinoprost-trometamina (Lutalyse[®] - Merial Saúde Animal Ltda.) foram administrados por via IM profunda em dose única (**Fig. 10**).

4.3.5 Grupo V (GV n=8)

As éguas deste grupo receberam injeção única via IM de hCG (2.500 UI) no D0 e nove dias após (D9) uma injeção via IM profunda de dinoprost-trometamina (Lutalyse[®] - Merial Saúde Animal Ltda.) (**Fig. 11**).

Em relação aos protocolos de sincronização dos estros, o dia inicial do tratamento foi denominado D0 (dia zero) e o último dia de tratamento para todos os grupos D9 (dia nove). O período compreendido entre início e fim dos tratamentos hormonais recebeu uma escala crescente de valores em dias.

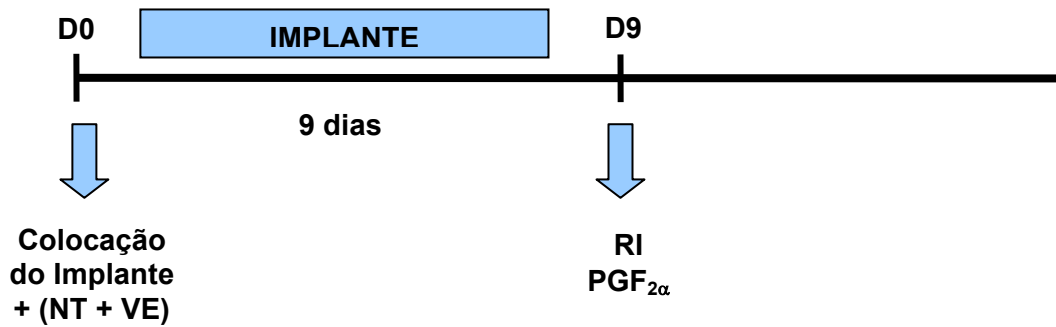


FIGURA 7 – Representação esquemática do protocolo I de sincronização de estro e ovulação em éguas do Grupo I (n=10), com emprego de implante de silicone contendo 3mg de norgestomet (NT) por 9 dias, e administração de 3 mg de norgestomet (NT) + 5 mg de valerato de estradiol (VE) no momento da colocação do implante; e 7,5 mg de dinoprost-trometamina ($PGF_{2\alpha}$) na retirada do implante (RI).

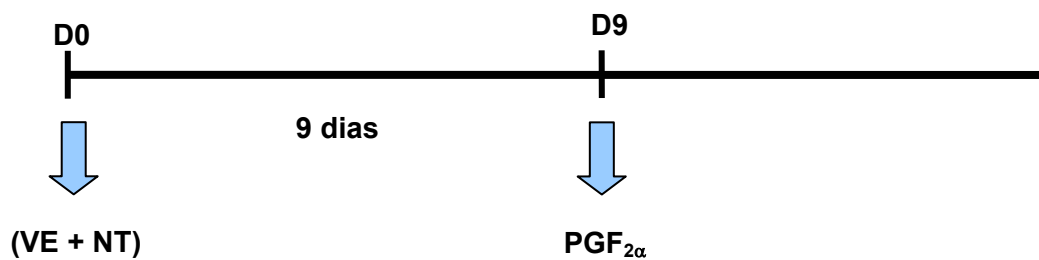


FIGURA 8 – Representação esquemática do protocolo II de sincronização de estro e ovulação em éguas do Grupo II (n=9), com administração de 3 mg de norgestomet (NT) + 5 mg de valerato de estradiol (VE) no dia zero (D0); e 7,5 mg de dinoprost-trometamina ($PGF_{2\alpha}$) ao final do tratamento (D9).

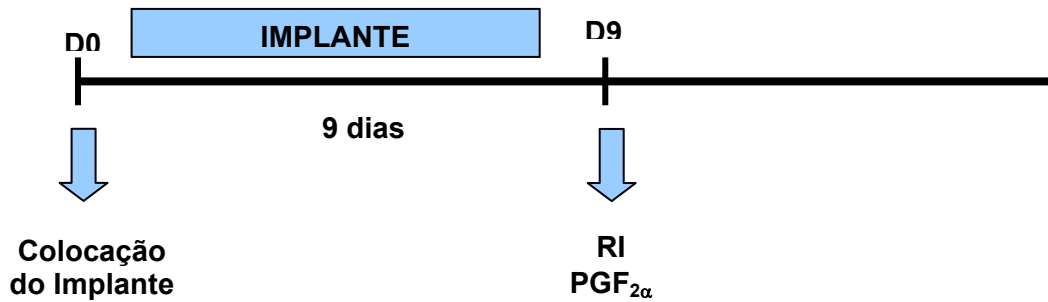


FIGURA 9 – Representação esquemática do protocolo III de sincronização de estro e ovulação em éguas do **Grupo III** (n=9), com emprego de implante de silicone contendo 3mg de norgestomet (NT) por 9 dias; e 7,5 mg de dinoprost-trometamina ($PGF_{2\alpha}$) na retirada do implante (RI).

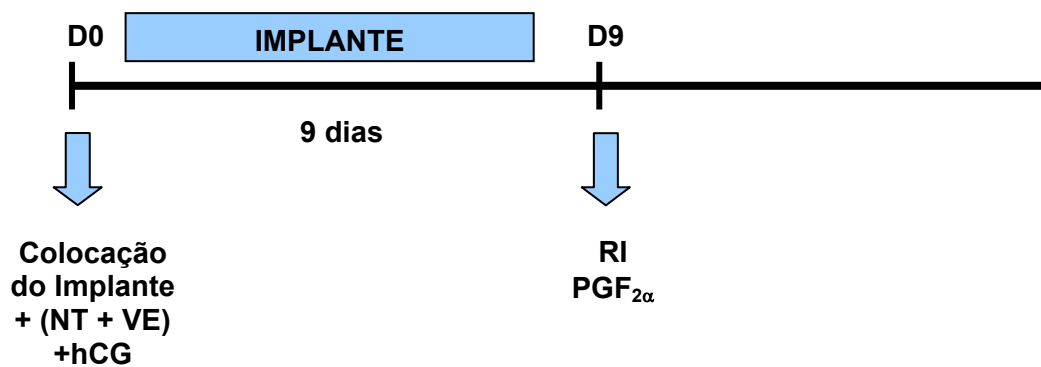


FIGURA 10 – Representação esquemática do protocolo IV de sincronização de estro e ovulação em éguas do **Grupo IV** (n=5), com emprego de implante de silicone contendo 3mg de norgestomet (NT) por 9 dias, e administração de 3 mg de norgestomet (NT) + 5 mg de valerato de estradiol (VE), e 2.500 UI de hCG no momento da colocação do implante; e 7,5 mg de dinoprost-trometamina ($PGF_{2\alpha}$) na retirada do implante (RI).

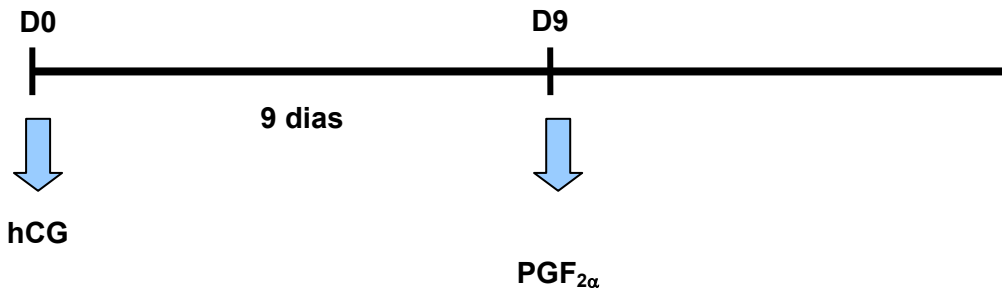


FIGURA 11 – Representação esquemática do protocolo V de sincronização de estro e ovulação em éguas do **Grupo V** (n=7), com administração de 2.500 UI de hCG no dia zero (D0); e 7,5 mg de dinoprost-trometamina (PGF_{2α}) ao final do tratamento (D9).

4.4 Análise Estatística

Os dados coletados, seguindo a metodologia previamente descrita foram analisados segundo intervalos D9 a OV, D9 ao estro e estro a OV; estro a ovulação e D-2 a D0; D1 a D9; D10 a 22 para frequência de ovulação e manifestação de estro e demais parâmetros (diâmetro do maior folículo; frequência de sincronização de estro e diâmetro ≥ 30 mm de F1). A frequência de manifestação de estro e frequência de ovulação foi submetida à análise de variância de dois fatores (ANOVA). As médias dos tratamentos foram comparadas, nível de significância de 5% ($p > 0,05$), segundo a análise de variância não paramétrica de Kruskal – Wallis dentro de um mesmo grupo de animais e pelo teste de comparação múltipla de Dunn entre diferentes grupos.

5 Resultados

5.1 Detecção e cronologia das manifestações de Estro e Frequência de Ovulação

Para a manifestação de estro foram considerados os períodos: anterior ao início do tratamento (D-2 a D0), durante o tratamento (D1 a D9) e após o tratamento (D10 a D22). Não houve diferença estatística ($P>0,05$) entre os grupos, sendo que nos grupos I 70%, II e III 80% e nos grupos IV 62,5% e V com 50% dos animais que manifestaram estro após o tratamento. Houve diferença estatística entre os períodos. (Tabela 2)

Para a variável frequência de ovulação foram considerados os períodos: anterior ao início do tratamento (D-2 a D0), durante o tratamento (D1 a D9) e após o tratamento (D10 a D22), sendo que nos grupos I, 80%; II, 70%; III, 90%; IV, 62,5% e V, 50% dos animais ovularam no período D10 a D22, não se constatando diferença estatística entre os grupos, mas sim entre os períodos. (Tabela 3)

Vale ressaltar que no grupo I a égua nº 3 já se encontrava em cio durante o tratamento e ovulou no D2, o animal nº 4 iniciou o cio no D0 e ovulou no D7 e a égua nº 5 iniciou manifestação de cio durante o tratamento e não mais demonstrou cio apenas no D11, a égua 10 ovulou no D17 sem observação da manifestação do estro. No grupo II as éguas 18 e 19 já apresentavam manifestação de cio ao início do tratamento hormonal (D0) e ovularam no D5 e D2, respectivamente. Os animais 12 e 16 iniciaram cio no D5 e ovularam no D9, o animal nº 20 iniciou o cio no D5 permanecendo até o D12. No grupo III duas ovulações com manifestação de cio ocorreram durante o tratamento e os animais 24, 25 e 27 iniciaram estro durante o tratamento permanecendo em cio após o D9. No grupo IV as éguas 36 e 38 já estavam no cio ao início do tratamento e ovularam no D0 e a égua 37 manifestou cio no D0 e ovulou em D2 permanecendo em cio por mais 48 horas pós-ovulação, destaca-se que neste grupo o protocolo utilizado incluía a administração de hCG no D0. No grupo V, 4 animais manifestaram cio e 5 éguas ovularam durante o tratamento, ressalta-se que este protocolo não incluía utilização de norgestomet e valerato de estradiol.

Os animais nº 12 e13 pertencentes ao grupo II e no grupo III a égua 26 demonstraram duplas ovulações no período de D10 a D22.

TABELA 2 – Freqüência de manifestação de estro observada antes do início do tratamento (D-2 a D0) durante o tratamento (D1 a D9) e pós-tratamento (D10 a D22) em éguas da raça Campolina entre os diferentes grupos experimentais (GI a GV).

Período	Freqüência de Manifestação de Estro (%)				
	GI	GII	GIII	GIV	GV
D-2 a D0	30* (3/10) ^A	20 (2/10) ^A	10 (1/10) ^A	37,5 (3/8) ^A	12,5 (1/8) ^A
D1 a D9	40 (4/10) ^B	50 (5/10) ^B	50 (5/10) ^B	37,5 (3/8) ^B	37,5 (3/8) ^B
D10 a D22	70 (7/10) ^C	80 (8/10) ^C	80 (8/10) ^C	62,5 (5/8) ^C	50 (4/8) ^C

* (nº de éguas em estro / nº de éguas do grupo)

Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna (A;B;C) indicam diferença estatística (P<0,05)

Não há diferença estatística entre os grupos (p>0,05) nas linhas

(D-2) pré-tratamento

(D0) Dia inicial do tratamento

(D9) Dia final do tratamento

TABELA 3 – Freqüência de ovulação do pré-tratamento (D-2) até o dia 22 (D22) em éguas da raça Campolina entre os diferentes grupos experimentais (GI a GV).

Período	Freqüência de Ovulação (%)				
	GI	GII	GIII	GIV	GV
D-2 a D0	20* (2/10) ^A	20 (2/10) ^A	10 (1/10) ^A	25 (2/8) ^A	12,5 (1/8) ^A
D1 a D9	20 (2/10) ^B	40 (4/10) ^B	30 (3/10) ^B	12,5 (1/8) ^B	50 (4/8) ^B
D10 a D22	80 (8/10) ^C	70 (7/10) ^{C**}	⁹⁰ (9/10) ^{C***}	62,5 (5/8) ^C	50 (4/8) ^C

* (nº de éguas ovuladas / nº de éguas do grupo)

Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna (A;B;C) indicam diferença estatística (P<0,05)

Não há diferença estatística entre os grupos (p>0,05) nas linhas

** (2 animais manifestaram ovulação dupla)

*** (1 animal manifestou ovulação dupla)

(D-2) pré-tratamento

(D0) Dia inicial do tratamento

(D9) Dia final do tratamento

A Tabela 4 demonstra o intervalo médio do último dia de tratamento (D9) a detecção da ovulação, D9 ao estro e estro a detecção da ovulação, não sendo observada diferença entre os grupos, entretanto no GV observa-se menor intervalo entre a manifestação de estro e ovulação.

TABELA 4 - Média (\pm EPM) dos intervalos entre o último dia do tratamento (D9), estro e ovulação em éguas da raça Campolina entre os grupos experimentais (GI a GV).

Período	Intervalo (dias)				
	GI	GII	GIII	GIV	GV
D9 a OV	8,9 \pm 1,77 (n=8)	11,7 \pm 2,66 (n=9)	10,7 \pm 2,39 (n=9)	11,4 \pm 1,91 (n=5)	9,0 \pm 1,87 (n=5)
D9 ao estro	6,7 \pm 2,07 (n=7)	7,3 \pm 1,04 (n=7)	4,8 \pm 0,86 (n=5)	6,0 \pm 0,32 (n=5)	5,3 \pm 1,20 (n=3)
Estro a OV	4,6 \pm 0,53 (n=7)	5,3 \pm 1,63 (n=7)	5,2 \pm 0,84 (n=5)	5,4 \pm 0,51 (n=5)	3,6 \pm 0,68 (n=3)

EPM= Erro padrão da Média P> 0,05 entre os grupos
(D0) Dia inicial do tratamento
(D9) Dia final do tratamento
OV = ovulação

5.2 Sincronização de Estro

Para a freqüência de sincronização de estro no D12 a análise estatística revelou haver diferença somente entre os grupos III e IV, com 83,3% e 0%, respectivamente. No D13 houve diferença entre os grupos II e III (14,3 e 100%). No D15 houve diferença entre os grupos I e IV com 28,6 e 100%, respectivamente. No D16, D17 e D18 os resultados mostraram diferença entre os grupos de 14,3% e 100%, respectivamente. Para o grau de sincronização de estro no D16, D17 e D18 a análise estatística revelou haver diferença somente entre os grupos I e IV, com 14,3 e 100%, respectivamente. No D20 houve diferença entre os grupos II e V com 71,4 e 0%, respectivamente. Nos demais grupos nos outros dias não houve diferença.

Os resultados para a sincronização do estro estão apresentados na Tabela 5.

TABELA 5 - Frequência de sincronização de estro observados em éguas da raça Campolina no período entre D10 e D22 nos grupos experimentais (GI a GV).

Dia pós-início do tratamento	Frequência de éguas em estro (%)				
	GI	GII	GIII	GIV	GV
D10	28,6* (2/7) ^a	28,6 (2/7) ^a	60 (3/6) ^a	0 (0/5) ^a	33,3 (1/3) ^a
D11	57,1 (4/7) ^a	14,3 (1/7) ^a	66,7 (4/6) ^a	0 (0/5) ^a	33,3 (1/3) ^a
D12	57,1 (4/7) ^{ab}	28,6 (2/7) ^{ab}	83,3 (5/6) ^a	0 (0/5) ^b	33,3 (1/3) ^{ab}
D13	57,1 (4/7) ^{ab}	14,3 (1/7) ^a	100 (6/6) ^b	20 (1/5) ^{ab}	33,3 (1/3) ^{ab}
D14	42,9 (3/7) ^a	57,1 (4/7) ^a	66,7 (4/6) ^a	80 (4/5) ^a	33,3 (1/3) ^a
D15	28,6 (2/7) ^a	71,4 (5/7) ^{ab}	66,7 (4/6) ^{ab}	100 (5/5) ^b	66,7 (2/3) ^{ab}
D16	14,3 (1/7) ^a	71,4 (5/7) ^{ab}	83,3 (5/6) ^{ab}	100 (5/5) ^b	66,7 (2/3) ^{ab}
D17	14,3 (1/7) ^a	71,4 (5/7) ^{ab}	83,3 (5/6) ^{ab}	100 (5/5) ^b	66,7 (2/3) ^{ab}
D18	14,3 (1/7) ^a	85,7 (6/7) ^{ab}	66,7 (4/6) ^{ab}	100 (5/5) ^b	66,7 (2/3) ^{ab}
D19	14,3 (1/7) ^a	71,4 (5/7) ^a	33,3 (2/6) ^a	60 (3/5) ^a	66,7 (2/3) ^a
D20	14,3 (1/7) ^{ab}	71,4 (5/7) ^a	16,7 (1/6) ^{ab}	40 (2/5) ^{ab}	0 (0/3) ^b
D21	0 (0/7) ^a	57,1 (4/7) ^a	0 (0/6) ^a	0 (0/5) ^a	0 (0/3) ^a
D22	14,3 (1/7) ^a	28,6 (2/7) ^a	0 (0/6) ^a	0 (0/5) ^a	0 (0/3) ^a

* (% de éguas em estro no dia / n° de éguas em estro no período)

Médias seguidas de mesma letra, nas linhas, não diferem entre si (P> 0,05)

(D9) Dia final do tratamento

5.3 Parâmetros Foliculares Pontuais

A análise estatística demonstrou que GI e GIV houve diferença significativa para a frequência de animais que apresentaram o diâmetro do maior folículo no D17, com 20% e 62,5% respectivamente. Nos demais grupos não houve diferença no D17. Nos demais dias não houve diferença significativa entre os grupos estudados para essa variável.

Na Tabela 6 observa-se o percentual de animais com o maior folículo ovariano apresentando diâmetro maior ou igual a 30 milímetros entre o dia 10 a 22, não havendo diferença entre grupos, exceto para o grupo IV, no qual foi observado 62,5% das éguas com folículos ≥ 30 mm de diâmetro (D17) em relação ao grupo I com apenas 20% ($p < 0,05$).

TABELA 6 - Frequência de animais com folículo ≥ 30 mm em éguas da raça Campolina no período de D10 a D22 entre os diferentes grupos experimentais (GI a GV).

Dia pós-início do tratamento	Frequência de éguas com folículo ≥ 30 mm				
	GI	GII	GIII	GIV	GV
D10	40* (4/10)	0 (0/10)	30 (3/10)	0 (0/8)	12,5 (1/8)
D11	30 (3/10)	0 (0/10)	30 (3/10)	0 (0/8)	12,5 (1/8)
D12	30 (3/10)	10 (1/10)	20 (2/10)	0 (0/8)	0 (0/8)
D13	20 (2/10)	20 (2/10)	50 (5/10)	0 (0/8)	12,5 (1/8)
D14	20 (2/10)	10 (1/10)	30 (3/10)	0 (0/8)	12,5 (1/8)
D15	20 (2/10)	40 (4/10)	60 (6/10)	37,5 (3/8)	25 (2/8)
D16	30 (3/10)	40 (4/10)	60 (6/10)	50 (4/8)	37,5 (3/8)
D17	20 (2/10)	40 (4/10) ^{ab}	40 (4/10) ^{ab}	62,5 (5/8) ^b	37,5 (3/8) ^{ab}
D18	20 (2/10)	10 (1/10)	10 (1/10)	25 (2/8)	0 (0/8)
D19	10 (1/10)	30 (3/10)	10 (1/10)	0 (0/8)	12,5 (1/8)
D20	10 (1/10)	30 (3/10)	10 (1/10)	0 (0/8)	12,5 (1/8)
D21	0 (0/10)	20 (2/10)	10 (1/10)	0 (0/8)	0 (0/8)
D22	0 (0/10)	0 (0/10)	10 (1/10)	0 (0/8)	0 (0/8)

* (éguas com maior folículo ≥ 30 mm no dia / nº de éguas com maior folículo ≥ 30 mm no período)
 Médias seguidas de diferentes letras, nas linhas, diferem entre si ($p < 0,05$)
 (D9) Dia final do tratamento

A análise estatística da média obtida a partir da mensuração do maior folículo ovariano (F1) em D0, D9, dia da OV e entre os períodos D0 a D9, D9 a ovulação (OV) não demonstrou diferença entre os grupos estudados. Entretanto, observa-se pequeno aumento no diâmetro do F1 no período de tratamento nos grupos I e V e diminuição nos grupos II, III e IV. O diâmetro médio de F1 à ovulação não demonstrou diferença entre os grupos. Os dados estão apresentados na Tabela 7.

TABELA 7 – Diâmetro médio (\pm EPM) do maior folículo ovariano em éguas da raça Campolina durante e após o tratamento até a detecção da ovulação nos grupos experimentais (GI a GV).

Período	Diâmetro médio do maior folículo (F1)				
	GI (n=10)	GII (n=10)	GIII (n=10)	GIV (n=8)	GV (n=8)
D0	25,7 \pm 2,92	26,6 \pm 4,00	28,9 \pm 4,10	22,9 \pm 3,75	21,8 \pm 3,88
D9	29,5 \pm 3,90	22,7 \pm 3,77	25,5 \pm 3,22	15 \pm 1,14	23,8 \pm 7,61
D0 a D9	27,2 \pm 3,57	26,4 \pm 2,75	28,9 \pm 4,31	18,6 \pm 3,59	24,8 \pm 2,80
D9 a OV	33,4 \pm 2,46	30,9 \pm 1,28	30,3 \pm 3,06	28,1 \pm 1,44	36,7 \pm 9,25
OV	36,63 \pm 1,08	38,67 \pm 1,32	38,56 \pm 1,92	36,60 \pm 1,96	40,80 \pm 2,08

EPM= Erro padrão da Média P > 0,05 entre os grupos

(D0) Dia inicial do tratamento

(D9) Dia final do tratamento

OV = ovulação

6 Discussão

O desenvolvimento de um protocolo consistente envolvendo a utilização de progestágenos, estrógenos e $\text{PGF}_{2\alpha}$, utilizando-se ou não hCG ou GnRH, tem sido estudado para o controle do ciclo estral de fêmeas eqüinas em nível de produção comercial (Meyers, 1997) e para éguas atletas com a finalidade de supressão do estro e adiamento da ovulação (Pryor & Tibary, 2005).

Em relação à frequência de manifestação de estro e ovulação os resultados mostram que nenhum protocolo foi efetivo na supressão dessas variáveis durante o tratamento (D1 a D9), pois 40%, 50%, 50%, 37,5% e 37,5% dos animais manifestaram estro e 20%, 40%, 30%, 12,5% e 50% ovularam durante o tratamento nos grupos I,II,III,IV e V, respectivamente. Os sinais típicos atribuídos à fase estral no momento da rufiação segundo Ginther (1992), foram os mesmos observados nos animais do experimento.

Esses dados diferem dos relatados por Almeida (1999) que obteve 87,5% de supressão de estro em éguas cíclicas com implante de norgestomet, mas são compatíveis com Bristol (1981) que utilizou implante contendo 6mg de norgestomet e observou a incapacidade no controle do ciclo estral, assim como Wiepz et al. (1988) que não observaram nenhum efeito supressor da atividade folicular e sobre o comportamento de estro em éguas no final de períodos transicionais, utilizando implante de 3 mg de norgestomet.

Corroborando aos resultados insatisfatórios do controle do ciclo estral com norgestomet obtidos por Wiepz et al. (1988), observou-se que não houve supressão da atividade folicular quando da utilização de norgestomet e valerato de estradiol (GI, II, III, IV) nas éguas que possuíam folículos ≥ 22 mm ao início do tratamento (D0), demonstrado pelo crescimento folicular contínuo e pelas ovulações que ocorreram durante os diferentes tratamentos. O único grupo que apresentou uma redução drástica no diâmetro de F1 durante o tratamento foi o grupo IV de $22,9 \pm 3,75$ (D0) para $15 \pm 1,14$ (D9), similares aos obtidos por Costa et al. (2003) que observou 94,12% de supressão do crescimento folicular com o uso de norgestomet e valerato de estradiol (Crestar[®]). Esses dados inferem que este implante contendo norgestomet associado à injeção de valerato de estradiol possui uma limitada capacidade de supressão da liberação de FSH e uma baixa

ou nula supressão da liberação de LH, ou seja, o protocolo mostrou-se mais efetivo apenas antes do desvio folicular.

Os resultados variáveis para controle do ciclo estral com o uso de progestágenos sintéticos como o norgestomet são atribuídos à falha de afinidade aos receptores de progesterona na espécie eqüina (Wiepz et al., 1988), não absorção adequada pela baixa quantidade de progestágeno no implante e a lenta liberação do mesmo (McCue et al., 1997).

Os animais nº 15 do grupo I, 25 do grupo III, 31,34 e 35 do grupo IV e 42 do grupo V não manifestaram cio e não ovularam em nenhum momento do experimento. Tal ocorrência infere-se pela menor condição corporal e idade avançada dos respectivos animais, onde provavelmente houve inibição da atividade reprodutiva e desequilíbrio hormonal no período, como relatado por outros autores (Fitzgerald & McManus, 2000; Gentry et al., 2002).

Segundo Squires et al. (1985) e Bergfelt et al. (1999), protocolos de 9 a 10 dias de progestágenos, e a aplicação de $PGF_{2\alpha}$ no último dia de tratamento, os animais demonstram cio em torno de 4 dias e ovulação 9 a 10 dias após a PG. No presente trabalho o intervalo entre o último dia de tratamento e a ovulação não houve diferença entre os grupos, sendo que no grupo V, o qual não recebeu norgestomet a média foi de $9,0 \pm 1,87$ dias e no grupo I, o tratamento com norgestomet e valerato de estradiol foi de $8,9 \pm 1,77$ dias, resultado compatível com o relatado pelos autores citados, vale ressaltar que os demais grupos apresentaram médias superiores ao grupo I e V. O intervalo entre a aplicação da $PGF_{2\alpha}$ e a manifestação de estro se mostrou superior aos 4 dias em todos os grupos, sendo incompatíveis aos reportados por outros autores (Loy et al., 1981; Silvia et al., 1987; Gusmão, 1987; Bergfelt et al., 1999; Almeida, 1999), sugerindo que o luteolítico não foi efetivo para todos os animais dos diferentes grupos experimentais. Os intervalos D9 a Ovulação e D9 ao estro que se mostraram superiores aos estudos anteriores podem ser atribuídos a ovulações que ocorreram no final do período de tratamento e o CL formado apresenta-se refratário ao agente luteolítico (Loy et al., 1981; Bergfelt, 2000a).

A frequência de ovulação entre D10 e D22 foi relativamente alta para todos os grupos sem diferença estatística entre os mesmos, os animais nº 7(GI), 21 (GIII), 45 (GV) ovularam nesse período sem a observação da manifestação de

cio, entretanto sinais atípicos de estro podem ser observados em um número significativo de éguas (Ginther, 1992). Ainda, segundo Asa (1983), 5 a 12% das éguas podem não apresentar receptividade ao macho durante o ciclo estral normal (com manifestação de cio) por 1 ou 2 dias, fatores como estresse podem desencadear o cio silencioso temporário.

Em relação à não manifestação de cio com ovulação, Munro et al. (1979), relataram que até 26% das éguas podem não manifestar cio após a indução da luteólise por aplicação de PGF_{2α}.

O presente estudo demonstrou uma freqüência alta de animais com folículo de diâmetro ≥ 30 mm no D17 após o início do tratamento (D0) apenas para o grupo IV (62,5%), similar ao observado por Taylor, (1982) e Loy et al. (1981) com o uso de progesterona e estradiol 17 β , diferente ao grupo I que mostrou 20%. O resultado observado mostra que um agente indutor de ovulação poderia ser usado, no grupo IV, nesse momento com possível ovulação dentro de 72 horas após sua aplicação.

No presente estudo a freqüência de sincronização de estro foi avaliada no período de D10 a D22 com base em estudos anteriores que demonstraram o uso efetivo de protocolos de progestágenos ou progesterona combinado a valerato de estradiol. Esses estudos inferiram que independentemente da fase do ciclo ao início do tratamento, a sincronização de estro ocorreu no 5º dia e a ovulação no 9º ou 10º dia após o término do tratamento (Loy et al., 1981; Almeida, 1999). Os resultados observados nesse experimento revelaram alta variação na freqüência de sincronização de estro nos diferentes grupos experimentais, sendo que a melhor sincronização de cio para os diferentes grupos, ocorreu 8 (D17) e 9 (D18) dias após o término do tratamento. Para o GI apenas 14,3%, grupo II 71,4% e 85,7%, o grupo III 83,7 e 66,7%, o grupo IV 100% e o grupo V 66,7% dos animais estavam em cio em D17 e D18. Esses dados hipotetizam que a aplicação de protocolos que utilizam norgestomet (implante), valerato de estradiol não são eficazes em impedir o desenvolvimento folicular durante o tratamento, já que o esperado era que qualquer folículo (independente do tamanho) sofresse atresia ou tivesse seu diâmetro reduzido e com a retirada desse implante e aplicação de PGF_{2α} ocorresse uma nova onda folicular, sincronizando o estro.

Apesar do alto grau de sincronização de estro para os grupos II, III e IV, apenas o grupo IV apresentou 100% no D15, D16, D17 e D18.

Em relação ao diâmetro do maior folículo (F1) ≥ 30 mm, observou-se 62,5% dos animais para o grupo IV no mesmo momento da sincronização de estro (D17), inferindo que este grupo apresentou sincronização de estro e do desenvolvimento folicular com a possibilidade de utilizar-se indutor de ovulação com expectativa de ovulatória sincronizada, similar ao observado por Almeida (1999).

Como já descrito em estudos anteriores os protocolos com progestágenos apresentam resposta variável, sendo similar ao observado nos diferentes grupos experimentais desse experimento. Com base nessas observações não é difícil imaginar que para um número maior de animais por grupo, os resultados poderiam apresentar melhores índices de sincronização e os resultados seriam mais próximos aos de uma população.

7 Conclusão

1. Os protocolos hormonais utilizados não suprimiram o estro durante o tratamento em éguas da raça Campolina.
2. O implante de norgestomet e a aplicação de valerato de estradiol não foram efetivos em suprimir a atividade folicular durante o tratamento em éguas com folículos ≥ 22 mm.
3. O protocolo hormonal com a combinação de norgestomet, valerato de estradiol e hCG aplicado no dia inicial do tratamento, mostrou-se mais eficiente na sincronização de estro em éguas Campolina.

8 Referências

ADAMS, G.P.; BOSU, T.K. Reproductive physiology of the nonpregnant mare. **Vet. Clin. North Am.**: Equine Practice, v.4, n.2, p.161-75,1988.

ALEXANDER, S.L.; IRVINE, C.H.G.; EVANS, M.J.; TAYLOR, T.B. Control of the onset of the breeding season in the mare, its artificial regulation by progesterone treatment and subsequent effects on the resistance to uterine infections. In: **International Symposium Equine Reproduction**, 1990. Abstract. Deauville, p. 102-103.

ALLEN, W.R.; ROWSON, L.E.A. Control of the mare's oestrous cycle by prostaglandins. **J. Reprod. Fertil.**,v.33, p.539-43, 1973.

ALLEN, W.R.; ROSSDALE, P.D. Preliminary study upon the use of prostaglandine for inducing oestrus in noncycling Thoroughbred mares. **Equine Vet. J.**, v.5, p.137-40, 1973.

ALLEN, W.R.; STEWART, F.; COOPER, M.J.; CROWHURST, R.C.; SIMPSON, D.J.; McENERY, R.J.; GREENWOOD, R.E.S.; ROSSDALE, P.D.; RICKETTS, S.W. Further studies on the use of synthetic prostaglandin analogues for inducing luteolyses in mares. **Equine Vet. J.**, v.6, p.31-5, 1974.

ALLEN, W.R.; URWIN, V.; SIMPSON, D.J.; GREENWOOD, R.E.S.; CROWHURST, R.C.; ELLIS, D.R.; RICKETTS, S.W.; HUNT, M.D.N., WINGFIELD DIGBY, N.J. Preliminary studies on the use of an oral progestogen to induce oestrus and ovulation in seasonally anoestrous Thoroughbred mares. **Equine Vet. J.**, v.12, p.141-145, 1980.

ALMEIDA, H.B. **Sincronização de estro e dinâmica folicular de éguas crioulas submetidas a tratamentos com Norgestomet, Acetato de Melengestrol e Altrenogest.** São Paulo: FMVZ-USP, 1999. 100p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária).

ANDRADE, L.S. **Fisiologia e manejo da reprodução eqüina.** Recife: s.n., 1986. 338p.

ARBERTER, K.; BARTH, U.; JOCHLE, W. Observations on the use of progesterone intravaginally and of deslorelin STI in acyclic mares for induction of ovulation. **J. Equine Vet. Sci.**, v.14, p.21-25, 1994.

ASA, C.S.; ROBINSON, J.A.; GINTHER, O.J. Changes in plasma cortisol concentrations during the ovulatory cycle of the mare. **J. Endocrinol.**, v.99, p.329-334, 1983.

BALL, B.A.; WILKER, C.; DAELS, P.F.; BURNS, P.J. Use of progesterone in microspheres for maintenance of pregnancy in mares. **Am. J. Vet. Res.** V.53, p.1294-1297, 1992.

BAKER, C.B.; KENNEY, R.M. Systematic approach to the diagnosis of the infertile or subfertile mare. In: MORROW (ed) **Current therapy in theriogenology** . W.B. Saunders Co. Phyladelphia. 721-736p. 1980.

BELCHETZ, P. E.; PLANT, T.M.; NAKAI, Y.; KEOGH, E.J.; KNOBIL, E. Hypophysial responses to continuous and intermittent delivery of hypothalamic gonadotropin releasing hormone. **Science**, v.202, p.631-633, 1978.

BERGFELT, D.R. Ovarian follicular wave dynamics in mares. **Arq. Fac. Vet. UFRGS.**; v.26, p.104-124, 1998.

BERGFELT, D.R.; MEIRA, C.; FLEURY, J.J.; CASSOLI, P.D.; DALL'AQUA, J.A.; ADAMS, G. Ovulation synchronization in mares: Follicle ablation versus a progesterone plus estradiol regimen. **Arq. Fac. Vet. UFRGS.**; v.27, p.206, 1999.

BERGEFELT, D.R. Estrous synchronization in mare. In: **Equine breeding management and artificial insemination**. Philadelphia: Saunders, p.195-228, 2000a.

BERGFELT, D.R.; ADAMS, G.P. Ovulation synchrony after follicle ablation in mares. **J. Reprod. Fert. Suppl** 56: p.257-269, 2000b.

BERGFELT, D.R.; GASTAL, E.L.; GINTHER, O.J. Response of estradiol and inhibin to experimentally reduced luteinized hormone during follicle deviation in mares. Biol. Reprod., 2001.

BERGFELT, D.R.; OIERSON, R.A.; GINTHER, O.J. Regression and resurgence of the CL following PGF_{2α} treatment 3 days after ovulation in mares. **Theriogenology**, v.65, n.8, p.1605-1619, 2006.

BLANCHARD, T.L.; VARNER, D.D.; BURNS, P.J.; EVERETT, K.A.; BRINSKO, S.P.; BOEHNKE, L. Regulation of estrus and ovulation in cyclic mares with progesterone or progesterone plus estradiol biodegradable microspheres with or without PGF_{2α}. **Theriogenology**, v.38, p.1091-1106, 1992

BLANCHARD, T.L.; VARNER, D.D.; SCHUMACHER, J. Reproductive physiology of the nonpregnant mare. In: Blanchard TL. Varner DD, Schumacher J. (Ed). **Manual of Equine Reproduction Mosby -Year Book**, Inc. 1998, p 10-13.

BODENSTEINER, K.J.; WILTBANK, M.C.; BERGFELT, D.R.; GINTHER, O.J. Alterations in follicular estradiol and gonadotropin receptors during development of bovine antral follicles. **Theriogenology**, v. 45, p. 499-512, 1996.

BRINGEL, B.A.; JACOB, J.C.F.; ZIMMERMAN, M.; ALVARENGA, M.A.; DOUGLAS, R.H. Biorelease progesterone LA150 and its application to overcome effects of premature luteolysis on progesterone levels in mares. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v.27, p.498-500, 2003.

BRISTOL, F. Studies on estrous synchronization in mares. **Theriogenology**, p. 258-264, 1981.

BRISTOL, F. Synchronization of ovulation. In: McKinnon AO, Voss JL, editors. **Equine Reproduction**. Baltimore: Williams and Wilkins; 1993. p. 348–352.

BRUEMMER, J.E.; COY, R.C.; OLSON, A.; SQUIRES, E.L. Efficacy of altrenogest administration to postpone ovulation and subsequent fertility in mares. **Equine Vet. J.**, v.20, n.7, p.450-453, 2000.

BURATINI, JR. J. Avaliação da dinâmica folicular em éguas da raça Mangalarga Marchador utilizando a ultrasonografia e as concentrações plasmáticas de Progesterona e hormônio luteinizante, 1997. **Dissertação (mestrado), Universidade Estadual Paulista UNESP – Botucatu**.

BURNS, P.J.; DOUGLAS R.H. Effects of daily administration of estradiol-17 β on follicular growth, ovulation, and plasma hormones in mares. **Biol. Reprod.**, v. 24, p. 1026-1031, 1981.

BURNS, P.J.; FOSS, R.; SARVER, F.; WOODS, J.A.; SISSENER, T.R.; HEITLAND, A.V.; WILHELM, K.; FARIN, M.E.; SQUIRES, E.L. Control of estrus and ovulation in mares using progesterone and estradiol microspheres in a multicentered trial. In: **Proc. 16th Equine Nutr, Physio. Symp.**, v.117, p.194-199, 1999.

BURNS, P.J.; SIMON, B.W.; GILLEY, R.; VANDERWALL, D.K.; WOODS, G.; SQUIRES, E.L. Development of new hormonal therapies for mares. In: **Proc. Ann. Meet. Soc. Therio.**, p.197- 209, 2000, Santo Antonio.

CALDAS, M.C.S.; OLIVEIRA, F.R.A.P.; SILVA, R.A.A.M. Chronobiological characterization of the first estrous cycle in Brasileiro de Hipismo mares during the postpartum period. **Theriogenology**, v.42, p.803-813, 1994.

CARNEVALE, E. M. Age and pasture effects on vernal transition in mares. **Theriogenology**, v.47, p.1009-1018, 1997.

COSTA, W.P.; ALBUQUERQUE, J.F.G.; MOURA, C.E.B.; PEREIRA, H.M.; CARVALHO, R.C.; RESENDE, H.R.A.; JÁCOME, C.G.M.; SOUZA, J.A.T. Sincronização, indução ao estro e à ovulação em éguas Quarto-de-milha atletas (*Equus caballus*) no Nordeste brasileiro. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v.27, p.502-504, 2003.

CROWDER, M.E.; HERRING, R.D.; NETT, T.M. Rapid recovery of gonadotroph function after down-regulation of receptors for GnRH in ewes. **J. Reprod. Fertil.**, v.78, p.577-585, 1986.

DAELS, P.F.; HUGS, J.P. The normal oestrous cycle. In: Equine reproduction. Eds. A.O. McKinnon and J.L. Voss. Philadelphia, Lea and Febiger. p. 121-133, 1993.

DAELS, P.F. The spring-transition: diagnosis and management. CONGRESSO NAZIONALE MULTISALA SIVE, Domenica. **Proceedings**. V.10, p.12-15, 2004.

DAELS, P.F. Management of spring transition. In: AAEP Annual Resort Symposium, 8th, 2006, Rome, Italy. Proceedings... Rome, Italy: **American Association of Equine Practitioners**, January 19-21.

DIMMICK, M.A.; GIMENEZ, T.; SCHILAGER, R.L. Ovarian follicular dynamics and duration of estrus and diestrus in Arabian v.s. Quarter Horse mares. **Anim. Reprod. Sci.**, v.31, p.123-129, 1993.

DONADEU, F.X.; GINTHER, O.J. Interactions of follicular factors and season in the regulation of circulating concentrations of gonadotrophins in mares. **Reproduction**, v.125, n.7, p.743 - 750, 2003.

DOUGLAS, R.H. Mare management. **Equine Vet.**, v.5, p. 81, 1984..

EMEA – Agência Europeia de Medicamentos. [http:// www.emea.eu.int](http://www.emea.eu.int). 1999. Acesso em: 10/ago/2006.

EVANS, M.J.; IRVINE, C.H.G. Serum concentrations of FSH, LH and progesterone during the estrous cycle and pregnancy in the mare. **J. Reprod. Fert. Suppl.**, 23, p.293, 1975.

EVANS, M. J.; LOY, R.G.; TAYLOR, T.B.; BARROWS, S.P. Effects of exogenous steroids on serum FSH and LH, and on follicular development in cyclic mares. **J. Reprod. Fert.**, Suppl.32, p.205-212, 1982.

FAO – Food and Agriculture Organization. <http://www.fao.org>. 2005. Acesso em 10/ago/2006.

FATHALLA, M.; YOUNIS, L.; JAWAD, N. Progesterone concentration and ovascan reading during the estrous cycle in Arabian mares. **J. Equine Vet. Sci.**, v.8, n.4, p.326-328, 1988.

FITZGERALD, B.P.; AFFLECK, K.J.; BARROWS, S.P.; MURDOCH, W.L.; BARKER, K.B.; LOY, R.G. Changes in LH pulse frequency and amplitude in intact mares during the transition into the breeding season. **J. Reprod. Fertil.**, v.79, p.485-493, 1987.

FITZGERALD, B.P.; PETERSON, K.D.; SILVIA, P.J. Effect of constant administration of a gonadotropin-releasing hormone agonist on reproductive activity in mares: Preliminary evidence on suppression of ovulation during the breeding season. **Am. J. Vet. Res.**, v.54, p.1746-1751, 1993.

FITZGERALD, B.P.; McMANUS, C.J. Photoperiodic versus metabolic signals as determinants of seasonal anestrus in the mare. **Biol. Reprod.**, v.63, p.335-340, 2000.

FLEURY, J.J.; NETO, C.J.B.; BURNS P.J. Regulation of estrus and ovulation with progesterone and estradiol microspheres: effect of different doses of estradiol. **J. Equine Vet Sci.**, v.13, p.525- 528, 1993.

FOGLIA, M.A.; MCCUE, P.M.; SQUIRES, E.L.; JOCHLE, W. Stimulation of follicular development in transitional mares using a progesterone vaginal insert (CIDR-B®). In: **Proc. Ann. Meet Soc. Therio.**, v.33, 1999, Nashville.

FRASER, H. M. Luteinizing hormone-releasing hormone and fertility control. **Reprod. Biol.**, v.3, p.1-48, 1981.

GARCIA, M.C.; GINTHER, O.J. Regulation of plasma LH by estradiol and progesterone in ovariectomized mares. **Biol. Reprod.**, v.19, p.447-453, 1978..

GASTAL, E.L.; GASTAL, M.O.; BERGFELT, D.R.; GINTHER, O.J. Role of diameter differences among follicles in selection of a future dominant follicle in mares. **Biol. Reprod.**, v.57, p.1320-1327, 1997.

GASTAL, E.L.; GASTAL, M.O.; GINTHER, O.J. Experimental assumption of dominance by a smaller follicle and associated hormonal changes in mares. **Biol. Reprod.**, v.61, p.724-730, 1999.

GASTAL, E.L.; GASTAL, M.O.; NOGUEIRA, G.P.; BERGFELT, D.R.; GINTHER, O.J. Temporal interrelationships among luteolysis, FSH and LH concentrations and follicle deviation in mares. **Theriogenology**, v.53, p.925-940, 2000.

GENTRY, L.R.; THOMPSON Jr.; D.L., GENTRY Jr.; G.T., DAVIS, K.A.; GODKE, R.A.; CARTMILL, J.A. The relationship between body condition, leptin, and reproductive and hormonal characteristics of mares during the seasonal anovulatory period. **J. Anim. Sci.**, v.80, n.10, p.2695-2703, 2002.

GINTHER, O.J. **Reproductive Biology of the Mare**: basic and applied aspects. 5.ed. Ann Arbor: McNaughton and Gunn, p.315-323, 1979.

GINTHER, O.J. Relationships among number of days between multiple ovulations, number of embryos, and type of embryos fixation in mares. **J. Equine Vet. Sci.**, v.7, p.82-88, 1987.

GINTHER, O.J. **Reproductive biology of the Mare**: basic and applied aspects. 2.ed. Wisconsin: Equiservices, Cross Plains, p.640, 1992.

GINTHER, O.J. Major and minor follicular waves during the equine estrous cycle. **J. Equine Vet. Sci.**, v.13, p.18-25, 1993.

GINTHER, O.J. Ultrasonic Imaging and Animal Reproduction: **Horses**; Book 2. Cross Plains WI, Equiservices. p.394, 1995.

GINTHER, O.J. Selection of the dominant follicle in cattle and horses. **Anim. Reprod. Sci.**, v.60-61, p.61-79, 2000a.

GINTHER, O.J.; GASTAL, E.L.; GASTAL, M.O.; BEG, M.A. Seasonal influence on equine follicle dynamics. **Anim. Reprod.**, v.1, n.1, p.31-44, 2000b.

- GINTHER, O.J.; GASTAL, E.L.; GASTAL, M.O.; BERGFELT, D.R.; BAERWALD, A.R.; PIERSON, R.A. Comparative study of the dynamics of follicular waves in the mares and women. **Biol. Reprod.**, v.71, p.1195-1201, 2004.
- GUERIN, M. V.; WANG, X. J. Environmental temperature has an influence on timing of the first ovulation of seasonal estrus in the mare. **Theriogenology**, v.45, p.1457-1462, 1994.
- HAFEZ, E.S.E., HAFEZ, B. **Reprodução animal**. São Paulo: Manole, 7 ed., 2004.
- GUSMÃO, A.L.; NOGUEIRA, C.E.W.; ESQUERRE, R.A.; RUBIN, M.I.B.; SILVA, C.A.M. Indução de cio em éguas Puro Sangue de Corrida através da aplicação do Dinoprost Trometamina. **Rev. Bras. Reprod. An.**, v.11, n.3, p. 113-117, 1987.
- HART, P.J.; SQUIRES, E.L.; IMEL, K.J.; NETT, T.M. Seasonal variation in the hypothalamic content of gonadotrophin-releasing hormone (GnRH), pituitary receptors for GnRH and pituitary content of luteinizing hormone and follicle-stimulation hormone in the mare. **Biol. Reprod.**, v.30, p.1055-1062, 1984.
- HARRISON, L.A.; SQUIRES, E.L.; MCKINNON. Comparison of hCG, buserelin, and luprostiol for induction of ovulation in cycling mares. **J. Equine Vet. Sci.**, v.11, p.163-166, 1991.
- HAWKINS, D.L.; NEELY, D.P.; STABENFELDT, G.H. Plasma progesterone concentrations derived from the administration of exogenous progesterone to ovariectomized mares. **J. Reprod. Fert.**, suppl. 27, p. 211-216, 1979.
- HEBER, D.; SWERDLOFF, R. S. Down-regulation of pituitary gonadotropin secretion in postmenopausal females by continuous gonadotropin-releasing hormone administration. **J. Clin. Endocrinol. & Metab.**, v.52, p.171-172, 1981.
- HOLTAN, D.W.; DOUGLAS, R.H.; GINTER, O.J. Estrus, ovulation and conception following synchronization with progesterone, prostaglandin F_{2α} and human gonadotropin in pony mares. **J. An. Sc.**, v.44, n.3, p.431-437, 1977.
- HUGHES, J.P.; STABENFELDT, G.H.; EVANS, J.W. The estrus cycle and selected functional and pathologic ovarian abnormalities in the mare. **Vet. Clin. North Am. (Large Animal Pract.)** v.2, p.225-239, 1980.
- HUGHES, J.P.; STABENFELDT, G.H.; EVANS, J.W. Clinical and endocrine aspects of the estrous cycle of the mare. In: **Proc. Ann. Conv. Of Am. Assn. of Equine Practitioners**, San Francisco, Proceeding, San Francisco, p.199-148, 1972.
- HYLAND, J.H.; BRISTOL, F. Synchronization of oestrus and timed insemination in mares. **J. Reprod. Fertil.**, (Suppl. 27), p. 251-255, 1979.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. <http://www.ibge.gov.br/tabela/>. 2002. Acesso em 10/ago/2006.

- IMEL, K.J.; SQUIRES, E.L.; ELSDEN, R.P.; SHIDELER, R.K. Collection and transfer of equine embryos. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 179, p. 987-991, 1981.
- IRVINE, C.H.G. Gonadotropin-releasing hormone. **J. Equine Vet. Sci.**, v.3, p.168-170, 1983.
- IRVINE, C.H.G. GnRH clinical application. In: **Equine Reproduction**. A. McKinnon and J. Voss, ed. Williams & Wilkins, Media, PA., p.329, 1993.
- IRVINE, C.H.G.; ALEXANDER, S.L. GnRH. In: **Equine Reproduction**. Malvern: Lea & Febiger, p.37-44, 1993.
- JAMES, A.N.; VOGELSANG, M.M.; FORREST, D.W.; STOTT, G.G. Efficacy of short term administration of altrenogest to postpone ovulation in mares. **J. Equine Vet. Sci.**, v.18, p.329-331, 1997.
- KARSCH F.J. Neuroendocrine control of LH secretion during the estrous cycle of the sheep. **10th Int. Cong. Na. Reprod. Al. Urbana**, v.10, n.4, p.10, 1984.
- KILICARSLAN, M.R.; HOROZ, H.; SENUNVER, A.; KONUK, S.C.; TEK, C.; CARIOGLU, B. Effect of GnRH and hCG on ovulation and pregnancy in mares. **Vet. Rec.**, n.139, p. 119-120, 1996.
- LINDEBERG, H.; KUNTSI, H.V.; KATILA, T. Predicting ovulation in the mare. In: **International Congress On Animal Reproduction**, Netherlands. Free communications. v.4, p.144-146, 1992.
- LOFSTEDT, R.M. Control of the estrous cycle in the mare. **Vet. Clin. North Am.: Equine Pract.**, v.4, p.177-196, 1988.
- LOFSTEDT, R.M.; PATEL, J.H. Evaluation of the ability of altrenogest to control the equine estrous cycle. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** v.194, p.361-364, 1989.
- LOY, R.G.; SWAN, S.M. Effects of exogenous progesterone on reproductive phenomena in mares. **J. Anim. Sci.**, n. 25, p.821-826, 1966.
- LOY, R.G.; BUEL, J.R.; STEVENSON, W.; HAMM, D. Sources of variation in reponse intervals after prostaglandin treatment in mares with functional corpora lútea. **J. Reprod. Fertil.**, (suppl. 27), p.229-235, 1979.
- LOY, R.G.; PEMSTEIN, R.; O'CANNA, D.Y.R.; DOUGLAS, H. Control Ovulation in cycling mares with ovarian steroids and prostaglandin. **Theriogenology**, V.15, P.191- 199, 1981.
- LOY, R.G.; EVANS, M.J.; PEMSTEIN, R.; TAYLOR, T.B. Effects of injected ovarian steroids on reproductive patterns & performance in post- partum mares. **J. Reprod. Fertil.**, Supp 32, p.199-204, 1982.

- MADUREIRA, E. H.; BARBUIO, J. P.; ARRUDA, R. P.; BERTAN, C. M.; MIZUTA, K.; BRAZZACH, M. L.; BARNABÉ, R. C.; RODRIGUES, P. H. M. Sincronização do estro em fêmeas bovinas com o uso de Acetato de Melengestrol (MGA) associado à prostaglandina F_{2a} e ao 17b-estradiol. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v.21, n.2, p. 94-97, 1997.
- MAHESH, V.B.; BRANN, D.W. Neuroendocrine mechanisms underlying the control of gonadotropin secretion by steroids. **Steroids**, v.63, p.252-256, 1998.
- MARTINS, J.C.; KLUG, E.; MERKT, H.; HIMMLER, V.; JOCHLE, W. Luteolysis and cycle synchronization with a new prostaglandin analog for artificial insemination in the mare. **Theriogenology**, v.16, p.433-446, 1981.
- McCUE, P.M.; LEMONS, S.S.; SQUIRES, E.L.; VANDERWAL, D.K. Efficacy of Synovex-S® implants in suppression of estrus in the mare. **J. Eq. Vet. Sci.**; v.17, p.327-329, 1997.
- McCUE, P.M. Estrus suppression in performance horses. **J. Equine Vet. Sci.**, v.23, n.8, p.342-344, 2003.
- McCUE, P.; HUDSON, J.J.; BRUEMMER, J.E.; SQUIRES, E.L. Efficacy of hCG at inducing ovulation: A new look at an old issue. **50th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners**, p.1492-1507, 2004.
- MCKINNON, A.O.; VOSS, J.L. The estrous cycle. In: Mckinnon, **Equine Reproduction**, Malvern: Lea & Febizer, 1993. p.114-189.
- MEINART, C.; SILVA, J.F.S.; KROETZ, I.; KLUG, E.; TRIGG, T.E.; HOPPEN, H.O. Advancing the time of ovulation in the mare with a short term implant releasing the GnRH analogue deslorelin. **Equine Vet. J.**, v.25, p.65-68, 1993.
- MEYERS, P.J.; Control and synchronization of the estrous cycle and ovulation. In: Youngquist, WB (Ed.) **Current Therapy in Large Animal Theriogenology**, Saunders, Philadelphia, 1997. p 96-102.
- MUNRO, C.D.; RENTON, J.P.; BUTCHIR, R. The control of oestrus behaviour in the mare. **J. Reprod. Fertil.**, Suppl.27, p.217-227, 1979.
- NAGY, P; HUSZENICZA, GY; JUHÁSZ, J; KULCSÁR, M; SOLTI, L; REICZIGEL, J; ABAVÁRY, K. Factors influencing ovarian activity and sexual behavior of postpartum mares under farm conditions. **Theriogenology**, v.50, p.1109-1119, 1998.
- NAGY, P.; GUILLAUME, D.; DAELS, P. Seasonality in mares. **Anim. Reprod. Sci.**, v.60/61, p.245-262, 2000.
- NEELY, D. P.; KINDAHL, H.; STABENFELDT, G. H.; EDQVIST, L. E.; HUGHES, J.P. Prostaglandin release patterns in the mares. Physiological, pathophysiological and therapeutic responses. **J. Reprod. Fertil.**, Supplem.27, p.181-189, 1979.

NEELY, D.P.; KIU, I.K.M.; HILLMAN, R.B. Endocrinología reproductiva y fertilidad en la yegua. **Reproduccion equina**, Buenos Aires, Hemisferio Sul, p. 1-25, 1989.

NELSON, E.M.; KIEFER, B.L.; ROSER, J.F. Serum estradiol 17β concentrations during spontaneous silent estrus and after prostaglandins treatment in the mare. **Theriogenology**, v.23, p.241-62, 1985.

NEQUIN, L.G.; KING, S.S.; MATT, K.S.; JURAK, R.C. The influence of photoperiod on gonadotrophin-releasing hormone stimulated luteinising hormone release in the anoestrous mare. **Equine Vet. J.**, v.22, p.356-358, 1989.

NETT, T.M.; CROWDER, M.E.; MOSS, G.E.; DUELLO, T.M. GnRH-receptor interaction. V. Down-regulation of pituitary receptors for GnRH in ovariectomized ewes by infusion of homologous hormone. **Biol. Reprod.**, v.24, p.1145-1155, 1981.

OSBORNE, V.E. Analisis of the pattern of ovulation as it occurs in the manual reproductive cycle of the mare in Australia. **Aust. Vet. J.**, v.42, n.5, p.149-154, 1966.

OXENDER, W.D.; NODEN, P.A.; BOLENBAUGH, D.L.; HAFS, H.D. Control of estrus with prostaglandin $F_{2\alpha}$ in mares: minimal effective dose and stage of estrous cycle. **Am. J. Vet. Res**, v.36, n.8, p.1145-1147, 1975.

OYEDIJI, G.O.; AKUSU, M.O.; EGBUNIKE, G.N. Comparative studies on the effectiveness of sil-estrus implants, Veramix sheep sponges and prostaglandin $F_{2\alpha}$ in the synchronizing estrus in West African Dwarf sheep. **Theriogenology**, v.34, n.3, p.613-618, 1990.

PALMER, E. Reproductive management of mares without detection of oestrus. **J. Reprod. Fertil.**, suppl. 27, p.263-70, 1979.

PALMER, E.; JOUSSET, B. Synchronization of oestrus in mares with a prostaglandin analogue and hCG. **J. Reprod. Fertil.**, v. 23, p. 269-274, 1975.

PALMER, E.; QUELLIER, P. Uses of LHRH and analogues in the mare. In: Proc. 5th Internatl. Cong. Anim. Reprod. Artif. Insem., Dublin, Irlanda. P.339-346, 1988.

PALMER, E. Induction of ovulation. In: McKinnon, A.O. & Voss, J.L. **Equine Reproduction**. Malvern: Lea & Febiger, p.344-347, 1993.

PIERSON, R.A.; GINTHER, O.J. Follicular population dynamics during the estrous cycle of the mare. **Anim. Reprod. Sci.**, v.14, p.219-231, 1987.

PRYOR, P.; TIBARY, A. Management of estrus in the performance mare. **Clin. Tech. Equine Pract.**, v.4, p.197-209, 2005.

ROBERTS, S.J.; BEAVER, B.V. The use of progestins for aggressive and for hypersexual horses. In: Robinson NE ed. **Current Therapy in Equine Medicine**. Philadelphia, P.A., Saunders, 1987. p.129-130.

RUTTEN, D.R.; CHAFFAUX, S.; VALON, M.; DELETANG, F.; DE HAAS, V. Progesterone therapy in mares with abnormal oestrus cycles. **Vet. Rec.**, v.119, p. 569-571, 1986.

SAFIR, J.M.; LOY, R.G.; FITZGERALD, B.P. Inhibition of ovulation in the mare by active immunization against GnRH. **J. Reprod. Fertil.**, suppl.35, p.229-237, 1987.

SAGRILLO, C.A.; GRATTAN, D.R.; MCCARTHY, M.M.; SELMANOFF, M. Hormonal and neurotransmitter regulation of GnRH gene expression and related reproductive behaviors. **Behav. Genet.**, v.26, p.241-277, 1996.

SANDOW, J. The regulation of GnRH action at the pituitary and gonadal receptor level: A review. **Psychoneuroendocrinology**, v.8, p.277-297, 1983.

SAMPER, J.C. Ultrasonographic appearance and the pattern of uterine edema to time ovulation in mares, **AAEP PROCEEDINGS**, v.43, p.189-191, 1997.

SAMPER J.C. Artificial Insemination. In: Samper J.C. (Ed) **Equine breeding management and artificial insemination**. Saunders Company; Philadelphia., p. 109-1131, 2000.

SEONG, J.Y.; KANG, S.S.; KAM, K.; HAN, Y.G.; KWON, H.B.; RYU, K.; KIM, K. Differential regulation of gonadotropin releasing hormone (GnRH) receptor expression in the posterior mediobasal hypothalamus by steroid hormones: implication of GnRH neuronal activity. **Brain Res. Mol. Brain Res.**, v.53, p.226-235, 1998.

SHARP, D.C. Environmental influences on reproduction in horses. **Vet. Clin. N. Am.**, v.2, p.207-223, 1980.

SHARP, D.C. Transition into the breeding season: values to the mechanisms of seasonality. **Equine Vet. J.**, v.20, p.159-161, 1988.

SILVIA, C.A.M.; KLUG, E.; MARTIN, J.C.; SCHONS, J.A.B.; MORGADO, J. Utilização de um análogo da PGF_{2α} para a indução do cio na égua. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v.3, p.17-21, 1980.

SILVIA P.J.; SQUIRES, E.L.; NETT, T.M. Pituitary responsiveness of mares challenged with GnRH at various stages of the transition into the breeding season. **J. Anim. Sci.**, v.64, p.790-796, 1987.

SIROIS, J.; BALL, B.A.; FORTUNE, J.E. Patterns of growth and regression of ovarian follicles during the estrous cycle and after hemiovariectomy in mares. **Equine Vet. J.**, suppl. 8, p.43-48, 1989.

SPINOSA, H.S.; GÓRNIAC, S.L.; BERNARDI, M.M. **Farmacologia aplicada à Medicina Veterinária**. 2 ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. p.640-646.

SQUIRES, E.L.; WALLACE, R.A.; VOSS, J.L.; PICKETT, B.W.; SHIDELER, R.K. The effectiveness of PGF_{2a}, HCG and GnRH for appointment breeding of mares. **J. Equine Vet. Sci.**, v.1, p.5-9, 1981.

SQUIRES, E.L.; COOK, V.M.; VOSS, J.L. Collection and transfer of equine embryos. **Bull. Anim. Reprod.**, Lab.1, p.1-37, 1985.

SQUIRES, E.L.; GARCIA, R.H.; GINTHER, O.J.; VOSS, J.L.; SEIDEL, G.E. Comparasion of equine pituitary extract and follicle stimulating hormone to superovulating mares. **Theriogenology**, v.26, p.661-670, 1986.

SQUIRES, E.L.; MARTIN J.M.; JASKO D.J. Reproductive response of mares after treatment with progestagens with and without the addition of estradiol. **J. Eq. Vet. Sci.**, v.12, p.28-32, 1992a.

SQUIRES, E.L.; COHEN, D.R.; FARLIN, M.E.; MORAN, D.M.; JASKO, D.J. Effect of frequency of prostaglandin F_{2α} injection on induction of estrus in mares. **Equine Practice**, v.26, p.11-12, 1992b.

STABENFELDT, G.H.; HUGHES, J.P.; EVANS, J.W. Ovarian activity during the estrus cycles of the mare. **Endocrinology**, v. 90, p.1379-1383, 1972.

SULLIVAN, J.J.; PARKER, W.G.; LARSON, L.L. Duration of estrus and ovulation time in non-lactating mares given human chorionic gonadotropin during three successive estrous periods. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.162, p.895-898, 1973.

TAROUCO, A. K.; PIMENTEL, C.A.; HAMMES A.M. Estacionalidade reprodutiva de éguas abatidas em Pelotas-RS. **Arq. Fac. Vet. UFRGS**, v.23, p.26-42, 1995.

TAYLOR, T.B.; PEMSTEIN, R.; LOY, R.G. Control of ovulation in mares in the early breeding season with ovarian steroids and prostaglandin. **J. Reprod. Fertil.**, suppl.32, p.219-224, 1982.

TOWNSON, D.H.; GINTHER, O.J. Size and shape changes in the preovulatory follicle in mares based on digital analysis of ultrasonic images. **Anim. Reprod. Sci.**, v.21, p.63-71, 1989.

TURNER, D.D.; GARCIA, M.C.; WEBEL, S.K.; GINTHER, O.J. Influence of follicular size on the response of mares to allyl trenbolone given before the onset of the ovulatory season. **Theriogenology**, v.16, p.73-84, 1981.

VAN NIEKERK C.H.; MORGENTHAL, J.C.; GERNEKE, W.H. Relationship between the morphology of and progesterone production by the corpus luteum of the mare. **J. Reprod. Fertil.**, Suppl. 23, p.171-175, 1975.

VERONESI, M.C.; BATTOCHIO, M.; FAUSTINI, M.; GANDINI, M.; CAIROLI, F. Relationship between pharmacological induction of estrous and/or ovulation and twin pregnancy in the Thoroughbred mares. **Dom. Anim. Endocrinol.**, v.25, p.133-140, 2003.

- VIVO, R.; SANTISTEBAN, R.; TOVAR, P.; CASTEJON, M.F. Duracion del período estral en yeguas arabes y españolas. **Archivos de Zootecnia**, v.34, n.128, p.67-73, 1985.
- VOSS, J.L.; SULLIVAN, J.J.; PICKETT, B.W.; PARKER, W.G.; BURWASH, L.D.; LARSON, L.L The effect of hCG on duration of estrus, ovulation time and fertility in mares. *J. Reprod. Fert.*, n.23, p.297-301, 1975.
- VOSS, J.L.; WALLACE, R.A.; SQUIRES, E.L.; PICKETT, B.W.; SHIDELER, R.K. Effects of synchronization and frequency of insemination on fertility. **J. Reprod. Fertil.**, Suppl 27, p.257-261, 1979.
- VOSS, J.L. Human Chorionic Gonadotropin. In: **Equine Reproduction**. A. McKinnon and J. Voss, ed. Williams & Wilkins, Media, PA., p.325, 1993.
- WATSON, E.D.; AL-ZI'ABI, M.O. Characterisation of morphology and angiogenesis in follicles of mares during spring transition and the breeding season. **Reproduction**, v.124, p. 227-234, 2002.
- WEBB, R.; CAMPBELL, B.K.; GARVERICK, H.A.; GONG, J.G.; GUTIERREZ, C.G.; ARMSTRONG, D.G. Molecular mechanisms regulating follicular recruitment and selection. **J. Reprod. Fertil.**, suppl.54, p.33-48, 1999.
- WEBEL, S.K.; SQUIRES, E.L. Control of the oestrous cycle in mares with altrenogest. **J. Reprod. Fertil.**, suppl. 32, p.193-198, 1982.
- WIEPZ, G.J.; SQUIRES, E.L.; CHAPMAN, P.L. Effects of norgestomet, altrenogest, and/or estradiol on follicular and hormonal characteristics of late transitional mares. **Theriogenology**, v.30, p.181-193, 1988.
- WILDE, O.R.; VEGA. A.C.; CRUZ, M.L. Uso de un dispositivo intravaginal para el control del estro en yeguas. **Zootecnia Trop.**, v.20, p.483-492, 2002.
- WILSON, C.G.; DOWNIE, C.R.; HUGHES, J.P.; ROSER, J.F. Effect of repeated hCG injections reproductive efficiency in mares. **J. Equine Vet. Sci.**, v.10 (supl. 4), p.301-308, 1990.
- WILTBANK, J.N.; GONZALES-PADILLA, E. Synchronization and induction of estrus in heifers with a progestagen and estrogen. *Ann. Biol. Animal Biochem. Biophys.*, v.15, 1975.
- WOODLEY S.L.; BURNS, P.J.; DOUGLAS, R.H. Prolonged interovulatory intervals after oestradiol treatment in mares. **J. Reprod. Fert.**, Suppl., 27, p.205, 1979.
- WOODS, G.L.; BERGEFELY, D.R.; GINTHER, O.J. Effects of time of insemination relative to ovulation on pregnancy rate and embryonic-loss rate in mares. **Eq. Vet. J.**, n.6, p.410-415, 1990.

YURDAYDIN, N.; TEKIN, N.; GULYUZ, F.; AKSU, A.; KLUG, E. Estrus synchronization and insemination results in Arabian mares in the Eskisehir stud. **DTW Dtsch Tierarzti Wochenschr**, v.100, n.11, p.432-434, 1993.

ZILBERSTEIN, M.; ZAKUT, H.; NAOR, Z. Coincidence of down-regulation and desensitization in pituitary gonadotrophs stimulated by gonadotropin releasing hormone. **Life Science**, v.32, p.663-669, 1983.

TABELA 1 – Distribuição das éguas (%) dos cinco grupos experimentais (GI a G5) em função do padrão de diâmetro folicular ao início do tratamento (D0).

Diâmetro Folicular Mm	Percentual de éguas em cada grupo				
	GI (n=10)	GII (n=10)	GIII (n=10)	GIV (n=8)	GV (n=8)
10-20	50 (5/10)	60 (6/10)	50 (5/10)	25 (2/8)	75 (6/8)
21-30	20 (2/10)	20 (2/10)	10 (1/10)	0 (0/8)	12,5 (1/8)
≥31	30 (3/10)	20 (2/10)	40 (4/10)	37,5 (3/8)	12,5 (1/8)

* (n° de éguas na faixa de diâmetro folicular / total de éguas do grupo)

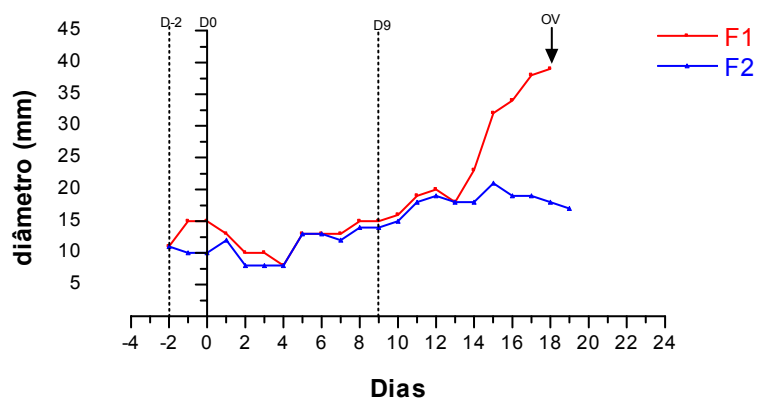


Figura 2: Padrão do desenvolvimento folicular do F1 (folículo dominante) e F2 (segundo maior folículo) de D-2 a OV da égua 8 no grupo experimental GI.

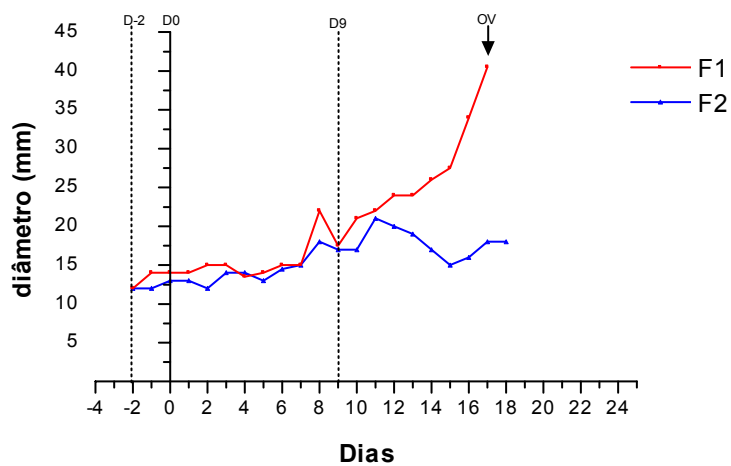


Figura 3: Padrão do desenvolvimento folicular do F1 (folículo dominante) e F2 (segundo maior folículo) de D-2 a OV da égua 14 no grupo experimental GII.

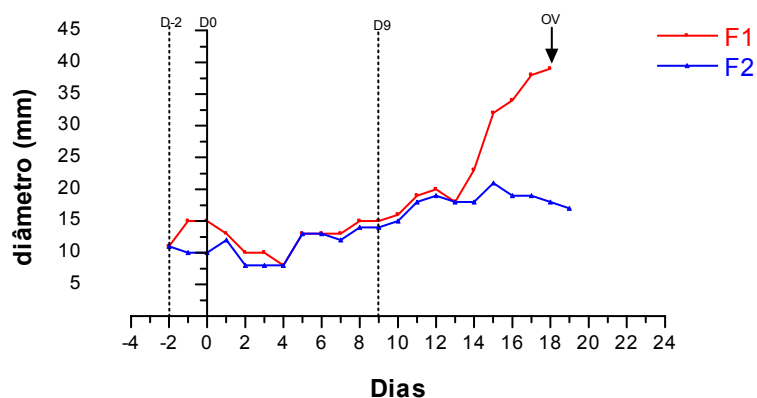


Figura 4: Padrão do desenvolvimento folicular do F1 (folículo dominante) e F2 (segundo maior folículo) de D-2 a da égua 27 no grupo experimental GIII.

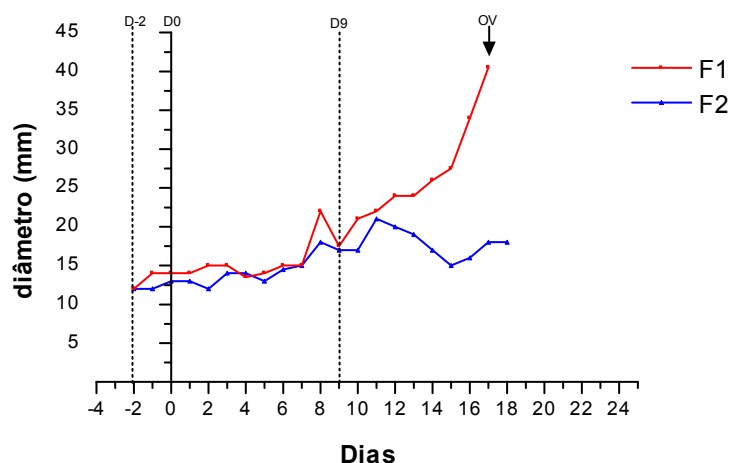


Figura 5: Padrão do desenvolvimento folicular do F1 (folículo dominante) e F2 (segundo maior folículo) de D-2 a OV da égua 35 no grupo experimental GIV.

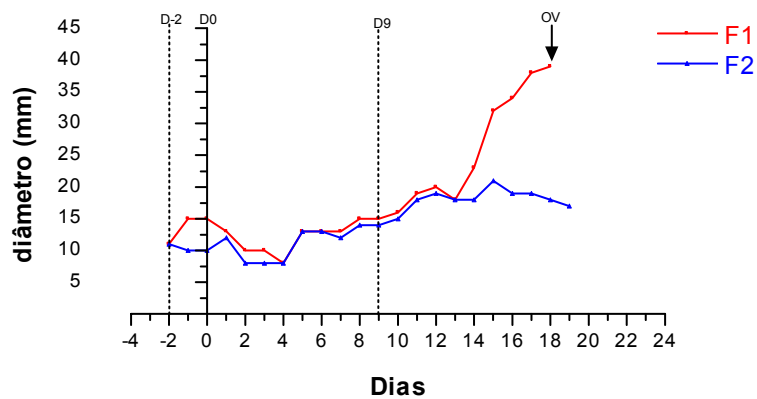


Figura 6: Padrão do desenvolvimento folicular do F1 (folículo dominante) e F2 (segundo maior folículo) de D-2 a OV da égua 42 no grupo experimental GV.