

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

**UTILIZAÇÃO DO IMPLANTE DE PROGESTERONA
INTRA-VAGINAL E ACETATO DE DESLORELINA EM
ÉGUAS ACÍCLICAS ASSOCIADOS OU NÃO A LUZ
ARTIFICIAL PARA O CONTROLE DA SAZONALIDADE
REPRODUTIVA**

CARLOS GUILHERME DE CASTRO SCHUTZER

Botucatu - SP
Janeiro 2012

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

**UTILIZAÇÃO DO IMPLANTE DE PROGESTERONA
INTRA-VAGINAL E ACETATO DE DESLORELINA EM
ÉGUAS ACÍCLICAS ASSOCIADOS OU NÃO A LUZ
ARTIFICIAL PARA O CONTROLE DA SAZONALIDADE
REPRODUTIVA**

CARLOS GUILHERME DE CASTRO SCHUTZER

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

Orientador: Professor Adjunto Dr. Marco Antônio Alvarenga

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO DE AQUIS. E TRAT. DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: **ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE**

Schutzer, Carlos Guilherme de Castro.

Utilização do implante de progesterona intra-vaginal e acetato de deslorelina em éguas acíclicas associados ou não a luz artificial para o controle da sazonalidade reprodutiva / Carlos Guilherme de Castro Schutzer. – Botucatu : [s.n.], 2012

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

Orientador: Marco Antônio Alvarenga

Capes: 50504002

1. Égua – Reprodução. 2. Progesterona. 3. Estro. 4. Hormônios gestacionais.

Palavras-chave: Anestro; Éguas; GnRH; Progesterona; Sazonalidade; Transição.

COMISSÃO EXAMINADORA

Botucatu, 25 de Janeiro de 2012.

Prof. Dr. Adj. Marco Antônio Alvarenga

Prof. Dr. José Antônio Dell'Aqua Júnior

Prof. Dr. Marcio Teoro do Carmo

AGRADECIMENTOS

À Deus, por nos proteger, iluminar e guiar no caminho correto, nos dando força e vontade de vencer e alcançar nossos objetivos.

A toda minha família pelo incentivo, compreensão pelos momentos de ausência e pelo apoio nas horas mais difíceis.

Ao meu orientador e amigo, Prof. Dr. Marco Antônio Alvarenga, pela oportunidade, confiança e ensinamentos durante a realização do Mestrado.

A todos amigos e colaboradores, em especial aos amigos e Médicos Veterinários, Hélène Lacerda de Resende, Márcio Teoro do Carmo e Renato Rezende Bergqvist por estarem sempre presentes e dispostos a ajudar.

Ao Médico Veterinário e amigo José Antônio Dell'Aqua Júnior pelo auxílio na avaliação estatística dos dados.

A todos os funcionários, Veterinários e estagiários da Embrio-Equi que colaboraram direta ou indiretamente na execução deste trabalho.

Aos docentes, colegas pós-graduandos e funcionários do Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária da FMVZ, Unesp-Botucatu.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Percentual de animais que ovularam até 60 dias após o início do experimento nos diferentes grupos estudados.....46

TABELA 2 – Número médio e desvio padrão de dias até a primeira ovulação nos diferentes grupos tratados.....48

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1** – Desenvolvimento folicular em éguas em transição (n=10) tratadas com dispositivo intra-vaginal de progesterona por 10 dias e hCG após a retirada e quando um folículo > 35mm era detectado. * Indica o primeiro significativo ($P<0,05$) aumento no diâmetro folicular quando comparado ao dias anterior.....32
- FIGURA 2** – Perfil de LH, FSH e progesterona em éguas transicionais (n=10) tratadas com implante intra-vaginal de progesterona por 10 dias e com hCG após a retirada do implante quando observado folículo >35mm. Letras diferentes indicam diferença significativa ($P<0,05$), FSH (abcd), LH (ef) e progesterona (gh).....33
- FIGURA 3** – Diâmetro do maior folículo de éguas em anestro tratadas com antagonistas D2 sulpiride (▲) (n=10) e domperidone (Δ) (n=10) e éguas não tratadas (□) (n=6). D0= início do tratamento, 3 de fevereiro – hemisfério norte e D-24=fim do tratamento. Ov significa ovulação durante o tratamento e * ovulação após o tratamento. (a vs b vs c) $P < 0,05$35
- FIGURA 4** – Momento da primeira ovulação da estação reprodutiva em éguas tratadas com deslorelina ou e FSH, seguidos de hCG. Cada símbolo representa o momento da ovulação de cada égua individualmente em relação ao dia do início do tratamento (1st Tx). As linhas verticais indicam o momento média de ovulação das éguas em cada tratamento.....37
- FIGURA 5** – Éguas em tratamento com luz artificial.....42
- FIGURA 6** – Dispositivo intra-vaginal (Cronipres®).....43
- FIGURA 7** – Introdução do dispositivo intra-vaginal (Cronipres®).....44

FIGURA 8 – Percentual de animais que ovularam até 60 dias após o início do experimento nos diferentes grupos estudados.....47

FIGURA 9 – Número médio de dias até a primeira ovulação nos diferentes grupos estudados.....48

LISTA DE ABREVIATÖES E SIGLAS

% - porcentagem
> - maior
< - menor
≥ - maior ou igual
α - alfa
β – beta
μg- micrograma
ANOVA – análise de variância
CL – corpo lúteo
D – dia
eFSH – hormônio folículo estimulante equino
FSH – hormônio folículo estimulante
G - grupo
GnRH – hormônio liberador de gonadotrofina
h - hora
hCG – gonadotrofina coriônica humana
Kg - quilograma
L 35 – luz 35 dias
L 60 – luz 60 dias
LH – hormônio luteinizante
mg – miligrama
MHz – mega hertz
ml – mililitros
mm – milímetros
n – número de animais
ng – nanograma
Ov – ovulação
P4 – progesterona
T3 – triiodotironina
T4 – tiroxina
UI – unidades internacionais
W – watts

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	11
ABSTRACT	13
1.INTRODUÇÃO.....	15
2.REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1. Fatores que atuam no controle da atividade rítmica anual	17
2.1.1. Fatores extrínsecos	17
2.1.1.2. Fotoperíodo	17
2.1.1.3. Nutrição e condição corporal	18
2.1.1.4. Temperatura	18
2.1.2. Fatores intrínsecos	19
2.1.2.1. Neurotransmissores	19
A) Opióides	19
B) Catecolaminas	19
2.1.2.2. Hormônios tireoidianos	20
2.2. Fases da estacionalidade reprodutiva	20
2.2.1. Transição de primavera	21
2.2.2. Estação ovulatória ou estação de monta	23
2.3.3. Transição de outono	25
2.3.4. Anestro ou Estação Anovulatória	26
2.3.Métodos de controle da sazonalidade reprodutiva.....	27
2.3.1. Luz artificial	27
2.3.2. Progesterona	29
2.3.3. Antagonistas da dopamina	34
2.3.4. GnRH	35
2.3.5. Melatonina	38
3.OBJETIVOS	39
4.MATERIAIS E MÉTODO	40
4.1. Período e Local do Experimento	40
4.2. Animais	40
4.3. Seleção dos animais através da ultrassonografia	40

4.4. Grupos Experimentais	41
4.5. Protocolo de luz artificial	42
4.6. Introdução do dispositivo intra-vaginal	43
4.7. Protocolo de aplicação de GnRH (Acetato de Deslorelina).....	44
4.8. Análise Estatística	45
5.RESULTADOS	46
6.DISSCUSSÃO	49
7.CONCLUSÕES	52
8.BIBLIOGRAFIA	53

RESUMO

SCHUTZER, C.G.C. Utilização do implante de progesterona intra-vaginal e acetato de deslorelina em éguas acíclicas associados ou não a luz artificial para o controle da sazonalidade reprodutiva. Botucatu, 2012. 62p. Dissertação de mestrado. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu.

O comportamento estacional reprodutivo das éguas constitui um desafio para veterinários e criadores. As éguas apresentam um período de atividade reprodutiva durante o verão e, no inverno, mínimo crescimento folicular e ausência de ovulação (anestro). O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes protocolos envolvendo o uso de luz artificial associado ou não ao implante intra vaginal de progesterona ou a administração de acetato de deslorelina sobre a ocorrência da primeira ovulação da estação de monta de éguas em anestro sazonal. Foram utilizadas 120 éguas em anestro distribuídas aleatoriamente em 8 grupos de tratamento: grupo 1 - Controle, grupo 2 – progesterona (P4), grupo 3 - luz artificial por 35 dias (L35), grupo 4 - luz artificial por 60 dias (L60), grupo 5 - luz artificial por 35 dias e progesterona (L35+P4), grupo 6 - luz artificial por 60 dias e progesterona (L60+P4), grupo 7 - luz artificial por 35 dias e acetato de deslorelina (L35+GnRH), e grupo 8 - luz artificial por 60 dias e acetato de deslorelina (L60+GnRH). Nos grupos onde foi utilizado o dispositivo intra-vaginal com 1,3g de progesterona, após a remoção do implante, as éguas passaram a ser avaliadas diariamente até atingirem folículo(s) com diâmetro de 35 mm em média e edema uterino compatível. Neste momento foi administrado 1500 UI de hCG e 1 mg de acetato de deslorelina associadas, por via intra-muscular, com o objetivo de indução da ovulação e o monitoramento continuou sendo diário até a ovulação, avaliada pela presença de corpo lúteo. A deslorelina foi administrada em todas as éguas dos grupos (L35+GnRH e L60+GnRH) a partir do 36º dia do experimento, de 12 em 12 horas, na dose de 100 µg, até estas atingirem folículo(s) com média de 35 mm de diâmetro e edema uterino compatível, para que pudesse ser induzida a ovulação, ou até no máximo 5 dias de tratamento para as éguas que

não atingiram diâmetro folicular e edema uterino esperados. Utilizou-se o teste exato de Fischer para avaliar o percentual de ovulação até os primeiros 60 dias do experimento e ANOVA seguida de teste de Tukey (quando necessário) para análise do número médio de dias até a primeira ovulação. Quando comparado o percentual de éguas que ovularam até 60 dias após o início do tratamento observou-se que os grupos L60, L35+P4, L60+P4, L35+GnRH e L60+GnRH foram significativamente superiores ($p < 0,05$) em antecipar a primeira ovulação do ano quando comparados ao grupo controle que foi similar aos grupos P4 e L35. Por outro lado, quando comparado o número médio de dias até a primeira ovulação, os grupos L35, L60, L35+P4, L60+P4, L35+GnRH e L60+GnRH foram eficientes em antecipar o número de dias para ocorrer a primeira ovulação da estação de monta. Pode-se concluir neste estudo que os protocolos L60, L35+P4, L60+P4, L35+GnRH e L60+GnRH são eficientes em antecipar a primeira ovulação da estação reprodutiva.

Palavras-chave: Anestro, éguas, GnRH, progesterona, sazonalidade, transição.

ABSTRACT

SCHUTZER, C.G.C. Use of implanted intravaginal progesterone and deslorelin acetate in acyclic mares with or without artificial light to control the reproductive seasonality. Botucatu, 2012. 61p. Dissertação de mestrado. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu.

The seasonal behavior of breeding mares is a challenge for veterinarians and farmers. The mares have a period of reproductive activity during the summer and in winter, minimum follicular growth and lack of ovulation (anoestrus). This study aimed to evaluate the effect of different protocols involving the use of artificial light with or without intravaginal progesterone-releasing device or deslorelin acetate on the occurrence of first ovulation in mares in seasonal anestrus. We used 120 mares in anestrus randomly assigned to 8 treatment groups: group 1 - Control, group 2 – progesterone (P4), group 3 - artificial light for 35 days (L35), group 4 - artificial light for 60 days (L60), group 5 - artificial light for 35 days and progesterone (L35+P4), group 6 - artificial light for 60 days and progesterone (L60+P4), group 7 - artificial light for 35 days and deslorelin acetate (L35+GnRH), and group 8 - artificial light for 60 days and deslorelin acetate (L60+GnRH). In groups where the device was used intra-vaginally with 1.3 g of progesterone, after implant removal mares began to be assessed daily until they reach the follicle(s) with a diameter of 35 mm on average and uterine edema compatible. At this time was given 1500 IU of hCG and 1 mg deslorelin acetate associated by intra-muscular, with the aim of ovulation induction and monitoring is continued daily until ovulation, as assessed by the presence of corpus luteum. The deslorelin was administered to all mares of the groups (L35 + GnRH and L60 + GnRH) from the 36^o day of the experiment, 12 to 12 hours at a dose of 100 µg until they reach the follicle(s) with an average of 35 mm in diameter and uterine edema compatible, so it could be induced ovulation, or no later than 5 days of treatment for mares who have not reached follicular diameter and uterine edema expected. We used the Fisher exact test for analysis of ovulation rate to the first 60 days of the experiment and ANOVA

followed by Tukey test (when necessary) to analyze the average number of days to first ovulation. When compared to the percentage of mares that ovulated within 60 days after initiation of treatment observed that the groups L60, L35+P4, L60+P4, L35+GnRH and L60+GnRH were significantly higher ($p < 0.05$) to accelerate the first ovulation of the year compared to the control group which was similar to groups P4 and L35. On the other hand, when comparing the average number of days to first ovulation, the groups L35, L60, L35+P4, L60+P4, L35+GnRH and L60+GnRH were effective in anticipating the number of days to first ovulation occurs in breeding season. It can be concluded from this study that the protocols L60, L35+P4, L60+P4, L35+GnRH and L60+GnRH are effective on advancing the first ovulation of the breeding season.

Keywords: Anestrous, mares, GnRH , progesterone, seasonality, transition.

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a indústria do cavalo no Brasil apresentou um crescimento expressivo, se tornando uma potente fonte geradora de empregos em diversas áreas relacionadas à eqüinocultura. Hoje, nosso país se destaca internacionalmente pela qualidade de seu plantel e, também, pelo número expressivo de animais, sendo a segunda maior população de eqüinos puros de raça do mundo. Além disso, o Brasil também tem sido referência no estudo e utilização de Biotecnologias aplicadas à reprodução eqüina.

Desta forma, a concepção ou a coleta de embriões mais cedo em uma estação de monta para determinadas raças, como Quarto de Milha e Puro Sangue Inglês, tem sido assunto de grande interesse frente ao seu impacto econômico. Existem muitas razões pelas quais se faz necessário a busca de novos métodos para que as éguas possam entrar em estro e obter um potro o mais próximo possível do início do ano hípico, sendo a principal, a adequação do nascimento dos produtos à data oficial imposta para cavalos de performance (DONADEU & WATSON, 2007).

A maioria das éguas apresenta comportamento reprodutivo estacional, portanto não são férteis durante todo o ano. A sazonalidade reprodutiva nestes animais refere-se a mudanças morfológicas e fisiológicas dos órgãos reprodutivos, primariamente devido a mudanças na relação diária de luminosidade e escuridão através do ano (BERGFELT, 2009). Esta característica, associada aos fatos apresentados anteriormente, estimularam a comunidade científica a buscar um maior conhecimento sobre os mecanismos da sazonalidade reprodutiva e ao desenvolvimento de métodos para uma indução antecipada da estação de monta (NAGY et al., 2000).

É importante ressaltar que apesar de haver publicações científicas a mais de 50 anos com a fotoestimulação em éguas em anestro sazonal, na América do Sul e em condições tropicais, foi encontrada na literatura citação de apenas um trabalho relacionado ao tema no Brasil.

2. REVISÃO DE LITERATURA

O padrão sazonal da atividade reprodutiva das éguas geralmente corresponde ao decréscimo transicional na incidência de ovulações durante o outono, que torna-se mínima ou ausente no inverno, aumenta gradualmente na primavera e ocorre de forma plena durante o verão (BERGFELT, 2009). Na fase de transição de outono ocorre ausência de ovulação com redução na atividade folicular ovariana. Endocrinologicamente, esta fase caracteriza-se por declínio marcante nas concentrações de LH (PALMER & GUILLAUME, 1992), até concentrações mínimas no período anovulatório (anestro). O anestro compreende os meses de maio a agosto, no Hemisfério Sul, e caracteriza-se por atividade folicular mínima e baixas concentrações hipotalâmica de GnRH, hipofisária de LH e dos esteróides ovarianos E2 e P4 (BERGFELT, 2009). Segue-se a transição de primavera, fase caracterizada por aumento da secreção de GnRH e gonadotrofinas, ressurgimento do desenvolvimento folicular, comportamento de estro e finalmente ovulação (NAGY et al., 2000).

O comportamento de crescimento folicular apresentado durante os períodos de transição de primavera e outono varia entre indivíduos. Durante a transição de primavera, os animais podem apresentar algumas ondas anovulatórias, ou mesmo, ausência de folículos maiores que 35 mm, até o surgimento da primeira onda ovulatória (GINTHER, 1990; WATSON et al., 2002). Embora não sejam conhecidos os fatores que contribuem ao desenvolvimento do primeiro folículo ovulatório, seu desenvolvimento é acompanhado de aumento periférico da concentração de estradiol e em alguns dias de LH (NIE et al., 2007).

A respeito da transição de outono, Ginther et al. (2003) e Nequin et al. (2000) demonstraram diferentes padrões de atividade ovariana após a última ovulação do ano. Nestes estudos, algumas éguas apresentaram crescimento de folículos >25mm após a última ovulação, enquanto outras demonstraram ausência de folículos >16mm. O comportamento folicular e fatores que desencadeiam a transição do período ovulatório ao anestro são pouco compreendidos devido à grande variação e menor interesse econômico que a transição de primavera (NIE et al., 2007).

A sucessão cíclica destas fases envolve uma complexa rede fisiológica, sendo controlada por fatores extrínsecos, como fotoperíodo, temperatura, nutrição e condição corporal, e por fatores intrínsecos hormonais e neuroendócrinos (NAGY et al., 2000).

2.1. FATORES QUE ATUAM NO CONTROLE DA ATIVIDADE RÍTMICA ANUAL:

2.1.1. FATORES EXTRÍNSECOS

2.1.1.2. FOTOPERÍODO

A melatonina é um hormônio produzido na glândula pineal e atua influenciando negativamente os níveis de GnRH na égua, através de uma complexa rede de neurônios envolvendo neurotransmissores e células alvos localizadas no hipotálamo (MALPAUX et al., 1999). A produção de melatonina é controlada por estímulos nervosos partindo do nervo óptico, ocorrendo na fase escura do dia. Sendo assim, ao fim do verão e início do outono, o período de luminosidade diária diminui gradativamente até o inverno, promovendo concomitantemente o aumento da produção de melatonina e redução da produção das gonadotrofinas. Estes eventos resultam em diminuição da atividade folicular e ausência de ovulação. Durante o fim do inverno e início da primavera o processo inverso ocorre devido ao aumento do período de luminosidade, promovendo diminuição da prevalência de melatonina e aumento dos níveis de GnRH, FSH e LH, assim como a atividade ovariana (BERGFELT, 2009).

Embora a relação entre fotoperíodo e melatonina seja o mecanismo mais importante no controle da sazonalidade da atividade reprodutiva, o comportamento rítmico anual não é completamente dependente destes fatores. Sharp et al. (1979) e Grubbaugh et al. (1982) removeram a glândula pineal ou gânglio cervical superior e os animais ainda apresentaram um ritmo reprodutivo marcado por períodos ovulatório e anovulatório, porém, mudanças no

fotoperíodo não mais apresentaram influência sobre o desenvolvimento folicular e ocorrência de ovulação.

O fotoperíodo também apresenta influência sobre o período gestacional. Howell & Rollins (1951) observaram que éguas cobertas no início da primavera mantinham gestações mais longas que éguas cobertas no fim da estação. No entanto, os mecanismos pelos quais o fotoperíodo afeta a duração da gestação ainda são desconhecidos, portanto a sua aplicação na rotina prática requer mais estudos a respeito do tema (SHARP & DAVIS, 1993).

2.1.1.3. NUTRIÇÃO E CONDIÇÃO CORPORAL

O manejo nutricional e seu efeito sobre a condição corporal dos animais possuem grande influência sobre a atividade reprodutiva, inclusive sobre o momento da primeira ovulação da estação de monta. Quando avaliados em uma escala de escore corporal de 1 a 10, animais de escore abaixo de 5,0 apresentaram intervalo maior até a primeira ovulação da estação que animais de escore acima de 5,0 (HENNEKE et al., 1984).

A condição corporal também pode influenciar a permanência da ciclicidade em éguas, mesmo durante o outono e inverno. Fitzgerald & McManus (2000) demonstraram que éguas maduras com maior quantidade de tecido adiposo tem tendência maior a permanecer ciclando durante outono e inverno que éguas jovens magras. Acredita-se que este comportamento esteja relacionado à alta concentração circulante de leptina apresentada por estes animais. Entretanto, os mesmos autores em 2003, utilizaram Clembuterol, um antagonista de receptores β_2 – adrenérgicos, e conseguiram diminuir a gordura corporal e níveis circulantes de leptina, mas não observaram mudanças na proporção de animais cíclicos e não-cíclicos.

2.1.1.4. TEMPERATURA

Segundo Nagy et al. (2000), em condições similares de fotoperíodo, nutrição e sistema de manejo, a temperatura participa do controle do ritmo reprodutivo anual. Daels et al. (2000) testaram o efeito de um antagonista de

dopamina em éguas alojadas em locais fechados e éguas alojadas em áreas abertas. O retorno a ciclicidade das éguas alojadas em ambiente fechado ocorreu em menos da metade do tempo necessário para éguas alojadas em áreas externas, demonstrando a participação do conforto térmico na esfera reprodutiva.

No Brasil, onde não temos variações extremas de temperatura, as éguas têm um conforto térmico e, não sofrem nenhum tipo de estresse relacionado a este fator.

2.1.2. FATORES INTRÍNSECOS

2.1.2.1. NEUROTRANSMISSORES

O sistema de neurônios inibitórios no hipotálamo atua mediando o efeito de fatores externos e internos como o ritmo endógeno, fotoperíodo, nutrição e temperatura, e talvez atue por uma via independente (NAGY et al., 2000). A participação do sistema nervoso conta com diversos neurotransmissores, como opióides, serotonina, aminoácidos e catecolaminas.

A) OPIÓIDES

Em outras espécies, acredita-se que a remoção completa da inibição de neurônios de GnRH por opióides endógenos seja um evento crítico no surgimento das ondas ovulatórias de GnRH e LH. (CONOVER et al., 1993).

B) CATECOLAMINAS

A correlação entre dopamina e atividade reprodutiva constitui um dos principais tópicos estudados na atualidade na área de sazonalidade reprodutiva. Ainda é desconhecida a via pela qual, neurônios dopaminérgicos influenciam o estado reprodutivo, porém, sabe-se que atuam de forma inibitória sobre a secreção de prolactina, hormônio que atua no retorno da atividade reprodutiva, troca de pêlos e lactação. Alguns autores (HAVERN et al., 1991;

HAVERN et al., 1994; GAYRARD et al., 1994; NAGY et al., 2000) demonstraram o efeito de neurônios dopaminérgicos na inibição da secreção de GnRH em ovelhas em anestro. Em éguas, a concentração de dopamina no fluido cerebrospinal é menor durante a estação reprodutiva e parece ter correlação inversa com a concentração plasmática de LH (MELROSE et al., 1990). Sendo assim, diversos autores testaram e conseguiram antecipar a primeira ovulação do ano utilizando sulpiride ou domperidone, antagonistas da dopamina (BESOGNET et al., 1996; DAELS et al., 2000; BRENDENMUEHL & CROSS, 2000).

2.1.2.2. HORMÔNIOS TIREOIDIANOS

Os hormônios produzidos na tireóide afetam diversas funções no organismo animal, inclusive função reprodutiva em diversas espécies. Em ovelhas, a realização de tireoidectomia durante o anestro bloqueia a transição ao período ovulatório, porém em éguas não alterou a dinâmica reprodutiva (NAGY et al., 2000). Huszenicza et al. (2000) e Nagy et al. (2000), avaliaram a relação entre função tireoideana e atividade reprodutiva sazonal através da mensuração dos níveis de T3 e T4 em éguas em anestro e éguas que mantiveram a ciclicidade durante a estação anovulatória. Os autores não encontram relação entre os parâmetros testados e o estado de atividade ovariana dos animais, sugerindo um controle hipotalâmico dos níveis de T3 e T4, semelhante ao descrito sobre a atividade reprodutiva sazonal.

2.2. FASES DA ESTACIONALIDADE REPRODUTIVA

A égua é considerada uma espécie poliéstrica estacional e, normalmente, a maioria tem atividade reprodutiva durante os meses de primavera e verão, denominada estação ovulatória, e uma minoria permanecem ciclando durante os meses de outono e inverno, denominada estação anovulatória ou de anestro. Com o início da primavera ocorre aumento da luminosidade e a atividade reprodutiva volta a ser restabelecida gradativamente. Nesta fase, a atividade cíclica ainda é irregular, podendo

ocorrer crescimento e/ou atresia folicular ao mesmo tempo. A atividade reprodutiva se restabelece completamente quando ocorre a primeira ovulação do ano, caracterizando o início da estação ovulatória. A partir deste período as éguas tendem a ciclar regularmente (NAGY et al., 2000).

2.2.1. TRANSIÇÃO DE PRIMAVERA

No Hemisfério Norte, a fase de transição de primavera se inicia no final do inverno e culmina na primeira ovulação da estação de monta, entre os meses de março a abril (SHARP, 1980). No Hemisfério Sul, durante a primavera, observou-se uma fase de transição ovariana, onde normalmente ocorriam ciclos anovulatórios (OSBORNE, 1966). Um estudo mostrou que enquanto a taxa ovulatória ainda estava baixa, havia um aumento significativo do peso ovariano entre os meses de julho a agosto, e que esta taxa aumentaria somente no mês de setembro, este período foi caracterizado como transição de primavera. Neste período, observou-se um aumento do número e diâmetro foliculares, com aumento do peso dos ovários, sem a ocorrência de ovulação e esta foi denominada fase de transição de primavera (TAROUCO, 1995).

Na égua, o período de transição entre o anestro e o período de atividade reprodutiva com ciclos regulares de primavera, ocorre com o aumento da luminosidade através do fotoperíodo crescente, onde o hipotálamo volta a secretar GnRH, ainda que em nível basal estimulando a frequência dos pulsos das gonadotrofinas FSH e LH aumentando gradativamente durante as semanas que precedem a primeira ovulação da estação (WINTER, 2007). A mensuração da concentração do GnRH circulante indica que após o solstício de inverno ocorre realmente o início da sua secreção (SHARP et al., 1997).

Na primavera, com o aumento do fotoperíodo, ocorre um declínio rápido da concentração de melatonina resultando na reativação da atividade ovariana, com aumento dos níveis de FSH e início de desenvolvimento e crescimento folicular, o que leva a um aumento da concentração de LH, até atingir os níveis necessários para que ocorram uma maturação final e ovulação do folículo dominante. Este período pode se estender por até 75 dias (HUGHES et al., 1975). Porém, a liberação de LH que resulta na primeira ovulação da estação,

necessita de um auxílio do ovário, onde os folículos desenvolvem a competência esteroidogênica, culminando num aumento das concentrações de estrógeno intrafolicular e periférica, sendo este o estímulo final para a liberação do LH (SHARP et al., 1991).

Há evidências que quando a duração da luminosidade é maior, a glândula pineal também possa produzir uma substância que estimule o hipotálamo e, provavelmente, também haja um envolvimento da prolactina. Neste período, os ovários se apresentam maiores com lóbulos irregulares, com presença de folículos pequenos que não chegam a maturar, com diâmetro variando entre 10 a 25 mm, e de folículos que sofreram atresia. Os folículos maiores produzem estrógeno e inibina (fatores inibitórios do FSH). Apesar dos níveis de FSH diminuírem, não ocorre o pico de LH devido ao estoque pequeno deste hormônio. Desta forma, ocorre uma regressão do folículo dominante, podendo surgir outro folículo dominante a cada 10 a 14 dias (BAKER & KENNEY, 1980).

Quando se tem um estoque adequado de LH e acontece o desenvolvimento de um folículo dominante ≥ 35 mm de diâmetro, com produção de estrógeno suficiente, pode ocorrer um feedback positivo do estrógeno sobre o LH, desencadeando um pico de LH que culminará em uma ovulação, iniciando-se assim a estação ovulatória (SHARP & SEAMANS, 1980 e FREEDMAN et al., 1979a).

Existem evidências que nesta fase ocorrem ondas rítmicas de crescimento folicular até o momento em que um folículo atinge a dominância, se desenvolve até se tornar pré-ovulatório e ocorre a ovulação. Na dinâmica de crescimento folicular demonstrada em algumas destas ondas, verificamos que os níveis de FSH e LH não são proporcionais, pela reduzida secreção de LH. Desta forma o folículo dominante cessa o seu desenvolvimento e regride, não ocorrendo a ovulação. Com isso acontecerá uma nova foliculogênese e outro folículo dominante irá se desenvolver (GINTHER, 1990 e SHARP et al., 1997).

Segundo Winter (2007), 64,3% das reprodutoras, ovularam próximas, ou após o equinócio de primavera em 21 de setembro.

A fase de transição de primavera tem duração variada, dependendo de diversos fatores como latitude, temperatura e condição corporal da égua

durante a estação anovulatória (NAGY et al., 2000). Donadeu e Watson (2007) demonstraram que o padrão de crescimento folicular pode variar muito entre diferentes éguas no período de transição e que a fase transicional de primavera pode ter uma duração muito variada entre 30 a 90 dias.

2.2.2. ESTAÇÃO OVULATÓRIA OU ESTAÇÃO DE MONTA

Período que se inicia quando as éguas passam a ter atividade reprodutiva regular ciclando normalmente, apresentam níveis adequados de LH na hipófise e ocorre após a primeira ovulação pós transição de primavera (DAELS e HUGHES, 1992). Nesta fase os folículos são facilmente palpados e os ovários apresentam-se com consistência mais macia (TAROUÇO, 1995).

Durante o estro, a égua apresenta receptividade ao macho e o aparelho genital está pronto para receber e transportar os espermatozóides e, posteriormente, ocorre a ovulação. No estro, ocorre crescimento e desenvolvimento dos folículos dominantes, os quais secretam estrógeno, o que faz com que a égua fique receptiva sexualmente ao garanhão. A ovulação e a liberação do oócito acontecem, em média, entre 24 a 48 horas antes do final desta fase, onde a égua ainda apresenta sinais de aceitação do macho. O diestro é o período em que a égua não aceita mais o macho e o aparelho genital está preparado para receber e manter o desenvolvimento do conceito. Depois da ovulação, ocorre a formação do corpo lúteo (C.L.), que é responsável pela produção de progesterona. No final do diestro, ocorre a regressão do corpo lúteo (luteólise) por volta de 14 a 15 dias após a ovulação. A partir de 1 a 2 dias se inicia um novo estro (DAELS e HUGHES, 1992).

O aumento brusco dos níveis de GnRH estimula a secreção hipofisária de FSH e LH nas éguas (WINTER, 2007). A concentração sérica de LH sobe gradativamente durante o estro e o seu pico ocorre um dia após a ovulação. Na égua, ao contrário da ovelha, não ocorre um aumento brusco nos níveis de LH antes da ovulação. Os níveis de FSH aumentam em média a cada 10 dias, por volta da metade do estro e após a ovulação. A produção de FSH e LH acontecem também em fases diferenciadas, como no início do estro, onde a concentração de FSH está baixa e a de LH aumenta e, durante o diestro,

quando os níveis de FSH aumentam e os de LH permanecem baixos (HAFEZ & HAFEZ, 2004).

O padrão de crescimento folicular na égua, além de não ser bem definido como na vaca, determina um período de cio de duração prolongada (ROMANO et al., 1998).

Há uma variação significativa entre raças nos padrões de ondas foliculares observados durante o ciclo estral. Pôneis ou Quarto de Milha, na maioria das vezes, apresentam uma única onda principal no final do diestro, que culminará ao estro e à ovulação, por outro lado, animais Puro Sangue Inglês, geralmente, apresentam uma onda secundária no início do diestro, o folículo dessa onda pode ovular ou regredir (BURATINI, 1997).

Segundo Buratini (1997), na raça Mangalarga, a maioria dos ciclos estrais apresenta uma onda folicular maior durante a segunda metade da estação ovulatória e, uma parcela expressiva de ciclos contendo duas ondas foliculares maiores, também sugere a ocorrência de maior atividade folicular ovariana, em condições tropicais, na segunda metade da estação ovulatória.

Ao contrário dos folículos em desenvolvimento, o corpo lúteo, não é sensível ao fotoperíodo, tornando o comportamento de diestro constante entre 14 e 15 dias. NAGY et al (2007) verificaram períodos de diestro ligeiramente mais prolongados no meio do verão (16 dias) do que na primavera ou no início do outono (13 dias). BURATINI (1997) constatou que éguas com padrões distintos de desenvolvimento folicular tendem a apresentar atividade luteal semelhante, conforme indicam os perfis das concentrações plasmáticas de progesterona.

O ciclo estral corresponde ao intervalo entre duas ovulações e/ou concentrações de progesterona abaixo de 1ng/ml, tem duração média de 21 dias (19-22), sendo o estro de 5 a 7 dias e o diestro de 14 a 15 dias (GINTHER et al., 2004). As alterações na sua duração, podem ocorrer devido: fotoperíodo, temperatura, condição corporal e latitude (NAGY et al., 2000).

À medida que a estação avança, a duração do estro diminui, assim os menores intervalos são registrados durante os meses de verão (NIE et al, 2007). A duração do estro varia tanto entre éguas quanto entre ciclos estrais em uma mesma égua (Hafez & Hafez, 2004).

2.2.3. TRANSIÇÃO DE OUTONO

O período de transição da fase ovulatória para a de anestro corresponde à fase de transição de outono. O período transicional de outono é caracterizado por uma alteração gradual do ambiente endócrino e da função ovariana durante, aproximadamente, quatro meses (NEQUIN et al., 2000). As alterações na função ovariana, neste período, são os espelhos do decréscimo das concentrações de progesterona (KING et al., 1988) e um aumento da incidência de falha luteolítica, o que culmina na persistência de corpos lúteos, fases prolongadas de crescimento folicular e diminuição das concentrações de estradiol (WEEDMAN et al., 1993). Os ovários são os primeiros a serem afetados, diminuindo as concentrações de progesterona e estradiol dois ou mais ciclos antes do período anovulatório, causando alterações no padrão de secreção de LH, mesmo que o FSH não sofra alterações substanciais (NEQUIN et al., 2000). Apesar da ausência do pico de LH adequado estar associado à falha na ovulação, a produção de estrógeno pelos folículos e a função do corpo lúteo ficam comprometidas vários ciclos mais cedo, e é possível que a ação estimulante do FSH sobre o desenvolvimento folicular se torne inadequada à medida que a estação avança (IRVINE et al., 2000).

Alguns autores relatam que a primeira falha na ovulação, durante o outono, está associada à ausência de um pico de LH e que o último pico é menor na maioria das éguas. A função do corpo lúteo parece ser afetada pela redução no pico de LH nos ciclos do outono. Uma situação inversa, embora similar, ocorre durante a transição do anestro para a estação de monta. Uma sequência de ondas foliculares anovulatórias, cujo folículo dominante atinge um diâmetro semelhante ao de um folículo pré-ovulatório, ocorre em aproximadamente 50% das éguas. Devido a supressão da secreção de GnRH por mecanismos neurais, há um bloqueio da estimulação de LH e esses folículos não ovulam. Além disso, esses folículos transitórios grandes parecem ser incapazes de produzir quantidades suficientes de hormônios esteróides (NIE et al., 2007).

Nunes et al (2002) relataram que a falha da onda no início do diestro nos ciclos estrais de outono pode ser o motivo para a diminuição do desenvolvimento folicular no final da estação.

Winter (2007), em seu trabalho, notou que eventos como, última ovulação e detecção de folículos anovulatórios ocorreram aproximadamente 60 dias após o equinócio de outono, em 21 de março. Assim, esta foi a fase necessária para que a mudança do fotoperíodo (diminuição da fotofase) na fase final de verão e no início do outono pudesse ser percebida e, com o aumento na produção e liberação de melatonina, demonstrada pelas éguas como uma diminuição na função reprodutiva.

O período de transição de outono leva ao período de anestro profundo, com ovários pequenos, duros e lisos e poucos folículos estacionários com até 15mm de diâmetro. O útero apresenta tonicidade flácida sem edema de endométrio (GINTHER e al., 2004). Tais observações indicam que os mecanismos envolvidos na transição de outono, são diferentes dos envolvidos no período de transição de primavera (NUNES et al., 2002).

2.2.4. ANESTRO OU ESTAÇÃO ANOVULATÓRIA

Dentro do ciclo reprodutivo anual, ocorre no inverno, o anestro estacional, que corresponde ao período de inatividade e indiferença sexual. Esta fase pode durar de 2 a 6 meses, sendo influenciado por modificações no fotoperíodo e possivelmente pelo clima e nutrição (NIE et al., 2007). A fase de anestro, de acordo com Ginther et al. (2004), é caracterizada pela diminuição da atividade ovariana (folículos anovulatórios de outono ou última ovulação sem retorno ao estro após o período correspondente ao diestro). Durante o período de anestro profundo, os ovários apresentam-se pequenos, duros e lisos, com poucos folículos de 15 a 20mm de diâmetro e não demonstram atividade. O útero não apresenta edema endometrial e assim como a cérvix, mostram-se finos e flácidos, sendo de difícil identificação por palpação retal. O útero apresenta pouca densidade de glândulas endometriais ao exame histológico. Como consequência da inibição de secreção do GnRH pela melatonina, os ovários das éguas são privados do estímulo das gonadotrofinas,

o eixo hipotálamo-hipófise fica afuncional, assim o conteúdo hipotalâmico e a taxa de secreção do GnRH diminuem à níveis próximos de zero. Além disso, ainda que o conteúdo hipofisário de FSH não se altere, o de LH diminui, indicando que síntese e o estoque destes hormônios são controlados por diferentes mecanismos (NAGY et al., 2000; WINTER, 2007; NIE et al., 2007).

Alguns autores sugerem que o anestro não é absoluto, pois parte das éguas realiza ciclos estrais regulares anovulatórios mesmo quando se tem fotoperíodo desfavorável, ou seja, no período de inverno (WINTER, 2007).

Segundo Hafez & Hafez (2004), o estro fora da estação de monta é comum, mesmo sem a presença de folículos palpáveis. São mínimos os níveis de FSH e LH durante a estação anovulatória, a não ser pelos níveis elevados que sucedem as últimas e precedem as primeiras ovulações.

O processo de transição para a fase de anestro nas éguas é gradual e causa desafios em relação ao manejo clínico e estudo do anestro aos médicos veterinários. Estão incluídos nestes desafios: predição da ocorrência, início, diagnóstico e estimativa do estágio do anestro, predição do momento da retomada espontânea à ciclicidade e o momento indicado para iniciar um protocolo de manejo que estimule o retorno à atividade cíclica (NAGY et al., 2000).

2.3. MÉTODOS DE CONTROLE DA SAZONALIDADE REPRODUTIVA

2.3.1. LUZ ARTIFICIAL

O tratamento com iluminação diária de 16 horas utilizando luz artificial durante meados do inverno constitui um dos mais antigos e confiáveis métodos de indução da atividade ovariana no início da primavera (BESOGNE et al., 1996). O tratamento tem duração média de 6 a 12 semanas, porém após duas semanas significativa atividade folicular pode ser observada (NAGY et al., 2000). Guillaume et al. (2000), conseguiram um tempo médio de 76 dias após o início do tratamento até a primeira ovulação para éguas tratadas (G1: 35 dias e G2: até primeira ovulação) e 131 dias para o grupo controle. Não houve diferença entre o grupo tratado por 35 dias e o grupo tratado por período

prolongado. Devito et al. (2006), em condições tropicais, trataram éguas em anestro por 35 e 60 dias, em um regime de 17 horas de luz (natural + artificial). Os grupos tratados não apresentaram diferença quanto ao tempo médio até primeira ovulação, porém, esta ocorreu 20 dias mais cedo que no experimento de Guillaume et al. (2000). No entanto, 90% dos animais tratados por 35 dias ovularam até 70 dias, contra 77,78% dos animais tratados por 60 dias. O grupo 1 ainda apresentou maior sincronização ($p=0,064$) no intervalo das ovulações.

Sharp & Davis (1993) ressaltaram que os tratamentos utilizando somente luz artificial não encurtam o período total de transição, apenas levam ao início mais cedo da atividade ovariana de transição.

Sharp & Seamans (1980) relataram que um começo antecipado da estação de monta pode ser estimulado por exposição das éguas em anestro a apenas 2,5 horas de luz artificial no pôr do sol. O regime de iluminação artificial era iniciado no pôr do sol toda tarde e o tempo das luzes acesas foi atualizado toda semana, para coincidir com o tempo natural do pôr do sol, uma vez que ele mudava. Esse regime foi iniciado no final de outubro. O experimento examinou os efeitos da adição de luz artificial aplicado ao pôr do sol, antes do sol nascer, e em ambos os tempos (na verdade adicionou 5 horas de iluminação). Os resultados do experimento indicaram que apenas as éguas expostas à luz de tarde foram fotoestimuladas e começaram a estação de monta mais cedo. Além disso, quando as éguas foram expostas à luz de manhã e à tarde, sua estação de monta não foi significativamente antecipada comparada as éguas que tiveram exposição à luz somente à tarde. Isto sugere que a cronometragem de exposição à luz à tarde é diferente da cronometragem de exposição à luz de manhã. Ou seja, os efeitos a exposição à luz são bloqueados com o tempo.

O sucesso no tratamento depende de três fatores: refratariedade a mudanças do fotoperíodo, período de fotosensibilidade à noite e histórico de fotoperíodo (NAGY et al., 2000). Em condições luminosas constantes por longos períodos, os animais apresentaram mudanças no estado reprodutivo independente de fatores estimulatórios ou inibitórios luminosos (PALMER et al., 1982). A existência de uma fase fotossensível durante o período de escuridão foi confirmada por estudos em que períodos de 1 a 2 horas de estimulação

luminosa 9.5 horas após o início da noite foram eficazes em estabelecer atividade ovariana (PALMER et al., 1982). Em ovelhas, foi demonstrada a influência do histórico de fotoperíodo, quando ovelhas expostas por 13 horas diárias de luz apresentaram atividade ovariana aumentada quando precedidas de exposição por 16 horas e diminuída quando precedidas por 10 horas de exposição (ROBINSON & KARSCH, 1987).

Um aspecto a ser considerado no tratamento com luz artificial é a intensidade luminosa necessária. Burkhardt (1947) utilizou uma simples luz incandescente e foi capaz de induzir o retorno a ciclicidade em éguas em anestro, tornando-se amplamente aceito que uma iluminação de lâmpada incandescente de 100 W é suficiente para obter uma resposta reprodutiva. Assim, tradicionalmente, a intensidade recomendada é de 100 lux e o tratamento deve ser continuado mesmo após a primeira ovulação. Guillaume et al. (2000) conseguiram estabelecer atividade ovariana com tratamento utilizando lâmpada de 10 lux de intensidade.

Uma variedade de tratamentos parece ser efetiva, permitindo aos criadores que escolham o esquema que melhor combina com seu manejo (NIE et al., 2007). Vale ressaltar, que exposição por um período maior que 16 horas não apresenta melhor resultado em antecipar a ovulação, sendo assim, fica evidente a existência de um período mínimo de escuridão diário. Em 1982, Palmer et al. estabeleceram exposição luminosa por 20 horas sem atingir maior atividade folicular.

2.3.2. PROGESTERONA

Ainda existem controvérsias quanto à eficácia do uso prolongado (8-15 dias) de progestágenos no anestro de éguas. Diversos autores descrevem que um tratamento deste tipo não interfere no tempo da ovulação, mas é eficaz na sincronização do início da atividade ovariana (DAELS, 2004).

A progesterona não antecipa o início da estação ovulatória, mas pode ser usada na fase transicional, quando se almeja suprimir o estro e sincronizar a primeira ovulação do ano. Todavia, outros experimentos mostram que o

altrenogest antecipa a primeira ovulação do ano (ALLEN et al., 1980; WEBEL & SQUIRES, 1982).

Ainda que a foto-estimulação seja um método não hormonal eficiente para antecipar a primeira ovulação do ano, quando acrescentado o tratamento hormonal no final do regime de luminosidade a primeira ovulação ou a sincronização da primeira ovulação do ano é antecipada, aumentando a eficácia do programa de iluminação. Entretanto, o sucesso do tratamento com progestina ou progesterona depende do estágio da fase de transição e do *status* folicular, onde de maneira geral, quanto mais avançado o período transicional, mais alta a probabilidade da égua ovular após o tratamento. No início do período de anestro, quando os ovários são pequenos e inativos, a progesterona ou progestinas são ineficazes para induzir estro (WEBEL e SQUIRES, 1982; LEBLANC, 2005; MCKINNON, 2009). Não devem ser escolhidas para o tratamento éguas com ovários pequenos inativos, mas sim éguas com ovários contendo múltiplos folículos (20 – 30 mm) independente se estão apresentando estro (MCKINNON, 2009).

Estudos têm demonstrado que o altrenogest foi ineficaz para induzir estro e ovulação em éguas em anestro profundo. Apenas éguas no meio para o final da transição responderam favoravelmente ao tratamento com altrenogest (SQUIRES et al., 1979; SQUIRES et al., 1983). O crescimento folicular é inibido durante tratamento com progesterona. A hipótese é de que o LH contido na pituitária está aumentado durante o tratamento com progestágeno, resultando em um aumento da secreção de gonadotrofinas após o término do tratamento. Depois de cessado o tratamento, apenas um folículo pré-ovulatório se desenvolve e ocorre a ovulação como resultado do LH endógeno e exógeno (MCKINNON et al., 2011).

Uma das estratégias recentemente estudada consiste na utilização de implantes intravaginais de progesterona, semelhantes aos utilizados em vacas. Estes experimentos baseiam-se na hipótese de que o brusco aumento e queda dos níveis de progesterona em éguas em anestro possam estimular a produção e liberação de GnRH pelo hipotálamo, com consequente aumento da liberação dos hormônios LH e FSH pela hipófise, fundamentais para a estimulação do crescimento folicular e ovulação. Samper et al. (2007) citam a existência de

três tipos de implantes intravaginais de progestágenos, PRID[®], CIDR-B[®] e CuMate[®], tendo ainda como alternativa um sintético ativo oral da progesterona, Regumate[®]. A diferença entre os dois métodos é que a maioria das éguas após 10 dias com altrenogest tem a maior parte da atividade folicular suprimida e ocorrem ovulações de 9 a 12 dias após cessar o tratamento. Usando o dispositivo de progesterona, o folículo dominante presente no momento da inserção regride, mas em resposta a queda do nível de progesterona, um novo folículo desenvolve após 10 dias de tratamento atingindo 35mm. Além disso, suspeita-se que na fase transicional, a progesterona seja foliculogênica. Quando o dispositivo é removido, as éguas rapidamente entram no estro e ovulam entre 4 a 8 dias (SAMPER et al., 2007).

Handler et al. (2006) utilizaram implantes de progesterona (PRID[®]) na tentativa de sincronização do estro, por 11 dias em 8 éguas, em diferentes momentos do ano. Embora os resultados de sincronização tenham sido satisfatórios, no período de anestro sazonal o dispositivo falhou em restabelecer atividade ovariana e consequente ovulação.

Carmo et al. (2009) utilizaram implantes intravaginais de P4 em éguas durante o período de transição de primavera, conseguindo ovulação após 12 dias da retirada do implante em 60% das éguas, contra apenas 20% do grupo não-tratado durante o mesmo período. Progestágenos também foram testados combinados ao 17 β -estradiol, mas esta combinação falhou em atingir ovulação em éguas em anestro com melhores resultados que o uso somente de progesterona (WIEPZ et al., 1988; NAGY et al., 2000).

Em 2010, Hanlon et al. testaram o uso do dispositivo intra-vaginal (Cue-Mare[®]) por 10 dias em éguas em transição de primavera final e obtiveram 100% das éguas ovulando após aproximadamente 3 dias da retirada do implante. Neste estudo, houve um pico de progesterona ($3,3 \pm 0,7$ ng/ml) acompanhado de um declínio das concentrações plasmáticas de FSH e LH um dia após a inserção do implante, o FSH aumentou significativamente e manteve um platô nos dias 3, 4 e 5 (pico de concentração de $9,4 \pm 0,8$ ng/ml no dia 3), logo após ocorreu uma queda nos níveis plasmáticos no período entre os dias 5 e 9. As concentrações plasmáticas de LH aumentaram significativamente nos

dias 6 e 7 comparados ao dia 1. Carmo et al., (2009) verificaram que os níveis de P4 começam a cair no 6º dia pós introdução do implante.

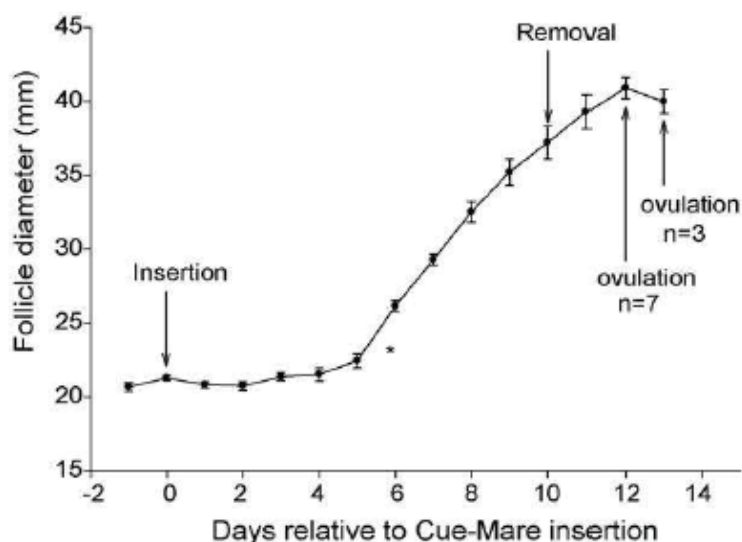


Figura 1: Desenvolvimento folicular em éguas em transição (n=10) tratadas com dispositivo intra-vaginal de progesterona por 10 dias e hCG após a retirada e quando um folículo > 35mm era detectado. * Indica o primeiro significativo ($P < 0,05$) aumento no diâmetro folicular quando comparado ao dias anterior.

Fonte: Hanlon et al., 2010

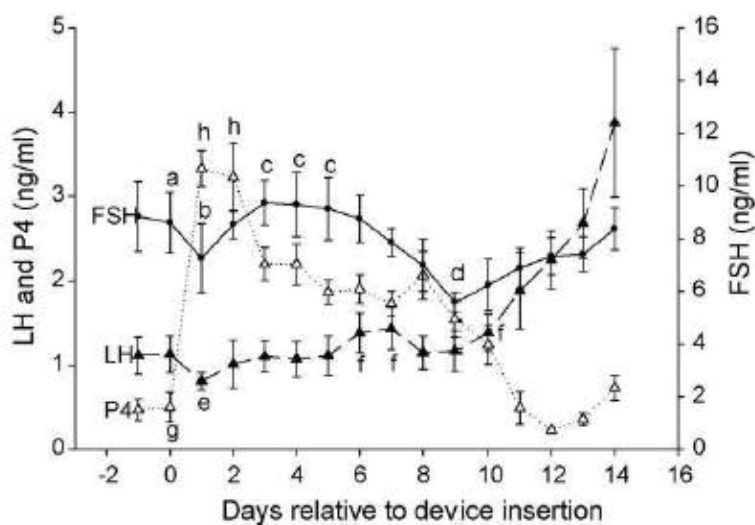


Figura 2: Perfil de LH, FSH e progesterona em éguas transicionais (n=10) tratadas com implante intra-vaginal de progesterona por 10 dias e com hCG após a retirada do implante quando observado folículo >35mm. Letras diferentes indicam diferença significativa ($P<0,05$), FSH (abcd), LH (ef) e progesterona (gh).

Fonte: Hanlon et al., 2010

Sujeitando as éguas à iluminação artificial permitimos que o período transicional ocorra no início da estação de monta. Um estudo foi realizado em que a combinação dos efeitos da luz artificial e altrenogest foram avaliados (SQUIRES et al., 1979). As éguas foram expostas a 16 horas de luz por 60 dias e depois foi administrado altrenogest por 12 dias. Dentro dos grupos tratados, metade das éguas receberam gonadotrofina coriônica humana (hCG) no segundo dia do estro e a outra metade recebeu salina (controle). Todas as éguas tratadas com progestágeno apresentaram estro em até 12 dias após o término do tratamento. A administração do hCG no segundo dia do estro encurtou a duração do estro no grupo tratado. Entretanto, mais éguas tratadas ovularam até 12 dias após o tratamento comparado as éguas do grupo controle. Conclui-se que o tratamento com altrenogest em combinação com a iluminação artificial foi efetivo na regulação do estro, da ovulação e na antecipação do ciclo estral normal.

2.3.3. ANTAGONISTAS DA DOPAMINA

A utilização de antagonistas da dopamina na tentativa de reversão dos efeitos da sazonalidade ainda possui resultados conflitantes. Os principais fármacos utilizados são os antagonistas de D2 sulpiride e domperidone. Em 1996, Besogne et al. utilizaram sulpiride (200mg/égua) até a primeira ovulação ou por um período máximo de 58 dias, resultando em elevação do nível plasmático de prolactina e antecipação média de 33 dias da primeira ovulação, quando comparadas ao grupo não tratado. Donadeu e Thompson Jr (2002) instituíram tratamento diário por um mês com sulpiride (1mg/Kg). Os animais tratados tiveram aumento da concentração plasmática de prolactina, mas os níveis das gonadotrofinas e a atividade ovariana mantiveram-se inalterados. Daels et al. (2000), avaliaram a secreção de FSH e iniciação da atividade reprodutiva em éguas em anestro tratadas com sulpiride (0.5mg/Kg duas vezes ao dia). Os níveis plasmáticos de FSH não sofreram alterações e os níveis de prolactina foram significativamente maiores em éguas tratadas. Quanto ao estabelecimento da primeira ovulação da estação, éguas tratadas com sulpiride associado a condições favoráveis de temperatura e luminosidade conseguiram a primeira ovulação 39 dias em média antes de éguas tratadas alojadas em áreas externas.

Brendemuehl e Cross (2000), trataram éguas em transição de primavera com domperidone (1.1mg/Kg) até a primeira ovulação da estação. Éguas tratadas apresentaram níveis plasmáticos de prolactina e LH significativamente maiores que o grupo controle. A primeira ovulação da estação ocorreu em média no dia 51 do experimento em éguas tratadas e no dia 129 em éguas não tratadas. Mari et al. (2008) compararam os efeitos de sulpiride (1mg/Kg) e domperidone (1mg/Kg). Os animais tratados com sulpiride atingiram a primeira ovulação da estação em média quase um mês antes dos animais tratados com domperidone, apresentando também maiores diâmetros foliculares após o início dos tratamentos.

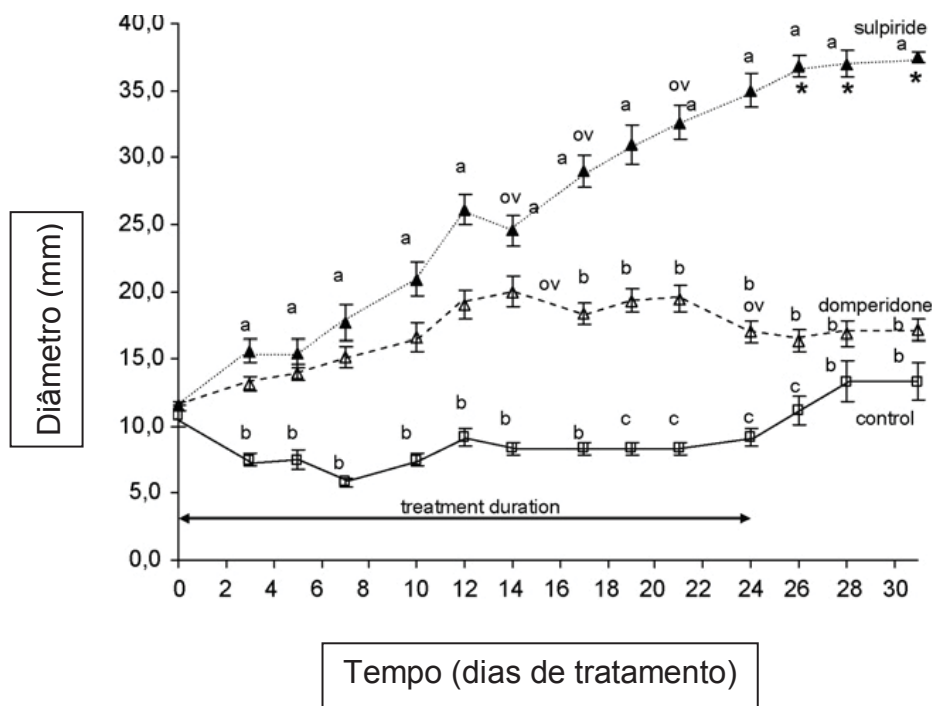


Figura 3: Diâmetro do maior folículo de éguas em anestro tratadas com antagonistas D2 sulpiride (▲) (n=10) e domperidone (Δ) (n=10) e éguas não tratadas (□) (n=6). D0= início do tratamento, 3 de fevereiro – hemisfério norte e D-24=fim do tratamento. Ov significa ovulação durante o tratamento e * ovulação após o tratamento. (a vs b vs c) $P < 0,05$.

Fonte: Mari et al., 2008

2.3.4. GnRH

O GnRH produzido no hipotálamo atua no controle da produção e liberação das gonadotrofinas, sendo sua inibição pela melatonina um dos principais fatores desencadeadores do anestro sazonal. Aceita-se que a transição da estação de monta em éguas é orientado pelo GnRH em resposta ao aumento do fotoperíodo. Strauss et al. (1979) mostraram que a concentração de GnRH no hipotálamo de éguas pôneis foi maior no verão do que no inverno. A mensuração da secreção de GnRH diretamente, usando a técnica “push-pull” por via de um cateter implantado na sela túrcica revelou um aumento significativo na concentração de GnRH no fluido extraído entre o anestro profundo e o anestro transicional, com grande aumento nas éguas

cíclicas (SHARP & GRUBAUGH, 1987). Irvine & Alexander (1987) também dosaram diretamente o GnRH através de amostras de sangue venoso da pituitária em éguas em várias fases reprodutiva e concluíram que a secreção de GnRH foi menor durante a fase de anestro.

Durante a transição, as concentrações de LH e FSH aumentam gradualmente, embora o LH permaneça baixo até a primeira ovulação da estação. Isto se dá, provavelmente, devido ao pequeno armazenamento de LH, que aumenta em resposta as mudanças no comprimento do dia (MCKINNON et al., 2011). Essa situação foi mostrada por Sharp (1988), em que o aumento do comprimento do dia resultou em aumento da secreção de GnRH. O aumento de GnRH causa liberação de FSH e crescimento de ondas foliculares que são esteroidogenicamente incompetentes. Feedback positivo na secreção de LH não ocorre até que as ondas foliculares liberem estrógeno suficiente para causar um pico de LH, resultando em ovulações e começo da ciclicidade regular (MCKINNON et al., 2011).

O estradiol está envolvido no crescimento folicular e ovulação. É conhecido que folículos se desenvolvem e regridem dentro de uma onda folicular, geralmente, durante o meio do período anovulatório e no período transicional podendo alcançar tamanhos similares aos folículos ovulatórios, mas produzem consideravelmente menos hormônio esteróide (WATSON et al., 2002).

Dado que o GnRH é o hormônio mais importante da reprodução, vários autores têm usado essa informação na elaboração de tratamentos para induzir a antecipação da ciclicidade em éguas acíclicas. Evans & Irvine (1977) administraram GnRH (duas vezes por dia) durante o anestro transicional e conseguiram induzir a ovulação em 5/5 éguas. Em experimento subsequente (EVANS & IRVINE, 1979) com éguas em anestro profundo, os autores utilizaram método similar, mas não obtiveram sucesso, onde 3/4 éguas ovularam, mas sem produção de corpo lúteo.

Em 2007, Willians et al. trataram éguas que permaneciam em anestro durante o período de primavera e verão com infusão contínua de GnRH (5µg/h). As éguas tratadas apresentaram elevação dos níveis séricos de LH e retorno da atividade ovariana com ovulação. Collins et al. (2007) utilizaram

infusão contínua de GnRH (2,5µg/h por 60 dias e 5µg/h pelo restante do experimento) em éguas no fim do período ovulatório, porém, não conseguiram impedir a entrada dos animais em anestro e nem alterar os níveis de LH ou FSH. Raz et al. (2009) utilizaram eFSH e deslorelina, um agonista de GnRH, durante a transição de primavera, em duas administrações diárias após a percepção de folículo >25 mm. Um grupo de 18 éguas foram tratadas com 12,5mg de eFSH e, o outro grupo, com a mesma quantidade de éguas, foi tratado com 63µg de deslorelina até os folículos atingirem um diâmetro >35mm, momento onde foi induzida a ovulação com hCG em ambos os grupos. Após o tratamento, 14 de 18 éguas ovularam em cada grupo, porém o grupo tratado com eFSH apresentou maior número de ovulações e embriões recuperado.

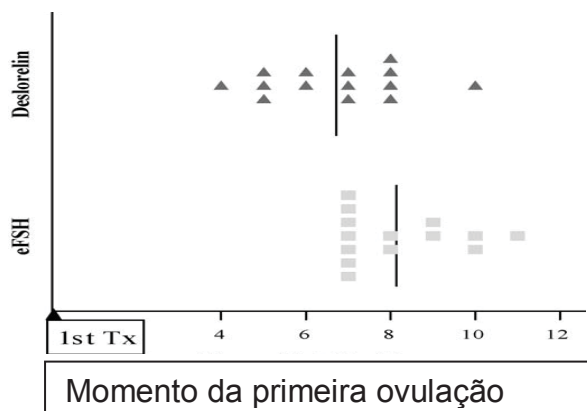


Figura 4: Momento da primeira ovulação da estação reprodutiva em éguas tratadas com deslorelina ou eFSH, seguidos de hCG. Cada símbolo representa o momento da ovulação de cada égua individualmente em relação ao dia do início do tratamento (1st Tx). As linhas verticais indicam o momento média de ovulação das éguas em cada tratamento.

Fonte: Raz et al., 2009

2.3.5. MELATONINA

A melatonina produzida pela glândula pineal representa papel fundamental no controle da estacionalidade reprodutiva em éguas e demais espécies de comportamento semelhante. Guillaume e Palmer (1991) administraram melatonina por via oral associada a iluminação artificial em dois grupos, um antes do nascer do sol e um antes do pôr do sol. Os efeitos estimulatórios da luz artificial somente foram inibidos pela melatonina do fim da tarde, sem efeitos para a melatonina do início da manhã. McManus & Fitzgerald (2003) testaram em éguas em anestro o efeito de um implante subcutâneo de melatonina, associada ou não a Clenbuterol. O tratamento constante com melatonina não influenciou o retorno à atividade folicular, mas demonstrou interferência no efeito lipolítico do clenbuterol. O mecanismo da interação entre os dois tratamentos ainda é desconhecido.

3. OBJETIVOS

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes protocolos sobre a ocorrência da primeira ovulação da estação de monta em éguas em anestro sazonal utilizando luz artificial associado ou não a implantes intra-vaginais de progesterona ou administração intra-muscular de acetato de deslorelina.

4. MATERIAIS E MÉTODO

4.1. PERÍODO E LOCAL DO EXPERIMENTO

O presente trabalho foi realizado durante as estações reprodutivas 2009 e 2010, no período entre 01 de junho à 01 de agosto, nas dependências da Embrio-Equi (Centro Avançado de Reprodução Eqüina), localizada no município de São Simão, São Paulo (Latitude $-21^{\circ} 28'45''$; Longitude $-47^{\circ} 33'03''$).

4.2. ANIMAIS

Foram utilizadas 120 éguas sem raça definida, com idade entre 04 e 12 anos, com escore corporal bom.

As éguas foram divididas em oito grupos e mantidas em piquetes separados com livre acesso a água em bebedouro coletivo e suplementação mineral à vontade, recebendo 10 kg diários de feno de capim coast cross (*Cynodon dactylon*) e 2 kg de ração comercial peletizada contendo 15% proteína e 65% de NDT (Fri-Ribe®, Pitangueiras, SP, Brasil) própria para equinos uma vez ao dia, fornecida em cochos individuais.

4.3. SELEÇÃO DOS ANIMAIS ATRAVÉS DA ULTRASSONOGRAFIA

Previamente ao início do experimento, todas as éguas foram avaliadas através da ultrassonografia trans-retal com o intuito de observar as condições uterinas e ovarianas, sendo critério para o estudo a ausência de corpo lúteo, bem como de folículos maiores que 20 mm. Posteriormente a esta avaliação, os animais foram separados aleatoriamente aos grupos e monitorados duas vezes por semana. Nos grupos onde foi utilizado o dispositivo intra-vaginal de progesterona (Cronipres®, Laboratório Biogénesis-Bagó, Curitiba, PR, Brasil), após a remoção do implante, as éguas passaram a ser avaliadas diariamente até atingirem folículo(s) com diâmetro de 35 mm em média e edema uterino compatível. Neste momento foi administrado 1500 UI de hCG (VETECOR

Laboratório Hertape Calier, MG, Brasil) (GASTAL et al., 2006) e 1 mg de acetato de deslorelina associadas, por via intra-muscular, com o objetivo de indução da ovulação e o monitoramento continuou sendo diário até a ovulação, avaliada pela presença de corpo lúteo.

Para o monitoramento das éguas foi utilizado um aparelho de ultrassonografia equipado com um transdutor linear de 5 MHz (Aloka SSD-500, Japão). O diâmetro folicular foi determinado por meio da média aritmética das duas maiores distâncias transversais do antro folicular em uma única imagem congelada no monitor do aparelho de ultrassonografia (GINTHER, 1995) em todos os grupos.

4.4. GRUPOS EXPERIMENTAIS

As éguas selecionadas conforme descrito anteriormente, foram divididas 8 (oito) grupos:

1º grupo: 15 éguas sem a estimulação de luz artificial (controle);

2º grupo: 15 éguas sem a estimulação de luz artificial e com a implantação do dispositivo intra-vaginal no 30º dia do experimento (P4);

3º grupo: 15 éguas estimuladas com luz artificial por 35 dias (L 35);

4º grupo: 15 éguas estimuladas com luz artificial por 60 dias (L 60);

5º grupo: 15 éguas estimuladas com luz artificial por 35 dias e com implantação do dispositivo intra-vaginal no 36º dia (L 35 + P4);

6º grupo: 15 éguas estimuladas com luz artificial por 60 dias e com implantação do dispositivo intra-vaginal no 36º dia (L 60 + P4);

7º grupo: 15 éguas estimuladas com luz artificial por 35 dias e com aplicações de Deslorelina a partir do 36º dia (L 35 + GnRH);

8º grupo: 15 éguas estimuladas com luz artificial por 60 dias e com aplicações de Deslorelina a partir do 36º dia (L 60 + GnRH).

OBS: Após 60 dias do início do estudo, foram retiradas algumas éguas do experimento por motivos médicos. Dessa forma, o número de éguas foi

reduzido para: controle (n=13), P4 (n=14), L 35 (n=13), L 60 (n=13), L35 + P4 (n=14). Os demais grupos mantiveram n=15.

4.5. PROTOCOLO DE LUZ ARTIFICIAL

As éguas foram estimuladas por 35 ou 60 dias de luz artificial conforme o grupo. Cada grupo de 15 animais foi confinado em um piquete de 100 metros quadrados, com holofotes bem distribuídos na tentativa de se evitar áreas de sombreamento, com uma intensidade de 400 W de luz incandescente fria (vapor de sódio), iniciando às 17:00 horas e encerrando às 22:00 horas (figura 5).

a) Estimulação de luz artificial por 35 dias:

O início da estimulação de luz para estes grupos (G3, G5, G7) foi no dia 01 de junho e o seu término foi no dia 05 de julho.

b) Estimulação de luz artificial por 60 dias:

O início da estimulação de luz para estes grupos (G4, G6, G8) foi no dia 01 de junho e o seu término foi no dia 01 de agosto.



Figura 5: Éguas em tratamento com luz artificial.

Fonte: Arquivo pessoal.

4.6. INTRODUÇÃO DO DISPOSITIVO INTRA-VAGINAL

O dispositivo intra-vaginal (Cronipres®, Laboratório Biogénese-Bagó, Curitiba, PR, Brasil) foi introduzido no dia estabelecido conforme os grupos (G2, G5, G6). Previamente a introdução intra-vaginal do implante, retirou-se a corda plástica, que fica na extremidade inferior do dispositivo, e foi instilado Terracortril® spray para prevenir uma possível vaginite (figura 6). A introdução vaginal foi realizada com a mão enluvada (figura 7). Dez (10) dias após a introdução do dispositivo, este foi removido. O implante utilizado contém 1,3 g de P4 natural.



Figura 6: Dispositivo intra-vaginal (Cronipres®).

Fonte: Marco Antônio Alvarenga.



Figura 7: Introdução do dispositivo intra-vaginal (Cronipres®).

Fonte: Marco Antônio Alvarenga.

4.7. PROTOCOLO DE APLICAÇÃO DE GNRH (ACETATO DE DESLORELINA)

O acetato de deslorelina foi administrado em todas as éguas dos grupos (G7 e G8) a partir do 36º dia do experimento, de 12 em 12 horas, na dose de 100 µg, até estas atingirem folículo(s) com média de 35 mm de diâmetro e edema uterino compatível, para que pudesse ser induzida a ovulação, ou até no máximo 5 dias de tratamento para as éguas que não atingiram diâmetro folicular e edema uterino esperados.

4.8. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a avaliação da porcentagem de éguas que ovularam até os primeiros 60 dias do experimento foi utilizado o teste exato de Fischer e para o número médio de dias até a primeira ovulação foi efetuada a análise de variância (ANOVA) seguida quando necessário pelo teste Tukey. Todas as estatísticas foram consideradas significativas quando $p < 0,05$.

5. RESULTADOS

Quando avaliado o percentual de éguas que ovularam até 60 dias após o início do tratamento observou-se que os grupos L60, L35+P4, L60+P4, L35+GnRH e L60+GnRH foram significativamente mais eficientes ($p<0,05$) em acelerar a primeira ovulação da estação de monta, quando comparados ao grupo controle. Por outro lado, os tratamentos com implante de progesterona e com luz artificial por 35 dias foram similares ao grupo controle, estes dados estão demonstrados na tabela 1 e figura 8.

Tabela 1: Porcentagem das ovulações ocorridas em até 60 dias do início dos tratamentos nos diferentes grupos estudados.

Grupos	Tratamentos	Nº Éguas que ovularam até 60 dias	% ovulações até 60 dias
G1	Controle	2/15	13 ^c
G2	P4	7/15	47 ^{bc}
G3	L35	8/15	53 ^{bc}
G4	L60	11/15	73 ^{ab}
G5	L35 + P4	11/15	73 ^{ab}
G6	L60 + P4	14/15	93 ^a
G7	L35 + GnRH	9/15	60 ^{ab}
G8	L60+ GnRH	9/15	60 ^{ab}

^{a,b,c} Letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente entre si.

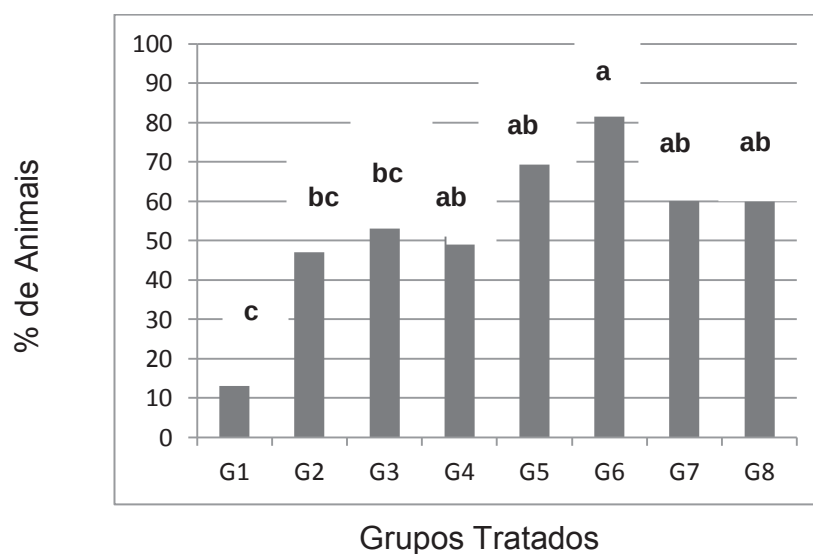


Figura 8: Percentual de animais que ovularam até 60 dias após o início do experimento nos diferentes grupos estudados.

G1= Controle; G2= P4; G3= L35; G4= L60; G5= L35+P4; G6= L60+P4; G7= L35+GnRH; G8= L60+GnRH. Todos os grupos tiveram n=15. Os grupos (G4, G5, G6, G7, G8) diferiram estatisticamente ($p < 0.05$).

Quando comparado o número médio de dias até a primeira ovulação da estação de monta (EM), os grupos L35, L60, L35+P4, L60+P4, L35+GnRH e L60+GnRH foram mais eficientes em antecipar o número de dias até a primeira ovulação da EM. Por outro lado, no grupo tratado única e exclusivamente com implante de progesterona não houve efeito positivo ($p > 0,05$), conforme descrito na tabela 2 e figura 9.

Todos os animais, tratados ou não, apresentaram novamente atividade ovariana cíclica no decorrer da estação reprodutiva subsequente ao experimento.

Tabela 2: Número médio e desvio padrão de dias até a primeira ovulação nos diferentes grupos tratados.

Grupos	Tratamentos	Nº médio de dias até 1ª ovulação	Média em dias da antecipação da 1ª ovulação em relação ao Controle
G1	Controle	115 ± 31 ^c	0
G2	P4	87 ± 41 ^{bc}	28
G3	L35	80 ± 39 ^{ab}	35
G4	L60	61 ± 24 ^{ab}	54
G5	L35 + P4	66 ± 31 ^{ab}	49
G6	L60 + P4	52 ± 7 ^a	63
G7	L35 + GnRH	68 ± 25 ^{ab}	47
G8	L60 + GnRH	64 ± 23 ^{ab}	51

^{a,b,c} Letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente entre si.

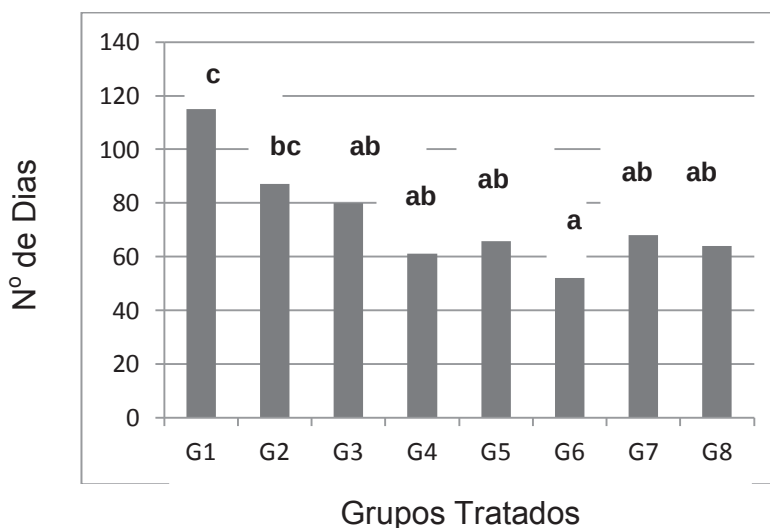


Figura 9: Número médio de dias até a primeira ovulação nos diferentes grupos estudados.

Todos os grupos tiveram n=15. Os grupos (G3, G4, G5, G6, G7, G8) diferiram estatisticamente (p < 0.05).

6. DISCUSSÃO

No presente trabalho, a maioria dos protocolos propostos acelerou o início da atividade cíclica ovariana em éguas em anestro criadas em condições tropicais. Interessante é o fato de que este foi o segundo experimento controlado sobre o uso de luz artificial no Brasil, a despeito da utilização rotineira da iluminação artificial há mais de 50 anos em criatórios de equinos no Brasil, bem como a literatura é falha em relatar outros experimentos sobre o tema em éguas criadas na América do Sul.

Conforme esperado, o tratamento com adição de 5 horas de luz artificial durante 60 dias (L60) encurtou a fase de inatividade ovariana em aproximadamente 54 dias, quando comparado ao controle, sendo mais longo que os achados por Devito et al. (2006) com 49 dias em média até a primeira ovulação e mais curto que os achados por Guillaume et al. (2000) com média de 76 dias até a primeira ovulação utilizando o tratamento com luz artificial por período prolongado.

O protocolo de luz artificial por 35 dias (L35) se mostrou menos eficiente do que o tradicional (L60) onde o percentual de éguas que ovularam até 60 dias foi numericamente menor (53% x 73%), porém sem diferença significativa, discordando de Devito et al. (2006), que observaram um percentual de éguas ovuladas até 70 dias, superior no grupo tratado por 35 dias em relação ao grupo tratado por 60 dias com luz artificial (90% x 78%). No que diz respeito ao número médio de dias até a primeira ovulação, o protocolo L35 se mostrou similar ao L60, contudo, houve uma diferença numérica expressiva favorável ao L60 tendo sido observado uma diferença de aproximadamente 19 dias entre os grupos, na antecipação da primeira ovulação da EM (61 x 80 dias), concordando com os experimentos de Guillaume et al. (2000) e Devito et al. (2006) que também verificaram uma antecipação na primeira ovulação da EM, no protocolo de 35 dias de luz artificial, com médias de 56 e 76 dias até a primeira ovulação.

A proposta de inserir no protocolo de luz artificial o uso de implante de progesterona se baseou em observação de experimentos anteriores (NEWCOMBE et al., 2002; CARMO et al., 2009) onde os autores observaram

efeito favorável em acelerar a atividade ovariana em éguas em transição de primavera. No presente trabalho, o uso exclusivo do implante de progesterona não mostrou efeito significativo sobre a atividade ovariana de éguas em anestro, em relação ao grupo controle. Contudo, foi observado um aumento numérico expressivo tanto na porcentagem de éguas que ovularam até 60 dias (47% x 13%) como no número médio de dias até a primeira ovulação (87 X 115). A diferença do sucesso do uso de implantes quando comparado aos obtidos por outros autores está relacionada à fase em que as éguas se encontravam no momento do tratamento. Carmo et al. (2009), utilizaram somente éguas que se encontravam em transição de primavera intermediária, ou seja, com pelo menos um folículo $\geq 25\text{mm}$, resultando em 60% das éguas ovulando até 12 dias após a remoção do implante. Do mesmo modo, Newcombe et al. (2002) e Hanlon et al. (2010) obtiveram 100% das éguas ovulando em média 45,7 horas e 3 dias após a retirada do dispositivo, respectivamente.

A associação do implante de progesterona aos protocolos L35 e L60 foi benéfica, pois no grupo L60 sem progesterona, 73% das éguas ovularam até 60 dias e no grupo L60 + implante 93% das éguas ovularam até 60 dias. Da mesma forma, no grupo L35 houve um incremento numérico com o uso do implante. A associação do implante ao protocolo L35 fez com que o percentual de éguas ovuladas até 60 dias fosse significativamente superior ao controle, significância essa que não havia sido observada quando no uso exclusivo de luz artificial por 35 dias. Também foi observada diferença numérica expressiva apesar de não significativa no percentual de ovulações até 60 dias no grupo L60, onde o percentual de éguas que ovularam até 60 dias foi 30% superior com a associação do implante de P4 ao protocolo L60 (93% x 73%).

Não foi observado nenhuma reação adversa com a aplicação do implante Cronipres®, discordando de Handler et al. (2006), o qual observou que implante de progesterona por ele utilizado denominado, Cue-Mare®, resultou em suave à moderada vaginite em quase todas as éguas. Contudo, Newcombe et al. (2002) observaram perda do dispositivo em um pequeno número de animais bem como alguns animais apresentaram vaginite. A diferença nos efeitos adversos no implante (vaginite) pode estar relacionada a

aplicação, no presente trabalho, de um produto em spray (Terra-cortril®) contendo corticosteróide, o que sabidamente diminui a reação inflamatória. Outro fato a ser considerado diz respeito ao formato do implante, onde o Cronipres® é aparentemente mais anatômico do que outros implantes comerciais.

A inclusão do uso do sintético de GnRH, acetato de deslorelina, foi fundamentada em experimento anterior onde os autores observaram o encurtamento da fase transicional das éguas tratadas com esta droga (RAZ et al., 2009). Neste experimento, éguas em transição de primavera foram tratadas com 63µg de acetato de deslorelina duas vezes ao dia onde foi observado que 78% das éguas tratadas em fase transicional de primavera ovularam após uma média de 5 dias de tratamento consecutivos. No presente experimento não foi observado nenhuma ovulação durante o tratamento com acetato de deslorelina, a despeito de termos utilizado uma dose similar, mesma frequência e tempo de tratamento. A discordância entre os trabalhos ao que diz respeito ao tratamento com acetato de deslorelina certamente está relacionado ao grau de atividade ovariana das éguas utilizadas, Raz et al.(2009) utilizaram éguas que apresentavam folículos $\geq 25\text{mm}$ de diâmetro. No presente trabalho, nenhuma égua apresentava folículos com diâmetro superior a 20mm no início do tratamento com acetato de deslorelina. O uso do GnRH associado a luz não acelerou a atividade ovariana.

7. CONCLUSÕES

Os resultados do presente experimento nos permite concluir que:

- A fotoestimulação é eficaz em adiantar a ciclicidade em éguas em fase de anestro sazonal, em condições tropicais.
- Após a interrupção dos tratamentos todos animais continuaram a apresentar ciclos ovulatórios.
- A redução do tratamento com luz artificial para 35 dias não foi tão eficaz quanto o protocolo convencional de 60 dias.
- A associação da luz artificial com o implante intra-vaginal de progesterona, ou com a administração intra-muscular de GnRH (acetato de deslorelina, não acelerou de forma significativa o início da ciclicidade ovariana. Contudo mostrou uma redução numérica expressiva de dias para início da ciclicidade ovariana o que tem um forte impacto econômico por reduzir gastos.

8. BIBLIOGRAFIA

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

BAKER, C.B. & KENNEY, R.M., 1980. Systematic Approach to the Diagnosis of the Infertile or Subfertile Mare. In: MORROW (ed) **Current therapy in teriogenology** . W.B. Saunders Co. Phyladelphia. 721-736p.

BERGFELT, D.R. Anatomy and physiology of the mare. In: SAMPER, J.C. 2ed. **Equine breeding management and artificial insemination**. Missouri: Saunders Elsevier, 113-131p. 2009.

BESOGNET, B., HANSEN, B., DAELS, P.F. Dopaminergic regulation of gonadotrophin secretion in seasonal anestrous mares. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.108, p. 55–61, 1996.

BRENDEMUEHL, J.P.; CROSS, D.L. Influence of the dopamine antagonist domperidone on the vernal transition in seasonally anoestrous mares. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.56, p.185-193, 2000.

BURATINI, J. J. Avaliação da dinâmica folicular em éguas da raça mangalarga utilizando a ultrassonografia e as concentrações de progesterona e LH. **Dissertação (Mestrado). Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, Universidade Estadual Paulista**, 66p, 1997.

BURKHARDT, J. Transition from anestrous in the mares and the effects to artificial lighting. **J. Agric. Sci.**, v.30, p. 64-68, 1947.

CARMO, M.T.; TRINQUE, C.L.N.; LIMA, M.M.; ARAÚJO, G.H.M.; ARAÚJO, C.F.M.; MEIRA, C.; FILHO, N.P.; ALVARENGA, M.A. Use of intravaginal progesterone implant to hasten the first ovulation of the season in transitional mares. In: 11th Congress of the World Equine Veterinary Association – **WEVA**, Guarujá, 2009.

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

COLLINS, S.M.; ZIEBA D.A.; WILLIAMS, G.L. Continuous administration of low-dose GnRH in mares II. Pituitary and ovarian responses to uninterrupted treatment beginning near the autumnal equinox and continuing throughout the anovulatory season. **Theriogenology**, v.68, p.673-681, 2007.

CONOVER, C.D.; KULJIS, R.O.; RABII, J.; ADVIS, J-P. Beta-endorphin regulation of luteinizing hormone-releasing hormone release at the median eminence in ewes: immunocytochemical and physiological evidence. **Neuroendocrinology**, v.57, p.1182-1195, 1993.

DAELS, P.F.& HUGHES, J.P.,. The normal estrous cycle. In: Mc KINNON, A. O . & VOSS, J.L.(ed) **Equine Reproduction** . Lea & Febiger, Phyladelphia. 121-132, 1992.

DAELS, P.F.; FATONE, S.; HANSEN, B.S.; CONCANNON, P.W. Dopamine antagonist-induced reproductive function in anoestrous mares: gonadotrophin secretion and the effects of environmental cues. **Journal of Reproductive and Fertility**, v.56, p.173-183, 2000.

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

DEVITO, L.G.; CARMO, M.T. ALVARENGA, M.A.; SANTOS, J.F.; OLIVEIRA, J.V. Effect of short of light exposure for the advance of ovarian activity of mares in se seasonal anestrus. **Acta Scientiae Veterinariae** V.34 (Suplemente 1), P.347, 2006.

DONADEU, F.X.; THOMPSON, J.D.L. Administration of sulpiride to anovulatory mares in winter: effects on prolactin and gonadotropin concentrations, ovarian activity, ovulation and hair shedding. **Theriogenology**, v.57, p.963–976, 2002.

DONADEU, F.X.; WATSON, E.D. Seasonal changes in ovarian activity: Lessons learnt from the horse. **Anim. Reprod. Sci.**, v.100, p.225-242, 2007.

EVANS, M.J.; IRVINE, C.H.G. Induction of follicular development, maturation and ovulation by gonadotrophin releasing hormone administration to acyclic mares. **Biol. Reprod.**, v.16, p.452-462, 1977.

EVANS, M.J.; IRVINE, C.H.G. Induction of follicular development and ovulation in seasonally acyclic mares using gonadotrophin releasing hormone and progesterone. **J. Reprod. Fertil. Suppl.**, v.27, p.113-121, 1979.

FREEDMAN, L.J., GARCIA, M.C. & GINTHER, O.J.,. Influence of ovaries and photoperiod on reproductive in the mare. **J. Reprod. Fertil.**, Suppl.27, p.79-86, 1979a.

FITZGERALD, B.P.; MCMANUS, C.J. Photoperiodic versus metabolic signals as determinants of seasonal anestrus in the mare. **Biology of Reproduction**. v.63, p.335–340, 2000.

GASTAL, E.L.; SILVA, L.A.; GASTAL, M.O.; EVANS, M.J. Effect of different doses of hCG on diameter of the preovulatory follicle and interval to ovulation in mares. **Animal Reproduction Science**, v.94, p.186-190, 2006.

GAYRARD, V.; MALPAUX, B.; TILLET, Y.; THIERY, J.C. Estradiol increases tyrosine hydroxylase activity of the A15 nucleus dopaminergic neurons during long days in the ewe. **Biology of Reproduction**. v.50: p.1168-1177, 1994.

GINTHER, O.J. Folliculogenesis during the transitional period and early ovulatory season in mares. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.90, p.311–320, 1990.

GINTHER, O.J. **Ultrasonic imaging and animal reproduction**: horses. Book 2. Cross Plains, WI: Equiservices Publishing, 394p., 1995

GINTHER, O.J.; BEG, M.A.; DONADEU, F.X.; BERGFELT, D.R. Mechanism of follicle deviation in monovular farm species. **Animal Reproduction Science**, v.78, p.239–257, 2003.

GINTHER, O.J. et al. Seasonal influence on equine follicle dynamics. **Animal Reproduction**, v.1, p.31-44, 2004.

GUILLAUME, D.; DUCHAMP, G.; NAGY, P.; PALMER, E. Determination of minimum Light treatment required for photoestimulation of winter anoestrous mares. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 56, p.205-216, 2000.

GUILLAUME, D.; PALMER, E. Effect of oral melatonin on the date of the first ovulation after ovarian inactivity in mares under artificial photoperiod. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.44, p.249-257, 1991.

GRUBAUGH, W.R.; SHARP, D.C.; BERGLUND, L.A.; MCDOWELL, K.J.; KILMER, D.M.; PECK, L.S.; SEAMANS, K.W. Effects of pinealectomy in pony mares. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 32, p. 293–295, 1982.

HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. **Reprodução Animal**. 7 ed. São Paulo: Manole, 513p., 2004.

HANDLER, J.; SCHÖNLIEB, S.; HOPPEN, H-O.; AURICH, C. Seasonal effects on attempts to synchronize estrus and ovulation by intravaginal application of progesterone-releasing device (PRIDTM) in mares. **Theriogenology**, v.65, p.1145-1158, 2006.

HANLON,D.W.; EVANS, M.J.; FIRTH, E.C. Effect of intravaginal progesterone on follicular dynamic and FSH, LH and progesterone concentrations in transitional mares. **Animal Reproduction Science**, 121S, p.32-34, 2010.

HAVERN, R.L.; WHISNANT, C.S.; GOODMAN, R.L.; Hypothalamic sites of catecholamine inhibition of luteinizing hormone in the anestrus ewe. **Biology of Reproduction** v.44: p.476-482, 1991.

HAVERN, R.L.; WHISNANT, C.S.; GOODMAN, R.L. Dopaminergic structures in the ovine hypothalamus mediating estradiol negative feedback in anestrus ewes. **Endocrinology**, v.134: p.1905- 1914, 1994.

HENNEKE, D.R.; POTTER, G.D.; KREIDER, J.L. Body condition during pregnancy and lactation and reproductive efficiency of mares. **Theriogenology**, v. 21, p.897–909, 1984.

HOWELL, C.; ROLLINS, W. Environmental sources of gestation length of the horse. **Journal Animal Science**, v.10, p.789-805, 1951.

HUGHES, J.P. et al.. The oestrous cycle of the mare and its uterine control. **Australian Veterinary Journal**, v.53, p.415-419, 1975.

HUSZENICZA, G.Y.; NAGY, P.; JUHÁSZ, J.; KÓRÓDI, P.; KULCSÁR, M.; REICZIGEL, J.; GUILLAUME, D.; RUDAS, P.; SOLTÍ, L. Relationship between thyroid function and seasonal reproductive activity in mares. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.56, p.163-172, 2000.

IRVINE, C.H.G.; ALEXANDER, S.L. A novel technique for measuring hypothalamic and pituitary hormone secretion rates from collection of pituitary venous effluent in the normal horse. **J. Endocrinol.**, v.113, p. 183-192, 1987.

KING, S.S., NEQUIN, L.G., DRAKE, S., HEBNER, T.S., ROSER, J.F. and EVANS, J.W.,. Progesterone levels correlate with impending anestrus in the mare. **Journal of Equine Veterinary Science** , v.8, p.109-111, 1988.

IRVINE, C.H.G.; ALEXANDER, S.L.; MCKINNON, A.O. Reproductive hormone profiles in mares during the autumn transition as determined by collection of jugular blood at 6 h intervals throughout ovulatory and anovulatory cycles. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.118, p.101-109, 2000.

LEBLANC, M. M. An approach to the diagnosis of infertility in the mare. **Proceedings of the NAVC, North American Veterinary Conference.** Orlando, Florida, p. 216-219, 2005. Disponível em: <www.ivis.org>

MARI, G.; MORGANTI, M.; MERLO, B.; CASTAGNETTI, B.; PARMEGGIANI, F.; GOVONI, N.; GALEATI, G.; TAMANINI, C. Administration of sulpiride or domperidone for advancing the first ovulation in deep anestrous mares. **Theriogenology**, v.71, p.959-965, 2008.

MCMANUS, C.J.; FITZGERALD, B.P. Effect of daily clenbuterol and exogenous melatonin treatment on body fat, serum leptin and the expression of seasonal anestrus in the mare. **Animal Reproduction Science**, v.76, p.217-230, 2003.

MCKINNON A. O. Hormonal control of equine reproduction. **Proceedings of the 11th Annual Resort Symposium of the American Association of Equine Practitioners**, Gold Coast, Austrália, 2009. Disponível em: <www.ivis.org>

MCKINNON, A.O.; SQUIRES, E.L.; VAALA, E.W.; VARNER, D.D. **Equine Reproduction**, 2ªEd., v.2, 2011.

MALPAUX, B.; THIE'ry, J.-C.; CHEMINEAU, P. Melatonin and the seasonal control of reproduction. **Reproduction Nutrition Development**. v.39, p.355–366, 1999.

MELROSE PA, WALKER RF, DOUGLAS RI-I. Dopamine in the cerebrospinal fluid of prepubertal and adult horses. **Brain Behavior and Evolution**. v.35, p.98-106, 1990.

NAGY, P.; GUILLAUME, D.; DAELS, P. Seasonality in mares. **Animal Reproduction Science**, v. 60/61, p.245–262, 2000.

NEQUIN, L.G.; KING, S.S.; ROSER, J.F.; SODERSTROM, B.L.; CARNEVALE, E.M.; NEUMANN, K.R. Uncoupling of the equine reproductive axes during transition into anoestrus. **Journal Reproduction and Fertility**, v.56, p.153–161, 2000.

NIE, G.; SHARP, D.C.; ROBINSON, G.; CLEAVER, B.D.; PORTER, M.B. Clinical aspects of seasonality in mares. In: YOUNGQUIST, R.S.; THRELFALL, W. 2ed. **Current Therapy in large animal theriogenology**. Missouri: Saunders Elsevier, p.68-73, 2007.

NUNES, M.M.; GASTAL, E.L.; GASTAL, M.O.; ROCHA, A.N. Influence of the autumn transitional phase on follicular development in mares. **Theriogenology**, v.58, p.603-606, 2002.

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

PALMER, E.; DRIANCOURT, M.A.; ORTAVANT, R. Photoperiodic stimulation of the mare during winter anoestrus. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.32, p.275–282, 1982.

PALMER E, GUILLAUME D. Photoperiodism in the equine species—what is a long night? **Animal Reproduction Science**, v.28, p.21–30, 1992.

RAZ, T.; CARLEY, S.; CARD, C. Comparison of the effects of eFSH and deslorelin treatment regimes on ovarian stimulation and embryo production of donor mares in early vernal transition. **Theriogenology** v.71, p.1358–1366, 2009.

ROBINSON, J.E.; KARSCH, F.J. Photoperiodic history and a changing melatonin pattern can determine the neuroendocrine response of the ewe to daylength. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.80, p.159-165, 1987.

ROMANO, M.A.; MUCCIOLO, R.G.; FELICIANO e SILVA, A.E.D. Biologia reprodutiva de éguas: estudo do ciclo estral e momento de ovulação. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, São Paulo, v.35, n.1, p.25-28, 1998.

SAMPER, J.C.; PYCOCK, J.F.; MCKINNON, A.O. The follicle: practical aspects of follicle control. **Current therapy in equine reproduction**. Missouri: Saunders Elsevier, 19p, 2007.

SHARP, D.C., VERNON, M.W., ZAVY, M.T. Alterations of seasonal reproductive patterns in mares following superior cervical ganglionectomy. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 27, p. 87–93, 1979.

SHARP, D.C.; SEAMANS, K.W. Effect of time of day on photostimulation of the breeding season in mares. In: **Proceedings of the 72nd Annual Meeting of the American Society of Animal Science**, 1980.

SHARP, D.C.; GRUBAUGH, W.R. Use of push-pull perfusion techniques in studies of gonadotrophin-releasing hormone secretion in mares. **J. Reprod. Fertil. Suppl.**, v.35, p.289-296, 1987.

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

SHARP, D.C.; GRUBAUGH, W.R.; DAVIS, S.D.; WEITHENAUER, J.; SHEERIN, P. Effects of steroid administration on pituitary LH and FSH in ovariectomized pony mares in the early spring: pituitary responsiveness to GnRH and pituitary gonadotropin content. **Biol. Reprod.**, v.44, p.983-990, 1991.

SHARP, D.C.; DAVIS, S.D. Vernal transition. In: MCKINNON, A.O.; VOSS, J.L. **Equine Reproduction**. 133-143p, 1993.

SHARP, D.C. et al. Role of photoperiod in regulating reproduction in mares: basic and practical aspects. In: YOUNGQUIST, R.S. **Current therapy in large animal theriogenology**. Philadelphia: W. B. Saunders Company, cap.7, p.71-78, 1997.

SQUIRES, E.L.; STEPHENS, W.B.; MCGLOTHLIN, D.E.; PICKETT, B.W. Effect of an oral progestin on the estrous cycle and fertility of mares. **Journal Animal Science**, v.49, p.729-735, 1979.

SQUIRES, E.L.; HEESEMANN, C.P.; WEBEL, S.K.; SHIDELER, R.K.; VOSS, J.L. Relationship of altrenogest to ovarian activity, hormone concentrations and fertility of mares. **Journal Animal Science**, v.56, p.901-910, 1983.

STRAUSS, S.S.; CHEN, C.L.; KALRA, S.P.; SHARP, D.C. Localisation of gonadotrophin releasing hormone (GnRH) in the hypothalamus of ovariectomised pony mares by season. **J. Reprod. Fertil. Suppl.**, v.27, p.123-129, 1979.

TAROUCO, A. K., et al.,. Estacionalidade reprodutiva de éguas abatidas em Pelotas-RS. **Arq. Fac. Vet. UFRGS**, v.23, p.26-42, 1995.

WATSON, E.D.; HEALD, M.; TSIGOS, A.; LEASK, R.; STEELE, M.; GROOME, N.P.; RILEY, S.C. Plasma FSH, inhibin A and inhibin isoforms containing pro- and -alphaC during winter anoestrus, spring transition and the breeding season in mares. **Animal Reproduction Science**, v.123, p.535–542, 2002.

WEBEL, S.K.; SQUIRES, E.L. Control of estrous cycle in mares with altrenogest. **J. Reprod. Fertil. Suppl.**, v.32, p.193-198, 1982.

WEEDMAN, B.J., KING, S.S., NEUMANN, K.R. and NEQUIN, L.G.,. Comparacion of circulating estradiol-17 β and folliculogenesis during the breeding season, autumn transition and anestrus in the mare. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.13, p.502-505, 1993.

WIEPZ, G.J.; SQUIRES, E.L.; CHAPMAN, P.L. Effects of norgestomet, altrenogest and/or estradiol on follicular and hormonal characteristic of late transitional mares. **Theriogenology**, v.30, p.181-191, 1988.

WILLIAMS , G.L.; AMSTALDEN, M.; BLODGETT, G.P.; WARD,J.E.; UNNERSTALL, D.A.; QUIRK, K.S. Continuous administration of low-dose GnRH in mares I. Control of persistent anovulation during the ovulatory season. **Theriogenology**, v.68, p.67-75, 2007.

WINTER, G.H.Z. Características reprodutivas sazonais da égua crioula em uma propriedade à latitude 29°38'S no rio grande do sul. 2007. 46f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

Trabalho a ser enviado para a revista “Veterinária e Zootecnia”

**UTILIZAÇÃO DE DIFERENTES PERÍODOS DE FOTOESTIMULAÇÃO EM
ÉGUAS ACÍCLICAS PARA O CONTROLE DA SAZONALIDADE
REPRODUTIVA**

**USE OF DIFFERENT PERIODS OF PHOTOSTIMULATION IN ACYCLIC
MARES FOR REPRODUCTIVE SEASONAL CONTROL**

**UTILIZACIÓN DE DIFERENTES PERIODOS DE FOTOESTIMULACIÓN EN
YEGUAS ACÍCLICAS PARA EL CONTROL DE LA ESTACIONALIDAD
REPRODUCTIVA**

Carlos Guilherme de Castro Schutzer¹
Hélène Lacerda de Resende¹
Marco Antônio Alvarenga²

Mestrando – Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária – FMVZ – UNESP – Botucatu.

² Professor Adjunto - Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária – FMVZ – UNESP – Botucatu, malvarenga@fmvz.unesp.br

Correspondência para: Prof. Dr. Marco Antônio Alvarenga, Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária – FMVZ – UNESP, Distrito de Rubião Jr. s/n. Botucatu – SP – Brasil, CEP: 18618-000. Tel: (14) 3811-6249 Fax: (14) 3815-8799.

UTILIZAÇÃO DE DIFERENTES PERÍODOS DE FOTOESTIMULAÇÃO EM ÉGUAS ACÍCLICAS PARA O ONTROLE DA SAZONALIDADE

RESUMO

As éguas apresentam um período de atividade reprodutiva durante o verão e, no inverno, um mínimo crescimento folicular e ausência de ovulação (anestro). A fim de antecipar a fase reprodutiva, este estudo teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes períodos de fotoestimulação sobre a ocorrência da primeira ovulação da estação de monta em éguas em anestro sazonal. Foram utilizadas 45 éguas mestiças, em anestro, entre quatro e 12 anos, em São Simão – SP, Brasil. Na ausência de corpo lúteo e folículos maiores de 20mm, as éguas foram aleatoriamente separadas nos seguintes grupos: G1 – controle, sem estímulo com luz artificial (G1; n=15), G2 – estimulação com luz artificial por 35 dias (G2; n=15) e G3 – estimulação com luz artificial por 60 dias (G3; n=15). Utilizou-se o teste exato de Fischer para análise da porcentagem de ovulação até os primeiros 60 dias do experimento e ANOVA seguida de teste de Tukey (quando necessário) para análise do número médio de dias até a primeira ovulação. A porcentagem de éguas que ovularam até 60 dias após início do tratamento no G1 foi similar ao G2 e o G3 foi significativamente mais eficiente ($P<0,05$) que o G1 e similar ao G2. Já quanto ao número médio de dias até a primeira ovulação o G2 foi similar ao G3 e ambos foram significativamente mais eficientes ($P<0,05$) que o G1. Conclui-se que a redução do tratamento com luz artificial para 35 dias não foi tão eficaz quanto o protocolo convencional de 60 dias.

Palavras-chave: Anestro, éguas, fotoperíodo, sazonalidade, transição.

USE OF DIFFERENT PERIODS OF PHOTOSTIMULATION IN ACYCLIC MARES REPRODUCTIVE SEASONAL CONTROL

ABSTRACT

The mares have a period of reproductive activity during the summer and in winter a minimum of absence follicular growth and ovulation (anestrous). In order to anticipate the reproductive phase, this study aimed to evaluate the effect of different periods of photic stimulation on the occurrence of first ovulation of the breeding season in mares in seasonal anestrous. Were used 45 mares crossbred in anestrous between four and 12 years in São Simão - SP, Brazil. In the absence of the corpus luteum and follicles larger than 20 mm, mares were randomly separated into the following groups: G1 - control, without stimulation with artificial light (G1, n = 15), G2 - stimulation with artificial light for 35 days (G2; n = 15) and G3 - stimulation with artificial light for 60 days (G3, n = 15). We used the Fisher exact test for analysis of ovulation rate to the first 60 days of the experiment and ANOVA followed by Tukey test (when necessary) to analyze the average number of days to first ovulation. The percentage of mares that ovulated within 60 days after initiation of treatment in G1 was similar to G2 and G3 was significantly more effective ($P < 0.05$) than G1 and similar to the G2. As for the average number of days to first ovulation the G2 was similar to the G3 and both were significantly more efficient ($P < 0.05$) than the G1. It is concluded that the reduction of treatment with artificial light for 35 days was not as effective as the conventional protocol of 60 days.

Keywords: Anestrous, mares, photoperiod, seasonality, transition.

UTILIZACIÓN DE DIFERENTES PERIODOS DE FOTOESTIMULACIÓN EN YEGUAS ACÍCLICAS PARA EL CONTROL DE LA ESTACIONALIDAD REPRODUCTIVA

Resumen

Las yeguas presentan el período de actividad reproductiva durante el verano y un mínimo de crecimiento folicular y ausencia de ovulación durante el invierno. Con la intención de anticipar la temporada de monta, este estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto de diferentes períodos de fotoestimulación en la presentación de la primera ovulación de la temporada reproductiva. Se utilizaron 45 yeguas mestizas, en anestro, de 4 a 12 años, en São Simão/SP, Brasil. En la ausencia de cuerpo lúteo y de folículos mayores de 20 mm, las yeguas fueron separadas al azar en los siguientes grupos: Grupo 1- testigo, sin estímulo con luz artificial (G1, n = 15), Grupo 2 - estimulación con luz artificial por 35 días (G2; n = 15), y Grupo 3 - estimulación con luz artificial por 60 días (G3; n=15). Se utilizó el teste exacto de Fischer para la análisis del porcentaje de ovulación hasta los primeros 60 días del experimento y el ANOVA seguido del teste de Tukey (cuando necesario) para la análisis del número medio de días hasta la ovulación. El porcentaje de yeguas que ovularon hasta 60 días después del inicio del tratamiento en G1 fue similar al G2 y G3. Ya cuanto el número medio de dias hasta la primera ovulación, el G2 fue similar al G3 y ambos fueron significativamente más eficientes que el G1 ($P>0,05$). Se concluye que la reducción del tratamiento con luz artificial para 35 días no fue tan eficiente cuanto el protocolo convencional de 60 días.

Palavras-clave: Estacionalidad, transición, anestro, yeguas, fotoperiodo.

INTRODUÇÃO

As éguas são animais classificados como poliétricos estacionais, pois possuem sua estação reprodutiva na primavera e verão. Três são os fatores básicos, que explicam o caráter estacional dos ciclos estrais nas éguas: fotoperíodo, temperatura e nutrição (1).

A sazonalidade reprodutiva da égua tem importantes consequências para a criação comercial de equinos. Criadores que utilizam a técnica de transferência de embriões precisam adequar o manejo do período reprodutivo de doadoras ao calendário esportivo destes animais. Além disso, criadores pertencentes às associações de raças que adotam a idade hípica como critério de nivelamento de potros nascidos na mesma temporada, procuram acasalar as éguas o mais cedo possível, para obter o nascimento dos potros o mais próximo possível à data oficial imposta para cavalos de performance (2).

Pesquisas sobre reprodução equina vêm buscando melhor entender e manipular os mecanismos que determinam sua sazonalidade reprodutiva; para antecipação da primeira ovulação do ano, o método mais prático é a aplicação de fotoperíodo artificial, simulando dias longos (3).

O tratamento com iluminação diária de 16 horas utilizando luz artificial durante meados do inverno constitui um dos mais antigos e confiáveis métodos de indução da atividade ovariana no início da primavera (4). O tratamento tem duração média de 6 a 12 semanas, porém após duas semanas significativa atividade folicular pode ser observada (5). Guillaume et al. (6), conseguiram um tempo médio de 76 dias após o início do tratamento até a primeira ovulação para éguas tratadas (G1: 35 dias e G2: até primeira ovulação) e 131 dias para o grupo controle. Não houve diferença entre o grupo tratado por 35 dias e o grupo tratado por período prolongado. Devito et al. (7) trataram éguas em anestro por 35 e 60 dias, em um regime de 17 horas de luz (natural + artificial), os grupos tratados não apresentaram diferença ($p=0,188$) quanto ao tempo médio até primeira ovulação. No entanto, 90% dos animais tratados por 35 dias ovularam até 70 dias, contra 77,78% dos animais tratados por 60 dias. O grupo 1 ainda apresentou maior sincronização ($p=0,064$) no intervalo das ovulações.

A fim de adiantar a primeira ovulação da estação de monta e antecipar a fase reprodutiva das éguas, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito de

diferentes períodos de fotoestimulação sobre a ocorrência da primeira ovulação da estação de monta em éguas em anestro sazonal.

MATERIAL E MÉTODOS

Este experimento foi conduzido durante as estações reprodutivas 2009 e 2010, do dia 01 de junho ao dia 01 de agosto, nas dependências da Embrio-Equi (Centro Avançado de Reprodução Equina), localizada no município de São Simão, São Paulo (Latitude $-21^{\circ} 28'45''$; Longitude $-47^{\circ} 33'03''$). Foram utilizadas 45 éguas sem raça definida, com idade entre 04 e 12 anos, com bom escore corporal.

Previamente ao início do experimento, todas as éguas foram avaliadas através da ultrassonografia trans-retal com o intuito de observar as condições uterinas e ovarianas, sendo critério para o estudo a ausência de corpo lúteo bem como de folículos maiores que 20 mm. Posteriormente a esta avaliação, os animais foram separados aleatoriamente aos grupos e monitorados duas vezes por semana. Quando detectado um folículo ≥ 35 mm de diâmetro, foi administrado 1500 UI de hCG (Vetecor[®], Laboratório Hertape Calier, MG, Brasil) segundo Gastal et al., 2006 (8) e 1 mg de acetato de deslorelina associadas, por via intra-muscular, com o objetivo de indução da ovulação e o monitoramento continuou sendo diário até a ovulação, avaliada pela presença de corpo lúteo. As avaliações foram realizadas utilizando um aparelho de ultrassonografia equipado com um transdutor linear de 5 MHz (Aloka SSD-500, Japão).

Após a seleção dos animais, os mesmos foram distribuídos aleatoriamente entre os grupos: grupo 1 – controle, sem estímulo com luz artificial (G1; n=15), grupo 2 – estimulação com luz artificial por 35 dias (G2; n=15) e grupo 3 – estimulação com luz artificial por 60 dias (G3; n=15). Os grupos tratados foram estimulados por 35 dias (01 de junho à 05 julho) ou 60 dias (01 de junho à 01 de agosto) de luz artificial, cada grupo de 15 animais foi confinado em um piquete de 100 m², com holofotes bem distribuídos, na tentativa de se evitar áreas de sombreamento, com uma intensidade de 400W de luz incandescente fria, iniciando das 17 às 22 horas.

Para análise da porcentagem de ovulação até os primeiros 60 dias do experimento utilizou-se o teste exato de Fischer e para análise do número médio de dias até a primeira ovulação foi utilizado ANOVA seguida de teste de Tukey (quando necessário).

RESULTADOS

Quando avaliado o percentual de éguas que ovularam até 60 dias após o início do tratamento observou-se que o grupo tratado com luz artificial por 60 dias foi significativamente mais eficiente ($P<0,05$) em acelerar a primeira ovulação da estação quando comparado ao grupo controle. Por outro lado, o tratamento com luz artificial por 35 dias foi similar ao grupo controle, estes dados estão demonstrados na figura 1.

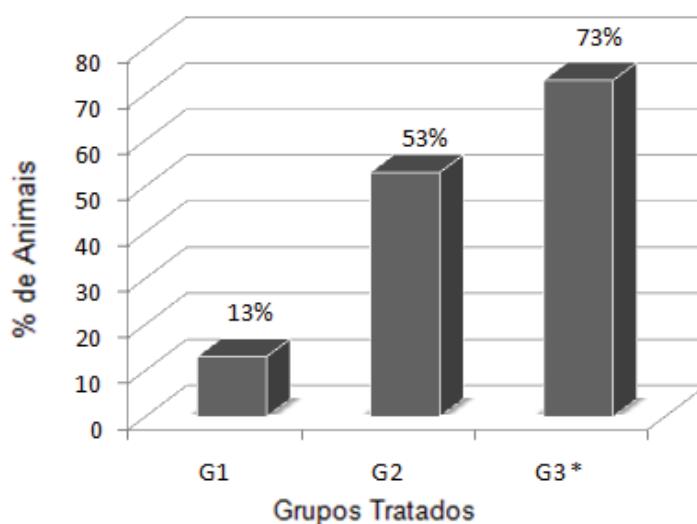


Figura 1: Percentual de animais que ovularam até 60 dias após o início do experimento nos grupos: G1= Controle (n=15); G2= Luz artificial por 35 dias (n=15); G3= Luz artificial por 60 dias (n=15). (*) $P<0,05$.

Comparando o número médio de dias até a primeira ovulação da estação de monta, tanto o grupo tratado com luz artificial por 35 dias quanto ao tratado com luz artificial por 60 dias foram significativamente mais eficientes ($P<0,05$) que o grupo controle em diminuir o número de dias até a primeira ovulação da estação de monta, conforme descrito na tabela 1.

Tabela 1: Número médio e desvio padrão de dias até a primeira ovulação nos diferentes grupos tratados.

Grupos	Tratamentos	Nº médio de dias até 1ª ovulação	Média em dias da antecipação da 1ª ovulação em relação ao controle
G1	Controle	115 ± 31 ^a	0
G2	Luz por 35 dias	80 ± 39 ^{bc}	35
G3	Luz por 60 dias	61 ± 24 ^{bc}	54

^{a,b,c} Letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente entre si.

G1= Controle (n=13); G2= Luz artificial por 35 dias (n=13); G3= Luz artificial por 60 dias (n=13).

DISCUSSÃO

No presente trabalho, os protocolos propostos aceleraram o início da atividade cíclica ovariana em éguas em anestro criadas em condições subtropicais. Interessante é o fato de que este foi o segundo experimento controlado sobre o uso de luz artificial no Brasil, a despeito da utilização rotineira da luz artificial há mais de 50 anos em criatórios de equinos no Brasil, bem como a literatura é falha em relatar outros experimentos sobre o tema em éguas criadas na América do Sul.

Conforme esperado, o tratamento com adição de 5 horas de luz artificial durante 60 dias encurtou a fase de inatividade ovariana em aproximadamente 54 dias, sendo mais longo que os achados por Devito et al. (7) com 49 dias em média até a primeira ovulação e mais curto que os achados por Guillaume et al. (6) com média de 76 dias até a primeira ovulação utilizando o tratamento com luz artificial por período prolongado.

O protocolo de encurtamento do tempo de luz artificial para 35 dias se mostrou menos eficiente do que o tradicional (luz artificial por 60 dias) onde o percentual de éguas que ovularam até 60 dias foi numericamente menor (53% x 73%), porém sem diferença significativa discordando de Devito et al., 2006 que observaram um percentual de éguas ovuladas até 70 dias superior no grupo tratado por 35 dias em

relação ao grupo tratado por 60 dias com luz artificial (90% x 78%). No que diz respeito ao número médio de dias até a primeira ovulação o protocolo com luz artificial por 35 dias se mostrou similar ao de luz artificial por 60 dias, contudo, houve uma diferença numérica expressiva favorável ao grupo de luz artificial por 60 dias tendo sido observado uma diferença de aproximadamente 19 dias entre os grupos na antecipação da primeira ovulação da EM (61 x 80 dias), concordando com os experimentos de Guillaume et al., 2000 e Devito et al., 2006 que também verificaram uma antecipação na primeira ovulação da EM, no protocolo de 35 dias de luz artificial, com médias de 56 e 76 dias até a primeira ovulação da EM.

CONCLUSÕES

Os resultados do experimento nos permite concluir que: a fotoestimulação é eficaz em adiantar a ciclicidade em éguas em fase de anestro sazonal, em condições tropicais; após a interrupção dos tratamentos todos animais continuaram a apresentar ciclos ovulatórios; a redução do tratamento com luz artificial para 35 dias não foi tão eficaz quanto o protocolo convencional de 60 dias.

REFERÊNCIAS

1. Arruda RP. Manejo reprodutivo das fêmeas equinas. In: Semana de Zootecnia, 13. 1990, Pirassununga. In: REPRODUÇÃO E MELHORAMENTO ANIMAL, 1990, Campinas. Anais... Campinas: Fundação Cargill, 1990; 126 p.
2. Donadeu FX, Watson ED. Seasonal changes in ovarian activity: Lessons learnt from the horse. *Animal Reproduction Science*, 2007; 100:225-242.
3. Ginther OJ. Reproductive biology of the mare – 2nd ed. – Michigan, USA: McNaughton and Gunn Inc. Ann Arbor, 1992.
4. Besognet B, Hansen B, Daels PF. Dopaminergic regulation of gonadotrophin secretion in seasonal anestrus mares. *Journal of Reproduction and Fertility*, 1996; 108:55–61.

5. Nagy P, Guillaume D, Daels P. Seasonality in mares. *Animal Reproduction Science*, 2000; 60/61:245–262.
6. Guillaume D, Duchamp G, Nagy P, Palmer E. Determination of minimum Light treatment required for photoestimulation of winter anoestrous mares. *Journal of Reproduction and Fertility*, 2000; 56:205-216.
7. Devito LG, Carmo MT, Alvarenga MA, Santos JF, Oliveira JV. Effect of short of light exposure for the advance of ovarian activity of mares in seasonal anestrus. *Acta Scientiae Veterinariae*, 2006; 34(1):347.
8. Gastal EL, Silva LA, Gastal MO, Evans MJ. Effect of different doses of hCG on diameter of the preovulatory follicle and interval to ovulation in mares. *Animal Reproduction Science*, 2006; 94:186-190.

Instruções aos Autores

- **Artigos Científicos**

Devem ser estruturados de acordo com os seguintes itens:

1. Página de rosto, com:

- Título do trabalho em português, em inglês e em espanhol, fonte Times New Roman, tamanho 12, com espaçamento simples, em negrito e centralizado, em letra maiúscula. Quando necessário, indicar a entidade financiadora da pesquisa, como primeira chamada de rodapé;
- Nomes completos dos autores, em que somente a primeira letra de cada nome deve ser maiúscula, do lado direito da página. Digitá-los, separados um por linha, com **chamadas** de rodapé numeradas e em sobrescrito, **que indicarão** o cargo e o endereço profissional dos autores, seguidos da instituição onde o trabalho foi desenvolvido ou às quais estão vinculados;
- Nome, endereço, telefone, fax e correio eletrônico, para correspondência;
- Em caso de envolvimento de seres humanos ou animais de experimentação, encaminhar o parecer da Comissão de Ética ou equivalente, assinalando, no trabalho, antes das referências, a data de aprovação.

2. Página com resumo, abstract e resumen

- Tanto o resumo, como o abstract e o resumen devem ser seguidos do título do trabalho, no respectivo idioma, e conter no máximo 400 palavras cada um, com informações referentes à introdução, metodologia, resultados e conclusões. O texto deve ser justificado e digitado em parágrafo único e espaço 1,5, começando por RESUMO. O abstract, e o resumen devem ser tradução fiel do resumo. Independente da língua em que o artigo for apresentado, deverá conter o resumo em português, inglês e espanhol.
- Devem conter, no máximo, cinco palavras-chave, key words, e palabras-clave que identifiquem o conteúdo do texto.

3. A estrutura do artigo deverá conter:

Introdução: Deve ser clara, objetiva e relacionada ao problema investigado e à literatura pertinente, bem como aos objetivos da pesquisa. A introdução estabelece os objetivos do trabalho.

Material e Métodos: Deve oferecer informações de reprodutibilidade da pesquisa, de forma clara e concisa, como variáveis, população, amostra, equipamentos e métodos utilizados, inclusive os estatísticos.

Resultados: Apresentação dos resultados obtidos, que devem ser descritos sem interpretações e comparações. Poderá ser sob a **forma de tabelas**, em folha à parte, no máximo de cinco, ordenadas em algarismos arábicos e encabeçadas pelo título, de acordo com as normas de apresentação tabular da ABNT/WBR 6023/2000 da Associação Brasileira de Normas Técnicas, identificadas no texto como Tabela; sob a **forma de figuras**, nos casos de gráficos, fotografias, desenhos, mapas, etc., ordenadas em algarismos arábicos, até no máximo de seis, e citadas no texto como Figura. Devem ser identificadas em folha à parte, onde deve constar o título do artigo. **Fotografias** podem ser em preto e branco ou coloridas, identificadas com o(s) nome(s) do(s) autor(es) no verso. No caso de **desenhos originais**, a impressão deve ser em papel adequado, de qualidade.

Discussão: Deve ser entendida como a interpretação dos resultados, confrontando com a literatura pertinente, apresentada na introdução. Se julgar conveniente, os resultados e a discussão poderão ser apresentados conjuntamente.

Conclusões: É a síntese final, fundamentada nos resultados e na discussão.

Referências: Devem ser apresentadas de acordo com as normas Vancouver (<http://www.icmje.org/>).

Deverão ser editorados em Microsoft Word for Windows, para edição de textos, Excel (qualquer versão) para gráficos, formato JPEG ou GIF (imagem) para fotografias, desenhos e mapas, **em três vias (uma original e duas cópias)** impressas, formato A4 (21,0 x 29,7 cm), em espaço duplo, mantendo margens de 2,5 cm, nas laterais, no topo e pé de cada página, fonte Times New Roman, tamanho 12 e numeração consecutiva das páginas em algarismos arábicos, a partir da folha de identificação. Deverão também apresentar numeração nas linhas, reiniciando a contagem a cada nova página. Ilustrações e legendas devem ser apresentadas em folhas separadas. Encaminhar cópia em disquete 3 ½" de alta densidade ou CD, identificado com título do artigo e nome dos autores. Nas duas cópias **deve(m) ser omitido(s) o(s) nome(s) do(s) autor(es), o local onde se realizou o trabalho, bem como o rodapé.** Não serão fornecidas separatas. Os artigos estarão disponíveis no formato PDF no endereço eletrônico da revista. Para as demais seções da revista são válidas as normas anteriores. Não devem exceder a 15 páginas. Abreviaturas não usuais devem ser empregadas após escritas por extenso na primeira utilização.