

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

**BIOESTIMULAÇÃO EM FÊMEAS OVINAS SUBMETIDAS
À ADMINISTRAÇÃO EXÓGENA DE ACETATO DE
MEDROXIPROGESTERONA OU PROGESTERONA DE
LONGA AÇÃO NA PRÉ-PUBERDADE**

Claudia Dias Monteiro

BOTUCATU – SP
2009

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

**BIOESTIMULAÇÃO EM FÊMEAS OVINAS SUBMETIDAS À
ADMINISTRAÇÃO EXÓGENA DE ACETATO DE
MEDROXIPROGESTERONA OU PROGESTERONA DE
LONGA AÇÃO NA PRÉ-PUBERDADE**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós Graduação em
Medicina Veterinária para obtenção
do título de Mestre em Reprodução
Animal.

Claudia Dias Monteiro

Orientador: Prof. Dr. Sony Dimas Bicudo

BOTUCATU – SP
2009

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

Monteiro, Claudia Dias.

Bioestimulação em fêmeas ovinas submetidas à administração exógena de acetato de medroxiprogesterona ou progesterona de longa ação na pré-puberdade / Andrei Moroz. – Botucatu : [s.n.], 2009.

Dissertação (mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 2009.

Orientador: Sony Dimas Bicudo

Assunto CAPES: 50504002

1. Ovino - Reprodução

CDD 636.30824

Palavras chave: Bioestimulação; Fêmeas ovinas; Pré-puberdade; Progesterona

Nome do autor: Claudia Dias Monteiro

Título: Bioestimulação em fêmeas ovinas submetidas à administração exógena de acetato de medroxiprogesterona ou progesterona de longa ação na pré-puberdade

Comissão Examinadora

Prof. Dr. Sony Dimas Bicudo
Presidente e Orientador
Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária
FMVZ Unesp Botucatu

Dr. Antônio Sérgio Villas Bôas
Zootecnista
Consultor autônomo

Prof. Dra. Maria Denise Lopes
Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária
FMVZ Unesp Botucatu

Data da Dissertação: 18/02/2009

Epígrafe

**“Só o amor é real”
Brian Weiss**

Dedicatória

Aos meus amados, José Roberto meu pai, Angelina minha mãe, Eduardo e Fábio meus irmãos.

Aos primos, afilhada, tios e avós.

Ao Pufi e Bud.

Ao Toddy.

Ao Hugo meu eterno amor.

Agradecimentos

Ao Professor Sony pela orientação, ajuda na execução do experimento, paciência e amizade ao longo destes cinco anos.

À Professora Eunice Oba pela disponibilidade do laboratório para dosagem hormonal.

Aos professores, funcionários e colegas do Departamento de Reprodução Animal.

À seção de pós graduação da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Unesp-Botucatu.

À Capes e à Fundunesp pelo apoio financeiro.

Aos amigos Tiago, Carmo, Marcel, Luana entre outros que ajudaram na realização da parte prática do experimento.

À Fazenda Novo Corte Criação de Ovinos Ltda incluindo seus funcionários e seu proprietário senhor Martinho Ferreira da Rosa.

Ao Dr. Antônio Sérgio Villas Bôas pelas sugestões e ajuda na realização do experimento.

Ao Professor Dr. Alcides de Amorim Ramos pela ajuda na realização e interpretação da análise estatística.

Ao colega doutorando Rodrigo F. Bittencourt pela ajuda na realização da análise estatística.

Ao Bud pela inspiração.

Ao Toddy pelo companheirismo.

À minha família pelo apoio e amor.

Ao Hugo pela ajuda na execução do projeto, dedicação e amor.

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Evolução do peso em kg (média \pm erro padrão) nas observações experimentais das fêmeas ovinas jovens (n=75) submetidas à bioestimulação e administração exógena de acetato de medroxiprogesterona ou progesterona de longa ação..... 39

Tabela 2 – Análise de variância dos valores de Índice de Massa Corporal (IMC) tendo como causa de variação o Grupo, Ordem de Observação e Idade 42

Tabela 3 – Evolução do IMC (média \pm erro padrão) nas observações experimentais das fêmeas ovinas jovens (n=75) submetidas à bioestimulação e administração exógena de acetato de medroxiprogesterona ou progesterona de longa ação 43

Tabela 4 – Análise de variância dos valores de Escore de condição Corporal (ECC) tendo como causa de variação o Grupo, Ordem de Observação e Idade 46

Tabela 5 – Evolução do Escore de Condição Corporal (ECC - média \pm erro padrão) nas observações experimentais das fêmeas ovinas jovens submetidas a bioestimulação e administração exógena de acetato de medroxiprogesterona ou progesterona de longa ação 47

Tabela 6 – Fêmeas ovinas jovens (5 a 7 meses) cíclicas* nos momentos Pré-experimento, experimental 1 e experimental 2, submetidas à bioestimulação e administração exógena de acetato de medroxiprogesterona ou progesterona de longa ação..... 50

Tabela 7 – Resumo da análise da variância das concentrações plasmáticas de progesterona (valores transformados $\text{Log} [\text{JP}_4 + 1]$) em fêmeas ovinas jovens vii submetidas a bioestimulação e administração exógena de medroxiprogesterona ou progesterona de longa ação, tendo como causa de variação o Grupo, Coletas (seis coletas, duas de cada momento) e Idade..... 51

Tabela 8 – Concentrações dos valores de progesterona plasmática (média \pm erro padrão) nos momentos experimentais das fêmeas ovinas jovens submetidas à bioestimulação e administração exógena de acetato de medroxiprogesterona ou progesterona de longa ação 51

Tabela 9 – Análise da variância dos valores de Ganho de Peso Diário em fêmeas ovinas jovens submetidas à bioestimulação e administração exógena de acetato de medroxiprogesterona ou progesterona de longa ação, tendo como causa de variação o Grupo, Momento e Peso..... 53

Tabela 10 – Média (\pm erro padrão) do Ganho de peso diário em gramas nos momentos experimentais das fêmeas ovinas jovens submetidas à bioestimulação e administração exógena de acetato de medroxiprogesterona ou progesterona de longa ação..... 54

Lista de Figuras

- Figura 1** - Representação gráfica da linha temporal do experimento onde são apresentados três Grupos experimentais (Grupo Bioestimulado, Grupo MAPesp e Grupo P4LA) e os principais eventos nos Momentos pré-experimento, experimental 1 e experimental 2 34
- Figura 2** - Evolução do peso em kilograma (kg) em relação à idade (dias) das fêmeas ovinas jovens do Grupo Bioestimulado. * intervalos irregulares de tempo 40
- Figura 3** - Evolução do peso em kilograma (kg) em relação à idade (dias) das fêmeas ovinas jovens do Grupo MAPesp. * intervalos irregulares de tempo 40
- Figura 4** - Evolução do peso em kilograma (kg) em relação à idade (dias) das fêmeas ovinas jovens do Grupo P4LA. * intervalos irregulares de tempo..... 41
- Figura 5** - Evolução do Índice de Massa Corpórea (IMC) em relação à idade em dias das fêmeas ovinas jovens do Grupo Bioestimulado. * intervalos irregulares de tempo 44
- Figura 6** - Evolução do Índice de Massa Corpórea (IMC) em relação à idade em dias das fêmeas ovinas jovens do Grupo MAPesp. * intervalos irregulares de tempo44
- Figura 7** - Evolução do Índice de Massa Corpórea (IMC) em relação à idade em dias das fêmeas ovinas jovens do Grupo P4LA. * intervalos irregulares de tempo .. 45
- Figura 8** - Evolução do Escore de condição corporal (ECC) em relação à idade em dias das fêmeas ovinas jovens do Grupo Bioestimulado. * intervalos irregulares de tempo..... 48
- Figura 9** - Evolução do Escore de condição corporal (ECC) em relação à idade em dias das fêmeas ovinas jovens do Grupo MAPesp. * intervalos irregulares de tempo..... 48

Figura 10 - Evolução do Escore de condição corporal (ECC) em relação à idade em dias das fêmeas ovinas jovens do Grupo P4LA. * intervalos irregulares de tempo..... 49

Sumário

Resumo	1
Abstract	2
1 - Introdução.....	4
2 - Revisão Bibliográfica	7
2.1 - Ciclo reprodutivo de ovelhas	7
2.2 - Fatores moduladores das fases pré-puberdade / puberdade	8
2.2.1 - Controle endócrino	9
2.2.1.1 - Neuropeptídeo Y e Leptina.....	11
2.2.2 - Nutrição	13
2.2.3 - Genética	15
2.2.4 - Estação de nascimento	17
2.2.5 - Bioestimulação	19
2.3 - Indução de ciclicidade com progestágenos e bioestimulação	23
2.4 - Ciclicidade e atividade luteal	24
2.5 - Indicadores do desenvolvimento corporal	25
3 - Objetivos.....	29
3.1 - Objetivo geral	29
3.2 - Objetivos específicos.....	29
4 - Material e Métodos	31
4.1 - Delineamento experimental	31
4.1.1 - Local de experimentação/modelo de produção	31
4.1.2 - Animais experimentais.....	31
4.1.3 - Caracterização dos grupos experimentais.....	31
4.1.4 - Observações experimentais	32
4.1.5 - Caracterização dos momentos experimentais.....	32
4.1.6 - Bioestimulação	34
4.1.7 - Critérios de avaliação	34
4.2 - Metodologia	35
4.2.1 - Pesagem dos animais	35
4.2.2 - Índice de Massa Corpórea.....	35
4.2.3 - Escore de condição corporal	35
4.2.4 - Dosagem hormonal	35

4.2.5 - Análise estatística.....	36
5 - Resultados e Discussão	38
5.1 - Evolução da biometria corporal das borregas ao longo das observações experimentais	38
5.2 - Valores de progesterona plasmática (P ₄) e avaliação do uso de progestágenos ou progesterona de longa ação na ciclicidade das borregas nos momentos experimentais.....	50
5.3 - Relação entre ciclicidade e desenvolvimento corporal das borregas ..	53
5.4 - O papel das Interações sociais na ciclicidade de fêmeas pré-púberes	55
6 - Conclusões.....	58
7 - Referências	60
8 -Trabalho científico	71

MONTEIRO, C.D. **Bioestimulação em fêmeas ovinas submetidas à administração exógena de acetato de medroxiprogesterona ou progesterona de longa ação na pré-puberdade.** Botucatu, 2009. 90p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

Resumo

Objetivou-se avaliar a resposta de fêmeas ovinas à administração exógena de acetato de medroxiprogesterona ou progesterona de longa ação associados à bioestimulação na pré-puberdade. Foram utilizados dois machos adultos Pool Dorset e 75 borregas sem raça definida com idade entre 154 e 218 dias, (média de 179 e erro padrão $\pm 1,20$ dias) e peso entre 25,8 e 36,9kg (média de 30,0kg e erro padrão $\pm 0,124$ kg) no início do experimento que foram divididas equitativamente quanto ao peso, escore de condição corporal e índice de massa corpórea, em três grupos (grupo Bioestimulado, MAP_{esp} e P₄LA) de 25 animais. No grupo bioestimulado as fêmeas foram submetidas à bioestimulação por oito semanas, no grupo MAP_{esp} as fêmeas foram submetidas por 12 dias a esponjas intravaginais impregnadas de medroxiprogesterona (60mg) e bioestimulação por oito semanas e no grupo P₄LA as fêmeas foram submetidas à única aplicação de progesterona de longa ação (225mg) e bioestimulação por oito semanas. O experimento foi composto por 10 observações ao longo de 82 dias. Em 3 momentos experimentais foram realizadas coletas de sangue pareadas em sete dias para dosagem plasmática de progesterona. Em nove observações foram realizadas biometrias envolvendo aferições de peso, índice de massa corpórea e escore de condição corporal. Conclui-se que 93,3% das fêmeas dos três grupos iniciaram a ciclicidade no momento experimental 1 e a maioria, 92% das borregas, permaneceu ciclando após 63 dias da administração exógena de acetato de medroxiprogesterona ou progesterona de longa ação e bioestimulação pelos efeitos macho e fêmea.

Palavras-chave: fêmeas ovinas, bioestimulação, progesterona, pré-puberdade.

MONTEIRO, C.D. **Bioestimulation in ewe lambs submitted to exogenous administration of medroxyprogesterone acetate or long action progesterone in prepuberty.** Botucatu, 2009. 90p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

Abstract

The aim of this study was to evaluate the answer of ewe lambs to exogenous administration of either medroxyprogesterone acetate or long action progesterone associated to bioestimulation in prepuberty. Two Pool Dorset adult males and 75 mixed-breed ewe lambs were used with the average age of 179 days and average weight of 30.0kg in the beginning of the experiment. The females were divided into three different groups (Group MAP, LAP4 and Bioestimulated) according to their bodyweight, body condition score (BCS) and body mass index (BMI). There were 25 animals in each group. In the MAP group the females were submitted to intravaginal sponges containing medroxyprogesterone acetate-MAP (60mg) for 12 days and were bioestimulated for eight weeks. In the LAP4 group the females were submitted to a single application of long action progesterone (225mg) and bioestimulation for eight weeks. And in the Bioestimulated group the females were submitted to bioestimulation for eight weeks. Animals were considered cycling when progesterone concentration reached $\geq 1.0\text{ng/mL}$ in two consecutive samples taken 7 days distant from one another in 3 experimental moments. After the treatments, 93.3% of the females disregarding their group began the cyclicity and most of them (92.0%), continued cyclic after 63 days of either MAP or long action progesterone and bioestimulation under both male and female effect.

Keywords: ewe lambs, bioestimulation, MAP, progesterone, pre-puberty.

1- Introdução

1- Introdução

O início da atividade sexual, tanto em machos quanto em fêmeas, é de grande importância na criação de animais de produção, principalmente para o retorno econômico da atividade, que ocorre somente quando os animais entram na fase produtiva (SOUZA et al., 2003).

A nutrição afeta o processo reprodutivo de diferentes espécies com influência na idade à puberdade, produção de gametas, desenvolvimento placentário e lactação (MARTIN, 1992). A relação entre nutrição e reprodução é complexa (O'CALLAGHAN & BOLAND, 1999).

Durante o primeiro ano de atividade reprodutiva a fertilidade das borregas é baixa comparada à de ovelhas adultas. Uma série de indicadores demonstra que as fêmeas ovinas continuam sexualmente imaturas por algum tempo após atingirem a puberdade, quando definida como a ocorrência do primeiro estro (SASA et al., 2002). A imaturidade é caracterizada por eventos que incluem estro de curta duração e a baixa intensidade de sua manifestação (SASA et al., 2002), bem como a presença de ovulações sem manifestação de estro e de ciclos estrais irregulares ou longos (BATHAEI, 1996).

Em sistemas de produção que visem animais com aptidão para produção de carne, os cordeiros machos logo após o desmame ou com pouco tempo de confinamento são encaminhados ao abate, as fêmeas jovens de acordo com a época de nascimento permanecem no rebanho sendo alimentadas e manejadas até a estação de acasalamento no ano seguinte com idade superior a um ano, o que pode representar uma desvantagem econômica significativa (VILLAS BÔAS et al., 2003).

Os ovinos sofrem grande influência da interação social, com desenvolvimento corporal adequado, um animal jovem pode atingir a maturidade sexual se antes do previsto, pela convivência com animais adultos em atividade reprodutiva. Os jovens se interessam por animais mais velhos e desenvolvem antecipadamente seu instinto, libido e acabam desencadeando a puberdade com menor idade (MOBINI, 2002).

Para a expressão do comportamento estral, se faz necessário que a fêmea sofra uma prévia exposição às determinadas concentrações plasmáticas de progesterona que no período de puberdade são decorrentes dos corpus lúteos formados após as primeiras ovulações (LAMMING & MANN, 1995).

Para melhor elucidação de eventos relacionados ao desencadeamento da puberdade em fêmeas ovinas este estudo foi desenvolvido.

2-Revisão Bibliográfica

2- Revisão Bibliográfica

2.1 Ciclo reprodutivo de ovelhas

Muitas raças ovinas apresentam um modelo de reprodução sazonal com incidência de ciclos estrais concentrados durante o outono e inverno (SASA et al., 2001).

Um dos principais fatores determinantes da estacionalidade é o fotoperíodo, e sua influência na reprodução das fêmeas tem como interdependência a latitude, em caráter diretamente proporcional (CHAMINEAU et al., 2008).

A exposição ao fotoperíodo de uma estação influencia a cronologia da atividade reprodutiva da estação subsequente (SUNDERLAND et al., 1995).

O estro, em ovelhas, varia de 20 a 36 horas, com média de 26 horas (LINDSAY, 1991; JAINUDEEN & HAFEZ, 1993). A ovulação é espontânea e ocorre no final do estro, cerca de 24 a 27 horas após o início. Ovulações duplas e triplas são comuns, e ocorrem dentro de 2 horas após a primeira ovulação (LINDSAY, 1991).

A idade em que a fêmea ovina é coberta pela primeira vez pode variar de 31 meses, quando as condições de criação são muito adversas, até 7 meses, quando as borregas são criadas em sistemas intensivos de alta produção, ocorrendo, em média, aos 19 meses (OTTO SÁ & SÁ, 2007).

A ovelha apresenta um crescimento folicular em “ondas”, com folículos emergindo, aproximadamente a cada 4 dias, alguns crescem a um tamanho máximo de 4 a 7 mm de diâmetro antes da regressão ou ovulação (RAWLINGS et al., 2003).

A cada ciclo estral na ovelha, 100 a 200 folículos iniciam o crescimento, dos quais 10 a 40 são visíveis na superfície do ovário. Na ovelha, o processo de foliculogênese (crescimento/maturação folicular) tem início com a formação dos folículos durante a vida fetal, e, ao nascimento, as cordeiras já possuem determinado número de folículos primordiais em suas gônadas. A maioria destes folículos vão se degenerar no processo conhecido por atresia folicular, enquanto, que apenas uma minoria vai completar sua maturação e ovular (MORAES et al., 2002).

No início do estágio de crescimento dos folículos, são necessários receptores de FSH na célula da granulosa, receptores de LH não são detectados até que os folículos atinjam três mm ou mais de diâmetro. O desenvolvimento de receptores de LH é modulado pela ação do estradiol, FSH e do próprio LH, e por fatores parácrinos

e autócrinos produzidos localmente como as IGF, IGFBP, inibina e ativina (WEBB & ENGLAND, 1982).

Após a luteólise, um ou alguns folículos desenvolvem-se mais, enquanto os demais se tornam atresícos. Neste momento há discreta diminuição dos níveis de FSH, provavelmente causada pelo controle retrógrado negativo sobre a hipófise, como resultado do conjunto de folículos secretarem grandes quantidades de estradiol e inibina. Os folículos candidatos à atresia devido às quantidades limitadas de FSH, tornam-se incapazes em converter andrógenos em estradiol e sua regressão é acelerada. Há também fatores inibidores locais, produzidos pelos folículos dominantes, que restringem o crescimento dos outros folículos (LINDSAY, 1991).

O anestro em ovelhas é caracterizado pela ausência de manifestação do estro e ovulação, resultado de uma mudança no mecanismo de controle retrógrado do estradiol, mediado pelo fotoperíodo (KARSCH et al., 1984). A inter-relação entre o eixo hipotálamo-hipófise e o estrógeno secretado pelo folículo em crescimento será predominantemente negativa, não ocorrendo a cascata desencadeante da ovulação (GINTHER et al., 1989).

Lamming e Mann (1995) descreveram que o estímulo hormonal para o estro é o estradiol, porém um período de exposição a progesterona, de 6 a 8 dias é essencial para que a fêmea seja sensível ao estrógeno. Estes autores relacionaram a ocorrência de “ovulação silenciosa” no início da estação reprodutiva em ovelhas adultas e no início da puberdade, à falta de progesterona. Assim, enfatizaram que a progesterona oriunda do corpo lúteo formado após a primeira ovulação é necessária para a expressão do comportamento estral.

2.2 Fatores moduladores das fases pré-puberdade / puberdade

Há várias definições quanto ao início da puberdade, entre elas: idade ao primeiro estro, idade à primeira ovulação, idade na qual a fêmea suporta a prenhez sem efeitos deletérios futuros, este último principalmente relacionado ao peso corporal. A idade à puberdade em borregas está entre 4 e 14 meses (SENGHER, 2003).

Vários fatores afetam a idade a puberdade, entre eles: genética, nutrição, época de nascimento, relações sociais, peso corporal, depósito de gordura corporal, concentração de glicose sanguínea e taxas plasmáticas de leptina. Estes e outros

modulam, de forma ainda não totalmente conhecida, a liberação, frequência e pulso de gonadotrofinas (SENGHER, 2003).

Raças que possuem crescimento rápido como as Suffolk, Finnsheep e Hampshire tendem a entrar em puberdade mais cedo que as de crescimento mais lento, como a Merino. O primeiro estro ocorre quando as ovelhas apresentam 30 a 50 kg de peso corporal (JAINUDEEN & HAFEZ, 1993).

Quando com peso corpóreo ideal para atingir a maturidade sexual o fotoperíodo vai determinar o início da puberdade na estação em que ocorrer a diminuição do comprimento do dia. Somente ovelhas que tenham sido expostas aos dias longos e então dias curtos, podem atingir seu desenvolvimento sexual (JAINUDEEN & HAFEZ, 1993).

Em ovelhas durante a fase de pré-puberdade o efeito inibitório da dopamina foi mais evidente entre 17 e 22 semanas de idade. A influência do fotoperíodo sobre o ciclo reprodutivo pode modular inter-relações entre a dopamina e opióides endógenos (CARDOSO & NOGUEIRA, 2007).

2.2.1 Controle endócrino

O estímulo adequado para liberação de gonadotrofinas no lobo anterior da hipófise necessita de secreção de GnRH na frequência e quantidade apropriadas. Na fase pré-púbere neurônios pré-sinápticos não possuem habilidade em transmitir a informação ao hipotálamo. A função destes parece ser influenciada por diversos fatores como: plano nutricional, exposição a determinados ambientes, relações sociais, genética, entre outros (SENGHER, 2003).

Após o nascimento ocorre aumento na secreção das gonadotrofinas cuja função, provavelmente, é estimular o desenvolvimento de um *pool* de folículos antrais e uma precoce maturação do eixo hipotalâmico-hipofisário (RAWLINGS et al., 2003).

Em cordeiras, o número de folículos antrais ao nascimento é alto, esta elevada população se mantém até cerca de 4 a 8 semanas de idade, e então há um declínio. O diâmetro do maior folículo em borregas aumenta de 8 a 14 semanas, recua de 14 a 22 semanas, e finalmente volta a aumentar entre 32 e 38 semanas depois do nascimento (RAWLINGS et al., 2003).

O sistema secretor de LH hipofisário em cordeiras é sensível aos efeitos estimulatórios de estradiol antes da puberdade (MEIKLE et al., 1998).

Em borregas pré-púberes, o eixo hipotalâmico-hipofisário é funcionalmente competente, porém os folículos não chegam ao estadió pré-ovulatório, pois o perfil de liberação do LH é caracterizado por pulsos de baixa frequência (SCHILLO et al., 1992).

A atividade endócrina inicial, com aumento da secreção de gonadotrofina é suprimida posteriormente pelo controle retrógrado negativo do estradiol até que a borrega possua peso corporal ou estado metabólico maturo para se reproduzir (RAWLINGS et al., 2003).

A sensibilidade ao estrógeno é maior no período de pré-puberdade podendo ser controlada por neurônios localizados na área pré-óptica medial do hipotálamo (CARDOSO & NOGUEIRA, 2007).

As principais hipóteses que justificam os fatores responsáveis pelo bloqueio da atividade gonadal, nos animais pré-púberes são a “teoria gonadostática”, que enfatiza o exacerbado controle retrógrado negativo que o estradiol provoca no hipotálamo; e a “teoria neural” em que a inibição provocada pelos opióides endógenos suprime o sistema neural dopaminérgico. O sistema neural adrenérgico também possui papel estimulatório na secreção de gonadotrofinas (CARDOSO & NOGUEIRA, 2007).

Concentrações baixas de estradiol exercem controle retrógrado negativo na liberação tônica do LH, em borregas pré-púberes. Porém, o controle retrógrado negativo exercido pelo estradiol sobre a secreção de gonadotrofinas pela hipófise é diminuído com avançar da idade e proximidade da puberdade. Quando as fêmeas atingem a fase peri-púbere, há aumento na frequência de pulsos de LH, maturação dos folículos ovarianos e aumento na concentração de estradiol e conseqüentemente, estro e pico pré-ovulatório de LH (SCHILLO et al., 1992).

Alterações na bioatividade do FSH (alterações no peso molecular e afinidade de receptor), associadas com mudanças no padrão de distribuição de isoformas de FSH, no período de desencadeamento da puberdade em ovelhas, coincidentes com alta frequência de liberação de GnRH e crescentes concentrações de estradiol influenciam o aumento do número e diâmetro dos folículos (RAWLINGS et al., 2003).

Há também diminuição na concentração de receptores ao estradiol no hipotálamo e hipófise, o que permite aumento da frequência dos pulsos de LH e aumento na produção de estradiol pelos folículos ovarianos e com conseqüente desenvolvimento puberal da genitália (SCHILLO et al., 1992).

Alterações no oviduto e corno uterino acontecem histo-morfológicamente durante a transição para a puberdade em ovelhas. Estas mudanças podem ser relacionadas à diminuição de fertilidade associada a borregas quando em sua primeira estação de procriação (LEWIS & BERARDINELLI, 2001).

Na puberdade, as borregas terão ainda mudanças cíclicas de progesterona seguidas por estimulação estrogênica e é provável que esta exposição prévia à progesterona antes da ovulação seguinte altere os mecanismos pelos quais os tecidos respondam ao estrógeno na fêmea pré-púbere (LEWIS & BERARDINELLI, 2001).

2.2.1.1 Neuropeptídeo Y e Leptina

Próximo à primeira ovulação, verifica-se aumento na pulsatilidade de LH, através da diminuição de receptores hipotalâmicos de estradiol associado a possíveis neurotransmissores estimulatórios (noraepinefrina, neuropeptídeo Y, aminoácidos excitatórios) com decréscimo da influência neuronal inibitória (opióides, GABA), estabelecendo-se ritmos de liberação de LH, maior produção de esteróides pelos ovários que irá originar uma retroalimentação positiva, gerando onda pré-ovulatória de LH e a primeira ovulação (CARDOSO & NOGUEIRA, 2007).

Com a função de estimulador do apetite o neuropeptídeo Y (NPY) é um peptídeo de 36 aminoácidos sintetizado nos núcleos arqueados do hipotálamo secretado por terminações nervosas dentro de núcleos paraventriculares. As ações de NPY são mediadas por uma família de subtipos de receptor nomeados Y1 a Y6, com ações de estímulo à ingestão, principalmente mediadas pelos subtipos Y1 e Y5 (EL-HADDAD et al., 2003).

O NPY está associado à percepção do hipotálamo ao estado nutricional, e é influenciado por variações endócrinas, especificamente da leptina e da insulina. O NPY é um potente e crônico inibidor da secreção de LH e também potencial estimulador da secreção de hormônio do crescimento (GH) em ovelhas púberes. Assim, o aumento de NPY que ocorre concomitante com a nutrição reduzida é um significativo contribuinte da redução nas concentrações periféricas de LH e elevação nas concentrações periféricas de GH em animais desnutridos (MORRISON et al., 2002).

A longo prazo, dietas que contenham quantidades restritas de proteína, mas ótima energia, afetarão a densidade populacional de neurônios de NPY nas áreas do

hipotálamo que regulam o crescimento e a reprodução de borregas. Isto sugere que um aumento no número de neurônios produtores de NPY pode ser resultante dos efeitos nutricionais de dietas com baixos níveis de proteína. Então, o NPY possivelmente é o fator que liga a neuromodulação entre condições nutricionais e hormônios somatotróficos e gonadotróficos no sistema nervoso central em ovelhas (POLKOWSKA & GLADYSZ, 2001).

Barb e Kraeling (2004) propuseram que o NPY funcione como mediador primário da ação da leptina no hipotálamo para regular a secreção dos hormônios LH e GH.

A leptina exerce um efeito trans-sinapse por meio dos neuropeptídeos hipotalâmicos NPY e proopiomelanocortina (POMC). A leptina estimula a expressão do POMC, que por sua vez resulta no aumento da produção de hormônio alfa melanócito estimulante (α -MSH), que resulta na saciedade (SALMAN et al., 2007).

A leptina é uma proteína de 16 Kda constituída por 146 aminoácidos sintetizada principalmente pelo tecido gorduroso e segregada na corrente sanguínea. O hipotálamo parece ser o local fundamental de sua ação, porém, são achados receptores de leptina em outras regiões do cérebro como a hipófise (BARB & KRAELING, 2004).

A síntese da leptina em ruminantes é incrementada em longo prazo com o aumento da camada de gordura no corpo, e pelo tamanho ou número de adipócitos. A leptina “sinaliza” ao hipotálamo a condição corporal do animal e tem fundamental papel no desencadeamento da puberdade, onde um determinado *status* corporal precisa ser atingido (SALMAN et al., 2007).

Em ovinos, o fotoperíodo e o nível nutricional afetam a expressão da leptina a médio prazo. A curto prazo, após a refeição, a regulação da síntese e secreção da leptina é mais complexa e envolve interações entre os metabólitos no sangue tais como glicose, ácidos graxos não esterificados, corpos cetônicos, entre outros; e os hormônios, representados pela insulina, GH, catecolaminas e glicocorticóides (SALMAN et al., 2007).

O estradiol parece modular a resposta hipotálamo-hipófise à leptina (BARB & KRAELING, 2004).

O nível de leptina circulante aumenta temporariamente durante tratamento com progestágenos sintético (fluorogestone) em ovelhas (KULCSÁR et al., 2005).

2.2.2 Nutrição

A nutrição tem dois tipos de efeitos contrastantes na atividade ovariana. O primeiro é a inibição da atividade reprodutiva pelo mecanismo hipotalâmico que controla a ovulação, podendo diminuir a ocorrência de ovulações múltiplas e, conseqüentemente, de gestações gemelares devido às carências nutricionais. O segundo é o aumento da fecundidade por um mecanismo ovariano direto em fêmeas adultas devido à suplementação nutricional (SCARAMUZZI & MARTIN, 2008).

A nutrição influencia diretamente a fertilidade de ruminantes por meio do eixo hipotálamo-hipófise-gônada. Isto se deve à participação da nutrição na foliculogênese, principalmente através de mecanismos de sinalização metabólica (SCARAMUZZI et al., 2006).

Os centros neurais recebem informações dos ambientes interno e externo, como temperatura, estresse, interações sociais e especialmente do *status* nutricional. Esta informação é conduzida ao hipotálamo e traduzida através de sinais neuroendócrinos como GnRH que interfere na pulsatilidade do LH e na liberação de FSH, conseqüentemente refletindo nas funções ovarianas, tal como na esteroidogênese (SCHILLO et al., 1992; AMSTALDEN et al., 2000; OLIVEIRA, 2006).

A idade à puberdade é inversamente relacionada ao plano de nutrição. O efeito da nutrição, através do *status* nutricional na maturação sexual afeta a secreção de LH e de GnRH. Portanto, estratégias de manejo nutricional devem ser utilizadas para reduzir a idade à puberdade (SCHILLO et al., 1992).

Em roedores a ingestão calórica, a composição lipídica corporal ou a reserva de tecido adiposo exercem controle sobre a secreção hipotalâmica de GnRH e são importantes para o início da puberdade (CARBALLO, 1999).

O nível nutricional, principalmente o metabolismo energético, está intimamente ligado à reprodução e influencia diretamente a idade à puberdade. O aumento do consumo de proteína resulta em idade mais precoce e maiores pesos à puberdade. Entretanto, a restrição de energia na dieta tem um maior impacto no adiamento do início da puberdade que a restrição de proteína (BOULANOUAR et al., 1995).

Subnutrição durante os meses iniciais de vida causa uma redução no desempenho reprodutivo vitalício, independente da nutrição que possa ser fornecida durante a vida adulta. Com isto, recomenda-se adequação da alimentação durante a

fase de crescimento para assegurar bom desempenho reprodutivo futuro (ROBINSON et al., 2006).

A alternativa de fornecimento de concentrados a cordeiros, a partir de 15 dias de vida, pode complementar o fornecimento energético e protéico do leite materno que tende a diminuir com o avanço da lactação. A adoção de *creep-feeding* pode cumprir esse objetivo, sem onerar o custo de manutenção das ovelhas (VILLAS BÔAS et al., 2003).

Cordeiros desmamados aos 62 dias apresentam ganho de peso diário mais regular, enquanto cordeiros desmamados precocemente (32 dias) apresentam depressão no ganho de peso diário, quando entram para o sistema de confinamento. Talvez este fato esteja relacionado à mudanças anatômicas deficientes do trato gastrointestinal decorrentes da dieta que ocasionam aumentos na digestibilidade da proteína e matéria orgânica, e melhor conversão alimentar (VILLAS BÔAS et al., 2003).

O rúmen adquire funcionalidade a partir de 14 dias de vida e necessita de alimentos sólidos para o desenvolvimento de suas papilas e conseqüentemente sua funcionalidade; cordeiros desmamados muito cedo não têm aparato enzimático e digestivo para absorverem altos níveis de carboidratos (VILLAS BÔAS et al., 2003).

É necessário que os cordeiros estejam adaptados ao consumo de alimentos sólidos e apresentem desenvolvimento mínimo capaz de assegurar a continuidade do seu crescimento. O prolongamento do uso da dieta no *creep-feeding* por 15 dias após desmame provoca diferença perceptível em relação ao ganho de peso de cordeiros submetidos a este sistema ou não (VILLAS BÔAS et al., 2003).

A perda de peso corporal é o fator limitante no retorno da atividade ovariana após o parto de ovelhas criadas na estação de seca, como também a condição corporal da mãe pode limitar o desenvolvimento ponderal do animal jovem (MBAYAHAGA, 1998; BELIBASAKI & KOUIMTZIS, 2000).

O aumento do plano nutricional da mãe no período pós-parto influencia de forma positiva o crescimento e a idade à puberdade das filhas. A quantidade de proteína ingerida resulta em aumento de peso e decréscimo na idade à puberdade (CARDOSO & NOGUEIRA, 2007).

Ruminantes hipoglicêmicos têm seu período anovulatório pós-parto aumentado devido a uma redução da pulsatilidade de LH, pois a hipoglicemia inibe o sistema gerador de pulsos de GnRH (SCARAMUZZI & MARTIN, 2008).

Em ovinos um aumento na ingestão alimentar, conhecido como *flushing* alimentar, pode aumentar a taxa de ovulação, enquanto restrições podem reduzir o número de folículos ovulatórios (SARTORI & MOLLO, 2007).

Segundo Otto Sá e Sá (2007) a utilização do *flushing* antes da reprodução, para as borregas, não tem um claro efeito na taxa de ovulação. Já a alimentação com altos níveis de energia pode estar associada à elevada incidência de borregas inférteis, pelo excesso de gordura. Por hipótese, é o padrão de crescimento inicial das borregas que pode afetar o potencial reprodutivo.

Em geral, o desenvolvimento sexual dos ovinos aparece mais associado ao desenvolvimento corporal do que a idade cronológica. Bielli (2000) constatou que quando há um aumento na quantidade e qualidade de alimento fornecido aos ovinos, há precocidade da idade à puberdade destes animais.

O peso à primeira concepção tem sido utilizado como recomendação prática de introduzir borregas na reprodução. Segundo Chappell (1993), as borregas devem atingir dois terços do seu peso adulto para entrarem na vida reprodutiva.

Para iniciar a estação de acasalamento, as borregas devem ter atingido 60% do peso adulto das ovelhas do rebanho. Além disso, elas devem receber uma alimentação adequada para que sejam capazes de manter a gestação e continuar seu desenvolvimento (OTTO SÁ & SÁ, 2007).

Borregas são mais susceptíveis às perdas embrionárias devido as variações nutricionais ou de outras formas de estresse. Também, uma superalimentação de borregas na fase final de gestação pode resultar em cordeiros muito grandes, causando dificuldades ao parto. Nível nutricional excessivo no final da gestação é mais problemático para borregas do que para ovelhas (OTTO SÁ & SÁ, 2007).

Grings e colaboradores (1998) avaliaram a influência da suplementação mineral (sulfatos de cobre, manganês e zinco) e do implante de progesterona na idade à puberdade de novilhas de corte. O implante de progesterona aumentou o número de novilhas que atingiu a puberdade, comparado com aquelas não tratadas (89% versus 71%), entretanto a suplementação mineral não teve o mesmo efeito.

2.2.3 Genética

A obtenção de altos índices reprodutivos em ovinos está na dependência de vários fatores, entre os quais podem ser citados precocidade, longevidade

reprodutiva, frequência de parições, prolificidade e taxa de sobrevivência de cordeiros. Esses componentes podem ser aperfeiçoados pelo melhoramento genético, mas dependem também de fatores ambientais (RIBEIRO et al., 2003).

Em ovinos, existem diferenças entre raças no que diz respeito à idade e peso corporal ao primeiro cio. Raças precoces, como as de origem inglesa, atingem a puberdade com idade menor (OTTO SÁ & SÁ, 2007).

As características reprodutivas apresentam uma heterose mais elevada do que as características produtivas, isto significa que elas podem ser melhoradas através dos cruzamentos entre diferentes raças. Borregas resultantes de cruzamentos planejados podem apresentar um melhor desempenho reprodutivo do que borregas de raças puras (OTTO SÁ & SÁ, 2007).

O desempenho de cordeiros no período pré-desmame reflete o início de seu potencial de desenvolvimento e a habilidade materna da matriz, permitindo assim, que as características observadas nas crias constituem um aspecto importante para a seleção das fêmeas. As distintas raças de ovinos criados no Brasil crescem e engordam com velocidade diferenciada e, conseqüentemente, os pesos, quando adultos, também serão diferentes. A eficiência de produção de cada raça dependerá da individualidade dos animais e do nível nutricional oferecido (SILVA SOBRINHO, 2001).

A escolha da raça ou grupo genético é um fator muito importante e dependerá entre outros fatores, do objetivo de produção, do ambiente a qual este animal será mantido e do mercado consumidor. A raça ou grupo genético escolhido certamente influenciará na produção e qualidade do produto final, sendo fundamental para o estabelecimento de resultados econômicos satisfatórios (SIQUEIRA, 1999).

A existência da variabilidade individual, observada entre exemplares de uma mesma raça permite a prática da seleção genética. A seleção de borregas que apresentem melhor desempenho reprodutivo associada a uma boa alimentação pode melhorar os índices do rebanho, entretanto, borregas com baixas taxas de ovulação na sua primeira estação podem alcançar uma elevada taxa de ovulação e alta incidência de partos gemelares durante a sua vida reprodutiva futura. Neste caso, corre-se o risco de serem descartados animais de elevado mérito reprodutivo, quando a taxa de ovulação de borregas é o único critério de seleção (OTTO SÁ & SÁ, 2007).

Métodos de seleção visando alterar a herdabilidade de características reprodutivas podem ser significativamente eficazes principalmente quando feitos com associação de genes e ou suas mutações (NOTTER, 2008).

O melhoramento genético contribui diretamente com o aumento da produtividade da criação de ovinos, uma vez que sua melhoria numérica pode ser obtida por seleções genéticas. Um critério de seleção que está sendo estudado é a detecção da presença do gene *Boroola*, pois animais que o contem apresentam maior facilidade de ganho de peso e desenvolvem suas atividades sexuais mais cedo (DELGADO, 2000).

A prolificidade é um dos parâmetros mais importantes quanto ao impacto econômico na indústria da criação de ovinos. Os efeitos da presença de uma ou duas cópias do gene *Boroola* foram estudados em inúmeros países tanto do ponto da fisiologia reprodutiva ou genética, como também sobre as características de produção (ABELLA et al., 2005).

As altas taxas de ovulação e prolificidade de ovelhas Merino *Boroola* ocorrem devido a um limitado número de genes estritamente unidos ou por um único gene autossômico. Este gene é chamado de *FecB* (ABELLA et al., 2005).

O impacto da presença do gene *FecB* no peso ao nascimento, taxa de crescimento pós-natal e idade ou peso a puberdade em fêmeas é pouco significativo e só pode ser observado em determinadas fases do crescimento do animal (ABELLA et al., 2005).

2.2.4 Estação de nascimento

A diferença na idade à puberdade entre machos e fêmeas pode ocorrer devido a uma sensibilidade diferente do eixo hipotálamo-hipofisário ao controle retrógrado negativo de esteróides. Em ambos os sexos, o começo de puberdade origina-se em uma diminuição da sensibilidade do eixo ao controle retrógrado negativo do estradiol em fêmeas e testosterona em machos. Nestes, essa diminuição é precoce quando comparada com fêmeas, pois machos e fêmeas parecem responder diferentemente a informação do fotoperíodo. Em fêmeas o comprimento do dia decrescente é necessário para o desencadeamento da puberdade (DELGADILLO et al., 2007).

O sinal endócrino responsável por mediar os efeitos do fotoperíodo no eixo hipotálamo-pituitário de fetos em ovinos é o ritmo circadiano de secreção da

melatonina de origem materna, há uma rápida passagem de melatonina para o feto através da placenta. Imediatamente após o nascimento, o ritmo de melatonina em cordeiros é irregular, com baixa prevalência de liberação à noite, particularmente durante as 2 primeiras semanas de vida (SUNDERLAND et al., 1995).

Após um estudo com 106 ovelhas gestantes Sunderland et al (1995), afirmam que o feto ovino não tem sua idade à puberdade alterada por influência de tratamentos com fotoperíodos artificiais na mãe, porque o feto não consegue interpretar o ritmo de melatonina oriundo da mãe como um controlador para seu desenvolvimento reprodutivo (SUNDERLAND et al., 1995).

O comprimento da fase pré-pubere é afetado pela duração do anestro sazonal de cada raça. Conseqüentemente, o mês de nascimento é um fator determinante no começo da puberdade (MORENO et al., 1999).

A exposição prematura à dias curtos pode conduzir tanto a antecipação como ao atraso da puberdade de acordo com a idade na qual os cordeiros forem expostos ao fotoperíodo artificial (VALASI et al., 2006).

Ovelhas nascidas no início da estação reprodutiva irão atingir a puberdade mais cedo do que as nascidas no final da estação, que irão apresentar cio na estação reprodutiva do próximo ano (BATHAEI, 1996).

A estação de monta de fêmeas ovinas inicia-se no final do verão e começo do outono, para raças que apresentam estacionalidade reprodutiva. É a diminuição da luminosidade que estimula as borregas a apresentarem os primeiros cios. Por isso, se elas nascerem no mês de agosto, no hemisfério sul, serão estimuladas a apresentar cios, no mês de março, com 7, 19 ou 31 meses. Neste caso a idade ao primeiro parto poderá ser com 13, 25 ou 37 meses (OTTO SÁ & SÁ, 2007). Entretanto, não se observa diferença no número (um ou dois ciclos) ou duração (4 a 7 dias) de ciclos curtos na pré-puberdade em cordeiras que atingem a puberdade na primeira ou segunda estação (MORENO et al., 1999).

Em condições subtropicais a estação de nascimento afeta a idade à puberdade mesmo quando a nutrição não é um problema e a alimentação é fornecida *ad libitum* (DELGADILLO et al., 2007).

Cordeiros nascidos em época de seca terão o fornecimento de alimento prejudicado pelas condições climáticas e início da atividade reprodutiva retardada quando comparados aos animais nascidos em épocas de pastagens de melhor qualidade. Este fator pode ser controlado com o tipo de manejo aplicado ao rebanho

e pelo controle artificial da atividade cíclica reprodutiva (MEREDITH & KIESLING, 1996).

Animais nascidos na primavera apresentam uma defasagem no crescimento e na habilidade em alcançar o peso corporal apropriado para desencadeamento da puberdade, e este fato faz com que a condição anovulatória pré-pubere seja mantida até o começo da próxima estação de procriação que, por sua vez, é controlada pelas variações do fotoperíodo (MORENO et al., 1999).

2.2.5 Bioestimulação

Heape em 1901 foi o primeiro a sugerir que em várias espécies de mamíferos a presença do macho poderia acelerar o começo de puberdade (REKWOT et al., 2001).

De forma abrangente as interações geradas pelo contato da presença denominam-se bioestimulação (UNGERFELD, 2003). Esta tem papéis importantes na reprodução, como acelerar a maturidade sexual, induzir a ovulação, reduzir o tempo de anestro pós-parto e também o incentivar ao coito em muitas espécies de mamíferos como roedores, animais selvagens, suínos, ovinos, caprinos e bovinos (REKWOT et al., 2001).

Porém, de todos os efeitos reprodutivos causados por interações sociais, a regulação da atividade ovariana provocada pela proximidade com o macho é o mais evidente e o melhor conhecido (ROSA & BRYANT, 2002). Genericamente este fenômeno passou a ser denominado de “efeito macho” sendo esta terminologia de uso consagrado (REKWOT et al., 2001; ROSA & BRYANT, 2002; UNGERFELD, 2003; EVANS et al., 2004).

O efeito macho pode ser usado para avançar a estação reprodutiva, tornar a puberdade mais precoce, ou fornecer algum grau de sincronização do estro na fase tardia do anestro sazonal (EVANS et al., 2004).

Do ponto de vista prático e econômico, o efeito macho permite adiantar a estação reprodutiva cerca de 4 a 6 semanas fornecendo uma boa sincronização das partições e posteriormente, desmame. Os resultados são similares aos obtidos com a utilização de tratamentos hormonais, com a vantagem do seu custo quase nulo e da ausência de resíduos hormonais (UNGERFELD, 2003).

O efeito do carneiro não só tem a vantagem de aumentar a eficiência da estação reprodutiva, mas também pode prover um bom grau de sincronia de estros entre as fêmeas, conseqüentemente, de coberturas e parições (ROSA & BRYANT, 2002).

Ovelhas em estro influenciam a atividade reprodutiva em carneiros, principalmente por um aumento na pulsatilidade de LH e testosterona durante as primeiras 4 a 8 horas de contato. O efeito fêmea-fêmea tem sido demonstrado em ovelhas Suffolk e Dorset, sugerido em Merino, semelhante ao que acontece com bovinos e caprinos (UNGERFELD et al., 2003).

Uma porcentagem mais alta de ovelhas Corriedale em anestro ovularam quando ao mesmo tempo foram introduzidos ao grupo em anestro, carneiros e ovelhas em estro. Ovelhas em estro estimulam os carneiros, aumentando os níveis de testosterona deles, então os carneiros ficam mais efetivos em estimular as fêmeas em anestro (UNGERFELD et al., 2003).

A introdução de carneiros em rebanhos de borregas durante a transição do período não reprodutivo para o reprodutivo pode resultar em uma significativa sincronização dosaios e das primeiras coberturas (OTTO SÁ & SÁ; 2007).

As fêmeas também apresentam influência em relação à interação social, geralmente fêmeas expostas periodicamente a animais ciclando tendem a atingir a puberdade mais cedo (MOBINI, 2002).

As relações sociais que um animal tem com outros da mesma espécie podem afetar muitos aspectos do processo reprodutivo. Isto é verdade para muitas espécies e para ambos os sexos. Em ovinos este efeito pode ser percebido em várias associações de grupos e sexos (ROSA & BRYANT, 2002).

A presença contínua de ovelhas cíclicas ou a introdução súbita de ovelhas em estro (normalmente através de indução com hormônio) são capazes de induzir e sincronizar ovulação entre fêmeas, avançando o começo da estação de reprodução. Este fenômeno é conhecido como efeito “fêmea-fêmea” e ocorre devido à influência das ovelhas cíclicas nos carneiros e estes nas fêmeas acíclicas, então uma interação “fêmea-macho” seguido de “macho-fêmea”, e de uma relação direta “fêmea-fêmea” (ZARCO et al., 1995).

O “efeito fêmea” pode ocorrer em animais muito jovens. Katz (1991) demonstrou que a exposição de cordeiros e cordeiras a adultos durante o período de

pré-puberdade aumentou o desempenho sexual deles/delas embora não assegurasse que todos os machos desenvolvessem preferências sexuais para fêmeas.

A ovelha usa os sentidos olfativo, visual, auditivo e tátil para perceber estes estímulos. O efeito do carneiro está relacionado principalmente a ferormônios e ao comportamento do mesmo (ROSA & BRYANT, 2002).

Reciprocamente o carneiro pode ser estimulado pela fêmea. Estas interações entre sexos ocorrem principalmente por estímulos olfatório, visual, audíveis e táteis (REKWOT et al., 2001). O macho ao ter contato com a urina e região púbica das fêmeas pode através do olfato determinar a fase do ciclo estral das ovelhas. Estes ferormônios podem agir como atrativos e ou indutores de atividade sexual (REKWOT et al., 2001).

O termo ferormônio é empregado a substâncias químicas segregadas ao ambiente externo por um animal, pela urina, fezes ou por glândulas cutâneas. Sua ação causa reações específicas em indivíduos receptores da mesma espécie; há a ocorrência de um comportamento específico, de mudanças fisiológicas nos sistemas endócrino ou reprodutivo (REKWOT et al., 2001).

Um ponto interessante relacionado à ação de ferormônios na fisiologia reprodutiva de ovelhas é o modo pelo qual a informação química é recebida e processada para ativar os centros de controle de função reprodutiva. A maioria dos mamíferos tem dois sistemas olfatórios distintos (MARTIN et al., 1986); o sistema olfatório principal, que recebe contribuições sensoriais de receptores localizado no epitélio olfatório no nariz e transmite informação ao sistema nervoso central pelos bulbos olfatórios principais; e o sistema olfatório acessório que recebe informações de receptores encontrados em uma estrutura especializada conhecida como o órgão vômeronasal (VNO). O VNO está localizado perto da cavidade nasal e transfere a informação para o bulbo olfatório e outras regiões do cérebro, como a parte anterior do hipotálamo, que controla o sistema neuroendócrino envolvido na reprodução (ROSA & BRYANT, 2002).

O órgão vômeronasal (VNO) interpreta as informações obtidas através do cheiro e lambertura da região púbica das fêmeas representando um quimiorreceptor especializado na detecção da fêmea em estro e desta forma assumem um papel de liberação, controle e coordenação de atividade sexual (REKWOT et al., 2001).

Os ferormônios estão presentes impregnando a lã, pêlos e lanolina dos carneiros e, ao contrário de outros animais como roedores, sua urina não é a fonte

principal de ferormônios (ROSA & BRYANT, 2002). O órgão VNO contém receptores para ferormônios pouco voláteis da urina e secreções vaginais (REKWOT et al., 2001).

A exposição de ovelhas a carneiros pode induzir um efeito crônico ou agudo. No primeiro caso, a presença contínua do carneiro, muda a cronologia do começo e fim da estação reprodutiva e duração de estro em ovelhas adultas e avança a puberdade em borregas. Já o efeito agudo é caracterizado por uma resposta rápida das ovelhas aos carneiros (ROSA & BRYANT, 2002).

A exposição aos carneiros desencadeia eventos endócrinos que conduzem à ovulação na maioria das ovelhas responsivas dentro de 50 h após o primeiro contato com os carneiros. O desenvolvimento folicular e maturação começam imediatamente após a introdução do carneiro, presumivelmente em resposta a elevação inicial dos níveis basais (pulso e frequência) de LH. A primeira resposta endócrina da ovelha pós-introdução do carneiro é um aumento na secreção basal de LH dentro de 2 a 4 minutos, que conduz até o pico que pode acontecer dentro de 10 a 20 minutos (UNGERFELD, 2003). Esta resposta foi identificada na pré-puberdade, no anestro lactacional e sazonal (ROSA & BRYANT, 2002).

A primeira ovulação induzida pelo “efeito macho” não é acompanhada por comportamento de estro, e o corpo lúteo (CL) que segue esta ovulação é normal em algumas ovelhas, mas sofre regressão precoce em outras (ROSA & BRYANT, 2002).

Ciclos estrais curtos associados à formação de corpos lúteos anormais não são uma característica exclusiva de ovulações induzidas pelo efeito do carneiro. Ocorrem freqüentemente no começo de puberdade, no retorno da atividade cíclica pós-parto e em induções com GnRH (ROSA & BRYANT, 2002).

A presença continuada de carneiros também é necessária para a manutenção de ciclos ovulatórios depois da primeira ovulação e, apesar da presença de carneiros, algumas ovelhas que tenham ovulado algumas vezes podem voltar à condição anovulatória (ROSA & BRYANT, 2002).

Vários fatores, entre eles a nutrição influenciam a eficácia do efeito macho em fêmeas (SCARAMUZZI & MARTIN, 2008).

2.3 Indução de ciclicidade com progestágenos e bioestimulação

O pré-tratamento com progesterona pode levar a uma formação normal do corpo lúteo, a exposição por pelo menos 30 horas parece ser necessária, esta pode ser administrada através de injeções intramusculares, implantes subcutâneos ou esponjas intravaginais. Se tratadas com uma única injeção, a resposta é dependente da dose e da cronometragem da administração. Se for administrada por dispositivos intravaginais, a duração do tratamento é importante (ROSA & BRYANT, 2002).

A progesterona retarda o pico de LH ocasionando o desenvolvimento de folículos por um período mais longo de exposição à gonadotrofinas, assegurando que eles estejam maduros no momento da ovulação (ROSA & BRYANT, 2002).

O pré-tratamento com progesterona inibe o aumento no número de receptores de ocitocina endometriais e conseqüentemente a secreção de prostaglandina e a regressão prematura do CL. A primeira ovulação será acompanhada de demonstração de estro se a progesterona ou progestágeno forem administrados por 10 dias e a remoção da esponja ou a última injeção seja seguida da colocação do carneiro (COGNIE et al., 1982).

O efeito macho associado ao pré-tratamento com progestágenos, possibilita a obtenção de melhores resultados de sincronização de cio para utilização em inseminação artificial, sem os inconvenientes da utilização de hormônios protéicos proveniente de outras espécies, suscetíveis a formação de anticorpos e capazes de diminuir a fertilidade (MARTIN et al., 1986). A utilização prévia de progestágenos permite que um número significativo de ovelhas demonstre estro poucos dias após a introdução dos machos e previne a formação de CL de curta duração (UNGERFELD et al., 2003).

O efeito macho em associação ao emprego de progestágenos dispensa a utilização de gonadotrofinas, proporcionando menor custo, simplificando o manejo, e evitando prejuízos futuros à fertilidade, e essa associação de métodos proporciona o acasalamento em épocas alternativas, diminuindo o intervalo entre partos, com conseqüente aumento na eficiência reprodutiva (WHEATON et al., 2003).

De fato, a pré-exposição a progestágenos em ovelhas submetidas ao efeito macho impede a ocorrência de fases lúteas curtas o que sugere que a falta de progesterona e da sua ação inibidora na secreção de estradiol permite a síntese de receptores endometriais para a ocitocina, 5 dias após a introdução dos machos, com

o conseqüente aumento na liberação de PGF2 α e lise prematura do corpo lúteo (LASSOUED et al., 1997). O pré-tratamento com progestágenos durante um período mínimo de 10 dias e a introdução dos machos no dia da remoção das esponjas ou da sua última administração, permite que os animais exibam estro em simultâneo com a primeira ovulação (MARTIN et al., 1986).

Tem havido várias abordagens no sentido de potenciar o efeito macho e os tratamentos de estimulação/sincronização hormonais sobre a resposta das ovelhas e a fertilidade subsequente. Estes estudos têm conduzido à racionalização da utilização de hormônios exógenos sem diminuição da eficiência dos métodos de indução e sincronização do ciclo (WILDEUS, 1999).

Umberger et al. (1994) verificaram que a associação do efeito macho a tratamentos com progestágenos de sincronização em ovelhas anovulatórias, foi tão eficaz na indução das ovulações como os tratamentos associando gonadotrofinas.

Em trabalhos realizados por Evans et al. (2004) nos quais ovelhas submetidas a um protocolo de sincronização de estro com progestágenos foram expostas aos machos nos últimos 3 dias de tratamento, observou-se um rápido aumento da secreção de LH, um avanço do início e do fim do estro, do pico de LH e da ovulação, reduzindo ainda a duração do estro.

Tratamentos de longa duração utilizando progesterona por 12 a 14 dias são amplamente e eficazmente utilizados em pequenos ruminantes na indução e sincronização de estro (SCARAMUZZI et al., 2006).

Quando se necessita do estímulo com progesterona, a redução da mão de obra e a eliminação do risco de perdas de dispositivos vaginais e incidências de vaginites podem ser diminuídas com a utilização de progesterona de longa ação aplicada em dose única (ALMEIDA et al., 2005).

A aplicação intramuscular, em ovelhas ovariectomizadas, de progesterona de longa ação (P₄LA-150) nas doses de 75 e 150 mg mantém níveis séricos de progesterona acima de 1ng/mL por até cinco dias após aplicação; já na dose de 300 mg, até nove dias (ALMEIDA et al., 2005).

2.4 Ciclicidade e atividade luteal

Níveis plasmáticos de progesterona inferiores a 1 ng/mL por período superior a dez dias, são característicos de fêmeas em anestro enquanto valores superiores a 3

ng/mL caracterizam a fase de diestro (luteal) ou gestação (MINTON et al., 1990; SASA et al., 2002).

Pode-se caracterizar o estro pela observação de fêmeas marcadas por machos vasectomizados com confirmação pela obtenção de concentrações plasmáticas de progesterona inferiores a 1 ng/mL por um período máximo de 48 horas (SASA et al., 2002).

De acordo com Minton e colaboradores (1990), valores plasmáticos de progesterona inferiores a 1 ng/mL podem caracterizar as fases de estro ou de anestro.

Coelho (2000), trabalhando com fêmeas das raças Santa Inês (SI), Romney Marsh (RM) e Suffolk (SU), verificaram que as médias de concentrações plasmáticas de progesterona durante as fases do ciclo estral das fêmeas SI, RM e SU foram de 0,45; 0,30 e 0,39 ng/mL no estro, 1,64; 1,91 e 1,88 ng/mL no metaestro, 4,30; 4,86 e 4,33 ng/mL no diestro e 2,16; 2,33 e 1,47 ng/mL no proestro, portanto valores seqüenciais ≥ 1 ng/mL caracterizam ciclicidade (SASA et al., 2002).

Borregas da raça Santa Inês em atividade cíclica reprodutiva apresentam valores de progesterona que variam de 0,08 a 7,36 ng/mL ao longo do ciclo estral (SASA et al., 2002).

Fêmeas das raças Romney Marsh (RM) e Suffolk (SU) encontram-se em atividade reprodutiva no período de abril a julho com valores plasmáticos que variam de 0,13 a 7,05 ng/mL e de 0,15 a 7,30 ng/mL, respectivamente (RM e SU). No período de agosto a novembro, os valores oscilam de 0,06 a 0,43 ng/mL para RM e 0,10 a 0,47 ng/mL para SU, valores <1 ng/mL caracterizando que as fêmeas de ambas as raças encontram-se em anestro (SASA et al., 2002).

2.5 Indicadores do desenvolvimento corporal

O peso corporal em ovinos é visto como uma medida indireta e pouco eficaz para se avaliar o estado nutricional, devido às diferentes raças com presença ou não de lã, aos tipos de gestações e ao estado do animal. Com isso está sendo utilizada a avaliação da condição corporal (CC) como um método eficaz e simples para se obter o estado nutricional do rebanho (BOUCINHAS et al., 2006).

O desempenho dos ovinos para produção de carne é analisado, principalmente, pelo seu peso corporal. Recentemente, no entanto, novos estudos

têm dado atenção às características morfométricas que estão diretamente relacionadas ao peso do animal e permitem descrever melhor um indivíduo ou população e determinar tendências ao longo dos anos em uma raça (SILVA & ARAÚJO, 2000).

As medidas corporais morfométricas são influenciadas pelos efeitos genéticos e pelos erros de mensuração, porém estão menos sujeitas, as influências ambientais (SILVA & ARAÚJO, 2000).

Memória (2004) avaliou diferentes grupos genéticos de ovinos criados no Ceará, verificando alta correlação do peso corporal com medidas morfométricas como altura da cernelha e comprimento corporal.

O peso corporal é o melhor indicador de produção, no entanto, na espécie ovina há uma variedade de raças muito grande e associado a isto, existe ainda variação em tamanho corporal, entre e dentro de raças. Devido a esta diversidade pode haver enganos no momento de avaliação e comparação de peso. Por isso, alguns estudos estão enfatizando o escore de condição corporal (ECC), que é uma avaliação subjetiva do estado corporal do animal e correlaciona a composição corpórea e sua reserva de gordura (THOMPSON & MEYER, 2008).

O ECC é importante parâmetro para definição de animais aptos à reprodução quando se objetiva maximizar a sua eficiência reprodutiva e também um bom indicador do estado de composição da carcaça. A faixa de 3,0 a 3,5 pontos é considerada ótima para a atividade reprodutiva ou abate (ROMAN et al., 2007).

Animais com 11 meses de idade apresentam ECC médio de 3,4 e elevam seu escore de condição corporal (ECC) em até 0,76 pontos (escala de avaliação de 1 a 5 pontos) em cinco meses quando em sistema extensivo, sendo necessário, em média, ganho de 18,7 kg de peso vivo para adição de um ponto neste escore (ROMAN et al., 2007).

A avaliação da condição corporal dos animais por diferentes métodos, tem sido largamente empregada nas mais variadas espécies como forma de se obter um monitoramento intensivo do *status* do rebanho, objetivando assim uma maior eficiência em termos produtivos e reprodutivos. A aplicação do índice de massa corporal (IMC) através do uso da equação: $IMC = \text{peso} \cdot [(AC \cdot 100^{-1})(CEI \cdot 100^{-1})]^{-1}$ é uma alternativa mais objetiva e não menos efetiva de representação do estado corporal animal (RIBEIRO et al., 2007).

Na avaliação dos animais produtores de carne, as medidas corporais, como o comprimento do corpo, perímetro torácico, altura da cernelha e da garupa são importantes, pois as mesmas indicam o rendimento de carcaça e a capacidade digestiva e respiratória dos animais (SANTANA et al., 2001).

Os coeficientes de correlações encontrados entre peso corporal e as medidas de perímetro torácico e comprimento corporal indicam que as mesmas estão altamente correlacionadas (SANTANA et al., 2001).

O ganho médio diário (GMD) dos animais e a taxa de lotação (TL) da pastagem apresentam alta relação. O desempenho individual aumenta linearmente com variação de 0,146 a 0,172 kg/animal/dia (ROMAN et al., 2007).

No período pós-desmame o peso dos cordeiros com 240 dias de idade, em mestiços Texel foi de $23,7 \pm 3,8$ kg, e os Santa Inês de $20,7 \pm 2,2$ kg, sendo o ganho real de 17,35 e 20,49 kg, para os mestiços Santa Inês e Texel, respectivamente (VILLARROEL et al., 2006).

A hipótese deste experimento é que fêmeas ovinas jovens com desenvolvimento corporal adequado, mesmo com baixa idade, quando submetidas aos efeitos de bioestimulação e administração exógena de acetato de medroxiprogesterona ou progesterona de longa ação iniciem sua ciclicidade.

3-Objetivos

3- Objetivos

3.1 Objetivo geral

- Caracterizar o desencadeamento e manutenção da ciclicidade em fêmeas ovinas pré-púberes submetidas aos efeitos da bioestimulação e da administração exógena de acetato de medroxiprogesterona ou progesterona de longa ação.

3.2 Objetivos específicos

- Caracterizar o desenvolvimento corporal de fêmeas ovinas juvenis sem raça definida em modelo de produção inicial intensivo e posterior manutenção a pasto (VILLAS BÔAS et al., 2003) submetidas aos efeitos da bioestimulação e da administração exógena de acetato de medroxiprogesterona ou progesterona de longa ação.

- Avaliar a possibilidade do uso de protocolos de indução de ciclicidade em fêmeas ovinas juvenis com a administração exógena de acetato de medroxiprogesterona (60mg) pelo emprego de esponjas intravaginais por 12 dias ou de progesterona de longa ação pela única aplicação de 225mg de progesterona (P4LA-150) intramuscular, associados à bioestimulação.

4-Material e Métodos

4- Material e Métodos

4.1 Delineamento experimental

4.1.1 Local de experimentação/modelo de produção

O experimento foi realizado no segundo semestre de 2007 e primeiro semestre de 2008, na pré-estação de acasalamento (novembro de 2007 a fevereiro de 2008) em plantel de ovinos mestiços com aptidão em produção de carne, criado no município de Arandú – SP (Latitude: 20° 00' S / Longitude: 48° 56' W).

Os animais foram mantidos em modelo de produção preconizado por Villas Bôas et al (2003) que consta de:

- suplementação dos cordeiros com ração no *creep feeding* desde o nascimento até o desmame, com dieta de 18% de proteína bruta e 78% de NDT.
- desmame dos cordeiros aos 62 dias.
- confinamento e suplementação *ad libitum* por 15 dias pós-desmame com dieta de 14% de proteína bruta e 68% de NDT.
- manutenção dos cordeiros sem suplementação em piquetes de *Panicum maximum* cultivar *Aruana* após o período de confinamento e vida adulta, com acesso a sal mineral e água *ad libitum*.

4.1.2 Animais experimentais

Fizeram parte do experimento dois machos adultos de 3 anos de idade da raça Pool Dorset e 75 borregas sem raça definida (SRD) com idade entre 154 e 218 dias, (média de 179 e erro padrão $\pm 1,20$ dias) e peso entre 25,8 e 36,9kg com média de 30,0kg (erro padrão $\pm 0,124$ kg), no início do experimento e que foram divididas equitativamente quanto ao peso, Escore de Condição Corporal e Índice de Massa Corpórea, em três grupos de 25 animais.

4.1.3 Caracterização dos grupos experimentais

- **Grupo Bioestimulado:** fêmeas (n=25) que foram submetidas à bioestimulação por oito semanas.

- **Grupo MAP_{esp}**: fêmeas (n=25) submetidas por 12 dias a esponjas intravaginais impregnadas de medróxiprogesterona (Progespon[®], Syntex S.A. 60 mg MAP) e bioestimulação por oito semanas.
- **Grupo P₄LA**: fêmeas (n=25) submetidas à única aplicação de progesterona (P₄LA-150 veículo oleoso, manipulada em laboratório próprio) intramuscular na dose de 225mg (1,5mL) e bioestimulação por oito semanas.

4.1.4 Observações experimentais

O experimento foi composto por 10 observações ao longo de 82 dias.

Para acompanhamento do desenvolvimento corporal, biometrias envolvendo aferições de Altura da Cernelha, Comprimento Esterno Isquiático, Peso e Escore de Condição Corporal foram realizados nas nove primeiras observações (O1 a O9; Fig. 1).

4.1.5 Caracterização dos momentos experimentais

Para avaliação dos efeitos da bioestimulação sobre a ciclicidade das fêmeas jovens, 3 momentos experimentais foram caracterizados:

- **Momento Pré-experimento**: coletas pareadas de sangue dos três grupos para avaliação das concentrações plasmáticas de progesterona das borregas antes da administração exógena de acetato de medroxiprogesterona e progesterona de longa ação. Contemporâneo às observações 1 e 2 (O1 e O2), correspondendo ao D-19 e D-12 do experimento.
- **Momento experimental 1**: coletas pareadas de sangue dos três grupos para avaliação do desencadeamento da ciclicidade nas borregas após administração exógena de acetato de medroxiprogesterona e progesterona de longa ação. Contemporâneo às observações 5 e 6 (O5 e O6), correspondendo ao D7 e D14 do experimento.
- **Momento experimental 2**: coletas pareadas de sangue dos três grupos para avaliação da continuidade da ciclicidade nas fêmeas jovens. Contemporâneo às observações 9 e 10 (O9 e O10), correspondendo ao D56 e D63 do experimento.

Durante o Momento “pré-experimento”, foram realizados os procedimentos de administração da medroxiprogesterona ou progesterona de longa ação da seguinte maneira:

- Em **D-19** foi introduzido o espéculo intravaginal nas fêmeas do Grupo MAP_{esp} para remoção do hímen, necessário à colocação posterior da esponja intravaginal. (Fig. 1)
- Em **D-12** do experimento foram colocadas as esponjas intravaginais impregnadas com acetato de medroxiprogesterona nas fêmeas do Grupo MAP_{esp}. (Fig. 1)
- Em **D-5** do experimento foi aplicado 225 mg (1,5mL) de progesterona de longa ação (P₄LA) intramuscular nas fêmeas do Grupo P₄LA. (Fig. 1)
- Em **D0** do experimento foram retiradas as esponjas intravaginais das fêmeas do Grupo MAP_{esp} e todos os animais (3 Grupos e 2 machos) foram colocados por 8 (oito) semanas, em piquete de *Aruana*. (Fig. 1)

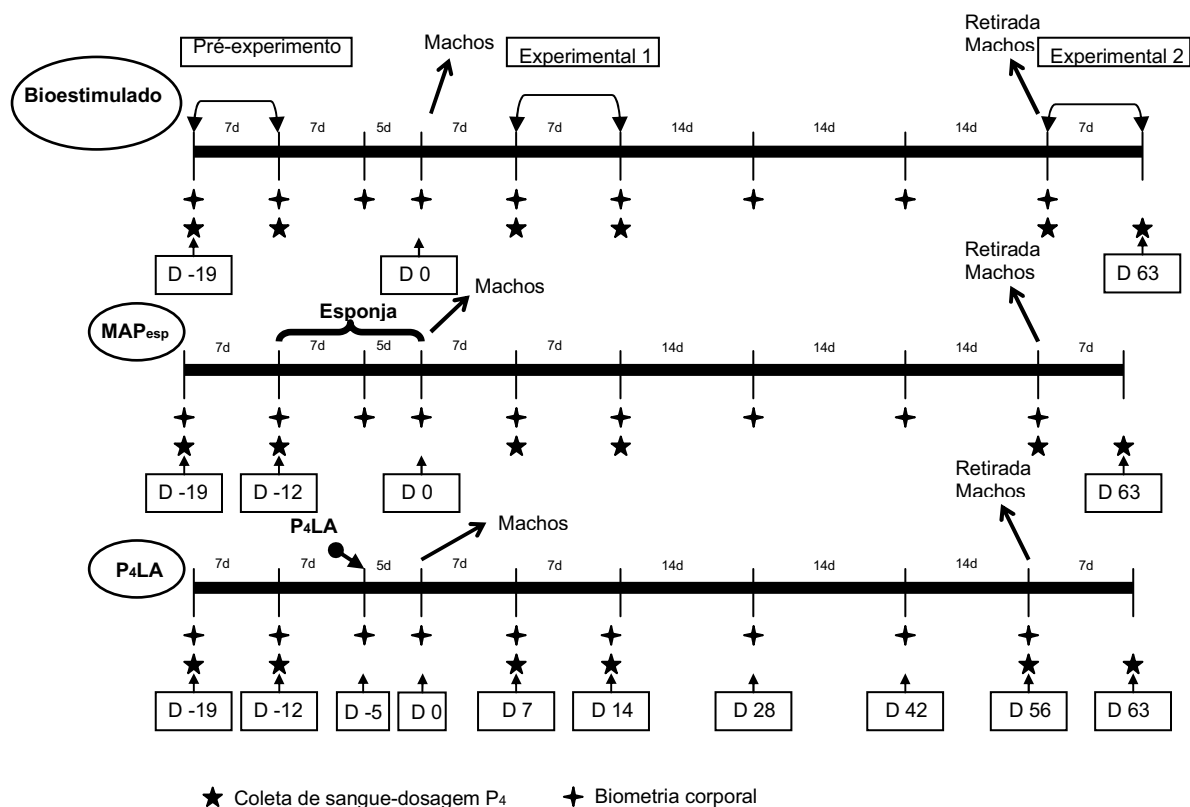


Figura 1 - Representação gráfica da linha temporal do experimento onde são apresentados três Grupos experimentais (Grupo Bioestimulado, Grupo MAP_{esp} e Grupo P₄LA) e os principais eventos nos Momentos pré-experimento, experimental 1 e experimental 2.

4.1.6 Bioestimulação

Todos os animais experimentais permaneceram juntos (Dois reprodutores n=2 da raça Pool Dorset e as fêmeas dos três Grupos experimentais n=75) por oito semanas em piquetes de capim *Panicum maximum* cultivar *Aruana*, com acesso a sal mineral e água *ad libitum*.

4.1.7 Critérios de avaliação

- Peso, Escore de Condição Corporal e Índice de Massa Corpórea (IMC):** para acompanhamento do desenvolvimento corporal das fêmeas, biometrias envolvendo Pesagem, aferições do ECC (RADOSTITS et al., 1994) e da Altura da Cernelha e Comprimento Esterno-Isquiático foram realizadas em nove observações experimentais.

- **Presença de atividade luteal:** valores $\geq 1\text{ng/mL}$ de progesterona plasmática das fêmeas ovinas jovens dos três grupos em uma das dosagens pareadas dos 3 diferentes Momentos: pré-experimento, experimental 1 e experimental 2 foram considerados indicadores da funcionalidade luteal.

4.2 Metodologia

4.2.1 Pesagem dos animais

Os animais foram pesados individualmente, em nove observações experimentais, em Balança Digital (Trutest® XR 3000), expressando-se o peso vivo em kilogramas (Kg).

4.2.2 Índice de Massa Corpórea

A biometria corporal foi realizada, em nove observações experimentais, com o animal em estação e em posição quadrupedal com um paquímetro de cerca de 1 metro de comprimento aferindo-se as medidas em centímetro (cm), Altura de Cernelha (AC), Comprimento Esterno Isquiático (CEI) e Peso vivo, em quilograma (Kg). Foi calculado o Índice de Massa Corpórea (IMC), pela aplicação da equação: $IMC = \text{Peso} \times [(AC \times 100^{-1}) \times (CEI \times 100^{-1})]^{-1}$ com peso em Kg e AC e CEI em cm (Adaptado de BICUDO & SARTORI FILHO, 1995).

4.2.3 Escore de condição corporal

O ECC foi realizado, em nove observações experimentais, com o animal em estação e em posição quadrupedal, pelo mesmo técnico e utilizando escala de 1 a 5 (RADOSTITS et al., 1994).

4.2.4 Dosagem hormonal

As colheitas de sangue foram realizadas por venopunção jugular, em tubos heparinizados, mantidos sob refrigeração até o momento de centrifugação a $1.200 \times g$ por dez minutos com separação do sobrenadante. O plasma assim obtido foi mantido sob congelação a 30°C negativos até a quantificação hormonal.

As dosagens plasmáticas de progesterona foram realizadas por radioimunoensaio em fase sólida utilizando-se *kits* comerciais (DPC- Med Lab – Diagnostic Products Corporations) seguindo-se as recomendações do fabricante, sendo a leitura efetivada em um sistema automatizado de medida gamma (Gamma Count mod.5500, Beckman- USA). O erro intra-ensaio foi calculado a partir da inserção de três repetições em duplicatas, no início meio e fim do processo de dosagem, de uma amostra controle.

A precisão intra-ensaio foi determinada por cálculo probabilístico obtendo-se índice de reatividade (IR)= 58,50%; erro intra-ensáio (EIE)= 3,68%; dose mínima detectável (DMD)= 0,02ng/mL; coeficiente de correlação médio da curva de determinação (r)= 0,9981.

4.2.5 Análise estatística

Os dados são apresentados por meio da estatística descritiva, sendo as variáveis submetidas à análise de variância e comparadas pelo método Tukey com significância de 5% de probabilidade pelo programa SAS System (COCHRAN & COX, 1976).

Inicialmente são apresentados os dados correspondentes à evolução do desenvolvimento corporal dos animais, o Peso, o Escore de Condição Corporal e Índice de Massa Corpórea, obtidos ao longo de 9 (nove) observações.

Posteriormente são apresentados os dados correspondentes aos valores de progesterona (ciclicidade dos animais) que para análise estatística foram transformados em $\text{Log} [\text{JP}_{4+1} + 1]$ e ganho de peso diário.

5-Resultados e Discussão

5- Resultados e Discussão

5.1 Evolução da biometria corporal das borregas ao longo das observações experimentais.

Os dados obtidos ao longo de 9 (nove) observações experimentais nas quais foi realizada a biometria corporal são apresentados em forma de Tabelas (Tab.1 a Tab.5) e Figuras (Fig.2 a Fig.10) com intuito de caracterizar o desenvolvimento de fêmeas sem raça definida em fase de crescimento com idade entre 5 e 7 meses, em modelo de produção inicial intensiva e posterior manutenção a pasto (VILLAS BÔAS et al., 2003) submetidas aos efeitos da bioestimulação e da administração exógena de acetato de medroxiprogesterona ou progesterona de longa ação.

Tabela 1 – Evolução do peso em kg (média \pm erro padrão) nas observações experimentais das fêmeas ovinas jovens (n=75) submetidas à bioestimulação e administração exógena de acetato de medroxiprogesterona ou progesterona de longa ação.

OBSERVAÇÃO	Peso no Grupo			
	Bioestimulado	MAP _{esp}	P ₄ LA	Média \pm ep
O1	29,96 \pm 0,51	29,65 \pm 0,40	30,39 \pm 0,51	30,00 ^e \pm 0,51
O2	30,40 \pm 0,44	31,10 \pm 0,42	32,00 \pm 0,42	31,19 ^d \pm 0,44
O3	30,10 \pm 0,47	30,70 \pm 0,42	31,20 \pm 0,49	30,68 ^{d,e} \pm 0,47
O4	30,80 \pm 0,46	31,50 \pm 0,42	31,50 \pm 0,58	31,26 ^d \pm 0,45
O5	31,80 \pm 0,40	32,70 \pm 0,42	32,80 \pm 0,60	32,46 ^c \pm 0,40
O6	32,50 \pm 0,48	33,30 \pm 0,39	33,60 \pm 0,58	33,14 ^c \pm 0,47
O7	33,40 \pm 0,50	34,20 \pm 0,35	34,50 \pm 0,54	34,07 ^b \pm 0,49
O8	33,40 \pm 0,44	34,80 \pm 0,35	34,90 \pm 0,57	34,37 ^b \pm 0,44
O9	34,40 \pm 0,46	35,70 \pm 0,37	35,80 \pm 0,52	35,33 ^a \pm 0,16
Média \pmep	31,87 ^B \pm 0,33	32,64 ^A \pm 0,41	32,98 ^A \pm 0,37	

Diferentes letras (maiúsculas na linha, minúsculas na coluna) indicam valores estatisticamente diferentes, Tuckey, P<0,05 .

Peso Médio Grupo Bioestimulado

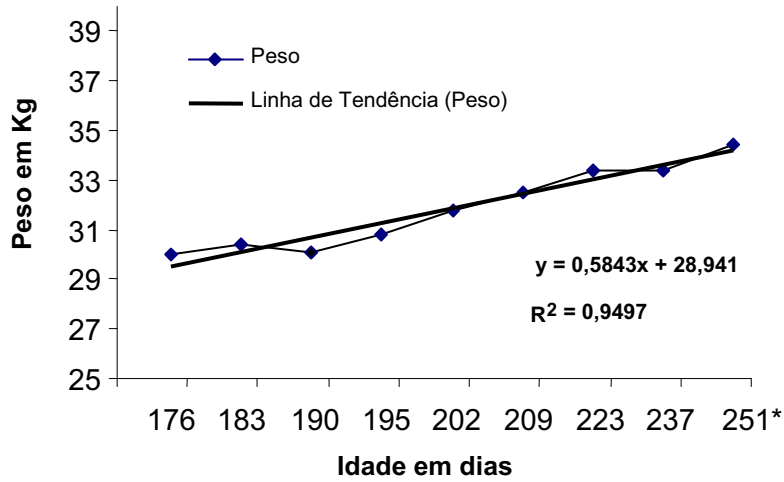


Figura 2 - Evolução do peso em quilograma (kg) em relação à idade (dias) das fêmeas ovinas jovens do Grupo Bioestimulado. * intervalos irregulares de tempo.

Peso Médio Grupo MAP_{esp}

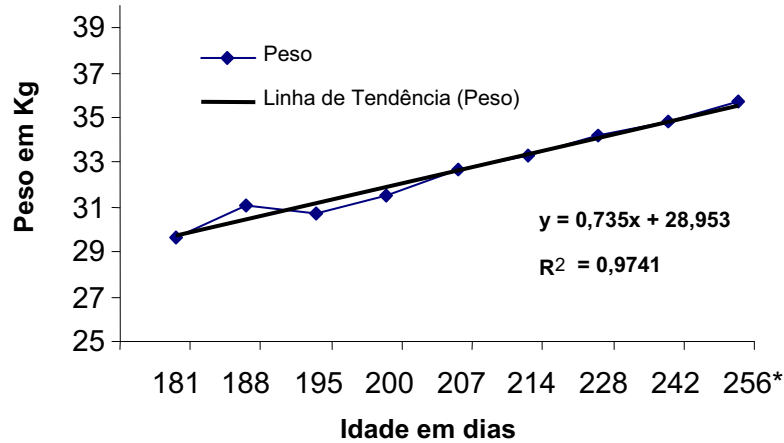


Figura 3 - Evolução do peso em quilograma (kg) em relação à idade (dias) das fêmeas ovinas jovens do Grupo MAP_{esp}. * intervalos irregulares de tempo.

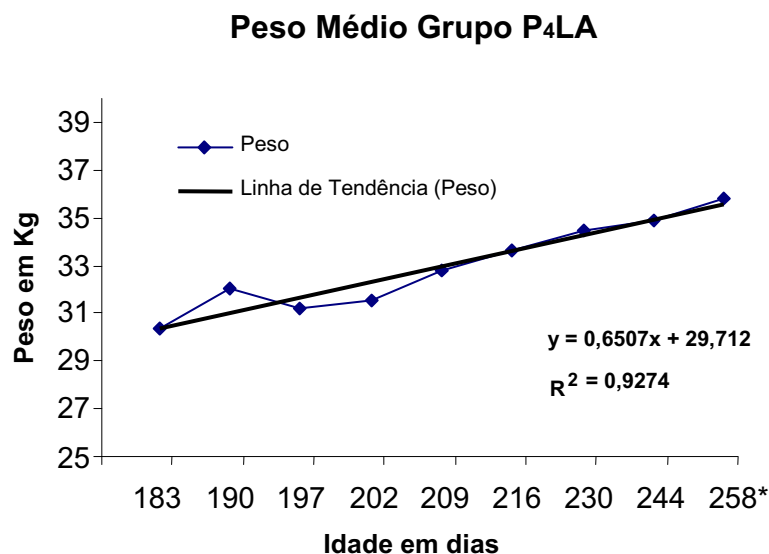


Figura 4 - Evolução do peso em kilograma (kg) em relação à idade (dias) das fêmeas ovinas jovens do Grupo P₄LA. * intervalos irregulares de tempo.

A evolução do peso das borregas (n=75) utilizadas no experimento apresentou tendência ascendente como é possível observar nas Fig. 2 a 4 e Tab. 1 e 10.

Os três grupos apresentaram aumento gradativo do peso ao longo do experimento, com maior ganho de peso no momento pré-experimento. As fêmeas do grupo bioestimulado apresentaram média de peso diferente estatisticamente das fêmeas dos outros grupos devido ao menor ganho de peso no momento pré-experimento deste grupo. Este fato ocorreu provavelmente devido a uma variação individual entre os animais. (Fig. 2 a 4, Tab. 1 e 10).

Não é possível creditar o maior ganho de peso dos grupos P₄LA e MAP_{esp} em relação ao bioestimulado ao uso de progesterona ou progestágeno e conseqüentemente ao seu efeito anabólico pois a diferença ocorreu na fase pré-experimental.

O peso das borregas ao final do experimento (com média de 234 dias de idade) foi superior ao encontrado por Vilarroel e colaboradores (2006) considerando-se o grupo de animais utilizados e tipo de criação dos animais.

Tabela 2 – Análise de variância dos valores de Índice de Massa Corpórea (IMC) tendo como causa de variação o Grupo, Ordem de Observação e Idade.

IMC	Causas de variação		
	Grupo	Observação	Idade
Quadrado Médio	49,3396	415,6511	425,5245
G.L.	2	8	1
Valor F	5,00	42,13	43,13
Valor P	0,0070	<0,0001	<0,0001

A idade, o grupo e a ordem de observação interferiram de maneira significativa o IMC das fêmeas experimentais ao longo do experimento, por estarem em fase de crescimento (Tab. 2).

Tabela 3 – Evolução do IMC (média \pm erro padrão) nas observações experimentais das fêmeas ovinas jovens (n=75) submetidas à bioestimulação e administração exógena de acetato de medroxiprogesterona ou progesterona de longa ação.

OBSERVAÇÃO	IMC no Grupo			
	Bioestimulado	MAP _{esp}	P ₄ LA	Média \pm ep
O1	81,37 \pm 0,55	79,30 \pm 0,61	82,26 \pm 0,69	80,97 ^e \pm 0,04
O2	81,88 \pm 0,57	82,05 \pm 0,50	85,77 \pm 0,63	83,23 ^d \pm 0,12
O3	84,42 \pm 0,54	83,78 \pm 0,46	83,67 \pm 0,71	83,96 ^{c,d} \pm 0,10
O4	85,21 \pm 0,49	86,07 \pm 0,66	84,70 \pm 0,60	85,33 ^{c,d} \pm 0,06
O5	85,61 \pm 0,49	87,27 \pm 0,64	85,71 \pm 0,80	86,19 ^c \pm 0,10
O6	86,00 \pm 0,56	87,86 \pm 1,46	86,38 \pm 0,68	86,74 ^c \pm 0,24
O7	86,65 \pm 0,67	86,73 \pm 0,50	87,20 \pm 0,64	86,86 ^c \pm 0,10
O8	94,24 \pm 0,41	95,52 \pm 0,48	95,72 \pm 0,71	95,76 ^a \pm 0,19
O9	90,61 \pm 0,45	90,37 \pm 0,69	89,64 \pm 0,62	90,20 ^b \pm 0,12
Média \pmep	86,22 \pm 0,44	86,55 \pm 0,47	86,78 \pm 0,51	

IMC = Índice de Massa Corpórea. Diferentes letras indicam valores estatisticamente diferentes, Tuckey, P<0,05.

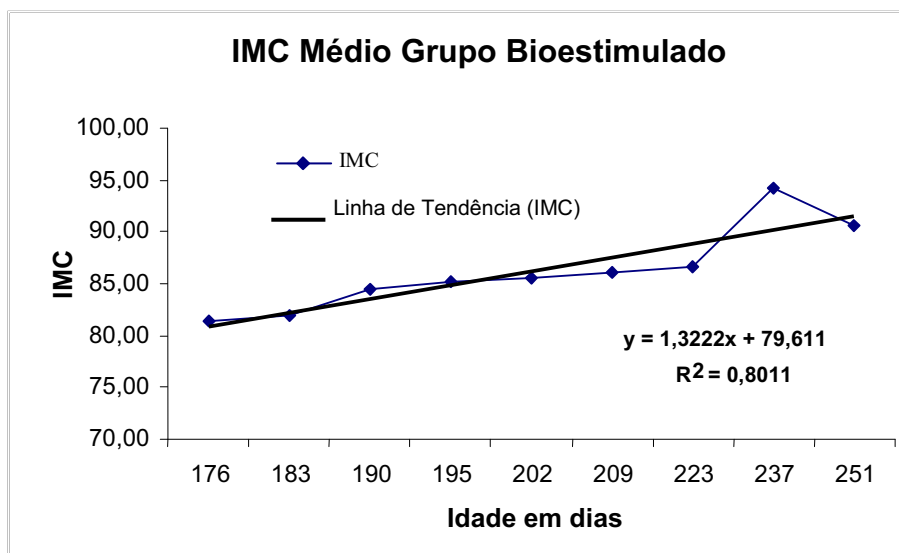


Figura 5 - Evolução do Índice de Massa Corpórea (IMC) em relação à idade em dias das fêmeas ovinas jovens do Grupo Bioestimulado. * intervalos irregulares de tempo.

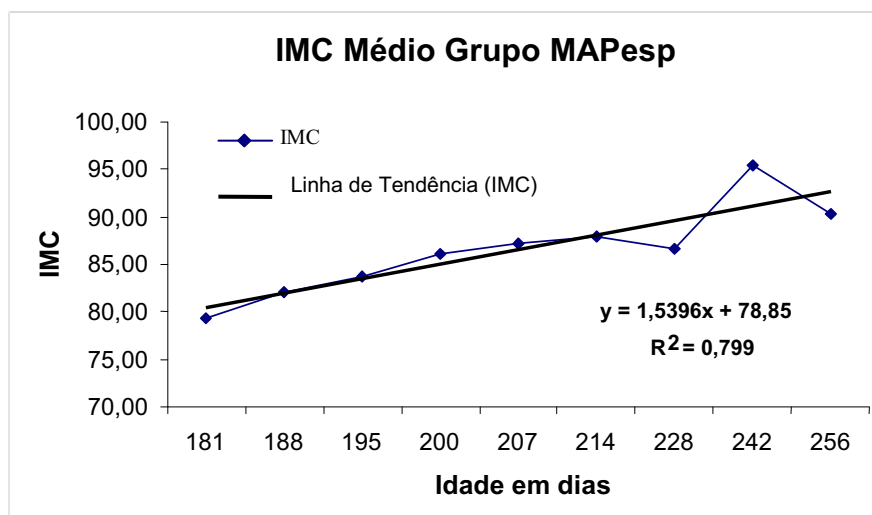


Figura 6 - Evolução do Índice de Massa Corpórea (IMC) em relação à idade em dias das fêmeas ovinas jovens do Grupo MAP_{esp}. * intervalos irregulares de tempo.

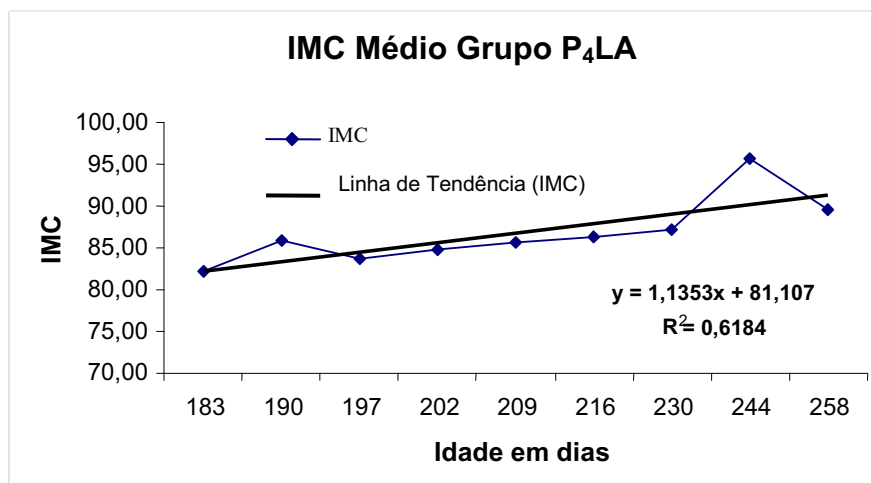


Figura 7 - Evolução do Índice de Massa Corpórea (IMC) em relação à idade em dias das fêmeas ovinas jovens do Grupo P₄LA.
* intervalos irregulares de tempo.

A evolução do Índice de Massa Corpórea (IMC) das borregas (n=75) utilizadas no experimento foi ascendente como é possível observar nas Fig. 5, a 7 e Tab. 2 e 3, pois as borregas apresentavam valores crescentes de peso, altura de cernelha e comprimento esterno isquiático por estarem em fase de crescimento corporal.

Em relação às médias do IMC ao longo do experimento constata-se diferença estatística das primeiras observações em relação às últimas indicando que não apenas os animais cresceram como também aumentaram sua massa corpórea.

Há necessidade de se determinar no futuro a adequada relação de IMC com a idade de desencadeamento da puberdade.

As mensurações corporais lineares de altura e comprimento são mais precisas na determinação do tamanho à maturidade do que o peso, visto que, peso e gordura subcutânea podem sofrer flutuações periódicas, dependendo do nível nutricional e ainda do porte e estadas fisiológico do animal (SILVA & ARAÚJO, 2000).

Medidas corporais morfométricas são influenciadas pelos efeitos genéticos e pelos erros de mensuração (SILVA & ARAÚJO, 2000), diminuídas pela aferição das medidas sempre com o mesmo instrumento e com o uso da mesma técnica.

O estabelecimento de um novo indicador de desenvolvimento e *status* corporal como o IMC feito a partir da altura da cernelha e comprimento esterno-isquiático é fundamental já que ele permite entender melhor o desenvolvimento corpóreo de um indivíduo ou população e determinar tendências ao longo dos anos em uma raça.

Tabela 4 – Análise de variância dos valores de Escore de condição Corporal (ECC) tendo como causa de variação o Grupo, Ordem de Observação e Idade.

ECC	Causas de variação		
	Grupo	Observação	Idade
Quadrado Médio	0,7248	0,4206	11,6348
G.L.	2	8	1
Valor F	3,92	2,27	62,87
Valor P	0,0204	0,0211	<0,0001

A idade, grupo e Ordem de observação interferiram de maneira significativa no ECC ao longo do experimento (Tab. 4).

Tabela 5 – Evolução do Escore de Condição Corporal (ECC - média \pm erro padrão) nas observações experimentais das fêmeas ovinas jovens submetidas a bioestimulação e administração exógena de acetato de medroxiprogesterona ou progesterona de longa ação.

OBSERVAÇÃO	ECC no Grupo			
	Bioestimulado	MAP _{esp}	P ₄ LA	Média \pm ep
O1	2,8 \pm 0,12	3,0 \pm 0,12	2,7 \pm 0,12	2,83 ^{a,b} \pm 0,03
O2	2,8 \pm 0,10	2,9 \pm 0,12	2,8 \pm 0,11	2,84 ^a \pm 0,01
O3	2,6 \pm 0,10	2,7 \pm 0,12	2,8 \pm 0,10	2,72 ^{a,b} \pm 0,02
O4	2,6 \pm 0,08	2,7 \pm 0,08	2,8 \pm 0,10	2,66 ^{a,b} \pm 0,02
O5	2,7 \pm 0,06	2,8 \pm 0,08	2,8 \pm 0,10	2,76 ^{a,b} \pm 0,01
O6	2,6 \pm 0,06	2,8 \pm 0,07	2,7 \pm 0,08	2,70 ^{a,b} \pm 0,02
O7	2,6 \pm 0,06	2,6 \pm 0,05	2,6 \pm 0,08	2,62 ^b \pm 0,00
O8	2,7 \pm 0,06	2,7 \pm 0,07	2,9 \pm 0,09	2,75 ^{a,b} \pm 0,02
O9	2,8 \pm 0,08	2,8 \pm 0,05	2,9 \pm 0,09	2,77 ^{a,b} \pm 0,03
Média \pmep	2,68^B \pm 0,02	2,79^A \pm 0,02	2,76^{A,B} \pm 0,02	

ECC = Escore de Condição Corporal. Diferentes letras (maiúsculas na linha, minúsculas na coluna) indicam valores estatisticamente diferentes, Tuckey, P<0,05.

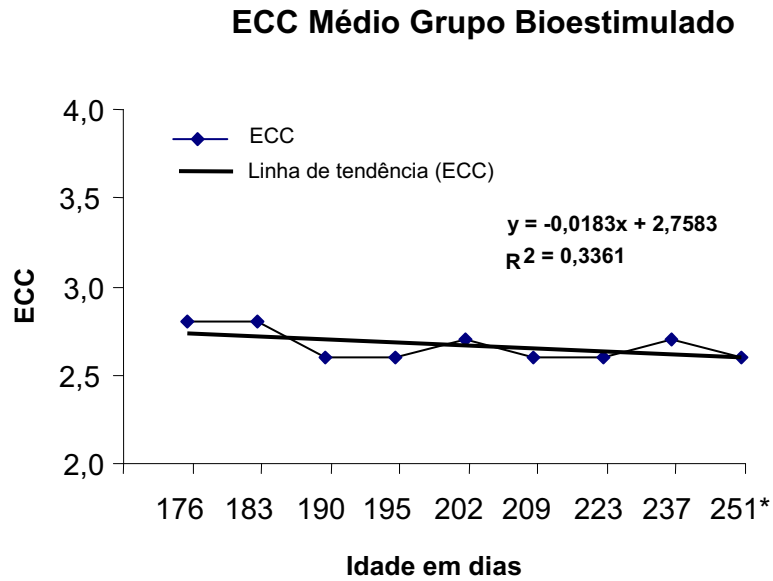


Figura 8 - Evolução do Escore de Condição Corporal (ECC) em relação à idade em dias das fêmeas ovinas jovens do Grupo Bioestimulado. * intervalos irregulares de tempo.

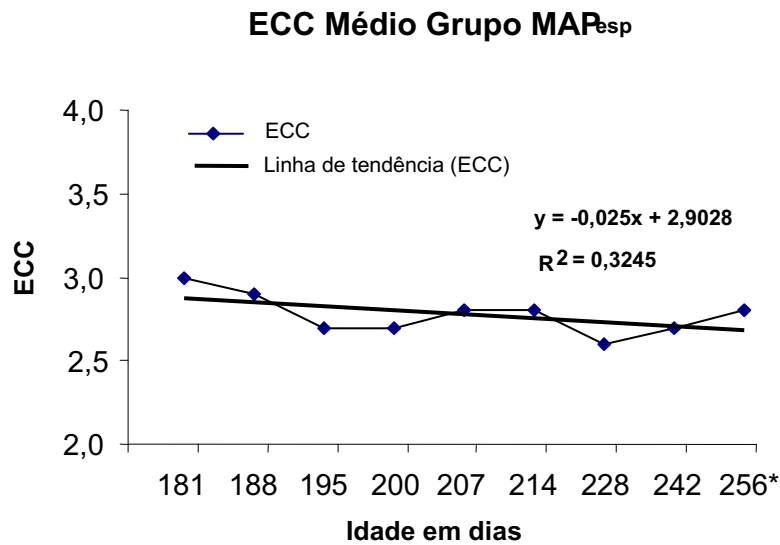


Figura 9 - Evolução do Escore de Condição Corporal (ECC) em relação à idade em dias das fêmeas ovinas jovens do Grupo MAP_{esp}. * intervalos irregulares de tempo.

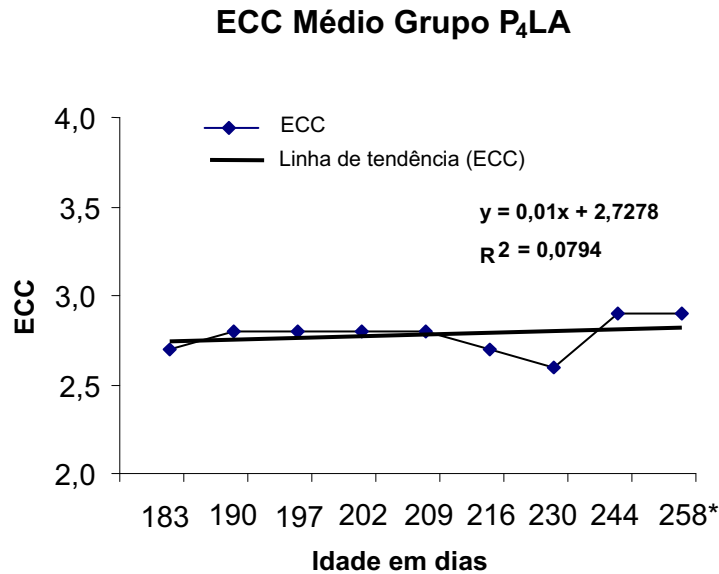


Figura 10 - Evolução do Escore de Condição Corporal (ECC) em relação à idade em dias das fêmeas ovinas jovens do Grupo P₄LA. * intervalos irregulares de tempo.

A evolução do Escore de Condição Corporal (ECC) das borregas utilizadas no experimento embora com variações entre as observações, não apresentou padrão ascendente como é possível se observar nas Fig. 8 a 10 e Tab. 4 e 5. Constata-se com isto que muito embora este indicador permita avaliar com precisão a variação da condição corporal ao longo do experimento, não é possível relacioná-lo com a ciclicidade das fêmeas.

O ECC das borregas experimentais (Tab.5) foi ligeiramente menor do que 3,0-3,5, considerado por Roman e colaboradores (2007) como ideal para início e manutenção da atividade reprodutiva em ovelhas, provavelmente por se tratarem de animais em crescimento e em sistema de manutenção a pasto.

Devido a grande quantidade de raças ovinas e a variedade de tamanho corporal, entre e dentro de raças que podem ocasionar enganos no momento de avaliação e comparação de peso. O ECC deve ser utilizado em conjunto a outros índices de desenvolvimento corporal (THOMPSON & MEYER, 2008).

As médias de ECC dos grupos apresentaram diferença estatística ao longo do experimento, a média do ECC do grupo bioestimulado foi 2,68, diferente estatisticamente da média do ECC do grupo MAP_{esp} de 2,79 (Tab. 5).

A correlação entre o ECC e o IMC foi de 20,5% (p=0,0019) que embora baixa apresenta-se com alta significância isto porque o comportamento ao longo do experimento foi diferente, com maior nitidez da variação ascendente a favor do IMC.

5.2 Valores de progesterona plasmática (P₄) e avaliação do uso de progestágenos ou progesterona de longa ação na ciclicidade das borregas nos momentos experimentais.

Os resultados referentes aos valores de progesterona (P₄) das borregas estão apresentados em Tabelas (Tab.6 a 8).

Tabela 6. Fêmeas ovinas jovens (5 a 7 meses) cíclicas* nos momentos Pré-experimento, Experimental 1 e Experimental 2, submetidas à bioestimulação e administração exógena de acetato de medroxiprogesterona ou progesterona de longa ação.

Grupo	% Fêmeas cíclicas *		
	Pré-experimento	Experimental1	Experimental 2
Bioestimulado	0 (0/25) **	92 (23/25)	92 (23/25)
MAP_{esp}	0 (0/25)	96 (24/25)	92 (23/25)
P₄ LA	0 (0/25)	92 (23/25)	92 (23/25)
média	0 (0/75)	93,3 (70/75)	92 (69/75)

*P₄ maior que 1 ng/mL em pelo menos uma das dosagens pareadas em cada momento experimental

** número de ocorrências em relação ao total

Tabela 7 – Resumo da análise da variância das concentrações plasmáticas de progesterona (valores transformados Log []P₄ +1) em fêmeas ovinas jovens submetidas a bioestimulação e administração exógena de medroxiprogesterona ou progesterona de longa ação, tendo como causa de variação o Grupo, Coletas (n=6, duas em cada momento) e Idade.

Progesterona	Causas de variação		
	Grupo	Coleta	Idade
Quadrado Médio*	0,08371	5,6653	0,0188
G.L.	2	5	1
Valor F	1,17	79,19	0,26
Valor P	0,3113	<0,0001	0,6079

(Valores transformados Log []P₄ +1)

A coleta interferiu de maneira significativa no valor de progesterona plasmática, não sendo constatada influência do Grupo ou da Idade dos animais.

Tabela 8 – Concentrações dos valores de progesterona plasmática (média ± erro padrão) nos momentos experimentais das fêmeas ovinas jovens submetidas à bioestimulação e administração exógena de acetato de medroxiprogesterona ou progesterona de longa ação.

Momentos / coleta		Progesterona (ng/mL)			
		Bioestimulado	MAPesp	P4 LA	Média ± ep
Pré-experimento	Primeira	0,04 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,07 ^d ± 0,01
	Segunda	0,11 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,29 ± 0,03	0,16 ^d ± 0,02
Experimental 1	Primeira	5,39 ± 1,59	4,07 ± 0,81	7,01 ± 1,94	5,49 ^a ± 0,29
	Segunda	4,31 ± 1,97	2,29 ± 0,61	1,85 ± 0,30	2,82 ^b ± 0,26
Experimental 2	Primeira	6,39 ± 2,0	4,66 ± 1,60	7,03 ± 2,22	6,03 ^a ± 0,25
	Segunda	2,33 ± 1,62	1,56 ± 0,40	1,25 ± 0,32	1,71 ^c ± 0,11

Diferentes letras na coluna indicam valores estatisticamente diferentes, Tuckey, P<0,05.

No Momento Experimental 1 compreendido pelas duas coletas pareadas nos D7 e D14, para o grupo Bioestimulado 23 das 25 fêmeas (92%) estavam ciclando,

para o grupo MAP_{esp} 24 das 25 fêmeas (96%) e para o grupo P₄LA 23 das 25 (92%) ou seja tinham valores ≥ 1 ng/mL de P₄ plasmática em uma das coletas (Tab.6 e Tab.8).

No Momento Experimental 2 compreendido pelas duas coletas pareadas percebe-se que 23 das 25 (92%) das fêmeas em cada Grupo (Bioestimulado, MAP_{esp} e P₄LA) estavam ciclando pois tinham valores ≥ 1 ng/mL de P₄ plasmática em pelo menos uma das coletas. As fêmeas não cíclicas nos 2 momentos experimentais foram distintas (Tab.6 e Tab.8). Não houve diferença estatística nas concentrações de P₄ plasmática entre os grupos ao longo do experimento (Tab.7).

Segundo Shabankareh e colaboradores (2008) durante o ciclo estral o pico de progesterona sérica ocorre no dia 11 do ciclo, declina a partir do dia 13 e atinge a mínima concentração no dia 16 do ciclo. Entre os dias 3 e 15 valores ≥ 1 ng/mL de progesterona plasmática podem ser detectados. Portanto com intervalo de sete dias é possível detectar com segurança a ciclicidade em ovelhas pela obtenção de valores superiores a 1ng/mL em pelo menos uma das quantificações.

Pela análise da Tabela 6 denota-se que todas as borregas do experimento não estavam ciclando ($P_4 \geq 1$ ng/mL) no Momento Pré-experimento, porém após interferência com progestágeno, progesterona de longa ação e bioestimulação no momento experimental 1 a maioria das fêmeas passaram a ciclar com concentrações de $P_4 \geq 1$ ng/mL em pelo menos uma das coletas. Portanto o tratamento com progestágeno ou progesterona de longa ação associados à bioestimulação e o *status* corporal adequado influenciaram o desencadeamento de estros nas fêmeas pré-púberes.

A porcentagem de ovelhas cíclicas após a administração exógena de acetato de medroxiprogesterona associada ao efeito social (efeito fêmea-fêmeas, fêmea-macho e macho-fêmea) é maior (89,6-97%) do que o obtido na maioria dos trabalhos onde só a bioestimulação ou só uso de progestágenos são utilizados em ovelhas em anestro (UNGERFELD, 2003).

No presente experimento obteve-se porcentagem de fêmeas cíclicas (92%) próximas às obtidas por Ungerfeld et al (2003) com a associação de progestágenos e bioestimulação em ovelhas em anestro (97,7%).

As borregas passaram a ciclar após a administração exógena de acetato de medroxiprogesterona ou progesterona de longa ação, pois segundo Lewis e Berardinelli (2001) esta exposição prévia a P₄ associada à bioestimulação altera os

mecanismos pelos quais os tecidos respondem ao estrógeno na pré-puberdade o que leva a um aumento gradativo de crescimento folicular, de concentrações de estrógeno, de pico de LH e ocorrência da ovulação.

Deve-se considerar, entretanto que a bioestimulação por si também exerceu efeito semelhante sobre os animais do Grupo Bioestimulado.

As fêmeas do experimento nasceram no outono, vivenciaram o fotoperíodo decrescente e crescente e atingiram peso favorável na pré-estação de acasalamento na primavera, por serem animais sem raça definida, pela latitude local, administração exógena de acetato de medroxiprogesterona ou progesterona de longa ação e bioestimulação a estacionalidade reprodutiva não foi empecilho à ciclicidade.

5.3 Relação entre ciclicidade e desenvolvimento corporal das borregas.

Os resultados referentes à relação entre ciclicidade e desenvolvimento corporal das borregas estão apresentados nas Tab. 9 e 10.

Tabela 9 – Análise da variância dos valores de Ganho de Peso Diário em fêmeas ovinas jovens submetidas à bioestimulação e administração exógena de acetato de medroxiprogesterona ou progesterona de longa ação tendo como causa de variação o Grupo, Momento Experimental e Peso.

GPD	Causas de variação		
	Grupo	Momento	Peso
Quadrado Médio	116938,3498	238741,7146	344650,3030
G.L.	2	74	2
Valor F	4047	9,12	13,17
Valor p	0,0125	0,0002	0,0004

A variável Ganho de Peso Diário sofreu influência do grupo, do momento experimental e do peso (Tab. 9).

Tabela 10. Média (\pm erro padrão) do Ganho de Peso Diário em gramas nos Momentos Experimentais em fêmeas ovinas jovens submetidas à bioestimulação e administração exógena de acetato de medroxiprogesterona ou progesterona de longa ação.

Grupo	Ganho de peso diário (g) no momento			
	Pré-experimento	Experimental 1	Experimental 2	Média \pm ep
Bioestimulado	64,6 \pm 75,3	75,2 \pm 15,6	53,8 \pm 5,2	64,5 ^b \pm 2,14
MAP_{esp}	213,1 \pm 31,6	83,8 \pm 9,1	62,8 \pm 4,7	119,9 ^{a,b} \pm 16,28
P₄LA	233,1 \pm 47,2	127,2 \pm 20,7	62,6 \pm 6,7	141,0 ^a \pm 17,22
média \pmep	170,3 ^A \pm 18,4	95,4 ^B \pm 5,6	59,8 ^B \pm 1,0	

Diferentes letras (maiúsculas na linha, minúsculas na coluna) indicam valores estatisticamente diferentes, Tuckey, $P < 0,05$.

No Momento Pré-experimento as borregas apresentavam idade média (\pm erro padrão) de 179 (\pm 3,4) dias no Grupo Bioestimulado, 184 (\pm 4,0) dias no Grupo MAP_{esp} e 186 (\pm 4,15) no Grupo P₄LA, no Momento Experimental 1 de 205 (\pm 2,92) dias no Grupo Bioestimulado, 210 (\pm 3,92) dias no Grupo MAP_{esp} e 212 (\pm 4,15) dias no Grupo P₄LA, e no Momento Experimental 2 do experimento 230 (\pm 2,92) dias no Grupo Bioestimulado, 235 (\pm 3,92) dias no Grupo MAP_{esp} e 237 (\pm 4,15) no Grupo P₄LA.

O desenvolvimento sexual dos ovinos está mais associado ao desenvolvimento corporal do que a idade cronológica (BIELLI, 2000).

As borregas sem raça definida utilizadas no experimento apresentam características raciais de Suffolk e outras raças que possuem crescimento rápido e tendem a entrar em puberdade mais cedo que as de crescimento mais lento, como a Merino. Além disso, são provenientes de cruzamentos planejados o que segundo Otto Sá e Sá (2007) pode levar a melhor desempenho reprodutivo do que borregas de raças puras.

As borregas apresentaram no Momento Pré-experimento média de Peso (\pm erro padrão) de 29,96 (\pm 0,51)kg no Grupo Bioestimulado, 29,65 (\pm 0,40)kg no Grupo MAP_{esp} e 30,39 (\pm 0,51)kg no Grupo P₄LA, no Momento Experimental 1 31,80 (\pm 0,40)kg no Grupo Bioestimulado, 32,70 (\pm 0,42)kg no Grupo MAP_{esp} e 32,80 (\pm 0,60)kg no Grupo P₄LA e no Momento Experimental 2 33,40 (\pm 0,44)kg no Grupo Bioestimulado 35,70 (\pm 0,37)kg no Grupo MAP_{esp} e 34,90 (\pm 0,57)kg no Grupo P₄LA.

Os pesos obtidos nas borregas experimentais são compatíveis com 60% do peso adulto, apontados por Chappell (1993) e Otto Sá e Sá (2007) como o necessário ao *status* corporal e conseqüentemente concentrações ideais de hormônios indicadores de desenvolvimento corpóreo como a leptina que segundo Rawlings e colaboradores (2003) permite o desenvolvimento de um pool de folículos, aumento gradativo de estrógeno e ovulação.

O estado corporal das borregas foi um dos fatores preponderantes ao início da ciclicidade, pois a informação do desenvolvimento corporal é conduzida ao hipotálamo e traduzida através de sinais neuroendócrinos.

O sistema de criação adotado, com *creep-feeding* desde o nascimento, desmame aos 62 dias de idade e confinamento com fornecimento de ração concentrada por 15 dias após o desmame (VILLAS BÔAS et al., 2003) também foi um dos responsáveis pela ciclicidade das borregas, pois segundo Robinson e colaboradores (2006) a adequada nutrição durante os meses iniciais de vida é fundamental ao desempenho reprodutivo vitalício e complementa o fornecimento energético e protéico do leite.

Villas Bôas e colaboradores (2003) descrevem que o fornecimento de ração às borregas no *creep-feeding* e por mais 15 dias pós desmame ocasiona o desenvolvimento ruminal capaz de assegurar continuidade do desenvolvimento corporal.

Após o período de desmame e confinamento de 15 dias os animais utilizados foram submetidos a tratamento nutricional extensivo, a pasto, e apresentaram ganho de peso esperado para tal (Tab.10). Houve diferença significativa entre o ganho de peso diário entre os Grupos Bioestimulado e P4LA principalmente relacionada ao Momento Pré-experimento e entre o Momento Pré-experimental e Experimental 1 e 2 (Tab.10).

5.4 O papel das Interações sociais na ciclicidade de fêmeas pré-púberes.

Com a bioestimulação, esponja intravaginal impregnada de acetato de medroxiprogesterona (60mg) ou progesterona de longa ação (225mg) a maioria das borregas que não estavam ciclando no Momento Pré-experimento passaram a ciclar no Momento Experimental 1 e mantiveram-se ciclando no Experimental 2, porém o mesmo aconteceu com as fêmeas do Grupo Bioestimulado. Este fato ocorreu devido

ao efeito das interações sociais no desencadeamento e manutenção da ciclicidade destes animais (MOBINI, 2002; ROSA & BRYANT, 2002; UNGERFELD et al., 2003; EVANS et al., 2004).

Ao serem expostas aos machos e a outras borregas cíclicas (do Grupo MAP_{esp} e P₄LA) as fêmeas do Grupo Bioestimulado iniciaram sua atividade reprodutiva por conta da interferência dos efeitos “fêmea-fêmea”, “macho-fêmea” e “fêmea-macho”.

A bioestimulação em associação ao emprego de progestágenos dispensa a utilização de gonadotrofinas o que implica em redução substancial no gasto com hormônios (EVANS et al., 2004).

Deduz-se que uma parte das fêmeas submetida à administração de progestágenos ou progesterona de longa ação e à bioestimulação exercem um efeito multiplicador nos grupos de fêmeas jovens a serem estimuladas a ciclicidade promovendo o desencadeamento da puberdade, a gestação e nascimento de descendentes destas fêmeas antes de um ano de vida.

6-Conclusões

6- Conclusões

- Borregas sem raça definida com evolução ascendente de peso e índice de massa corpórea quando submetidas a modelos de produção que proporcionem desenvolvimento corporal adequado apresentam condições de desencadeamento da puberdade ao redor de 7 meses.
- Fêmeas ovinas na pré-puberdade com adequado desenvolvimento corporal desencadeiam ciclicidade reprodutiva após serem submetidas à administração exógena de acetato de medroxiprogesterona ou progesterona de longa ação e bioestimulação pelos efeitos macho-fêmea, fêmea-fêmea e fêmea-macho.
- Protocolos de 60 mg de acetato de medroxiprogesterona administrado por 12 dias através de esponja intravaginal ou de 225 mg de progesterona de longa ação oleosa seguidos de bioestimulação desencadeiam a puberdade em fêmeas ovinas jovens de 7 meses de idade.

7-Referências

7- Referências

ABELLA, D.F.; COGNIE, Y.; THIMONIER, J.; SECK, M.; BLANC, M.R. Effects of the FecB gene on birth weight, postnatal growth rate and puberty in Booroola × Mérinos d'Arles ewe lambs. *Animal Research*, v. 54, p. 283–288, 2005.

ALMEIDA, A.K.; MARTINS, L.E.P.; BISCARDE, C.E.A.; NEVES, T.A.; CHALHOUB, M.; RIBEIRO FILHO, A.de L.; BRINGEL, B.A.; DOUGLAS, R.H.; GUSMÃO, A. Concentração sérica de progesterona em ovelhas ovariectomizadas, tratadas com progesterona de longa duração (P₄LA-150) *Acta Scientiae Veterinariae*, v33, p.242, 2005.

AMSTALDEN, M.; GARCIA, M.R.; WILLIAMS, R.L.; STANKO, R.L.; NIZIELSKI, S.E.; MORRISON, C.D.; KEISLER, D.H.; WILLIAMS, G.L. Leptin gene expression, circulating leptin, and luteinizing hormone pulsatility are acutely responsive to short-term fasting in prepubertal heifers: relationships to circulating insulin and insulin-like growth factor I. *Biology of Reproduction*, v. 63, p. 127-133, 2000.

BARB, C.R.; KRAELING, R.R. Role of leptin in the regulation of gonadotropin secretion in farm animals. *Animal Reproduction Science*, v. 82–83, p.155–167, 2004.

BATHAEI, S. Breeding season and oestrous activity of Iranian fat-tailed Mehraban ewes and ewe lambs. *Small Ruminant Research*, v.22, p.13-23, 1996.

BELIBASAKI, S.; KOUIMTZIS, S. Sexual activity and body and testis growth in prepubertal ram lambs of Friesland, Chios, Karagouniki and Serres dairy sheep in Greece. *Small Ruminant Research*, v.377, p.109–13, 2000.

BICUDO, S.D.; SARTORI FILHO, R.; CURI, P.R. Distribuição do índice de massa corpórea (IMC-QUETELET) de acordo com a época do ano e estado gestacional em vacas Nelores, In: *Congresso Brasileiro Reprodução Animal*, 11, 1995, Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, p.373, 1995.

BIELLI, A. Influence of pre- and post-pubertal grazing regimes on adult testicular morphology in extensively reared Corriedale rams. *Animal Reproduction Science*, v.58, p.73–86, 2000.

BOUCINHAS, C.C.; SIQUEIRA, E.R.; MAESTÁ, S.A. Dynamic of weight and corporal score and reproductive efficiency of the Santa Ines breed and crossbreed Suffolk ewes submitted to two feeding systems and lambing of eight months. *Ciência Rural*, v.36, n.3, p.904-909, 2006.

BOULANOUAR, B.; AHMED, M.; KLOPFENSTEIN, T.; BRINK, D.; KINDER, J. Dietary protein or energy restriction influences age and weight at puberty in ewe lambs. *Animal Reproduction Science*, v. 40, p.229-238, 1995.

CARBALLO, G.O. Leptina y Reproducción. *Revista Cubana Endocrinología*, v.10, n.3, p.191-97, 1999.

CHAMINEAU, P.; GUILLAURNE, M.M ; THLERY, J.C. ; PELLICER-RUBIO, M.T. ; MALPAUX, B. Seasonality of Reproduction in Mammals: Intimate Regulatory Mechanisms and Practical Implications. *Reproduction in Domestic Animals*, v.43, p.40-47, 2008.

CHAPPELL, G.L.M. Nutritional management of replacement sheep utilizing southern forages. Review. *Journal of Animal Science*, v.71, p. 3151-4, 1993.

CARDOSO, D.; NOGUEIRA, G.P. Mecanismos neuroendócrinos envolvidos na puberdade de novilhas. *Arquivo Ciência Veterinária Zoologia*, Unipar, Umuarama, v. 10, n. 1, p. 59-67, 2007.

COCHRAN, W.G.; COX, G.M.; *Experimental Designs*. New York: Witley, p. 611, 1976.

COGNIE, Y.; GRAY, S.J.; LINDSAY, D.R.; OLDHAM, C.M.; PEARCE, D.T.; SIGNORET, J.P. A new approach to controlled breeding in sheep using the “ram effect”. *Proceedings Social Animal Production*. v.14, p.519–522, 1982.

DELGADILLO, J.A.; DE SANTIAGO-MIRAMONTES, M.A.; CARRILLO, E. Season of birth modifies puberty in female and male goats raised under subtropical conditions. *The Animal Consortium*, v.1:6, p. 858–864, 2007.

DELGADO, J.V. Programa de mejora genética de la raza ovina segureña como base para su conservación. *Archivos de Zootecnia*, v.50, p.145-51, 2000.

EL-HADDAD, M.A.; ISMAIL, Y.; GUERRA, C.; DAY, L.; ROSS, M.G. Neuropeptide Y administered into cerebral ventricles stimulates sucrose ingestion in the near-term ovine fetus. *American Journal Obstetric Gynecologic*, v.189, nº4, p.949-952, 2003.

EVANS, A.C.O.; DUFFY, P.; CROSBY, T.F.; HAWKEN, P.A.R.; BOLAND, M.P.; BEARD, A.P. Effect of ram exposure at the end of progestagen treatment on estrus synchronisation and fertility during the breeding season in ewes. *Animal Reproduction Science*, v.12, 2004.

GINTHER, O.J.; KASTELIC, J.P.; KNOFF, L. Intraovarian relationship among dominante and subordinate follicles and the corpus luteum in heifers. *Theriogenology*, v. 32, p. 787-795, 1989.

GRINGS, E.E.; HALL, J.B.; BELLOWS, R.A.; SHORT, R.E.; BELLOWS, S.E.; STAIGMILLER, R.B. Effect of Nutritional Management, Trace Mineral Supplementation, and Norgestomet Implant on Attainment of Puberty in Beef Heifers. *Journal of Animal Science*, v. 76, p. 2177-2181, 1998.

JAINUDEN, M.R.; HAFEZ, E.S.E. Sheep and goat. In: HAFEZ, E.S.E. *Reproduction in farm animals*. 6^a ed, Philadelphia: Lea e Fabiger, p.333-342, 1993.

KARSCH, F.J.; BITTMAN, E.; FOSTER, D.L.; GOODMAN, R.L.; LEGAN, S.J.; ROBINSON, J.C. Neuroendocrine basis of seasonal reproduction. *Hormonial Research*, v.40, p. 185-223, 1984.

KATZ, L.S. Sexual performance tests in sexually inexperienced rams. In Dziuk P. J., Wheeler M, editors: *Handbook of methods for study of reproductive physiology in domestic animals*, Urbana, IL, 1991.

KULCSAR, M.; J'ANOSI SZ.; LEHTOLAINEN, T.; KATAI, L.; DELAVAUD, C.; BALOGH, O.; CHILLIARD, Y.; PYORAL, S.; RUDAS, P.; HUSZENICZA, G. Feeding-unrelated factors influencing the plasma leptin level in ruminants Domestic. *Animal Endocrinology*, v.29, p. 214–226, 2005.

LAMMING, G.E.; MANN, G.E. Control of endometrial oxytocin receptors and prostaglandin F2 α production in cows by progesterone and oestradiol. *Journal of Reproduction and Fertility*, v.103, p.69-73, 1995.

LASSOUED, N.; KHALDI, G.; COGNIÉ, Y.; CHEMINEAU, P.; THIMONIER, J. Role of the uterus in early regression of corpora lutea induced by the ram effect in seasonally anoestrus Barbarine ewes. *Reproductive Nutrition Development* v.37, p.559–571, 1997.

LEWIS, A.W.; BERARDINELLI, J.G. Gross anatomical and histomorphometric characteristics of the oviduct and uterus during the pubertal transition in sheep. *Journal Animal Science*, v. 79, p.167–175, 2001.

LINDSAY, D.R. Reproduction in the sheep and goat. In: CUPPS, P.T. *Reproduction in Domestic Animals*. 4^a ed, San Diego: Academic Press, p.491-515, 1991.

MARTIN, G.M.; OLDHAM, C.M.; COGNIE, Y.; PEARCE, D.T. The physiological responses of anovulatory ewes to the introduction of rams — a review. *Livest. Productive Science*. v.15, p.219–247, 1986.

MARTIN, L.C. Genetic effects on beef heifer puberty and subsequent reproduction. *Journal Animal Science*, v.70, p.4006-4017, 1992.

MBAYAHAGA, J. Body weight, oestrus and ovarian activity in local Burundian ewes and goats after parturition in the dry season. *Animal Reproduction Science*, v.51, p.289–300, 1998.

MEIKLE, A.; TASENDE, C.; GAROFALO, E.G.; FORSBERG, M. Priming effect of exogenous oestradiol on luteinizing hormone secretion in prepubertal lambs. *Animal Reproduction Science*, v. 54, p. 75–85, 1998.

MEMÓRIA, H.Q. Estimativa de correlação entre peso e medidas corporais em diferentes idades de ovinos SRD e Santa Inês. In: *Anais VI Encontro de iniciação científica*, Sobral 2004.

MEREDITH, S.; KIESLING, D.O. Age of puberty in ewes which developed prenatally with either a ram or a ewe fetus. *Small Ruminant Research*, v.20, p.137–40, 1996.

MINTON, J.E.; COPPINGER, T.R.; SPAETH, C.W. Poor reproductive response of anestrus Suffolk ewes to ram exposure is not due to failure to secrete luteinizing hormone acutely. *Journal of Animal Science*, v.69, p.311-332, 1990.

MOBINI, A. Theriogenology of sheep and goats (chapter 6). In: PUGH, D. C. *Sheep and Goat Medicine*. London: Saunders, p. 129-86, 2002.

MORAES, J.C.F.; SOUZA, C.J.H.; GONÇALVES, P.B.D. Controle do estro e da ovulação em bovinos e ovinos. In: GONÇALVES, P.D.D.; FIGUEIREDO, J.R.; FREITAS, V.J.F. (Eds). *Biotécnicas aplicadas à reprodução animal*. São Paulo: Varela, c. 3, p. 25-35, 2002.

MORENO, J.S.; BRUNET, A. G.; BULNES, A.G.; VILLAR, D.; SEBASTIAN, A.L. Attainment of Puberty in the European Mouflon "Ovis gmelini musimon" and the Domestic Manchega Ewe "Ovis aries". *Reproduction in Domestic Animal*, v. 24, p.38-41, 1999.

MORRISON, C.D.; WOOD, R.; MCFADIN, E.L.; WHITLEY, N.C.; KEISLER, D.H. Effect of intravenous infusion of recombinant ovine leptin on feed intake and serum

concentrations of GH, LH, insulin, IGF-1, cortisol, and thyroxine in growing prepubertal ewe lambs. *Domestic Animal Endocrinology*, v.22, p.103–112, 2002.

NOTTER, D.R. Genetics Aspects of Reproduction in Sheep. *Redroduction in Domestic Animals*. v.43, p.122-128, 2008.

O'CALLAGHAN, D.; BOLAND, M.P., Nutritional effects on ovulation, embryo development and the establishment of pregnancy in ruminats. *Animal Science*, v.68, p. 299-314, 1999.

OLIVEIRA, D.J.C. *Mecanismos neuroendócrinos envolvidos na puberdade de novilhas da raça Nelores*. 2006. 189f. Tese (Doutorado), Universidade de São Paulo, São Paulo.

OTTO DE SÁ, C.; SÁ, J.L. *Idade a primeira cria de borregas*. On line em <http://www.crisa.vet.br>. Acesso em 30 de maio de 2007.

POLKOWSKA , J.; GLADYS, A. Effect of food manipulation on the neuropeptide Y neuronal system in the diencephalon of ewes. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, v.21, p.149–159, 2001.

RADOSTITS, O.M.; LESLIE, K.E.; FETROW, J. *Herd Health Food Animal Production Medicine*. 2ª edição, 1994.

RAWLINGS, N.C.; EVANS, A.C.O.; HONARAMOOZ, A.; BARTLEWSKI, P.M. Antral follicle growth and endocrine changes in prepubertal cattle, sheep and goats. *Animal Reproduction and Science*, v.78, p.259-70, 2003.

REKWOT, P.I.; OGWUB, D.; OYEDIPE, E.O.; SEKONI, V.O. The role of pheromones and biostimulation in animal reproduction. *Animal Reproduction Science*, v. 65, p. 157–170, 2001.

RIBEIRO, L.A.O.; FONTANA, C.S.; WALD, V.B.; GREGORY, R.M.; MATTOS, R.C. Relação entre a condição corporal e a idade das ovelhas no encarneamento com a prenhez. *Ciência Rural*. v.33,n.2, p.357-361, 2003.

RIBEIRO, E.F.; BICUDO, S.D.; RODELLO, L. Proposta de avaliação da condição corporal pela utilização do índice de massa corpórea em ovinos. *11ª Mostra Científica da Faculdade de Medicina veterinária e Zootecnia da Unesp Botucatu*. Anais em mídia eletrônica, 2007.

ROBINSON, J.J.; ASHWORTH, C.J.; ROOKE, J.A.; MITCHELL, L.M.; MCEVOY, T.G. Nutrition and fertility in ruminant livestock. *Animal Feed Science and Technology*, v.126, p.259-76, 2006.

ROMAN, J.; ROCHA, M.G.; PIRES, C.C.; ELEJALDE, D.A.G.; KLOSS, M.G.; NETO, R.A.O. Comportamento ingestivo e desempenho de ovinos em pastagem de azevém anual (*Lolium multiflorum* Lam.) com diferentes massas de forragem. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.36, n.4, p.780-788, 2007.

ROSA, H.J.D.; BRYANT, M.J. The 'ram effect' as a way of modifying the reproductive activity in the ewe. *Small Ruminant Research*. v. 45, p.1-16, 2002.

SALMAN, A.K.D.; RAPHAEL, B.C.; FERNANDA, G.P. Gene da Leptina em Ruminantes. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinária*, v.VIII, nº12, 2007.

SANTANA, A.F.; COSTA, G.B.; FONSECA, L.S. Correlações entre peso e medidas corporais em ovinos jovens da raça Santa Inês. *Revista Brasileira Saúde Produção Animal*, v.3, p.74-77, 2001.

SARTORI, R.; MOLLO, M.R. Influência da ingestão alimentar na fisiologia reprodutiva da fêmea bovina. *Revista Brasileira Reprodução Animal*, Belo Horizonte, v.31, n.2, p.197-204, 2007.

SAS Institute. *SAS User's Guide: Statistics*. SAS Institute, Cary, NC, 1985.

SASA, A.; TESTON, D.C.; RODRIGUES, P.A.; COELHO, L.A.; SCHALCH, E. Concentrações Plasmáticas de Progesterona em Borregas Lanadas e Deslanadas no

Período de Abril a Novembro, no Estado de São Paulo. *Revista Brasileira Zootecnia*, v.31, n.3, p.1150-1156, 2002.

SASA, A.; TESTON, D.C.; SILVA, E.C.F. Perfil plasmático de progesterona e incidências mensal de ovulações silenciosas em borregas lanadas e deslanadas criadas no Estado de São paulo. In: *Anais 11º Congresso Brasileiro de Zootecnia*, Goiânia, p.16, 2001.

SCARAMUZZI, R.J.; CAMPBELL, B.K.; DOWNING, J.A.; KENDALL, N.R.; KHALID, M.; MUNOZ-GUTIÉRREZ, M.; SOMCHIT, A. A review of the effects of supplementary nutrition in the ewe on the concentrations of reproductive and metabolic hormones and the mechanisms that regulate folliculogenesis and ovulation rate. *Reproductive Nutrition Development.*, v.46, p.339-354, 2006.

SCARAMUZZI, R.J.; MARTIN, G.B. The Importance of Interactions Among Nutrition, Seasonality and Socio-Sexual Factors in the Development of Hormone-free Methods for Controlling Fertility. *Reproduction in Domestic Animals*. v.43, p.129-136, 2008.

SCHILLO, K. K.; HALLS, J. B.; HILEMAN, S. M. Effects of Nutrition and Season on the Onset of Puberty in the Beef Heifer. *Journal of Animal Science*, v. 70, p. 3994-4005, 1992.

SHABANKAREH, K.H.; HABIBIZAD, J.; TURKY, M. Corpus luteum function following single and double ovulation during estrous cycle in Sanjabi ewes. *Animal Reproduction Science*, 2008.

SENGHER, P.L. Puberty. In: *Pathways to Pregnancy and parturition*. 2ª ed, p.128-43, 2003.

SILVA SOBRINHO, A.G. Produção de cordeiros em pastagem. In: *Anais Simpósio Mineiro de Ovinocultura*, 2001, Universidade Federal de Lavras, p.63-97. 2001,

SILVA, F.L.R.; ARAÚJO, A.M. Características de reprodução e de crescimento de ovinos mestiços Santa Inês, no Ceará. *Revista Brasileira de Zootecnia*. v.29, n.6, p.1712-1720. 2000.

SIQUEIRA, E. R. de. Confinamento de cordeiros. In: *Anais Simpósio paulista de ovinocultura e encontro internacional de ovinocultores*, Botucatu: ASPACO, p. 52-59. 1999.

SOUZA, W.H.; LOBO, R.N.B.; MORAIS, O.R., Ovinos Santa Inês: estado de arte e perspectivas. In: *Anais Sincorte 2*; 2003, João Pessoa, Paraíba, p. 501-522, 2003.

SUNDERLAND, S.J.; O'CALLAGHAN, D.; BOLAND, M.P.; ROCHE, J.F. Effect of Photoperiod Before and After Birth on Puberty in Ewe Lambs. *Biology of Reproduction*, v. 53, p.1178-1182, 1995.

THOMPSON, J.M.; MEYER, H. *Body condition scoring of sheep*. Disponível em < <http://www.oregonstate.edu/dept/animal-sciences/bcs.htm> >. Acessado em 05 de maio de 2008.

UMBERGER, S.H.; JABBAR, G.; LEWIS, G.S. Seasonally anovulatory ewes fail to respond to progestogen treatment in the absence of gonadotropin stimulation. *Theriogenology*, v.42, p.1329- 1336, 1994.

UNGERFELD, R. *Reproductive responses of anestrous ewes to the introduction of rams*. 2003. 62f. Tese (Doutorado) - Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala.

UNGERFELD, R.; SÚAREZ, G.; CARBAJAL, B.; SILVA, L.; LACA, M.; FORSBERG, M.; RUBIANES, E. Medroxyprogesterone priming and responses to the ram effect in Corriedale ewes during the nonbreeding season. *Theriogenology*. v.60, p.35-45, 2003.

VALASI, I.; MENEGATOS, I.; PAPANIKOLAOU, TH.; GOULAS, P.; AMIRIDIS, G.S. Oocyte pick-up in juvenile lambs affects neither onset of puberty nor their future fertility. *Theriogenology*, v.66, p.2144–2151, 2006.

VILLARROEL, A.B.S.; LIMA, L.E.S.; OLIVEIRA, S.M.P.; FERNANDES, A.A.O. Weight gain and carcass traits of Texel and Santa Inês crossbred lambs in a semi-intensive husbandry system. *Ciência Agrotécnica*, v. 30, n. 5, p. 971-976, 2006.

VILLAS BÔAS, A.S.; ARRIGONI, M.D.B.; SIVEIRA, A.C.; COSTA, C. Idade à Desmama e Manejo Alimentar na Produção de Cordeiros Superprecoces. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.32, n.6, p.1969-1980, 2003.

WEBB, R.; ENGLAND, B.G. Relationship between LH receptor concentrations in thecal and granulosa cells in vivo and in vitro steroid secretion by ovine follicles during the preovulatory period. *Journal of Reproduction and Fertility*. v. 66, p. 169, 1982.

WHEATON, J.E.; GODFREY, R.W. Plasma LH, FSH, testosterone, and age at puberty in ram lambs actively immunized against aninhibin a-subunit peptide *Theriogenology*, v.60, p.933–941, 2003.

WILDEUS, S. Current concepts in synchronization of estrus: Sheep and goats. *Proceedings of the American Society of Animal Science*, p. 1-14, 1999.

ZARCO, L.; RODRIGUEZ, E.F.; ANGULO, M.R.B.; VALENCIA, J. Female to female stimulation of ovarian activity in the ewe. *Animal Reproduction Science* v.3 251–258, 1995.

8-Trabalho Científico

Bioestimulation in ewe lambs submitted to either exogenous administration of medroxyprogesterone acetate or long action progesterone in prepuberty.

Claudia Dias Monteiro^a; Sony Dimas Bicudo^a, Hugo Shisei Toma^b; Carmo Emanuel Biscarde^a; Tiago Mattos Oliveira^a; Marcel Barbosa Falleiros^a; Luana Cássia Bicudo^a.

a- Department of Animal Reproduction- Faculty of Veterinary Medicine – Unesp - Botucatu Brazil.

b- Department of Clinical Veterinary - Faculty of Veterinary Medicine – Unesp - Botucatu Brazil.

Abstract

The aim of this study was to evaluate the answer of ewe lambs to exogenous administration of either medroxyprogesterone acetate or long action progesterone associated to bioestimulation in prepuberty. Two Pool Dorset adult males and 75 mixed-breed ewe lambs were used with the average age of 179 days and average weight of 30.0kg in the beginning of the experiment. The females were divided into three different groups (Group MAP, LAP₄ and Bioestimulated) according to their bodyweight, body condition score (BCS) and body mass index (BMI). There were 25 animals in each group. In the MAP group the females were submitted to intravaginal sponges containing medroxyprogesterone acetate-MAP (60mg) for 12 days and were bioestimulated for eight weeks. In the LAP₄ group the females were submitted to a single application of long action progesterone (225mg) and bioestimulation for eight weeks. And in the Bioestimulated group the females were submitted to bioestimulation for eight weeks. Animals were considered cycling when progesterone concentration reached $\geq 1.0\text{ng/mL}$ in two consecutive samples taken 7 days distant from one another in 3 experimental moments. After the treatments, 93.3% of the females disregarding

their group began the cyclicity and most of them (92.0%)-,continued cyclic after 63 days of either MAP or long action progesterone and bioestimulation under both male effect and female effect. It is deduced that a part of the ewe lambs submitted to the MAP administration or long action progesterone and to the bioestimulation they promote a multiplier effect on the other young females which were then stimulated to the cyclicity.

Keywords: ewe lambs, bioestimulation, MAP, progesterone, pre-puberty.

1-Introduction

The beginning of the sexual activity is very important for animal exploration, in both males and females, mainly for the economical return to reproduction of the activity that only begins when the animals return to the productive phase.

During the first year of reproductive activity the fertility of the ewe lambs is low if compared to the sheep. A series of signs demonstrates that the ewe lambs remain sexually immature for some time after they reach puberty, when defined as the occurrence of the first estrus [1]. Immaturity is characterized by events that include estrus of short duration and the low intensity of the manifestation [1], as well as the presence of ovulation without estrus manifestation and of either irregular cycles or long ones[2].

The social relationship that an animal has with others of the same species generated by the presence of a peer is called bioestimulation [3, 4]. Its role in reproduction of many mammals such as rodents, wild animals, swine, ovine and bovine is to accelerate the sexual maturity, induce the ovulation, and reduce the time of postpartum anestrus and also the one of motivating to the coitus [5]. In ovine this effect can be noticed in several associations of groups and genders [6].

For the expression of estral behavior, it is necessary that the female is subjected to a previous exposure to certain plasmatic concentrations of progesterone that are originated by the corpus luteus in the puberty period formed after the first ovulations [7].

The association of the male effect with progestagens in treatments of synchronization for sheep in anestro is as effective in the induction of the ovulations as the treatments that associate gonadotropins [8,9].

In intensive systems of animal breeding aiming at meat production, soon after the male lambs wean they are taken to the slaughterhouse. Young females according to their time of birth stay in the property being fed and handled until the mating season of the following year when they are then aged over 1 year old, which represents an economical disadvantage for the system [10].

The purpose of this study was to evaluate the answer of ewe lambs to the exogenous administration of either medroxyprogesterone acetate or long action progesterone associated to the bioestimulation in prepuberty.

2- Materials and methods

2.1 Management

The experiment was held in the second semester of 2007 and first semester of 2008, in the mating pre-season (November 2007 to February 2008) with mixed-breed ovine that were destined to meat production, in Arandú-SP (Latitude: 20th 00' S / Longitude: 48th 56' W).

The animals were kept according to the following protocol: - supplementation of the lambs with feed in the creep-feeding from their birth to their weaning, with feed of 18.0% of raw protein and 78.0% of NDT.

- wean of lambs took place when they were 62 days old.

- housing and feed supplementation *ad libitum* for 15 days after weaning with diet of 14% of raw protein and 68.0% of NDT.

- maintenance of the lambs without supplementation in paddocks of Panicum maximum to grow Aruana after the housing period and adult life, with access to mineral salt and water *ad libitum*.

2.2 Animals

Two Pool Dorset adult males and 75 mixed-breed ewe lambs (SRD) aged between 154 and 218 days, (average of 179 and $sp \pm 1.2$ days) and weighing between 25.8 and 36.9kg with the average of 30.0kg ($sp \pm 0.1$ kg), in the beginning of the experiment.

2.3 Experimental groups

The females were divided according to their bodyweight, Body Condition Score (BCS) and Body Mass Index (BMI), into three groups that stayed together in the same paddock during the whole experiment.

- MAP Group: females (n=25) subjected to intravaginal sponge containing medroxyprogesterone (Progespon®, Syntex S.A. 60 mg MAP) for 12 days and were bioestimulated for eight weeks.

- LAP₄ Group: females (n=25) subjected to a single intramuscular application of progesterone (P₄LA-150 oily vehicle) in the dose of 225mg (1.5mL) and bioestimated for eight weeks.
- Bioestimated Group: females (n=25) that were subjected to the bioestimation for eight weeks.

2.4 Experimental moments

On day zero (D0), occurred sponge withdrawal of MAP Group and placement of the males close to the females of the three groups. Five days before (D-5) LAP₄ Group females received the application of a single dose of progesterone of long action.

Biometry involving weight, BCS and BMI and blood sampling in two consecutive samples with a 7-day interval for the evaluation of the luteal functionality was held in 3 different moments.

- Experimental moment 1 (M1): 19 days before the beginning of the bioestimation (D-19).
- Experimental moment 2 (M2): seven days after the beginning of the bioestimation (D7).
- Experimental moment 3 (M3): fifty-six days after the beginning of the bioestimation (D56).

2.5 Animals weighting

Animals were weighed individually with a digital scale (Trutest® XR 3000), being expressed the body weight in kilogrammes (Kg).

2.6 Body mass index and body condition score

The corporal biometry was the animal in standing position with a 1.0 meter-long instrument to check measures in centimeters (cm) from height to withers (HW), sternal ischiatic length (SIL) and Weight, in kilograms (Kg). The body mass Index was calculated (BMI), using the equation: $BMI = \text{Weight} \times [(\text{HW} \times 100 - 1) \times (\text{SIL} \times 100 - 1)]^{-1}$ with weight in Kg and HW and SIL in cm [11].

BCS was done with the animal in standing position by the same technician using a range from 1 to 5 [12].

2.7 Progesterone radioimmunoassay

Blood was collected from the jugular vein by venipuncture in heparined tubes kept under cooling until the moment of centrifuge at 1,200xg for ten minutes with the separation of plasma. Plasma was kept at -30°C until progesterone levels were measured.

The plasmatic dosing of progesterone was done using radioimmunoassay (RIA) with the sensitivity of 0.2ng/mL in solid phase being used commercial kits (DPC - Med Lab-Diagnostic Products Corporations) according to manufacturer recommendations. Reading was done in an automated system (Gamma Count Mod.5500, Beckman). The intra-rehearsal error was calculated starting from the insert of three repetitions in duplicates. The inter and intra-assay coefficients of variation were <10%.

2.8 Definitions

The existence of luteal phases, indicative of cyclicity, was established according to progesterone concentration $\geq 1.0\text{ng/mL}$ in two consecutive samples taken 7-day interval between samples.

2.9 Statistical analysis

The data are presented through the descriptive statistics, being the variables submitted to the variance analysis and compared by the Tukey test with 5% of probability for the SAS program System [13].

For statistical analysis the values of plasmatic progesterone were transformed in $\text{Log} [] P4+1$.

The data regarding the cyclicity of the females were submitted to the square Qui test (X^2) with 5% of significance.

3-Results

Table 1 shows the following growth indicators: weight, index of corporal mass and score of corporal condition of the ewe lambs for group and in the experimental moments.

There was difference concerning weight and BMI among moments, with growing values in M1, M2 and M3, however, BMI stayed similar among groups throughout the experiment. The MAP and LAP₄ Groups presented more weight in relation to the Bioestimulated Group (Table1).

BCS didn't present difference among the moments but differed between MAP and Bioestimulated Group (Table1).

The correlation between BCS and BMI was 20.5% ($p=0.0019$) and it was low because there was an increasing growth of BMI while BCS remained the same.

Table 2 presents the percentage of cyclic ewe lambs in the experimental moments. In M1 (D-19) all of the ewe lambs ($n=75$) presented plasmatic values of progesterone inferior to 1.0ng/mL (means 0.12 ± 0.01 ng/mL) in the two consecutive samples taken 7days apart, thus indicating that they did not display cyclic activity until the beginning of the experiment.

In M2 93.3% of the ewe lambs ($n=75$) presented either the same or >1.0 ng/mL plasmatic values of progesterone (mean 4.15 ± 0.80 ng/mL) in at least one of the two consecutive samples taken 7days apart. It was assumed that in the MAP Group, 96.0% and LAP₄ or Bioestimulated Group, 92.0% of the females were cyclical in this moment (Table2).

Most (92.0%) of the ewe lambs of the three Groups presented plasmatic values ≥ 1.0 ng/mL (mean 3.86 ± 0.92 ng/mL) in at least one of the two consecutive samples taken 7days apart (Table 2).

The percentage of cyclical ewe lambs in the Moments M2 and M3 was higher than in M1 ($p < 0.001$) based on the plasmatic values of ≥ 1.0 ng/mL in the two consecutive samples taken 7days apart. There was no difference in the cyclical activity between M2 and M3 ($p>0.05$) but no cyclical females on these moments were different.

4-Discussion

Starting from the eighth week of life to the puberty the gonadotropins secretion is suppressed by the negative retrograde control of the estradiol to that the ewe lambs have bodyweight or appropriate metabolic state to reproduce [14].

During the pre-puberty period there is a decrease in the concentration of receptors for estradiol in the hipotalamous and hypophysis, which allows the increase of the frequency of LH pulses and increase in the estradiol production for the ovarian follicles with consequent development of the genitalia [15].

The appropriate stimuli for gonadotropins liberation in the anterior lobe of the hypophysis need the appropriate frequency and amount of GnRH secretion. In the pre-pubescent phase pre-synaptic neurons are unable to transmit information to the hipotalamous. Their function seems to be influenced by several factors such as: nutrition, exhibition to certain atmospheres, social relationships, genetics, and birth season, among others [16].

The beginning of the reproductive activity in ovine is more associated to the body development rather than the chronological age [17]. The weight of the ewe lambs in M2 (32.46 ± 0.40 Kg) was compatible with 2/3 of the adult weight, pointed by Chappell [18] as the necessary to happen puberty.

Taking the animal breed and breeding into consideration the weight of the ewe lambs at the end of the experiment (average of 234 days of age) was superior to the one found in the literature [19]. The females presented appropriate body development needed to trigger puberty specially because they were subjected to the Villas Bôas et al. [10] model that favors the ruminal development of the lambs and adds to the energy and protein supply from the maternal milk that tends to decrease with the progress of the nursing [10].

The ascending evolution of the weight and BMI along the experimental moments demonstrates that the ewe lambs of the 3 groups were in growth phase. The establishment of the growth indicator and corporal status like BMI, based on the weight, height of the withers and sternal ischiatic length, brings accuracy to the evaluation of both individual and population body development. However, there is need to determine in the future the appropriate relationship of BMI with the age of the onset of puberty.

The evolution of BCS of the ewe lambs, despite variations among the Groups, didn't present an ascending pattern. Although this indicator allows the evaluation of the corporal condition along the experiment, it is not possible to relate it with the cyclicity of the females.

During the oestral cycle the progesterone peak happens in the day 11, it reduces starting from the day 13 and it reaches the lowest concentration on the day 16. Values of P4 < 1.0ng/mL were detected on cycling females during a maximum period of 6 days, between the last and the first 3 days of oestral cycle, with a total duration of 17days [20]. Then, two samples were taken 7days apart, to P4 detection becomes hold for the determination of the cyclicity through the evaluation of the luteal activity.

The answer of sheep in anestro induced to ciclicity is larger after exogenous administration of medroxyprogesterone acetate associated to the social effect (female-female effect, female-male effect, male effect) than obtained her when just the bioestimulation or the progestagens were used [3]. In pre-pubertal goats the presence of the buck seems to potentiate the effect of PMSG (91.6%) and therefore constitute an important stimulus to induce the pubertal estrus in does [21].

In the present experiment it was obtained percentage of cyclical ewe lambs (92.0-96.0%) close to obtained them by Ungerfeld [4] with the MAP association and bioestimulation in sheep in anestro (97.7%).

The ewe lambs passed to be cyclic after exogenous administration of medroxyprogesterone acetate or long action progesterone (0.0 vs 96.0-92.0%). According to Rosa and Bryant [6] the previous exposure to P₄ associated to the bioestimulation alters the answer mechanisms to the estrogen in the pre-puberty that takes to a gradual increase of follicular growth, of estrogen concentrations, of LH peak and occurrence of the ovulation.

The pre-pubescent phase is affected by the duration of the seasonal anestro of each breed. Consequently, the month of birth is a decisive factor at the onset of puberty [22].

When ewe lambs born in the beginning of the reproductive season will reach the puberty earlier than the ones born in the end of the season that will present rut in the reproductive station of next year [2].

The ewe lambs were born in the autumn, they lived the decreasing and growing photoperiod successively and they reached appropriate weight (32.46 ± 0.40 Kg) in the mating pre-station in the spring with age of 205 ± 2.9 days, what favored the beginning and maintenance of the ciclicity.

Being exposed to the males and the other cyclical ewe lambs (of the MAP and LAP₄Group) Bioestimulated Group females began their reproductive activity for interference of the effects "female-female" and "male-female."

Females and males present influence of the social interaction, when exposed periodically to encourage cyclic, tending to reach the puberty earlier [23].

The continuous presence of cyclical females or the sudden introduction of sheep in estrus (usually through induction with hormone) is capable to induce and

synchronize ovulation among females, advancing the beginning of the reproduction station. This phenomenon is known as female effect [24].

In this experiment the bioestimulation was applied in association to the progestagens job and progesterone without the gonadotrofins use, what displays a substantial reduction of the expense on hormones [25].

We conclude that mixed-breed ewe lambs with ascending evolution of weight and mass index, body weight in production model of production that provide appropriate body development submitted in the mating pre-season to protocols of 60 mg of medroxyprogesterone acetate administered for 12 days through intravaginal sponge or of 225 mg long oily progesterone activity following by bioestimulation triggers puberty at the 7 month of age. In addition, it is deduced that a part of the females submitted to the progestagens administration or long action progesterone and to the bioestimulation exercise a multiplier effect in the groups of young females and the ciclicity will be stimulated promoting puberty. As an implication of this strategy, ewe lambs younger than one year of age can produce offspring.

Acknowledgements

We are grateful to Dr. Antonio Sérgio Villas Bôas for the support in the accomplishment of the present work. To Dr. Alcides Amorim and Rodrigo Bittencourt for the help in the accomplishment and interpretation of the statistical data. To Capes and Fundunesp for the financial support.

References

- [1] SASA, A.; TESTON, D.C.; RODRIGUES, P.A.; COELHO, L.A.; SCHALCH, E. Plasmatic concentrations of Progesterone in ewe lambs Lanadas and Deslanadas in the Period of April to November, in the State of São Paulo. *Brazilian magazine Zootecnia*, v.31, n.3, p.1150-1156, 2002.
- [2] BATHAEI, S. Breeding season and estrous activity of Iranian fat-tailed Mehraban ewes and ewe lambs. *Small Ruminant Research*, v.22, p.13-23, 1996.
- [3] UNGERFELD, R. *Reproductive responses of anestrous ewes to the introduction of rams*. 2003. 62f. Tese (Doutorado) - Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala.
- [4] UNGERFELD, R.; SÚAREZ, G.; CARBAJAL, B.; SILVA, L.; LACA, M.; FORSBERG, M.; RUBIANES, E. Medroxyprogesterone priming and responses to the ram effect in Corriedale ewes during the nonbreeding season. *Theriogenology*. v.60, p.35-45, 2003.
- [5] ROMAN, J.; ROCK, M.G.; SAUCER, C.C.; ELEJALDE, D.A.G.; KLOSS, M.G.; GRANDSON, R.A.O. Ingestive Behavior and ovinos acting in pasture of annual azevém (*Lolium multiflorum* Scan.) with different forage masses. *Brazilian magazine of Zootecnia*, v.36, n.4, p.780-788, 2007.
- [6] ROSA, H.J.D.; BRYANT, M.J. The 'ram effect' as a way of modifying the reproductive activity in the ewe. *Small Ruminant Research*. v. 45, p.1-16, 2002.
- [7] MARTIN, L.C. Genetic effects on beef heifer puberty and subsequent reproduction. *Journal Animal Science*, v.70, p.4006-4017, 1992.
- [8] UMBERGER, S.H.; JABBAR, G.; LEWIS, G.S. Seasonally anovulatory ewes fail to respond to progestogen treatment in the absence of gonadotropin stimulation. *Theriogenology*, v.42, p.1329- 1336, 1994.

- [9] WHEATON, J.E.; GODFREY, R.W. Plasma LH, FSH, testosterone, and age at puberty in ram lambs actively immunized against aninhibin a-subunit peptide *Theriogenology*, v.60, p.933–941, 2003.
- [10] VILLAS BÔAS, A.S.; ARRIGONI, M.D.B.; SIVEIRA, A.C.; COSTA,C. Age to it Weans her and Handling to Feed in Cordeiros Superprecoces's Production. *Brazilian magazine of Zootecnia*, v.32, n.6, p.1969-1980, 2003.
- [11] BICUDO, S.D.; SARTORI FILHO, R.; CURI, P.R. Distribution of the index of corporal mass (IMC-QUETELET) in agreement with the time of the year and state gestacional in cows Nelores, In: Congress Brazilian Animal Reproduction, 11, 1995, Belo Horizonte: Brazilian School of Animal Reproduction, p.373, 1995.
- [12] RADOSTITS, O.M.; LESLIE, K.E.; FETROW, J. *Herd Health Food Animal Production Medicine*. 2ª edição, 1994.
- [13] COCHRAN, W.G.; COX, G.M.; *Experimental Designs*. New York: Witley, p. 611, 1976.
- [14] RAWLINGS, N.C.; EVANS, A.C.O.; HONARAMOOZ, A.; BARTLEWSKI, P.M. Antral follicle growth and endocrine changes in prepubertal cattle, sheep and goats. *Animal Reproduction and Science*, v.78, p.259-70, 2003.
- [15] SCHILLO, K. K.; HALLS, J. B.; HILEMAN, S. M. Effects of Nutrition and Season on the Onset of Puberty in the Beef Heifer. *Journal of Animal Science*, v. 70, p. 3994-4005, 1992.
- [16] SENGHER, P.L. Puberty. In: *Pathways to Pregnancy and parturition*. 2ª ed, p.128-43, 2003.
- [17] BIELLI, A. Influence of pre- and post-pubertal grazing regimes on adult testicular morphology in extensively reared Corriedale rams. *Animal Reproduction Science*, v.58, p.73–86, 2000.

- [18] CHAPPELL, G.L.M. Nutritional management of replacement sheep utilizing southern forages. Review. *Journal of Animal Science*, v.71, p. 3151-4, 1993.
- [19] VILLARROEL, A.B.S.; LIMA, L.E.S.; OLIVEIRA, S.M.P.; FERNANDES, A.A.O. Weight gain and carcass traits of Texel and Santa Inês crossbred lambs in a semi-intensive husbandry system. *Ciência Agrotécnica*, v. 30, n. 5, p. 971-976, 2006.
- [20] SHABANKAREH, K.H.; HABIBIZAD, J.; TURKY, M. Corpus luteum function following single and double ovulation during estrous cycle in Sanjabi ewes. *Animal Reproduction Science*, 2008.
- [21] MELLADO, M.; OLIVAS, R.; RUIZ, F. Effect of buck stimulus on mature and pre-pubertal norgestomet-treated goats. *Small Ruminant Research*, v.36, p.269-274, 2000.
- [22] MORENO, J.S.; BRUNET, A. G.; BULNES, A.G.; VILLAR, D.; SEBASTIAN, A.L. Attainment of Puberty in the European Mouflon "Ovis gmelini musimon" and the Domestic Manchega Ewe "Ovis aries". *Reproduction in Domestic Animal*, v. 24, p.38-41, 1999.
- [23] MOBINI, A. Theriogenology of sheep and goats (chapter 6). In: PUGH, D. C. *Sheep and Goat Medicine*. London: Saunders, p. 129-86, 2002.
- [24] ZARCO, L.; RODRIGUEZ, E.F.; ANGULO, M.R.B.; VALENCIA, J. Female to female stimulation of ovarian activity in the ewe. *Animal Reproduction Science* v.39, p.251–258, 1995.
- [25] EVANS, A.C.O.; DUFFY, P.; CROSBY, T.F.; HAWKEN, P.A.R.; BOLAND, M.P.; BEARD, A.P. Effect of ram exposure at the end of progestagen treatment on estrus synchronisation and fertility during the breeding season in ewes. *Animal Reproduction Science*, v.12, 2004.

Table 1- Mean of the weight, BMI and BCS (mean \pm sp) in the moments and experimental groups of ewe lambs (n=75)

submitted to the bioestimulation and exogenous administration of medroxyprogesterone acetate or long action progesterone.

Indicator	Moment	Group					
		M1	M2	M3	MAP	LAP4	Bioestimulated
Weight		30.00 \pm 0.51 ^c	32.46 \pm 0.40 ^b	34.37 \pm 0.44 ^a	32.64 \pm 0.41 ^a	32,98 \pm 0.37 ^a	31.87 \pm 0.33 ^b
BMI		80.97 \pm 0.04 ^c	86.19 \pm 0.10 ^b	95.76 \pm 0.19 ^a	86.55 \pm 0.47	86,78 \pm 0.51	86.22 \pm 0.44
BCS		2.83 \pm 0.03	2,76 \pm 0.01	2.75 \pm 0.02	2.79 \pm 0.02 ^a	2.76 \pm 0.02 ^{a,b}	2.68 \pm 0.02 ^b

Different letters in the line inside of the group or inside of the moment they indicate values different estatisticamente, Tuckey, P < 0,05.

On day zero (D0), occurred sponge withdrawal of MAP Group and placement of the males close to the females of the three groups. Five days before (D-5) LAP4 Group females received the application of a single dose of progesterone of long action. Biometry involving weight, BCS and BMI and blood sampling in two consecutive samples with a 7-day interval for the evaluation of the luteal functionality was held in 3 different moments.

Table 2 - Cyclic ewe lambs in experimental moments (M1, M2 e M3).

Group	Cyclic females (%)		
	M1	M2	M3
MAP	0 (0/25) ^{**b}	96.0 (24/25) ^a	92.0 (23/25) ^a
LAP ₄	0 (0/25) ^b	92.0 (23/25) ^a	92.0 (23/25) ^a
Bioestimulated	0 (0/25) ^b	92.0 (23/25) ^a	92.0 (23/25) ^a
mean	0 (0/75) ^b	93.3 (70/75) ^a	92.0 (69/75) ^a

* P4 Maior than 1 ng/mL in at least one of the dosages pareadas in one of the experimental moments.

** occurrences in relation to the total

Different letters in the line indicate values different estatisticamente, X², P < 0,05.

On day zero (D0), occurred sponge withdrawal of MAP Group and placement of the males close to the females of the three groups. Five days before (D-5) LAP₄ Group females received the application of a single dose of progesterone of long action.

Normas Theriogenology:

Theriogenology is an international, peer-reviewed journal that publishes papers regarding the study of reproduction in domestic and non-domestic mammals, birds, reptiles, and fish. Theriogenology publishes only material that has never been previously published and is not being considered for publication elsewhere; the exception would be limited disclosure (e.g. publication of an abstract or in the proceedings of a scientific conference, with limited circulation). All submissions will be reviewed by at least two anonymous reviewers to evaluate them for originality, clear statement of a hypothesis, appropriate experimental design, completeness of methods, a logical and comprehensive discussion, and conclusions that are supported by data. Authors are encouraged to name up to five potential reviewers and to provide contact information (including e-mail addresses). However, the Editors retain the right to choose reviewers as deemed appropriate.

Types of articles

- Original Research Papers (Regular Papers)
- Review Articles
- Technical Notes

Original Research Papers Papers report original research, not previously published (except by limited disclosure).

Submission of manuscripts Theriogenology uses the Elsevier Editorial System (EES), a web-based system for submission, review and revision. All manuscripts (original and revised versions) must be submitted electronically from the journal website (☞ <http://ees.elsevier.com/therio>).

Unnecessary cruelty in animal experimentation is not acceptable. Animal use must be in accordance with the International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals, obtainable from: Executive Secretary, Council for the International Organizations of Medical Sciences, c/o World Health Organization, Via Appia, CH-1211 Geneva 27, Switzerland; or from their website (☞ http://www.cioms.ch/frame_1985_texts_of_guidelines.htm).

Preparation of manuscripts

Manuscripts that do not meet acceptable standards will be returned to the authors. Prior to submission, manuscripts should be reviewed by someone with in-depth knowledge of scientific style and English grammar, syntax, semantics and spelling (contact the Editors for a list of persons providing this service). Manuscripts should be written in clear, concise and grammatically correct English and formatted according to the instructions listed below (also consult additional notes regarding style at the end of this document).).

Pages must be numbered at the bottom right corner and each line must be numbered on the left side.

Every page of the manuscript (including abstracts, footnotes and references) must be doubled-spaced, all margins <2.5 cm, and text left justified.

Starting with the Introduction, sections are to be numbered (1. Introduction); subordinate numbering is allowed (e.g. 1.1.), to a maximum of about four levels (1.1.1.1.).

Titles and subtitles should be typed on a separate line, without indentation. Capitalize only the first letter of the first word of the title and all subtitles. Leave one blank line before the first paragraph and after the last paragraph of a section, and indent each paragraph.

Manuscripts must be organized as follows (may be modified for Review Articles or Technical Notes, after consultation with the Editor):

Title Page (to include):

- Title, which should be clear, descriptive, not too long, with minimal abbreviations or commercial names (capitalize only the first letter of the first word)
- Initials, surnames and professional affiliations of all author(s)
- Current and complete postal addresses of all authors and affiliate institutions
- Corresponding Author with complete contact information including mailing address, complete telephone and fax numbers, and e-mail address

Abstract: on a separate page, not to exceed 250 words. The abstract should include the objective, main findings (including means and probability values, as appropriate), and primary conclusion(s) of the paper.

Five keywords (indexing terms): capitalize the first letter of each word or term and separate successive items with a semicolon. Authors are encouraged to consult a standard list of reference terms (e.g., <http://www.nlm.nih.gov/mesh/meshhome.html>).

Introduction: should provide a brief context for the research. There should be three parts: a clear, brief description of the nature and extent of the problem; a brief review of the essential literature; and a statement of how the present study challenges, expands or improves existing knowledge. The final paragraph should include the hypothesis or objective(s), but should not include a summary of the findings of the current study.

Materials and Methods: must contain enough information to allow a competent worker to duplicate the study. Materials and equipment should be named specifically, including the manufacturer/supplier, city, state/province (if applicable) and country. Descriptions of animals should include species, breed, sex, and age as well as (if appropriate) husbandry methods, climate, photoperiod, and geographic location. Experimental methods (including the experimental design) should be comprehensive and logical. The method of statistical evaluation must be clearly described (cite the software used). Indicate treatment and response variables, main effects and interactions, define experimental units and how they were allocated into groups.

Results: should fully describe the outcome, including all information described as collected in Materials and Methods. The use of tables and figures is encouraged, especially for data that cannot be easily described in the text. Emphasize important points in the text, but do not excessively repeat data in

tables and figures. Avoid discussion and interpretation of the data in the Results section.

Discussion: includes principles, relationships, and general truths. First refer to the outcome of the present study, indicate how it is similar or different to that previously reported, and discuss your interpretation of the state of knowledge in the area. Theoretical or practical implications of the work should be discussed, and suggestions made regarding future studies. Major conclusions and implications should be stated in a brief, final paragraph.

Acknowledgements: cite sources of funds, materials and assistance.

References: follow style noted below.

Tables: follow guidelines noted below.

Figure Legends: should not be excessively long and detailed but should provide sufficient context that the figure can be interpreted in the absence of the rest of the paper.

Tables

All tables should be referred to by consecutive Arabic numerals (e.g., Table 1) in the order in which they are first cited.

Avoid excessively large tables and those without no or few significant differences.

Each table should be on a separate page (at the end of the manuscript).

Each table should have a brief, self-explanatory title.

Column headings should be brief, self-explanatory and have minimal repetition. Standard abbreviations of units of measurement should be enclosed within parentheses. For column and row headings, capitalize only the first letter of the first word.

Vertical lines should not be used to separate columns (leave extra space between columns).

Information essential to interpreting the table should appear as a footnote below the table.

References

All references cited in the text should be listed in a References section (after Acknowledgements). Ensure there is complete agreement between references cited in the text and those listed in the References section and that all information in the References section is accurate and complete.

References in the text should be indicated by Arabic numerals in brackets (with multiple citations separated by a comma and no space between the comma and the next citation); three or more consecutive citations should be separated by a hyphen, i.e. [1,2] [1-3] [1-3,5].