

LUCIANA TAKADA

**“Avaliação da resposta ovariana na sincronização do estro e
da ovulação utilizando protocolo de curta duração em ovelhas
da raça Suffolk”**

Dissertação apresentada a Faculdade de
Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho” Campus de Botucatu para a
obtenção do Título de Mestre em Medicina
Veterinária, Área Reprodução Animal.

Botucatu-SP

2004

* ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 6023: informação e documentação – Referências – Elaboração. Rio de Janeiro, 2002. 22p.
BIOSIS. Serial sources for the BIOSIS preview database. Philadelphia, 1996. 468p.

LUCIANA TAKADA

**“Avaliação da resposta ovariana na sincronização do estro e
da ovulação utilizando protocolo de curta duração em ovelhas
da raça Suffolk”**

Dissertação apresentada a Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Campus de Botucatu para a obtenção do Título de Mestre em Medicina Veterinária, Área Reprodução Animal.

Orientador: Prof. Adjunto Sony Dimas Bicudo

Botucatu-SP

2004

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

Takada, Luciana.

Avaliação da resposta ovariana na sincronização do estro e da ovulação utilizando protocolo de curta duração em ovelhas da raça Suffolk / Luciana Takada. – 2004.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2004.

Orientador: Sony Dimas Bicudo

Assunto CAPES: 50504002

1. Ovelha - Reprodução

CDD 636.308982

Palavras-chave: Dinâmica folicular; Estro; Estrógeno; Ovelha; Ovulação; Sincronização

A Deus,

Aos meus queridos
pais por todo apoio, amor, dedicação e por me proporcionarem mais está
conquista;

Aos meus irmãos Claudia, Hamilton e Ricardo pela cumplicidade nas alegrias e
dificuldades;

Ao meu orientador Prof. Adjunto Sony Dimas Bicudo pela compreensão,
dedicação, competência e que não mediu esforços para realização deste
trabalho.

Agradecimentos

Ao curso de Pós-graduação da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia do Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária FMVZ-RARV UNESP-Botucatu pela oportunidade oferecida para realização deste trabalho.

À Prof^a. Titular Eunice Oba, da FMVZ-RARV, pelo empréstimo do aparelho de ultra-som, e que nos permitiu utilizar o Laboratório de Endocrinologia da FMVZ-RARV da UNESP-Botucatu para a realização dos radioimunoensaios de progesterona;

À Prof^a. Dr^a. Silvia Helena Venturolli Perri, do Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal da Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba UNESP, que com grande competência e dedicação realizou as análises estatísticas;

Ao Prof. Titular Ciro Moraes Barros do Departamento de Farmacologia do Instituto de Biociências, UNESP-Botucatu, pela sua grande capacidade de ensinamentos e importante contribuição nesse trabalho;

Ao meu eterno orientador Prof. Adjunto Alicio Martins Júnior do Departamento de Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba UNESP, minha gratidão, respeito, orgulho e por jamais deixar de me incentivar;

Aos meus amigos Carlos Frederico de Carvalho Rodrigues, José Victor de Oliveira, Hymerson da Costa Azevedo pela amizade, convívio e principalmente pela importante colaboração na execução deste trabalho;

Ao Prof. Adjunto Nereu Carlos Prestes por ter gentilmente providenciado estagiários;

Aos colegas de pós-graduação do Departamento da Reprodução Animal, Ronaldo Luis Ereno, Fabíola Carvalho, Karen Pires, Luciana da Silva Leal, Thais Patelli, Izabella Bazzo, Viviane Chirinéia, Leticia Patrão de Machado, , Evandro Sartorelli e Sartorelli;

Ao meu amigo André Luiz Rios Rodrigues pelas conversas, amizade e agradável convivência;

Aos Professores da Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba do Departamento de Reprodução Animal e Clínica e Cirurgia de Grandes Animais Dr^a. Marion Buckhardt de Koivisto, Dr. Carlos Antônio de Miranda Bonfim, Dr. Luiz Claudio Nogueira Mendes, Dr^a Juliana Regina Peiró, pelos ensinamentos, amizade e confiança;

Aos estagiários Juliane, Graciele, Roberta e Leandro a realização deste trabalho só foi possível graças ao empenho que todos tiveram;

Ao Prof. Dr. Luis Fernando Uribe-Velásquez que me ensinou e orientou na técnica de ultra-sonografia em ovelhas;

A família André, Adriane, Giuliana, Mariana e Pedro pela amizade, almoços, e o convívio;

Ao Laboratório Intervet e principalmente ao Dr. Marco Dalalio que nos cedeu os hormônios utilizados nesse experimento;

À seção de Pós-graduação FMVZ-UNESP-Botucatu, Denise Aparecida Fiorovante Garcia e Maria Aparecida Dias de Almeida Manoel pela simpatia com que sempre me atendeu;

Ao Dr. Roberto Sartori Filho pelas sugestões, disposição e boa vontade em nos ajudar;

Aos Professores da FMVZ-RARV da UNESP Botucatu, Dr. Cezinande de Meira, Dr^a. Maria Denise Lopes, Dr. Frederico Ozanam Papa e Dr. João Carlos Pinheiro Ferreira pelos ensinamentos transmitidos durante o curso.

MUITO OBRIGADO!

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELA

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

Resumo

1 INTRODUÇÃO.....	21
1.1 Objetivo Geral.....	23
1.2 Objetivo específico.....	23
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	25
2.1 Dinâmica folicular.....	38
2.2 Indução/Sincronização do estro em ovelhas.....	43
2.2.1Hormônios utilizados para indução e sincronização do estro durante a pré-estação reprodutiva estação reprodutiva.....	44
2.2.2 Progestágenos	44
2.2.3 Estrógeno.....	49
2.2.4 Prostaglandina F _{2α} e seus análogos sintéticos.....	53
2.2.5 Gonadotrofina Coriônica eqüina (eCG).....	54
2.2.6 Hormônio Liberador de Gonadotrofina (GnRH).....	55
3 MATERIAL E MÉTODO.....	59
3.1 Animais experimentais e instalações.....	59
3.2 Ensaio laboratoriais.....	59
3.2.1 Sincronização do estro.....	60
3.2.2 Avaliação ultra-sonográfica.....	64
3.2.3 Critérios para caracterização da dinâmica folicular.....	66
3.3 Caracterização e cronologia das manifestações de estro.....	68
3.4 Quantificação da progesterona.....	69
3.5 Análise estatística.....	69
4 RESULTADO.....	72
4.1. Dinâmica folicular durante o protocolo de sincronização/indução do	

estro.....	72
4.1.2 Onda folicular ovulatória.....	72
4.2 Sincronização e ovulação.....	76
4.2.1 Eficácia do protocolo de sincronização/indução do estro e ovulação.....	77
4.3 Diferenças entre o maior folículo do grupo controle da primeira onda e o folículo ovulatório dos grupos controle e experimentais.....	83
5 DISCUSSÃO.....	93
5.1 Dinâmica folicular durante o protocolo de sincronização/indução do estro.....	93
5.2 Sincronização/indução do estro e ovulação.....	100
6 CONCLUSÃO.....	106
7 REFERÊNCIAS.....	107
Anexos.....	147
Abstract.....	151

LISTAS DE FIGURAS

- Figura 1 - Representação esquemática do protocolo controle de indução/sincronização do estro em ovinos do **Grupo controle** (n=12), com emprego de esponja vaginal impregnada com 60 mg de medroxiprogesterona (MAP), por 12 dias e administração de 400 UI de gonadotrofina coriônica eqüina (eCG) na retirada da esponja (RE), tomando como referência o dia da retirada da esponja (D0). 62
- Figura 2 - Representação esquemática do protocolo I de indução/sincronização do estro em ovinos do **Grupo experimental I** (n=12), com emprego de esponja vaginal impregnada com 60 mg de medroxiprogesterona (MAP) por 4 dias, e administração de 0,1 mg de benzoato de estradiol (BE) na colocação da esponja; e 100 µg de D-cloprostenol (PGF₂α) na retirada da esponja (RE); e 50 µg de gonadorelina (GnRH) 48 h após, tomando como referência o dia da retirada da esponja (D0)..... 62
- Figura 3 - Representação esquemática do protocolo II de indução/sincronização do estro em ovinos do **Grupo experimental II** (n=6), com emprego de esponja vaginal impregnada com 60 mg de medroxiprogesterona (MAP) por 4 dias, e administração de 0,1 mg de benzoato de estradiol (BE) e 35 mg de progesterona (P4) na colocação da esponja; e 400 UI de gonadotrofina coriônica eqüina (eCG) e 100 µg de D-cloprostenol (PGF₂α) na retirada da esponja (RE); e 50 µg de gonadorelina (GnRH) 48 h após, tomando como referência o dia da retirada da esponja (D0). 63
- Figura 4 - Representação esquemática do protocolo III de

sincronização do estro em ovinos do **Grupo experimental III** (n=12), com emprego de esponja vaginal impregnada com 60 mg de medroxiprogesterona (MAP) por 4 dias, e administração de 0,2 mg de benzoato de estradiol (BE) e 35 mg de progesterona (P4) na colocação da esponja; e 400 UI de gonadotrofina coriônica eqüina (eCG) e 100 µg de D-cloprostenol (PGF₂α) na retirada da esponja (RE); e 50 µg de gonadorelina (GnRH) 56 h após, tomando como referência o dia da retirada da esponja (D0)..... 63

Figura 5 - Representação esquemática do protocolo IV de sincronização do estro em ovinos do **Grupo experimental IV** (n=14), com emprego de esponja vaginal impregnada com 60 mg de medroxiprogesterona (MAP) por 5 dias, e administração de 0,3 mg de benzoato de estradiol (BE) e 35 mg de progesterona (P4) na colocação da esponja; e 100 µg de D-cloprostenol (PGF₂α) na retirada da esponja (R.E.), tomando como referência o dia da retirada da esponja (D0)..... 64

Figura 6 - Representação esquemática do cronograma dos exames ultra-sonográfico realizado a cada 24 h dois dias antes do início do tratamento até o início do estro, e a cada 2 h do início do estro a ovulação, e cada 24 h da ovulação ao décimo dia após a ovulação, em ovelhas do grupo controle e experimental de I a III, no grupo IV as ultra-sonografias foram realizadas até a retirada da esponja a cada 24 h..... 65

Figura 7- Representação esquemática do cronograma da quantificação de progesterona (qP₄) em ovelhas do grupo controle e experimental de I a III, com estro sincronizado, realizado 10 dias antes do início do tratamento, no dia da colocação da esponja e 5 e 10 dias após a

	ovulação.....	69
Figura 8 -	Diâmetro do folículo ovulatório na retirada da esponja, durante o tratamento de sincronização de estro das ovelhas Suffolk com protocolo de longa duração (Grupo controle) ou curta duração (Grupos I a III).....	85
Figura 9 -	Início da onda antes da retirada da esponja, durante o tratamento de sincronização do estro das ovelhas Suffolk com protocolo de longa duração (Grupo controle) ou curta duração (Grupos I a III).....	86
Figura 10	Diâmetro máximo do folículo ovulatório, após o tratamento de sincronização de estro das ovelhas Suffolk com protocolo de longa duração (Grupo controle) ou curta duração (Grupos I a III).....	87
Figura 11	Taxa de crescimento do folículo ovulatório após a retirada da esponja, durante o tratamento de sincronização de estro das ovelhas Suffolk com protocolo de longa duração (Grupo controle) ou curta duração (Grupos I a III).....	88
Figura 12	Momento do início do estro e ovulação após a retirada da esponja durante o tratamento de sincronização de estro das ovelhas Suffolk com protocolo de longa duração (Grupo controle) ou curta duração (Grupos I a III).....	89
Figura 13	Intervalo entre o início do estro e a ovulação e da aplicação do GnRH a ovulação após o tratamento de sincronização de estro das ovelhas Suffolk com protocolo de longa duração (Grupo controle) ou curta duração (Grupos I a III)...	90
Figura 14	Concentração de Progesterona no quinto e décimo dia após a ovulação nos Grupos controle e experimentais (I, II e III) após o tratamento de sincronização de estro das ovelhas Suffolk.....	91
Figura 15	Frequência de ovelhas ovuladas após a retirada da esponja durante o tratamento de sincronização de estro das ovelhas	

	Suffolk com protocolo de longa duração (Grupo controle) ou curta duração (Grupos I a III).....	92
Figura 16	Padrão de crescimento folicular durante o protocolo de sincronização/indução do estro, da ovelha 8116 do Grupo controle (MAP por 12 dias e na retirada da esponja eCG)	148
Figura 17	Padrão de crescimento folicular durante o protocolo de sincronização/indução do estro, da ovelha 9210 do Grupo Experimental I (MAP por 4 dias e 0,1 mg de BE, na retirada da esponja aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$ e 48 h após a RE GnRH)....	148
Figura 18	Padrão de crescimento folicular durante o protocolo de sincronização/indução do estro, da ovelha 3050 do Grupo Experimental II (0,1 mg de BE, 35 mg de progesterona injetável e MAP por 4 dias, na retirada da esponja aplicação de eCG e $\text{PGF}_{2\alpha}$ e 48 h após a RE GnRH).....	149
Figura 19	Padrão de crescimento folicular durante o protocolo de sincronização/indução do estro, da ovelha 9189 do Grupo Experimental III (0,2 mg de BE, 35 mg de progesterona injetável e MAP por 4 dias, na retirada da esponja aplicação de eCG e $\text{PGF}_{2\alpha}$ e 56 h após a RE GnRH).....	149
Figura 20	Padrão de crescimento folicular durante o protocolo de sincronização/indução do estro, da ovelha 2030 do Grupo Experimental IV (0,3 mg de BE, 35 mg de progesterona injetável e MAP por 5 dias, na retirada da esponja aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$	150

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Valores médios (média $\pm$ EPM), das características da primeira e Segunda onda de crescimento folicular, observadas durante o protocolo de sincronização de estro das ovelhas Suffolk do Grupo controle.....	72
Tabela 2 -	Valores médios (média $\pm$ EPM), das características da primeira onda de crescimento folicular, observadas durante o protocolo de sincronização de estro das ovelhas Suffolk dos Grupos controle e experimentais (I a IV).....	73
Tabela 3 -	Valores médios (média $\pm$ EPM), das características da onda ovulatória, observadas durante o tratamento de sincronização de estro das ovelhas Suffolk dos Grupos controle e experimentais (I a IV).....	78
Tabela 4 -	Valores médios (média $\pm$ EPM), das concentrações de progesterona (ng/mL) no 5 ^o e 10 ^o dia após a ovulação em ovelhas Suffolk com estro sincronizado, dos Grupos controle e Experimentais (I,II e III).....	79
Tabela 5 -	Freqüência de ovelhas Suffolk em estro e ovuladas após a retirada da esponja em programas de sincronização do estro e ovulação.....	80
Tabela 6 -	Valores médios (média $\pm$ EPM), das características da onda ovulatória, observadas durante o protocolo de sincronização de estro das ovelhas Suffolk dos Grupos controle e experimentais (I a III), comparadas com as da primeira onda do Grupo controle.....	76
Tabela 7 -	Especificidade do anti-soro de progesterona Coat-A-	

Count para progesterona, com baixa reatividade
cruzada para outros estróides ou drogas terapêuticas.... 149

Takada, L. Avaliação da resposta ovariana na sincronização do estro e da ovulação utilizando protocolo de curta duração em ovelhas da raça Suffolk. Botucatu, 2004. 152p. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

RESUMO

O experimento foi realizado em condições controladas, na pré-estação reprodutiva em fêmeas ovinas Suffolk visando estudar a eficácia do protocolo de curta duração na sincronização do estro, utilizando estrógeno para sincronização da emergência da onda folicular e consequentemente a ovulação. Os efeitos dos hormônios exógenos nos padrões de crescimento folicular ovariano através de exames ultra-sonográficos, quantificação de progesterona e observações do início do estro e ovulação. As ovelhas com estro induzido foram divididas em cinco grupos sendo o Grupo controle (MAP por 12 dias, e eCG na retirada da esponja). No Grupo experimental I foi utilizado o protocolo 0,1 mg de BE, esponjas com 60 mg de MAP por 4 dias e na retirada da esponja foi feita aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$ e 48 h após GnRH. No Grupo experimental II foi utilizado o protocolo de 35 mg de progesterona IM, 0,1 mg de BE, esponjas de MAP por 4 dias, e na retirada da esponja foi feita aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$, eCG e 48 h após GnRH. No Grupo experimental III foi utilizado o protocolo de 35 mg de progesterona IM, 0,2 mg de BE, esponjas de MAP por 4 dias, na retirada da esponja foi feita aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$, eCG e 56 h após GnRH. E no Grupo experimental IV foi utilizado o protocolo de 35 mg de progesterona injetável e 0,3 mg de BE, esponjas de MAP por 5 dias, e na retirada da esponja foi feita aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$. Os ovários foram monitorados diariamente usando ultra-som a partir de dois dias antes de iniciar o protocolo até o décimo dia após a ovulação. Foram realizadas 4 colheitas de sangue por venopunção jugular, 10 dias antes da indução, no dia da inserção da esponja no 5º e no 10º dia após a ovulação, para se determinar as concentrações

plasmáticas de progesterona. O exame ultra-sonográfico mostrou que o crescimento folicular acompanhado durante o protocolo de sincronização/indução do estro ocorreu como um padrão de onda não apresentando diferenças entre a primeira onda do Grupo controle e a dos Grupos experimentais, mas alguns parâmetros avaliados na onda ovulatória foram estatisticamente diferentes entre os grupos. O momento do início do estro e da ovulação do Grupo I foi o que mais diferiu dos demais grupos, o Grupo controle teve uma maior sincronia do estro e da ovulação. A dose de estrógeno utilizada nos grupos experimental não foi capaz de sincronizar a emergência de uma nova onda de crescimento folicular. A falta da progesterona injetável e da aplicação do eCG no Grupo I, fez com que esse protocolo fosse menos eficaz na indução e sincronização do estro e ovulação.

Palavra-chave: Dinâmica folicular; Estro; Estrógeno; Ovelha; Ovulação; Sincronização.

LISTA DE ABREVIATURAS

µg	micrograma
BE	benzoato de estradiol
°C	graus Celsius
CIDR	controlled internal drug release
CL	corpo lúteo
D	dia
E ₂	estradiol 17β
eCG	gonadotrofina coriônica eqüina
EPM	erro padrão da média
FSH	hormônio folículo estimulante
FGA	acetato de Fluorogestone
g	intensidade de centrifugação em gravidade
GnRH	hormônio liberador de gonadotrofinas
HCG	gonadotrofina coriônica humana
IA	inseminação artificial
IGF	fator de crescimento semelhante a insulina
IM	intramuscular
Kg	kilograma
ML	mililitro

n°	número
LH	hormônio luteinizante
MAP	acetato de medroxiprogesterona
Mg	miligramas
MHz	mega hertz
mm	milímetro
Ng	nanogramas
P ₄	progesterona
PGF _{2α}	prostaglandina F _{2α}
qP ₄	quantificação de progesterona
RE	retirada da esponja
RIA	radioimunoensaio
UI	unidades internacionais

1. INTRODUÇÃO

A inseminação artificial tem-se expandido amplamente na espécie ovina, mas ainda apresenta limitações relacionadas a grande variabilidade nos resultados quanto à fertilidade. Assim, variáveis ligadas à idade, à raça e ao estágio reprodutivo, como também ao tipo de progestágenos ou a dose de estimulantes foliculares, são capazes de alterar o intervalo entre o final do tratamento de indução e/ou a sincronização, e o aparecimento de estro e da ovulação (LOPEZ-SEBASTIAN,1991).

A sincronização do estro é um importante instrumento para o manejo reprodutivo em animais domésticos. Esta técnica proporciona vários benefícios como redução da mão de obra para detectar o estro, concentração das parições, lote mais homogêneo ao abate, cuidado com recém nascido e diminuição do número de dias de serviço da inseminação artificial (IA) (OYEDIJI et al., 1990). O desenvolvimento das técnicas de sincronização de estro em ovinos data nos anos 60 (Robinson, 1967), com a implementação da utilização dos progestágeno (OYEDIJI et al., 1990; CHAGAS et al., 1994; MORAES et al., 2002).

A precisa sincronização do ciclo estral em ovelhas ou a indução do estro em ovelhas em anestro estacional tem sido realizada com o uso de esponjas intravaginal impregnada com progestágenos tais como acetato de medroxiprogesterona (MAP) (ALIFAKIOTIS et al., 1982; O'DOHERTY & CROSBY, 1990, CROSBY et al., 1991, ALBERIO et al., 1994) e acetato de

fluoreogestone (FGA) (AINSWORTH & WOLYNETZ, 1982; ALIFAKIOTIS et al., 1982; O'DOHERTY & CROSBY, 1990; SAMARTZI et al., 1995) por 12 a 14 dias, seguido de gonadotrofina coriônica eqüina (eCG) (BOLAND et al., 1981; SMITH et al., 1981; ALIFAKIOTIS et al., 1982; QUISPE et al., 1994; POWELL et al., 1996). Contudo, a fertilidade do tratamento com progestágenos em ovelhas em anestro tem sido variável atingindo 22 a 70%. (COLAS, 1979; ROBINSON, 1979; ROMANO et al., 1996). A combinação de progestágenos com eCG também é utilizada durante a estação reprodutiva principalmente quando se procura aumentar a taxa ovulatória (RUBIANES, 2000^b).

O controle da duração do corpo lúteo ou a manipulação da concentração da circulação de progesterona permite a regulação do ciclo estral e ovulação (HANSEL & CONVEY et al., 1983). Progesterona exógena ou análoga a exemplo do MAP, quando administrada por 12 a 14 dias permite a regressão do corpo lúteo, não ocorrendo o estro e a ovulação até que a progesterona exógena seja removida. Durante a sincronização do estro de um grupo de ovelhas, o dia do ciclo estral difere entre elas quando progesterona exógena é administrada levando a variações no momento do início do estro após a retirada da esponja. A falta de sincronia do estro e ovulação limita a fertilidade com inseminação com tempo pré-fixado (GINTHER, 1968; THWAITES, 1971; WOOD et al., 1967).

A aplicação de tratamentos de longa duração por 12 a 14 dias durante o anestro estacional parece ser totalmente desnecessário, devido a grande informação existente da dinâmica folicular em pequenos ruminantes. A partir de vários estudos utilizando protocolo de curta duração conclui-se que eles podem

ser utilizados para indução do estro associado ao eCG durante o anestro estacional. Permitindo uma maior flexibilidade no trabalho a campo (RUBIANES et al., 2000^b).

Com base nos estudos realizados da dinâmica folicular em ovelhas, e do uso de vários protocolos de sincronização do estro apresentando resultados variáveis, e a necessidade de aumentar os conhecimentos de sincronização da ovulação este trabalho teve por objetivos:

1.1. Objetivo geral

Estudar a eficácia do protocolo de curta duração na sincronização do estro utilizando estrógeno para sincronização da emergência da onda folicular e consequentemente a ovulação.

1.1.2. Objetivos específicos:

- ❖ Utilizar a dinâmica folicular para e conhecer o padrão de crescimento folicular durante o tratamento, e aplicação de técnicas de controle ciclo estral
- ❖ Estudar os efeitos dos hormônios exógenos na atividade estral das ovelhas, durante o período pré-estacional.
- ❖ Avaliar o efeito do estrógeno sobre a atresia dos folículos e sincronia da emergência de nova onda de crescimento folicular, visando sincronização do estro e ovulação.

- ❖ Constatar o efeito da progesterona injetável e a utilizada na esponja durante um curto período, no estabelecimento de atividade estral e ovulação durante a pré-estação reprodutiva.
- ❖ Obter a sincronia da ovulação através do emprego do estrógeno e do GnRH.

2. REVISÃO DE LITERATURA

O ciclo estral é um conjunto de eventos que se repetem sucessivamente. Nas ovelhas tem uma duração de 17 ± 2 dias, que se divide em uma fase luteal que se estende desde o dia 2 (estro = dia 0) até dia 13, e uma fase folicular que compreende o dia 14 até o dia 1 (RUBIANES et al., 2000^a).

Ovelhas apresentam estacionalidade reprodutiva caracterizada por ciclos, que normalmente aparece no verão ou no começo do outono e termina no final do inverno ou no começo da primavera (ORTAVANT et al., 1985).

Rodrigues, (2001) em estudos avaliando a sazonalidade reprodutiva em ovelhas definiu a duração da estação reprodutiva como período entre o primeiro e último estro observado, e o anestro o intervalo de tempo entre o último e o primeiro estro da próxima estação reprodutiva. E que a incidência de estro está inversamente relacionada ao comprimento do dia, ou seja, a atividade sexual máxima coincide com os dias mais curtos. Em altas latitudes a estação reprodutiva está estreitamente relacionada ao fotoperíodo, enquanto em baixas latitudes esta relação é menos acentuada.

Informações do fotoperíodo é formado por um caminho complexo que envolve passos neurais e humorais. O fotoperíodo é primeiramente percebido pela retina e o estímulo nervoso decorrente é transmitido por um caminho neural com vários passos, que envolve o núcleo supraquiasmático e gânglio cervical superior para glândula pineal onde a mensagem modula o ritmo de

secreção de melatonina (KARSCH et al., 1984). A duração da secreção de melatonina é então processada para regular a atividade do hipotálamo hipófise e eixo gonadal. A melatonina é secretada somente na escuridão e, portanto a duração da secreção difere entre os dias longos e curtos. (KARSCH et al., 1988)

A melatonina age no hipotálamo mediobasal para modular a pulsabilidade da secreção de GnRH (LINCOLN & MAEDA, 1992; MALPAUX et al., 1993).

Mudanças no estado reprodutivo são controladas por modificações da atividade do eixo por gonadotrofinas devido a variações na pulsabilidade da secreção de LH. Tratamento com melatonina induz mudanças significantes na liberação de GnRH. Em Ovelhas ovariectomizadas com implante subcutâneo de estradiol 17 β que libera uma quantidade constante de hormônio ao longo do ano, a frequência de GnRH e LH está reduzida durante este período nas fêmeas em anestro ou em dias longos (GOODMAN et al., 1982; MARTIN et al., 1983), com um pulso a cada 6h, a inserção subcutânea de implante de melatonina leva a um aumento dramático na frequência dos pulsos de GnRH e LH, 10 pulsos a cada 6h (VINGUIE et al., 1995). A variação na frequência dos pulsos de GnRH e LH são responsáveis por mudanças na atividade das gônadas entre fotoperíodos de dias longos e curtos (KARSCH et al., 1984).

Embora a estação reprodutiva seja regulada pelo fotoperíodo, a inibição do aumento da frequência de LH tônico através do estradiol, é o principal inibidor da ciclicidade no final da estação (GOODMAN & KARSCH, 1980; MARTIN et al., 1983; TAMANINI et al., 1986).

No início do anestro após a última fase luteal da estação reprodutiva, ocorre um declínio na concentração de progesterona e essa diminuição não é acompanhada por um aumento na secreção de estradiol (RAWLINGS et al., 1977; LEGAN & KARSCH, 1979). A ausência do pico pré-ovulatório de estradiol pode ser provocado pela redução da resposta ovariana aos hormônios gonadotróficos (LEGAN & KARSCH, 1979), causado principalmente por uma retroalimentação negativa que cessa a secreção de LH pelo estrógeno (LEGAN et al., 1977; GOODMAN et al., 1981; KARSCH et al., 1993). A frequência dos pulsos de LH de uma fase folicular normal param de aumentar, eliminando o estímulo para produção de estradiol, conseqüentemente não ocorrerá o efeito da retroalimentação positiva de secreção de LH. Com isso, o estro e a ovulação não ocorrem, e a progesterona e o LH caem a níveis basais ou não detectáveis (RAWLINGS et al., 1977). A concentração média de FSH, contudo parece não apresentar mudanças durante o período de transição para o anestro em ovelhas (KARSCH et al., 1984), a secreção de FSH é regulada por hormônios foliculares como estrógeno e inibina que inibem sua secreção (RUBIANES et al., 2000^a).

O anestro em ovelhas é caracterizado pela ausência de estro e ovulação resultado de uma mudança no mecanismo de controle retrógrado do estradiol, mediado pelo fotoperíodo, de uma maneira que somente o estradiol é capaz de suprimir a secreção de LH (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 à cascata desencadeante da ovulação. O aumento ou a diminuição do tempo de secreção determina uma

modificação da sensibilidade do eixo hipotálamo-hipófise ao estrógeno (McNEILLY et al., 1986; GINTHER et al., 1989). Com isso anestro sazonal acontece com ausência de comportamento e ciclicidade ovariana (DACHEUX et al., 1981).

Estudos da ultra-sonografia em ovelhas durante o anestro (SOUZA et al., 1996; RAVINDRA & RAWLINGS, 1997; BARTLEWSKI et al., 1998) demonstraram um padrão cíclico de crescimento folicular e atresia similar ao que ocorre durante a estação reprodutiva, essa observação foi confirmada através da ovariectomia (McNATTY et al., 1984) e pela laparoscopia (NOEL et al., 1993). A emergência da onda folicular durante o anestro, está associada com a ocorrência de flutuações de concentrações plasmáticas de FSH (Bartlewski et al., 1998). Os folículos durante o anestro atingem tamanhos pré-ovulatório, mas entram em atresia (BARTLEWSKI et al., 1998).

Próximo do final do anestro estacional em ovelhas, a atividade dos mecanismos inibitórios que mantém a frequência e amplitude dos pulsos de LH em declínio cessa restabelecendo a secreção de LH, e estimulando a produção de estrógeno dos folículos ovarianos, com retorno do primeiro pico pré-ovulatório de LH (KARSCH et al., 1980). Tem se sugerido que quando o primeiro pico pré-ovulatório de LH é induzido, os grandes folículos nem sempre estão maduros a ponto de responder a liberação de LH, para desenvolver um corpo lúteo normal (LEGAN et al., 1985; HUNTER, 1991). Durante a transição da estação reprodutiva em ovelhas, tem-se observado uma curta fase luteal com secreção de progesterona, podendo ser resultado de uma ovulação de um folículo antral prematuro (LEGAN et al., 1985). O aumento da concentração

plasmática de progesterona ocorre aproximadamente quatro dias antes da primeira ovulação da estação reprodutiva (WALTON et al., 1977) sugerindo a possibilidade de luteinização dos folículos anovulatórios (BARTLEWSKI et al., 1999) ou de um corpo lúteo de curta duração (Hunter et al., 1986). No exame de ultra-sonografia não são encontradas estruturas luteais presentes 15 dias antes da primeira ovulação da estação reprodutiva (RAVINDRA & RAWLINGS, 1997). O aumento breve das concentrações de progesterona durante a transição para a atividade reprodutiva em ovelhas pode ter um papel importante durante o anestro, sincronizando o padrão de desenvolvimento do folículo antral resultando em um pico de LH (LEGAN et al., 1985).

A emergência da onda folicular normal caracterizada por folículos crescem de 3 a ≥ 5 mm de diâmetro continuam durante a transição do anestro (BARTLEWSKI et al., 1998), é improvável que no primeiro pico de LH ocorra a ovulação, devido principalmente aos folículos antrais pequenos e imaturos (LEGAN et al., 1985; RAVINDRA & RAWLINGS, 1997). Contudo, grandes folículos antrais de vários estádios de seu desenvolvimento em crescimento, fase estática ou em regressão podem responder de maneira diferente ao estímulo de LH (RUBIANES et al., 1997^b), durante a transição do anestro para estação reprodutiva podem ocorrer à formação de estrutura luteal normal, folículos anovulatórios luteinizados e CL de curta duração (BARTLEWSKI et al., 1998).

Bartlewski et al., (1999) acompanharam a dinâmica folicular em ovelhas Western white face durante o início da estação reprodutiva, onde observaram ondas de crescimento folicular caracterizada por um número de folículos

maiores que 5 mm por onda de $1,6 \pm 0,1$, com duração da fase estática de $1,7 \pm 0,2$ dias, fase de atresia de $3,4 \pm 0,2$ dias e um intervalo inter-onda de $4,9 \pm 0,3$ dias. A onda ovulatória teve uma taxa de ovulação de $1,3 \pm 0,2$, e o diâmetro máximo atingido pelo folículo ovulatório foi de $6,2 \pm 0,2$ mm

A fase luteínica é caracterizada pelos ovários contendo um ou mais CL, resultante do rompimento do folículo ovulatório. À medida que a fase lútea progride, o CL produz um volume crescente de progesterona até um platô que se inicia por volta do dia 6 e se mantém até a luteólise (PANT et al., 1977).

Concentrações de progesterona do ciclo estral de ovelhas estão relacionadas ao volume total de tecido luteal e variam entre raças prolíficas e não prolíficas (BARTLEWSKI et al., 1999^a).

Para isto foi mostrado também que secreção de progesterona é afetada pela fase da estação reprodutiva com concentrações de progesterona mais altas no meio do que no início e final de estação (WHEELER & LAND, 1977).

O papel principal da P_4 (progesterona) a nível de hipotálamo e hipófise é a inibição da pulsabilidade de GnRH, e subsequente pico de LH. A diminuição na frequência dos pulsos de GnRH é de grande importância para enriquecer as células gonadotróficas hipofisárias em FSH necessário para ativar o recrutamento de novos folículos (CHABBERT-BUFFER et al., 2000).

O mecanismo de ação da progesterona envolve a diminuição da frequência sem afetar a amplitude. Tratamento crônico com progesterona inibem a secreção de LH (GOODMAN et al., 1981^b; O'BYRNE et al., 1991) e GnRH (KARSCH et al., 1987). Similares efeitos inibitórios da progesterona na secreção tônica de LH tem sido relatados em muitas espécies, incluindo ratos

(GOODMAN, 1978), vacas (STUMPF et al., 1993), macacos *rhesus* (VAN VUGT et al., 1984) e humanos (SOULES et al., 1984).

Durante a fase luteal quando as concentrações de progesterona estão altas e a do estradiol relativamente baixa, a frequência dos pulsos GnRH secretado está diminuída. A frequência dos pulsos aumenta e a amplitude diminui durante a metade da fase folicular quando a progesterona declina e o estradiol aumenta. Coincidindo com início do pico pré-ovulatório de LH baixa amplitude e alta frequência dos pulsos de LH (CLARKE et al., 1987).

Em varias espécies de mamíferos inclusive a ovelha, o controle retrógrado negativo da progesterona na liberação de LH durante a fase luteal previne a ovulação (AULETTA & FLINT, 1988).

Os aumentos nos níveis de secreção de progesterona pelo desenvolvimento do CL, inibem os níveis de receptores de ocitocina (MANN & HARESIGN et al., 2001).

Concentrações de progesterona declinam rapidamente no final da fase luteal induzida pela secreção de $\text{PGF}_{2\alpha}$. Aplicações de $\text{PGF}_{2\alpha}$ IM em ovelhas no dia 9 ou 10 do ciclo estral resulta em uma diminuição da secreção luteal de P_4 dentro de 6 hs (NETT et al., 1976). A remoção prematura do CL cirúrgica ou por meios farmacológicos induz o início da fase folicular e ovulação (SHORT et al., 1963; KARSCH et al., 1979).

O mecanismo de retroalimentação negativa na liberação de progesterona permite mudanças hormonais que precedem a próxima ovulação inclusive o aparecimento da liberação dos pulsos de LH (KARSCH et al., 1979; ECHTERNKAMP et al., 1976). Baird & Scaramuzzi, (1976) observaram um

aumento nos níveis de LH em ovelhas após a indução da luteólise pela aplicação de análogo de $\text{PGF}_{2\alpha}$. O efeito foi evidente dentro de uma hora da aplicação, e foi anulado pelo tratamento com progesterona.

Próximo aos dias 11 e 12 do ciclo estral, se inicia o mecanismo de retroalimentação positiva da ocitocina luteal e da prostaglandina endometrial terminando com a lise do CL (Corpo Lúteo), que leva a uma diminuição da progesterona plasmática ao redor do 13º dia (BAIRD & McNEILLY, 1981).

Durante o período de luteólise, o endométrio emite secreções pulsáteis de $\text{PGF}_{2\alpha}$ que provocam a regressão de CL. Nos ovinos um mecanismo de controle retrógrado positivo estimula a secreção pulsátil de $\text{PGF}_{2\alpha}$, com a ocitocina desempenhando um papel central nesse processo (McCRACKEN et al., 1984). A ocitocina proveniente da neuro-hipófise estimula a secreção de $\text{PGF}_{2\alpha}$ do endométrio. A $\text{PGF}_{2\alpha}$ estimula a secreção de ocitocina do CL, e a ocitocina luteínica estimula ainda mais a produção de $\text{PGF}_{2\alpha}$ do útero, caracterizando o processo de retroalimentação positiva. Nesse momento, a luteólise tem início como resultado da elevação e ativação de receptores de estradiol (E_2), que induzem um aumento no número de receptores de ocitocina no endométrio, deflagrando o mecanismo de retroalimentação descrito acima (HOOPER et al., 1986).

A queda na concentração de progesterona durante a regressão luteal, permite uma elevação da secreção de estradiol pelo ovário estimulada pelo aumento na frequência dos pulsos de GnRH e LH. Em contraste, a

concentração de FSH declina, suprimida pela secreção crescente de estradiol e inibina do folículo pré-ovulatório (BAIRD & McNEILLY et al., 1981).

O aumento da secreção de estradiol é o primeiro sinal para o pico pré-ovulatório de GnRH e LH, e esse aumento é responsável pelas manifestações do estro (SCARAMUZZI, 1975; FABRE-NYS & MARTIN, 1991, RAWLINGS & COOK, 1992).

O pico pré-ovulatório de LH, é responsável pela ovulação e pela luteinização do folículo, e subsequente formação do CL, com o desenvolvimento do corpo lúteo as concentrações de progesterona secretadas por ele aumentam (RUBIANES et al., 2000^a).

Após o pico de LH e ovulação enquanto os níveis de LH e esteróides estão baixos há uma elevação significativa na concentração de FSH um dia após a ovulação seguido por um aumento na secreção de estradiol de um pool de novos folículos antrais (SOUZA et al., 1997).

O ovário da ovelha contém entre 100 e 400 folículos que crescem em cada ciclo, de quais 10 a 40 são visíveis na superfície do ovário (CAHILL et al., 1979; McNATTY et al., 1982).

A foliculogênese na ovelha acontece na puberdade e na vida adulta, durante estes anos, só alguns folículos de um pool de milhões crescerão ao tamanho ovulatório e poucos ovularão. O processo de foliculogêneses leva ao redor de 6 meses, a maior parte deste tempo se deve ao crescimento do folículo primário até o diâmetro de 2,5 mm. Durante este tempo ocorre uma pequena seleção (CAHILL & MAULEON, 1980; TURNBULL et al., 1977) e o crescimento aparentemente independe de gonadotrofinas (DUFOR, et al.,

1979) não envolvendo nenhuma secreção significativa de estradiol (CARSON et al., 1981; McNATTY et al., 1982).

Na vaca e na ovelha, o processo de foliculogênese (crescimento/maturação folicular) tem início com a formação dos folículos durante a vida fetal, ou seja, ao nascimento a terneira ou a cordeira já tem determinado o número de folículos primordiais em suas gônadas. A maioria desses folículos durante o seu crescimento vão se degenerar no processo conhecido por atresia folicular, enquanto, que apenas uma minoria vai completar sua maturação e ovular (MORAES et al., 2002).

Durante a foliculogênese cada folículo sofre mudanças maturacionais com uma seqüência ordenada de aquisições como a atividade da aromatase e receptor de LH na célula da granulosa entre outros. Folículos que crescem de 2 mm para tamanho pré-ovulatório em aproximadamente 4 dias (TURNBULL et al., 1977; McNEILLY et al., 1982) apresentam mudanças. No início do estágio de crescimento são necessários receptores de FSH na célula da granulosa, receptores de LH não aparecem na célula da granulosa até que os folículos atinjam 3 mm ou mais de diâmetro (WEBB & ENGLAND, 1982). O desenvolvimento de receptor de LH é controlado pela ação do estradiol, FSH e do próprio LH, e possivelmente por fatores parácrinos e autócrinos produzidos localmente como as IGF, IGFBP, inibina e ativina (DRIANCOURT et al., 1994, RICHARDS, 1994; FINDLAY & DRUMMOND, 1996).

O crescimento de folículos de 2,5 a 5 mm ocorre em alguns dias, sendo a seleção do folículo dominante ou estágio estrogênico um processo crítico,

devido a dependência de um ambiente hormonal (McNEILLY et al., 1986; SCARAMUZZI et al., 1993).

Em ovelhas folículos antrais maiores que 2 e 3 mm de diâmetro são absolutamente dependentes de gonadotrofinas, e são destes folículos dependentes de gonadotrofina que ocorre o recrutamento e a seleção de folículos capazes de ovular (SCARAMUZZI et al., 1993).

Os papéis relativos das gonadotrofinas em recrutar e selecionar o folículo ovulatório ainda é incerto. E tem se mostrado que o FSH sozinho (PICTON et al., 1990^a), mas não o LH (PICTON et al., 1990^b) pode estimular o crescimento do folículo ao tamanho ovulatório em ovelhas onde o desenvolvimento do folículo tenha sido inibido pelo tratamento por 6 semanas com agonista de GnRH. Essas observações sustentam a maioria dos dados para os quais atribuem um papel essencial do FSH no controle do desenvolvimento folicular e seleção (McNEILLY et al., 1991). O LH é principalmente um hormônio esteroidogênico, necessário para o desenvolvimento e manutenção do folículo antral. Em ovelhas tem se demonstrado que no final do desenvolvimento folicular, na maturação do folículo antral, e na ovulação seguida da luteólise há uma dependência do aumento na pulsabilidade da secreção de LH (BAIRD & McNEILLY et al., 1981).

Em ovelhas cíclicas os folículos continuam crescendo ao longo da fase luteal próximo do tamanho ovulatório (NOEL et al., 1993; SMEATON & ROBERTSON, 1971; SCHRICK et al., 1993). Contudo esses folículos falham em ovular devido a produção de progesterona pelo corpo lúteo e pela influencia da retroalimentação negativa na secreção de LH (GOODMAN, 1994). Esses

grandes folículos antrais sofrem atresia e são substituídos por uma nova emergência folicular (RUBIANES, et al., 1997^a).

O desenvolvimento folicular ovariano durante a fase luteal é exposto a um ambiente endócrino que muda com o progresso do ciclo estral. O primeiro folículo antral que emerge imediatamente após a ovulação cresce ao tamanho ovulatório quando a progesterona está baixa (RUBIANES et al., 1996). Após isso durante o ciclo estral folículos antrais crescem sob a influencia de altos níveis de progesterona. Logo os folículos da primeira e segunda onda em ovelhas demonstram diferentes taxas de crescimento e quantidades de receptores de gonadotrofinas, sendo igual ou da mesma maneira que em vacas (SIROIS & FORTUNE, 1988).

Existe uma relação entre o início do aumento das concentrações de estradiol começando durante a fase de crescimento folicular, como também entre o pico das concentrações de estradiol e o fim do crescimento do folículo maior durante o ciclo estral (BARTLEWSKI et al., 1999^a), mas não durante o anestro (SOUZA et al., 1996; BARTLEWSKI et al., 1998).

O crescimento de folículos ovulatórios acontecem com intervalos regulares de aproximadamente 4 a 5 dias em ovelhas cíclicas (GINTHER et al., 1995; BARTLEWSKI et al., 1999^c) e em anestro (BARTLEWSKI et al., 1998).

Em diferentes raças de ovelhas a taxa de crescimento varia de 0,9 a 1,7 mm/dia (DRIANCOURT et al., 1986; CASTONGUAY et al., 1990), e o diâmetro máximo do folículo ovulatório atinge de 4 a 10 mm (BRAND & JONG, 1973; DRIANCOURT & CAHILL, 1984; DRIANCOURT et al., 1988 e 1990).

Na Índia, estudos de ovários de frigoríficos e secreção de estradiol sugerem duas (BRAND & de JONG, 1973) ou três, (SMEATON & ROBERTSON, 1971; MATTNER & BRADEN 1972) fases de crescimento folicular e atresia durante o ciclo estral em ovelhas. Contudo outros (HAY & MOOR, 1975; TURNBULL et al., 1977; LAHLOU-KASSI & MARIANA, 1984) não foram capazes de mostrar com segurança o padrão de crescimento folicular. Driancourt em sua revisão 1985 concluem que não há evidências estatísticas para ondas de crescimento folicular com intervalo fixo de tempo durante a fase luteal. Mais recentemente com o uso de repetidas ultrasonografia e laparoscopia evidencia para (GINTHER et al., 1995; NOEL et al., 1993; SOUZA et al., 1997) e contestada por (RAVINDRA & RAWLINGS, 1994; SCHRICK et al., 1993; RAVINDRA & RAWLINGS, 1997) um organizado padrão de ondas foliculares presentes.

A utilização da ultra-sonografia possibilitou grandes avanços nos estudos da fisiologia reprodutiva em fêmeas ovina (RAVINDRA et al., 1994), particularmente na caracterização do padrão de crescimento folicular (GONZÁLES de BULNES et al., 1994; GINTHER et al., 1995; URIBE VELASQUES et al., 1999), no desenvolvimento durante o anestro estacional (SOUZA et al., 1996; RAVINDRA & RAWLINGS, 1997), na gestação inicial (SCHRICK et al., 1993; MORENO et al., 1995; CHALHOUB et al., 2001), e na sexagem fetal (COUBROUGH & CASTELL, 1998). A avaliação da população folicular e sua dinâmica como efeitos da estimulação hormonal também tem sido estudada (RUBIANES et al., 1997; GOMEZ-BRUNET et al., 1999).

2.1 Dinâmica folicular

Dinâmica folicular é um processo contínuo de crescimento e regressão dos folículos antrais que permitem o desenvolvimento do folículo pré-ovulatório (LUCY et al., 1992).

Com base nos exames de ovários adquiridos de abatedouro, o termo onda folicular foi proposto por Rajakoski, (1960). Ele observou em bovinos que o número de folículos > 5mm de diâmetro não era distribuído uniformemente ao longo do ciclo estral, e que esses folículos eram expostos a crescimento de duas ondas. A utilização da ultra-sonografia em vacas permitiu monitorar diariamente o desenvolvimento folicular do mesmo animal, onde o crescimento da onda folicular pode ser finalmente confirmada (PIERSON & GINTHER, 1984; PIERSON & GINTHER, 1988; SAVIO et al., 1988; SIROIS & FORTUNE, 1988). São descritas duas ou três ondas de desenvolvimento durante cada ciclo na vaca. Uma onda é caracterizada pelo crescimento sincronico de um grupo de folículos (emergência), onde um continua crescendo (folículo dominante) e outros regridem (folículos subordinados). A emergência da próxima onda folicular ocorre somente após o folículo dominante perder seu efeito inibitório sobre o crescimento de outros folículos e após o aumento das concentrações de FSH (ADAMS et al., 1992; SUNDERLAND et al., 1994; EVANS et al., 1997). O folículo dominante em vacas produz mais estradiol e menos progesterona do que o folículo subordinado (FORTUNE, 1994; EVANS & FORTUNE, 1997). Consequentemente ocorre uma hierarquia dentro de uma onda folicular não somente em relação ao diâmetro, mas também na produção de esteróide (EVANS et al., 2000).

A maioria dos achados de populações de folículos ovarianos e o desenvolvimento de corpo lúteo em ovelhas foram confirmados através de observações de ovários após o sacrifício do animal ou durante repetidas laparoscopias/endoscopias (GINTHER, 1971; DRIANCOURT et al., 1991; NOEL et al., 1995). O uso de ultra-sonografia ovariana, em ovelhas com ovários cirurgicamente transplantados (SOUZA et al., 1996, 1997) e em ovários intactos (RAVINDRA, 1993; GINTHER, 1995; RUBIANES, 1997; BARTLEWSKI 1998,1999; EVANS et al., 1999) permitiu monitoramento do desenvolvimento do folículo ovariano antral e a função do corpo lúteo sem estressar o animal.

Com a utilização da ultra-sonografia uma técnica não invasiva e repetitiva de monitorar o desenvolvimento de folículos em humanos (HACKELOER et al., 1979; KERIN et al., 1981) e vacas (SIROIS & FORTUNE, 1988; GINTHER et al., 1989), possibilitou compreender melhor a dinâmica folicular esta técnica caracterizou ondas, seleção, dominância e regressão dos grandes folículos antral durante o ciclo estral em vacas (FORTUNE, 1994).

Em ovelhas, porém o exame de ultra-sonografia transretal mostrou ser mais difícil de ser realizado e interpretado que em vacas devido a problemas como o acesso anatômico, o diâmetro máximo do folículo e a diferença de tamanho entre o folículo dominante e o subordinado (SCHRICK et al., 1993; RAVINDRA et al., 1994).

Os ovários das ovelhas têm sido examinados com sucesso usando transdutor linear de 7,5 MHz transretal desenvolvido para exames de próstata em humanos. Assim permitindo o estudo de estruturas ovarianas, diferenciação de folículos individualmente, identificação do mesmo folículo em observações

consecutivas e a formação do corpo lúteo (SCHRICK et al., 1993; RAVINDRA et al., 1994; GONZÁLES- BULNES, 2001).

Em pequenos ruminantes o desenvolvimento folicular ocorre em ondas tanto na estação reprodutiva (GINTHER & KOT, 1994; CASTRO et al., 1998) quanto durante o anestro estacional (SOUZA et al., 1996; BATLEWSKI et al., 1998), elas emergem com intervalos de 4 a 6 dias. Os esteróides ovarianos interagem com as gonadotrofinas para regular a dinâmica folículo.

Leyva et al., (1995) relataram observações limitadas de folículos maiores que 5 mm observado em 3 ondas durante o ciclo estral de ovelhas Suffolk pela ultra-sonografia. As ondas foliculares emergiram nos dias 0,4; 5,7 e 10,9 de um ciclo de 17 dias, semelhantes às 3 primeiras ondas estudadas por Ginther et al., (1995) que foram de 0,1; 4,9 e 9 dias. No trabalho de Leyva et al., (1995) em ovelhas o diâmetro dos folículos grandes da segunda onda são menores do que os da primeira e terceira onda, o mesmo observado em vacas (SIROIS e FORTUNE ,1988; GINTHER et al., 1989), mas no trabalho de Ginther et al., (1995) o diâmetro dos folículos grandes da terceira onda (não ovulatório) são menores que o da primeira onda.

O aparecimento de uma segunda onda de crescimento folicular foi constatado no período de observação em 4 das 6 ovelhas com ovários autotransplantados, porém os níveis de esteróides ovarianos não foram da mesma magnitude como da primeira onda (SOUZA et al., 1997).

Existem fortes evidências experimentais que indicam que durante a primeira e a ultima (ovulatória) onda folicular ocorre um mecanismo denominado dominância. Um folículo de um pool de recrutados é selecionado,

ele continua crescendo enquanto os outros entram em atresia. O folículo dominante na sua fase final de crescimento depende da pulsabilidade de LH (Baird & McNeilly, 1981). O folículo maior de uma onda será o folículo ovulatório se conseguir estabelecer uma cascata endócrina com o LH que resulte em um pico pré-ovulatório de LH. Há opiniões divergentes entre os autores, sobre a existência da dominância nas ondas intermediárias do ciclo estral em ovelhas (CASTRO et al., 1999).

Em espécies com ovulação simples como homem o folículo ovulatório é selecionado de pequenos folículos antrais (2 a 5 mm de diâmetro) presentes no ovários no momento da regressão luteal. A elevação nas concentrações de FSH que acontece neste momento estimula a aquisição de varias propriedades fundamentais como enzima aromatase e receptor de LH nas células da granulosa que são essenciais para o desenvolvimento adicional. O folículo ovulatório secreta hormônios como estradiol e inibina. Que suprime a secreção de FSH a níveis abaixo do requerido para ativar o desenvolvimento de mais folículos (BAIRD & CAMPBELL, 1998).

Em vacas o folículo dominante produz grandes quantidades de esteróides (estrógenos e andrógenos), fatores não esteroidais (inibina, folistatina e fatores de crescimento) que suprimem o crescimento folicular através de alterações sistêmicas das concentrações de FSH e/ou LH, prevenindo o crescimento do folículo subordinado (ADAMS, 1999), impedindo a emergência da próxima onda folicular, terminando com a regressão ou ovulação desse folículo (GINTHER et al., 1989^a; ADAMS et al., 1992, 1993 FINDLAY et al., 1992, FORTUNE, 1994; BERGFELT et al., 1994).

Tentativas de se determinar o momento da seleção de folículos ovulatório apresentou resultados contraditórios. Estudos anteriores mostraram que a seleção ocorre antes da luteólise (SMEATON & ROBERSTON, 1971; LAND, 1973).

Dados obtidos de folículos dissecados e de secreção de estradiol sugeriram que o folículo pré-ovulatório se apresentou como um folículo estrogênico grande após 10 h da luteólise de um *pool* de folículos presentes naquele momento (McNATTY et al., 1982).

Tsonis et al., (1984) utilizaram ablação seletiva de folículos durante a luteólise onde demonstraram que os folículos ovulatórios são derivado de folículos de mais de 2 mm presentes no momento da regressão luteal. Porém folículos menores também podem ser capazes de ovular, sugerindo que a seleção ocorre em um prazo flexível antes ou após a luteólise, de acordo com a população folicular presente naquele momento.

Ravindra et al., (1994) não sustentam a existência de dominância pelos grandes folículos que tem sido definido para primata (GOODMAN e HODGEN, 1983) e estendido para vacas (GINTHER et al., 1989^a). Observações de dinâmica folicular em ovelhas monovular mostram uma pequena evidencia de dominância durante a fase luteal do ciclo, mas um efeito marcante durante a fase folicular do ciclo, após a emergência do folículo ovulatório (LOPEZ-SEBASTIAN et al., 1997).

O folículo pré-ovulatório normalmente é originado de uma população de folículos grandes presente no momento da regressão luteal, mas a ovelha tem

a habilidade de promover folículos menores se for preciso (SOUZA et al., 1997).

Viñoleas et al., (1999) observaram que o folículo maior da primeira onda é o folículo dominante em ovelhas cíclicas.

O padrão de crescimento folicular em ovelhas parece ser mais dinâmico e menos pronunciado que na vaca (SIROIS & FORTUNE, 1990; SAVIO et al., 1993) isso poderia responder a falta de dominância em ovelhas (DRIANCOURT et al., 1991; DRIANCOURT, 1994) e explicar a taxa de ovulação mais alta nesta espécie.

2.2 Indução/sincronização do estro em ovelhas

Diversos estudos mostraram a possibilidade da melhoria no manejo reprodutivo de ovelhas pelo emprego de hormônios como corticosteroide, prostaglandina, progesterona e gonadotrofinas, com eficácia diferente devido a vários fatores que interferem como estágio reprodutivo, os ambientais, período pós-parto longo, lactação, presença do cordeiro entre outros (CASTILLO et al., 1981; WHEATON et al., 1993; ALVAREZ et al., 1994; QUISPE et al., 1994).

A sincronização de estro em ovinos é importante e até indispensável quando são empregados sistemas intensivos de reprodução, tais como, parições em bloco ou três partos a cada dois anos. Antes de escolher as principais metodologias disponíveis, deve ser considerada a estacionalidade reprodutiva dos ovinos, uma vez que, dependendo da época do ano, será peculiar a técnica a ser empregada (MORAES et al., 2002).

2.2.1 Hormônios utilizados para indução e sincronização do estro durante a pré-estação reprodutiva

2.2.2 Progestágenos

Progesterona e progestágenos são amplamente utilizados para sincronização do estro em vacas (BEAL, 1998) e ovelhas (GORDON, 1997). Esse método leva à diminuição sincrônica de progesterona, porém com o momento de ovulação variável, dependendo do estágio de desenvolvimento do folículo no momento em que o progestágeno é removido (ROCHE et al., 1999).

Tratamentos longos com progesterona (12 a 14 dias) são utilizados em pequenos ruminantes na indução e sincronização do estro, apresentando alta porcentagem de animais em estro após esse tratamento, mas a fertilidade é menor do que o estro natural (ROBINSON et al., 1970). A menor taxa de fertilidade tem sido atribuída a mudança no ambiente hormonal resultando em asincronia entre estro e ovulação (SCARAMUZZI et al., 1988), com subsequente alteração no transporte espermático (PEARCE & ROBINSON, 1985).

Priming de estrógeno em ovelhas adultas ovariectomizadas, tratadas com implante de progesterona diminuem significativamente a frequência dos pulsos de GnRH da circulação portal e o LH da circulação periférica, apresentando um efeito rápido detectado em 49 ± 12 min após a inserção do implante. Após a remoção do implante a pulsatibilidade da secreção de GnRH e LH retornam aos valores entre 175 ± 8 min. A amplitude dos pulsos não são modificadas. Tratamento com implantes de progesterona inibiu o pico de LH induzido pelo estrógeno (CHABBERT-BUFFER et al., 2000).

Pré-tratamento com progesterona previne a luteólise diminuindo os níveis de receptores de ocitocina no endométrio, nas ovelhas em anestro, causa uma redução da sensibilidade uterina ao estradiol no início do diestro (VALLET et al., 1990) permitindo a manutenção do corpo lúteo (BEARD & HUNTER, 1996). Pré-tratamento de progesterona retarda a onda de LH permitindo uma adequada maturação do folículo ovulatório e subsequente função normal do corpo lúteo (McLEOD et al., 1982; KEISLER & KEISLER, 1989).

Segundo Hunter et al., (1991) a maturação inadequada do folículo pré-ovulatório no momento do pico de LH é considerada um fator de desenvolvimento de corpo lúteo anormal. Os folículos destinados a formar CL inadequados não atingiriam seu completo desenvolvimento em receptores gonadotróficos, ou a habilidade máxima de sintetizar estradiol e a duração da estimulação do folículo, antes do pico de LH, poderia ser crítica. Stubbings et al., (1986) propuseram que a formação de um CL inadequado pode ocorrer como consequência do rápido desenvolvimento folicular e da ovulação, antes que as células da granulosa tenham adquirido a maturidade necessária para uma ótima luteinização em resposta ao LH.

As características do folículo ovulatório, também dependem da habilidade do tratamento com progesterona para controlar a liberação de gonadotrofinas. Em vacas (STOCK & FORTUNE, 1993; KINDER et al., 1996) e ovelhas (LEYVA et al., 1998; FLYNN et al., 2000) que em ausência de progesterona luteal a inserção de esponjas intravaginais (FLYNN et al., 1999) ou CIDR (VIÑALES et al., 1999) no início da fase luteal leva a uma maior

freqüência dos pulsos de LH prolongando o período de vida e aumentando o diâmetro do maior folículo, devido ao pessário utilizado para liberar progesterona na sincronização diminuir com o tempo. O aumento da freqüência dos pulsos de LH promove o contínuo crescimento de grandes folículos. Em vacas a ovulação desses folículos resulta em diminuição da fertilidade (STOCK & FORTUNE, 1993; MIHM et al., 1994; AUSTIN et al., 1999).

Quando concentrações de progesterona em ovelhas são mantidas abaixo de 1 ng/mL, utilizando esponjas ou injeções oleosas, o diâmetro e a idade do folículo ovulatório aumenta, atrasando a emergência da onda seguinte quando comparados com ovelhas com concentrações de progesterona acima de 1 ng/mL (JOHNSON et al., 1996).

Quando a progesterona é usada em alguns protocolos de sincronização em ovelhas, prefere-se a progesterona sintética por ser mais potente (ROBINSON et al., 1967). No início a liberação de progesterona pelas esponjas vaginais é alta, mas com o tempo diminui (GREYLING et al., 1994).

Durante os tratamentos com esponjas intravaginais impregnadas com progesterona a taxa de absorção dos componentes da esponja (McDONNELL, 1985) pode afetar a dinâmica folicular. No início do tratamento poderia ser esperado um efeito supraluteal, que pode provocar um aumento da renovação da população folicular, e no final um poderia ocorrer um efeito subluteal isso reduziria a velocidade da renovação da população folicular (HAMRA et al., 1986). Como consequência um folículo dominante persistente poder estar presente no ovário no final do tratamento e ovular após a retirada da progesterona. Em vacas tratamentos com progestágenos por vários dias

promove o desenvolvimento de folículos persistente que liberam oócitos que sofram prematura maturação *in vivo* que provavelmente favoreça a baixa fertilidade observada (SIROIS & FORTUNE, 1990; SAVIO et al., 1993b; REVAH & BUTLER, 1996).

Em ovelhas cíclicas a administração de eCG após o tratamento com progestágenos pode compensar os efeitos deletérios do tratamento longo com progestágenos na dinâmica folicular recrutando novos folículos (NOEL et al., 1994) e diminuindo o problema da baixa fertilidade (BOLAND et al., 1978).

Evans et al., (2001) avaliaram em ovelhas Suffolk a ovulação de folículos velhos a qualidade e a fertilidade dos embriões deles resultantes. No grupo I no sexto dia do ciclo sincronizado com prostaglandina, foram colocadas esponjas com 60 mg de MAP e removidas no 20º dia, sendo que na metade do grupo foi aplicado eCG na retirada da esponja e na outra não. No grupo II as esponjas foram colocadas no 6º, 11º e 16º dia e removidas no 20º dia, parte do grupo recebeu eCG na retirada da esponja e a outra não. Não houve entre os grupos diferença no diâmetro dos folículos ovulados, no número de CLs e na eficiência e qualidade dos embriões colhidos, na taxa de prenhez do primeiro serviço e no número de cordeiros nascidos. Esse experimento mostra que em ovelhas oócito oriundos de folículos velhos podem ser fertilizados produzindo embriões de boa qualidade com cordeiros a termo.

Pessário impregnados com medroxiprogesterona utilizado para sincronização do estro em pequeno ruminante são comercialmente disponíveis na dose de 60 mg do hormônio (RUBIANES et al., 1999).

Outro tipo de dispositivo encontrado no mercado é o “*Controlled Internal Drug Release*” (CIDR) um dispositivo intravaginal impregnado com 0,3 g progesterona natural de uso em pequenos ruminantes com custo superior ao da esponja. Apresentando menos vaginite com o seu uso do que as esponjas. Com o termino do tratamento de curta duração pode ser reutilizado após a higienização (RUBANES, 2000^b).

Godfrey et al., (1999) realizaram uma comparação do início do estro, momento da ovulação e tempo do estro até a ovulação entre ovelhas sincronizadas com CIDR, PGF_{2α} e esponja. Não constatando diferenças entre os grupos, sendo o início do estro de $26,5 \pm 2,3$; $31,6 \pm 2,3$ e $25,4 \pm 2,3$ horas, e do tratamento a ovulação de $67,6 \pm 4,0$, $62,4 \pm 4,2$ e $58,9 \pm 3,1$ hora, e o início do estro a ovulação de $40,7 \pm 3,1$, $32,1 \pm 3,2$ e $34,3 \pm 2,8$ hora respectivamente, permitindo-se concluir que os três métodos podem ser utilizados para sincronização, não apresentando diferenças na sincronização e subsequente função luteal. Para a taxa de concepção com monta natural não houve diferenças significativas entre os tratamentos, mas na inseminação artificial o CIDR apresentou uma taxa de concepção maior que o grupo sincronizado com PGF_{2α}.

Ungerfeld & Rubianes, (2002), conduziram experimento durante a estação de anestro em ovelhas Polwarth e Polwarth x Ille de France com diferentes dispositivos intravaginais (MAP, FGA e CIDR) por 6 dias e administração de 380 UI de eCG na retirada da esponja RE e colocando-as em contato com carneiros. Verificaram que a taxa de concepção e o número de ovelhas em estro com MAP, FGA e CIDR foram similares. Porém o intervalo do

início do estro foi mais tardio com MAP do que com FGA. Em um segundo experimento realizado em ovelhas Romney Marsh fora da estação reprodutiva, onde foram utilizados MAP com 30 e 60 mg por 6 e 14 dias, e administração na retirada da esponjas de 350 UI de eCG e contato com carneiros, não houve diferença na resposta do estro e na taxa de concepção para as diferentes concentrações do progestágenos nem para a duração dos tratamentos.

Ungerfeld & Rubianes, (1999) avaliaram durante o anestro estacional a eficácia dos tratamentos de curta e de longa duração (tradicionais) com esponjas de MAP por 6, 9 e 12 dias acompanhados da administração de eCG. Tratamentos com esponjas por 6 dias apresentaram resultados tão bons quanto os de 9 e 13 dias, concluindo-se que os tratamento de curta duração podem ser utilizados na indução do estro em ovelhas.

Em ovelhas (BECK et al., 1993; UNGERFELD & RUBIANES, 1999) e cabras (RUBIANES et al., 1998) o tratamento de curta duração (5 ou 6 dias) com diferentes dispositivos foi tão efetivo em induzir o estro com alta fertilidade quanto o tratamento de longa duração.

2.2.3 Estradiol

Esteróides ovarianos são classificados quimicamente com base nas suas funções biológicas, as três principais classes são andrógenos, progestágenos e estrógenos. Fisiologicamente o estrógeno, estrona e o estradiol 17β (E_2) são os esteróide foliculares mais importantes e a P_4 é o principal esteróide do CL. Andrógenos são produzidos pelas células da teca e geralmente são

convertidos pela aromatase P450 das células da granulosa em estrógeno sendo o E₂ o principal (SCHAMS & BERISHA, 2002).

O estradiol tem um papel essencial nos processos neuroendócrinos que culminam com o pico ovulatório de GnRH (KARSCH et al., 1997), possui também uma ação direta na hipófise anterior aumentando o número de receptores de GnRH (MILLER, 1993).

Tratamento com estradiol provoca uma rápida diminuição nos níveis de FSH, seguido por uma liberação semelhante ao pico pré-ovulatório de FSH de ovelhas cíclicas durante estação reprodutiva (JOSEPH et al., 1995), confirmando o efeito bifásico do estradiol na concentração de FSH (REEVES et al., 1974). De forma similar foi observado para o LH (CARATY et al., 1989). A elevação dos níveis de FSH ocorre geralmente ao mesmo tempo em que a do LH, embora em menor proporção (FARNWORTH, 1995).

Em vacas a sincronização da emergência de um novo folículo durante o período de administração de progesterona/progestágenos, propicia pelo menos duas vantagens: 1) evita-se a formação do folículo persistente o que diminui a possibilidade de redução da taxa de concepção e 2) homogeniza-se o “status” folicular ao final do tratamento, de modo que os estros são melhor agrupados, tornando a IA em tempo pré-fixado uma realidade (MADUREIRA, 2000).

Engelhard et al., (1989) observaram que a atresia folicular foi detectada antes da liberação do LH induzido pelo estrógeno em vacas tratadas no dia 16 do ciclo estral. Alternativamente o estrógeno pode causar a atresia folicular alterando a secreção tônica de LH e/ou por supressão do FSH (PRICE & WEBB et al., 1988). O estradiol diminui a amplitude dos pulsos de LH em

ovelhas (RAWLINGS et al., 1984) e vacas (PRICE & WEBB, 1988), a utilização de progesterona ou implantes de progestágenos em vacas diminui a frequência dos pulsos de LH suprimindo o diâmetro do folículo dominante de maneira dose-dependente (IRELAND & ROCHE, 1982; ADAMS et al., 1992; SAVIO et al., 1993; STOCK & FORTUNE, 1993; SANCHEZ et al., 1995), estes hormônios tem sido utilizados para sincronizar a emergência da onda folicular em vacas (BO et al., 1993, 1994; CAVALIERI et al., 1997).

Experimentos nas quais foram administrados estradiol exógeno para determinar seu efeito no desenvolvimento folicular (HUTZ et al., 1988; ENGELHART et al., 1989) mostraram regressão dos folículos após tratamento. Semelhantemente Bo et al., (1991, 1995, 2000) documentaram supressão do crescimento folículo dominante após o tratamento com estradiol e implante de progestágenos em vacas.

A indução da supressão de LH pelo estrógeno só podem ser aparentemente evidentes durante a fase prostaglandina, a progesterona e o estrógeno podem ter um efeito sinérgico alterando as concentrações circulantes de FSH. O estradiol sozinho (BUTLER et al., 1983; WOLFE et al., 1992) ou em combinação com progestágenos (BARNES et al., 1981) mostrou suprimir o FSH, contudo, a supressão foi mais prolongada em novilhas com implante de progesterona (BOLT et al., 1990). O estradiol e a progesterona administrados em conjunto apresentam um efeito mais supressivo sobre o LH e o FSH (PRICE & WEBB, 1988).

Bo et al., (2000) utilizaram e novilhas em novilhas prostaglandina e monitoraram o ovário diariamente com ultra-som até a detecção da ovulação.

No dia 2 do ciclo foram utilizados implantes auriculares em todos os animais, e foram divididos em cinco grupos: grupo controle (óleo de semente de gergelim), grupo 0,1 mg; 0,5 mg; 1mg e ou 5 mg de E_2 IM que foram realizadas no dia 3 considerado a metade da fase de crescimento do folículo dominante. Onde observaram que o diâmetro do folículo dominante foi menor em novilhas tratadas com 1 e 5 mg de E_2 do que nos grupos controle e 0,1 mg. O dia do início da regressão do folículo dominante aconteceu antes em novilhas com 5 mg do que com 0,1 mg. O dia da emergência da segunda onda folicular é mais cedo em novilhas tratadas com 1 e 5 mg do que com 0,1 mg. As características foliculares e a emergência da segunda onda folicular entre o grupo tratado com 0,1 mg e o controle não houve diferenças. A administração de 5 mg de E_2 provoca uma elevação da circulação por aproximadamente 42 h induzindo a regressão folicular e a emergência de uma nova onda folicular indiferente do estágio de desenvolvimento do folículo dominante da primeira onda folicular (BO et al., 1994; 1995).

Meikle et al, (2001), estudaram a ação do E_2 em ovelhas durante o anestro em três grupos experimentais: Grupo I controle solução Salina, Grupo II uma aplicação de E_2 (1 μ g/Kg), e no Grupo III duas aplicações de E_2 sendo a segunda dose 24 horas após, constatando o início de uma nova onda 1,5; 2,4 e 2,5 dias, respectivamente, e que este tratamento não induziu a ovulação, mas provocou a regressão dos folículos grandes, sincronizando uma nova onda de crescimento folicular em ovelhas.

Com o objetivo de provocar atresia nos folículos dominantes e sincronizar a emergência de uma nova onda de crescimento folicular em vacas,

recomenda-se a aplicação de 1,0 a 2,0 mg de benzoato de estradiol (BE) no momento de colocação dos dispositivos. Como o BE possui uma média vida curta, os dispositivos poderão permanecer por um período mais curto (7 ou 8 dias) (MADUREIRA, 2000).

2.2.4 Prostaglandina f_{2a} e seus análogos sintéticos (PGF_{2a})

Em ovelhas quando se administra de prostaglandina a porcentagem de animais que apresentam manifestações de estro dentro de 3 a 4 dias é de 60-70%. Já quando são realizados duas aplicações com intervalo de 9 a 12 dias 100% dos animais apresentam estro. A eficácia da prostaglandina depende da funcionalidade do corpo lúteo, sendo maior nos dias 5 a 10 do ciclo estral. O intervalo entre a administração da $PGF_{2\alpha}$ e o início do estro tem sido bastante variado, devido ao estágio de desenvolvimento folicular quando a luteólise é induzida (RUBIANES et al., 2000^b).

Ovelhas tratadas com prostaglandina durante a fase luteal tem o intervalo do tratamento ao estro de 1,5 a 2,5 dias. Em contraste ovelhas ciclando naturalmente iniciam a luteólise 3 a 4 dias antes do estro (ZARCO et al., 1988; NEPHEW et al., 1991; CARDENAS et al., 1993). $PGF_{2\alpha}$ exógena provoca uma diminuição na concentração de progesterona ($<0,25$ ng/mL) dentro de 8-12 h. A taxa média de progesterona cai aproximadamente 1 ng/mL por dia na luteólise de ovelhas não tratadas (ACRITOPOLLOU et al., 1977; RAHMANIAN & MURDOCH, 1987). Interessante é que em animais com o estro induzido com $PGF_{2\alpha}$ a duração do ciclo estral subsequente tem um dia a mais e

a formação do CL é mais lenta do que aquelas que entram em estro sem PGF_{2α} exógena (CARDENAS et al., 1993).

Houghton et al., (1995) observaram em ovelhas que folículos que ovulam espontaneamente durante o ciclo estral são maiores que aqueles que ovulam com estro induzido com PGF_{2α}.

2.2.5 Gonadotrofina coriônica equina (eCG)

O eCG é um hormônio glicoproteico (CHRISTAKOS & BAHL et al., 1979), utilizado para indução da ovulação (COLE, 1975), em animais em anestro, durante a estação reprodutiva e na inseminação artificial em ovelhas (RUBIANES et al., 1996). Em ovelhas o eCG tem uma meia vida longa de até 60 h, principalmente devido a alta quantidade de ácido siálico em sua molécula (MARTINUK et al., 1991; SMITH et al., 1993). Esta gonadotrofina possui atividade FSH pronunciada, além de atividade LH em espécies diferente a do equino (STEWART et al., 1976; COMBARNOUS et al., 1981). Essas características fazem com que o eCG seja utilizado exógenamente para indução e sincronização do estro e da ovulação. Em ovelhas este tratamento hormonal é utilizado em associação com esponjas vaginais que liberam progestágenos seguido por uma injeção de eCG de 400 a 600-UI (GORDON, 1997).

Uma aplicação de eCG no final do tratamento com progestágenos tem apresentado um resultado mais preciso e seguro para sincronização do estro (GORDON, 1971; O'DOHERTY & CROSBY, 1990; OYEDIJI et al., 1990;

CROSBY et al., 1991). Está precisa sincronização é importante para aplicação da inseminação com tempo pré-fixado (TRITSCHLER et al., 1991).

2.2.6 Hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH)

A ovulação pode ser induzida em ovelhas em anestro pela administração exógenas de hCG, GnRH e LH (McLEOD et al., 1982; McNATTY et al., 1981; WALLACE et al., 1986; GOODMAN & KARSH, 1988) ou pelo aumento da liberação de LH endógeno provocado pela exposição das fêmeas em pré-estação ao carneiro (MARTIN & SCARAMUZZI, 1993).

São necessárias repetidas injeções de LH (McNEILLY et al., 1982) ou GnRH (McLEOD et al., 1982; McNATTY et al., 1982) para imitar o padrão de secreção de LH que seja capaz de induzir a ovulação durante a estação de anestro semelhante a que ocorre na fase folicular do ciclo. Não obstante a isso também é seguido freqüentemente de uma função luteal anormal na maioria dos animais (McLEOD et al., 1982). Porém pré-tratamento com progesterona antes do início do tratamento com GnRH leva a uma função luteal normal (McLEOD et al., 1982; McLEOD & HARESIGN, 1984). O intervalo da aplicação do GnRH até o início do pico de LH tem sido relatado ser significativamente maior em animais pré-tratados com progesterona de aproximadamente 34h em relação aos que não receberam pré-tratamento de aproximadamente 22h (McLEOD et al., 1982) indicando que os animais que não foram pré-tratados apresentaram uma função luteal anormal devido a um curto período de exposição do folículo em desenvolvimento a secreção de LH antes do pico de LH (HUNTER et al., 1986).

A aplicação de GnRH pode induzir a ovulação em ovelhas com folículos responsivos presentes durante o anestro, induzindo um pico de LH (RUBIANES et al., 1997^b)

O'Shea et al., (1984) relatam que o corpo lúteo desenvolvido pela aplicação de GnRH em ovelhas em anestro possui um número significativamente menor de células grandes e pequenas do que aqueles de um ciclo normal. Hunter et al., (1986) realizaram estudos para verificar a incidência da função luteal anormal utilizando bólus de injeções de GnRH com e sem pré-tratamento com progesterona, verificaram não haver diferenças nas células da granulosa entre os dois tratamentos, mas na sua capacidade esteroidogênica e na presença de receptores, concluíram que para a formação de corpo lúteo normal, o folículo precisa passar por uma fase de maturação para responder ao pico de LH, aumentando o número de receptores de LH e secreção de estradiol, e isto foi observado em todos os animais pré-tratados com progesterona.

O grau de crescimento dos grandes folículos presentes quando GnRH é administrado é um fator importante a ser considerado, o ambiente endócrino antes da indução da elevação do LH é mais importante do que o tamanho do folículo em determinar a resposta ovulatória. Assim a habilidade do folículo em responder a estímulos ovulatórios exógenos depende provavelmente de gonadotrofinas durante o estágio de crescimento e de um ambiente hormonal em que está exposto (RUBIANES et al., 1997).

Em ovelhas receptores de LH desenvolvem-se na célula da granulosa somente em folículos com tamanho $\geq 3\text{mm}$ (WEBB et al., 1982), sob estimulação do FSH e estradiol. (RUBIANES et al., 1997^b).

A administração de GnRH em ovelhas tratadas com FSH ou eCG sincroniza o momento de ovulação. Protocolos com GnRH têm mostrado resultado com alta sincronização do momento da ovulação. Essa sincronia provavelmente contribui para melhorar a produção de embriões devidos a melhora na taxa de fertilização do óvulo. O uso do GnRH em programas de colheitas de oócitos ou embriões pode ser recomendado, quando tempo pré-fixado de inseminação é usado (WALKER, et al., 1986).

Quirke, et al., (1979) relatam que quando 50 μg de GnRH aplicado 24 horas após a retirada das esponjas impregnadas com P_4 ocorre ovulação em 24 horas em 44 a 46% das ovelhas e em 34 horas em todas ovelhas. Nancarrow et al., (1984) relatam que a administração de 50 μg GnRH em ovelhas tratadas com eCG aumenta a taxa de ovulação, fertilização, e a sincronização da ovulação.

Ovelhas pré-tratadas com esponjas intravaginal de progestágenos por 12 dias seguido de 1200 UI de eCG, 36 horas antes da retirada da esponja e 24 horas após a retirada das esponjas 25 μg de GnRH, indicam que o tratamento com GnRH melhora o tempo de sincronização da ovulação e aumenta a taxa de fertilização e a produção de embriões. A inclusão desse tratamento é recomendada por baixar significativamente o custo, quando baixas doses por ovelha são usados, eliminando falhas na fertilização que representa

o maior problema em ovelhas no programa de colheita de embriões (WALKER et al., 1989).

Em estudos realizados por Eppleston et al., (1991), foram utilizados MAP por 12 a 13 dias com 400 UI de eCG no dia da retirada da esponja e 40 µg de GnRH 36 ou 44 horas após. O pico de LH ocorreu entre 1 a 4 horas, e as ovelhas tratadas com GnRH a 36 horas tiveram um aumento na ocorrência da ovulação 58 horas após a retirada da esponja. Os autores concluíram que o emprego do GnRH é recomendado quando a inseminação for realizada em tempo pré-fixado.

Rubianes et al., (1997^b), utilizando esponjas com MAP por 12 dias, PGF_{2α}, e GnRH, observaram que os folículos grandes que se desenvolveram no início da fase luteal podem ovular em resposta a estimulação com GnRH. A magnitude do pico de LH atinge 56,1 ng/mL, e ocorre em todas as ovelhas 1 a 2 horas após o tratamento com GnRH. Todas as ovelhas ovularam dentro de 48 horas, desenvolvendo fase luteal normal e retornam ao estro após 18 dias.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1- Animais experimentais e instalações

O experimento foi realizado na pré-estação reprodutiva outubro a dezembro de 2002, em latitude de 22°S, foram utilizadas fêmeas ovinas da raça Suffolk, oriundas do Instituto de Zootecnia de Itapetininga com peso corporal de 40 a 80 Kg, com idades de dois a sete anos, e um macho vasectomizado previamente examinados quanto ao estado clínico geral, sanitário e reprodutivo.

Os animais permaneceram no Laboratório de Estudos de Biotecnologia Aplicada a Reprodução de Ovinos e Caprinos, do Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia/UNESP-Botucatu em baias de 3x3 m, sob luminosidade natural, e receberam água e sal mineral *ad libitum*, alfafa pré-murchada como volumoso e sal proteinado especialmente formulado para ovinos (Nutrumin®) na proporção de 200 g/cabeça/dia.

3.2.) Ensaios Laboratoriais:

Foi realizado acompanhamento clínico-endocrinológico dos efeitos dos hormônios na sincronização do estro e ovulação e funcionalidade do corpo lúteo.

3.2.1) Sincronização do estro

Confecção das esponjas

As esponjas utilizadas no experimento foram confeccionadas um dia antes de sua utilização com espuma sintética de alta densidade, cortadas por cilindro de alumínio de forma circular, colocado um cordão de 20 cm atado em cruz para facilitar sua retirada. As esponjas foram lavadas secas, autoclavadas e impregnadas com 60 mg de Acetato de medroxiprogesterona (Evigest® - Agribands) distribuído por toda a superfície da esponja previamente umedecida por álcool. A secagem se processou em estufa bacteriológica por 24 horas. Após a higienização da vulva as esponjas foram inseridas na vagina com auxílio de espéculo tubular de metal lubrificado.

Os animais foram divididos em grupos de acordo com o tipo de tratamento:

Grupo controle (n=12): a indução/sincronização do estro foi realizada com esponjas intravaginais impregnadas com 60 mg de Acetato de medroxiprogesterona (Evigest® - Agribands) que permaneceram inseridas por 12 dias. No dia da retirada das esponjas (RE) foi aplicado por via Intra Muscular (via IM) 400 UI de eCG (Gonadotrofina sérica equina, Folligon®- Intervet), protocolo controle (**FIG. 1**).

Nos grupos experimentais: utilizou-se esponja vaginal impregnada com 60 mg de Acetato de medroxiprogesterona (Evigest® - Agribands) que permaneceu inserida por 4 ou 5 dias. Na retirada da esponja administrou-se 100 µg de PGF_{2α} (via IM) (D-Cloprostenol sódico, Preloban®-Intervet) (**FIG. 2 a 4**) e adicionalmente:

Grupo Experimental I (n=12): no dia da colocação da esponja foi feita aplicação de 0,1 mg de BE (Benzoato de estradiol, Estrogin[®]-Farmavet), via IM protocolo I, e 48 horas após a RE 50 µg de GnRH (via IM) (Gonadorelina, Fertagil[®]-Intervet) (**FIG. 2**).

Grupo Experimental II (n=6): no dia colocação da esponja foi administrado 35 mg de progesterona injetável (via IM), e 0,1 mg de BE (Estrogin[®]- Farmavet) via IM, na retirada da esponja aplicou-se 400 UI de eCG (Gonadotrofina sérica eqüina, Folligon[®]– Intervet) (via IM), protocolo II e 48 horas após a RE 50 µg de GnRH (via IM) (Gonadorelina, Fertagil[®]–Intervet) (**FIG. 3**).

Grupo Experimental III (n=12): no dia da colocação da esponja administrou-se 35 mg de progesterona (via IM), e 0,2 mg de BE (Estrogin[®]- Farmavet) por via IM, na retirada da esponja foi aplicado 400 UI de eCG (Folligon[®]- Intervet) (via IM), protocolo III , 56 h após a RE 50 µg de GnRH (via IM) (Gonadorelina, Fertagil[®]–Intervet) (**FIG. 4**).

Grupo Experimental IV (n=14): no dia da colocação da esponja administrou-se 35 mg de progesterona por via IM, e 0,3 mg de BE (Benzoato de estradiol, Estrogin[®]- Farmavet) por via IM, sendo que as esponjas permaneceram por 5 dias, protocolo IV (**FIG. 5**).

Em relação aos protocolos de sincronização dos estros, o dia da retirada da esponja foi denominado D 0 (dia zero), enquanto que o período em que se realizou a sincronização recebeu uma escala decrescente de valores em dias. Dessa forma, o momento de colocação das esponjas foi denominado D -12 (dia

menos doze) no grupo controle e no D -4 (dia menos quatro) e D -5 (dia menos cinco) nos grupos experimentais.

O período posterior à retirada da esponja em cada grupo recebeu uma escala crescente de valores em dias.

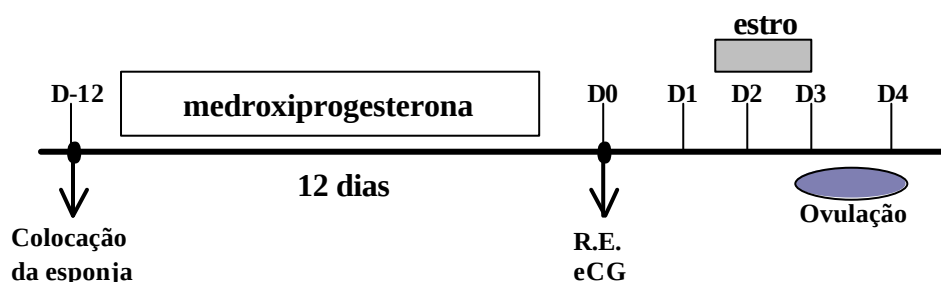


FIGURA 1- Representação esquemática do protocolo controle de indução/sincronização do estro em ovinos do **Grupo controle** (n=12), com emprego de esponja vaginal impregnada com 60 mg de medroxiprogesterona (MAP) por 12 dias, e administração de 400 UI de gonadotrofina coriônica eqüina (eCG) na retirada da esponja (RE), tomando como referência o dia da retirada da esponja (D0).

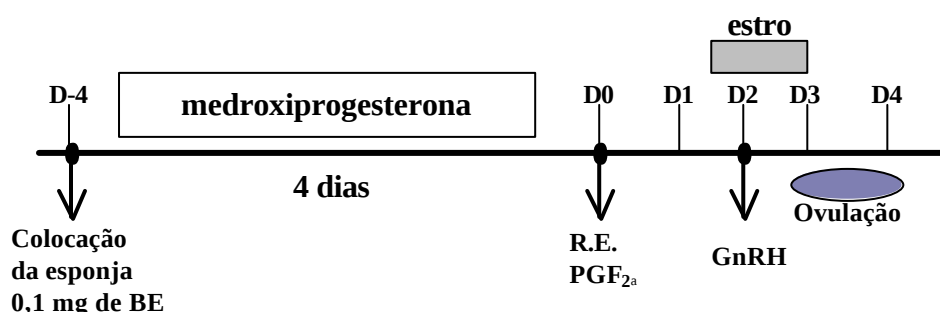


FIGURA 2- Representação esquemática do protocolo I de indução/sincronização do estro em ovinos do **Grupo experimental I** (n=12), com emprego de esponja vaginal impregnada com 60 mg de medroxiprogesterona (MAP) por 4 dias, e administração de 0,1 mg de benzoato de estradiol (BE) na colocação da esponja; e 100 µg de D-cloprostenol (PGF_{2α}) na retirada da esponja (RE); e 50 µg de gonadorelina (GnRH) 48 h após, tomando como referência o dia da retirada da esponja (D0).

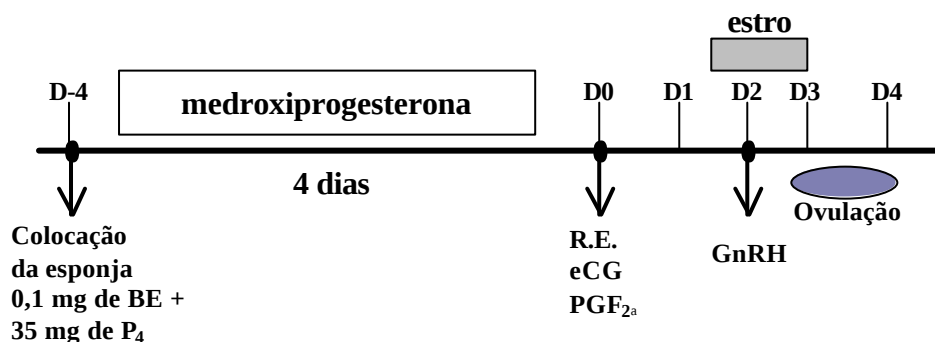


FIGURA 3- Representação esquemática do protocolo II de indução/sincronização do estro em ovinos do **Grupo experimental II** (n=6), com emprego de esponja vaginal impregnada com 60 mg de medroxiprogesterona (MAP) por 4 dias, e administração de 0,1 mg de benzoato de estradiol (BE) e 35 mg de progesterona (P4) na colocação da esponja; e 400 UI de gonadotrofina coriônica eqüina (eCG) e 100 µg de D-cloprostenol (PGF_{2α}) na retirada da esponja (RE); e 50 µg de gonadorelina (GnRH) 48 h após, tomando como referência o dia da retirada da esponja (D0).

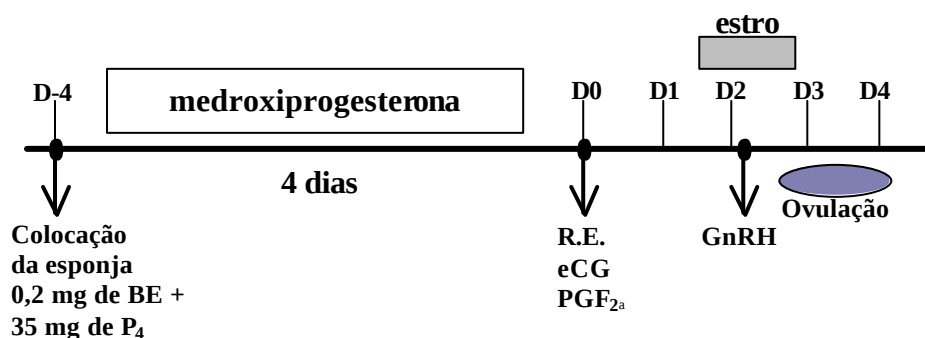


FIGURA 4- Representação esquemática do protocolo III de sincronização do estro em ovinos do **Grupo experimental III** (n=12), com emprego de esponja vaginal impregnada com 60 mg de medroxiprogesterona (MAP) por 4 dias, e administração de 0,2 mg de benzoato de estradiol (BE) e 35 mg de progesterona (P4) na colocação da esponja; e 400 UI de gonadotrofina coriônica eqüina (eCG) e 100 µg de D-cloprostenol (PGF_{2α}) na retirada da esponja (RE); e 50 µg de gonadorelina (GnRH) 56 h após, tomando como referência o dia da retirada da esponja (D0).

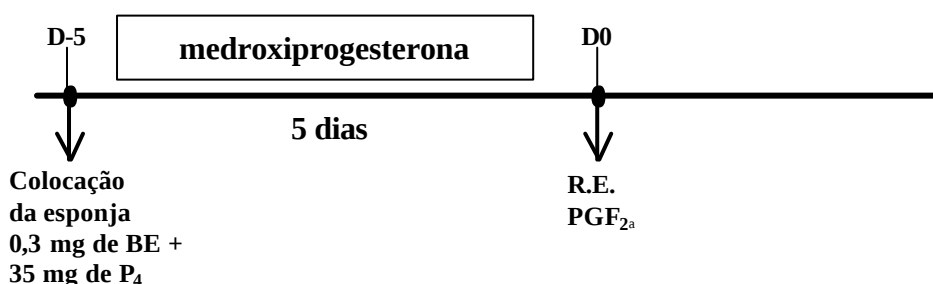


FIGURA 5- Representação esquemática do protocolo IV de sincronização do estro em ovinos do **Grupo experimental IV** (n=14), com emprego de esponja vaginal impregnada com 60 mg de medroxiprogesterona (MAP) por 5 dias, e administração de 0,3 mg de benzoato de estradiol (BE) e 35 mg de progesterona (P4) na colocação da esponja; e 100 µg de D-cloprostenol ($\text{PGF}_{2\alpha}$) na retirada da esponja (R.E.), tomando como referência o dia da retirada da esponja (D0).

3.2.2 Avaliação ultra-sonográfica

Iniciando-se dois dias antes da indução/sincronização do estro, os animais dos cinco grupos tiveram os ovários monitorados a cada 24 horas, com ultra-som B - *mode scanner* (SSD-500; Aloka Co. Ltda, Japão) equipado com transdutor linear 7,5 MHz (Modelo UST-660-7.5; Aloka Co. Ltda, Japão) desenvolvido para exame transretal de próstata em humanos, mas validado para o presente estudo em ovinos (SCHRICK, et al., 1993; RAVINDRA, et al., 1994). As ovelhas foram colocadas em estação contidas por um tronco próprio para pequenos ruminantes, após a remoção das fezes foi introduzido no reto carboximetilcelulose na forma gel, através de uma seringa de 20 mL, para lubrificar e aumentar a superfície de contato. O transdutor foi introduzido no reto até a detecção da bexiga urinária e útero, a visualização dos ovários era obtida rotacionando-se o transdutor lateralmente, e quando necessário a imagem era “congelada”. Quando a primeira ovelha manifestou estro o

desenvolvimento folicular foi acompanhado a cada duas horas até a constatação da ovulação, ou até 48 horas após a aplicação de GnRH em todos os animais do grupo, exceto nos animais do Grupo IV, onde não foram observados a manifestação do estro e o momento da ovulação. Nos dias subsequentes a formação do corpo lúteo foi por ultra-sonografia acompanhadas diariamente até o 10º dia após a ovulação (**FIG. 6**).

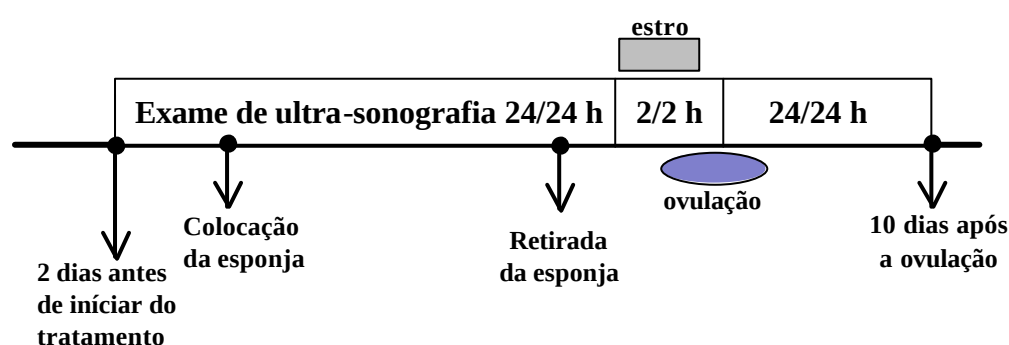


FIGURA 6- Representação esquemática do cronograma dos exames ultra-sonográfico realizado a cada 24 h dois dias antes do início do tratamento até o início do estro, e a cada 2 h do início do estro a ovulação, e cada 24 h da ovulação ao décimo dia após a ovulação, em ovelhas do grupo controle e experimental de I a III, no grupo IV as ultra-sonografias foram realizadas até a retirada da esponja a cada 24 h.

As imagens obtidas dos ovários foram desenhadas em esquemas bidimensionais, e os dados da mensuração das estruturas foram planilhados de maneira a permitir a identificação e acompanhamento das estruturas durante os dias subsequentes. De cada folículo ou corpo lúteo e de sua cavidade quando detectados foram realizadas duas mensurações dos diâmetros para obter-se a média de cada estrutura.

A análise retrospectiva do acompanhamento individualizado dos folículos em ambos os ovários em conjunto permitiu o estabelecimento do padrão de

crescimento folicular em ondas (onda folicular), caracterizado pelas fases de crescimento, estática e atresia (**FIG. 16 a 20; ANEXO I**).

Os parâmetros avaliados no período de observação foram, número de ondas foliculares, o dia da emergência da onda folicular, início da onda após o tratamento, duração da onda, taxa de crescimento dos folículos, duração do crescimento, tamanho do folículo na aplicação do eCG, taxa de crescimento após o eCG, fase estática, fase de atresia, taxa de atresia, dia em que o folículo atingiu o diâmetro máximo, diâmetro máximo do folículo, intervalo inter-onda, número de folículos pequenos médios e grandes em cada intervalo inter-onda, número de folículos maiores de 4,5 mm, número de folículos que ovularam, a existência de ovulação e a formação do corpo lúteo.

A ovulação foi confirmada quando o folículo ovulatório maior da onda ($\geq 4,5$ mm) não mais foi detectado, com formação do corpo lúteo e concentração média de progesterona $\geq 1\text{ng/mL}$ no quinto e décimo dia após a ovulação.

Durante a realização do protocolo de sincronização/indução do estro, ao se conseguir caracterizar um padrão típico de crescimento folicular onda, este foi denominado primeira onda, o seguinte segunda onda e aquele no qual ocorreu a ovulação, onda ovulatória (**FIG. 16; ANEXO I**).

3.2.3 Critérios para caracterização da dinâmica folicular

Onda de crescimento folicular: foi considerado a emergência de um ou mais folículos antrais dentro de um período de 48 h, com o crescimento de folículos maior que 2 mm a $\geq 4,5$ mm de diâmetro. Quando um ou mais folículos atingiram o mesmo diâmetro máximo, o folículo que atingiu o diâmetro máximo

primeiro e/ou permaneceu no diâmetro máximo por um período maior de tempo foi considerado o grande folículo da onda.

Onda folicular anovulatória: foi considerado quando um ou mais folículos cresceram a $\geq 4,5$ mm de diâmetro e não ovularam.

Onda folicular ovulatória: foi considerado quando um ou mais folículos cresceram a $\geq 4,5$ mm de diâmetro e ovularam.

Duração da onda folicular: foi considerada a duração em dias do crescimento, fase estática e a fase de atresia.

Duração da onda folicular ovulatória: foi considerado o intervalo entre o dia da emergência do folículo ovulatório até o dia da ovulação.

Dia do início da onda: dia da emergência da onda após o início do tratamento.

Dia da emergência da onda folicular: ao folículo atingir diâmetro $\geq 4,5$ mm foi encontrado retrospectivamente, o momento em que pela primeira vez seu diâmetro foi ≥ 3 mm, considerando-se então o dia anterior como o da emergência da onda.

Fase de estática: número de dias em que não foi observado crescimento e regressão do folículo, tempo em que o folículo permaneceu com o mesmo diâmetro.

Taxa de crescimento dos grandes folículos da onda (ovulatória e anovulatória): foi calculado o crescimento de quando o folículo tinha mais de 2 mm até o diâmetro máximo dividida pelo número de dias envolvidos.

Duração do crescimento: número de dias entre a primeira mensuração do diâmetro folicular e o último dia de detecção do diâmetro máximo do folículo.

Taxa de atresia: dos folículos da onda anovulatória foi calculado o dia em que o folículo atingiu seu diâmetro máximo até o dia em que regrediu até 2 a 3 mm de diâmetro dividido pelo número de dias envolvidos.

Dia do diâmetro máximo: primeiro dia em que o folículo atingiu seu diâmetro máximo.

Diâmetro máximo: diâmetro máximo atingido pelo folículo.

Intervalo inter-onda: número de dias entre a emergência de uma onda folicular até o dia do aparecimento da onda subsequente.

Nenhuma tentativa foi feita para determinar se um ou mais folículos expressaram dominância

Os folículos foram classificados como pequenos (diâmetro de 2 a < 3 mm); médios (diâmetro de 3,0 a 4,5 mm) e grandes (diâmetro maior que 4,5 mm) segundo critério utilizado por Meikle et al., (2001).

3.3) Caracterização e cronologia das manifestações de estro

Objetivou-se a observação do momento de ocorrência do estro para determinar o número de animais que apresentara manifestações de estro, o tempo decorrido entre a retirada da esponja e o início do estro, e do estro até a ovulação.

Após a retirada da esponja às ovelhas permaneceram com um macho vasectomizado (rufião) para detecção do início das manifestações do estro, a marcação foi feita com pigmento em pó, (Xadrez[®]), dissolvido em óleo vegetal passado na região externa do animal. A cronologia e comportamento sexual das ovelhas foram observados incluindo a aceitação de monta realizada pelo

rufião. Foram consideradas em estro aquelas ovelhas que se mantiveram paradas sob a monta do macho e marcadas pela tinta.

3.4 Quantificação da progesterona

A mensuração das concentrações plasmáticas de progesterona (P_4) visou verificar a condição da atividade cíclica das ovelhas, confirmação da ocorrência da ovulação além da constatação da funcionalidade do corpo lúteo.

Para a determinação de P_4 , colheitas de sangue das ovelhas de cada grupo se iniciaram 10 dias antes da colocação das esponjas, no dia da colocação das esponjas, e no 5° e no 10° dias após a ovulação, sendo todas as amostras obtidas em horário pré-estabelecido no período da manhã (**FIG. 7**), através da punção da veia jugular, recolhidas em tubos de vidros heparinizados com sistema à vácuo. As amostras foram centrifugadas a 400 g durante 5 minutos para extração do plasma e estocadas a -20°C em alíquotas de 1,0 mL até o momento das análise.

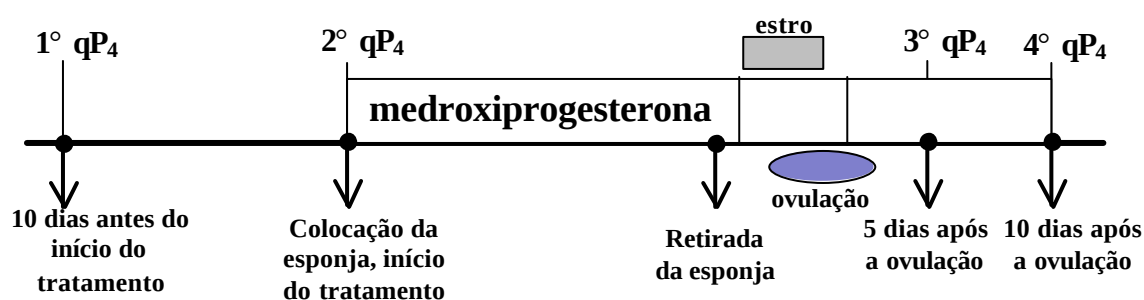


FIGURA 7- Representação esquemática do cronograma da quantificação de progesterona (qP_4) em ovelhas do grupo controle e experimental de I a III, com estro sincronizado, realizado 10 dias antes do início do tratamento, no dia da colocação da esponja e 5 e 10 dias após a ovulação.

As análises hormonais para determinação de P_4 foram realizadas em um único ensaio no Laboratório de Endocrinologia do Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária da UNESP-Botucatu por radiimunoensaio (RIA), com a utilização de kits comerciais em fase sólida da DPC (Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA, USA), e contador gama automatizado (Vitek, modelo Kinet Count 48, USA), que forneceram os resultados automaticamente interpolados em ng/mL. Inseriu-se três repetições, em duplicata, no início meio e fim do processo de análise, de uma amostra controle (*Pool* de plasma), para avaliação de eventual erro intra-ensaio.

Especificidade: O anti-soro de progesterona Coat-A-Count é altamente específico para progesterona, particularmente com baixa reatividade cruzada para outros estróides ou drogas terapêuticas que possam estar presentes nas amostras (**TAB. 7; ANEXO. I**).

3.5 Análise estatística

Os dados foram testados quanto à normalidade e homogeneidade de variâncias pré-requisitos necessários para a análise de variância e assim analisados, sendo as médias comparadas através do teste de Tukey ao nível de significância de 5%;

Para a análise estatística, os parâmetros das variáveis número de folículos pequenos, médios, grandes, > 4,5mm e folículos que ovulam foram transformadas em $\log(x+1)$. e submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas através do teste de Tukey ao nível de significância de 5%;

Os dados das variáveis, dia do início da onda após o tratamento e início da onda antes da retirada da esponja, foram analisados usando a análise de variância não paramétrica de Kruskal-Wallis;

Análise de variância e teste de Dunnett para comparar as variáveis das ondas ovulatórias dos grupos experimentais com a primeira onda do grupo controle;

Teste t de Student para amostras pareadas (dependentes) para comparar a primeira e a segunda onda do grupo controle;

Teste exato de Fisher para verificar associação entre grupos e tempos do estro e ovulação.

As análises estatísticas foram efetuadas empregando-se o programa *SAS Statistical Analysis System*. (SAS, 1997 e 1999; 1998).

4. RESULTADOS

4.1 Dinâmica folicular durante o protocolo de sincronização/indução do estro

No exame de ultra-sonografia realizado durante o protocolo de indução/sincronização do estro, nas ovelhas Suffolk dos Grupos controle e experimentais (I a IV), mostrou que o crescimento folicular ocorreu como padrão de onda folicular, sendo que as características da primeira onda durante o período de sincronização do estro (duração da onda, duração do crescimento, fases estática e de atresia, taxa de crescimento e atresia e o diâmetro máximo atingido pelo folículo) estão descritas na **TAB. 1**.

O diâmetro do folículo no início do tratamento, dia do início da onda, intervalo inter-onda e o número de folículos pequenos, médios, grandes e maiores de 5, mm também estão na **TAB. 1**.

Durante o período de manutenção da inserção da esponja por 12 dias, além da onda ovulatória, 33% dos animais (4/12) do **Grupo controle**, apresentaram padrão de crescimento folicular com uma onda (primeira onda) e 66% (8/12) padrão de duas ondas foliculares (segunda onda), não sendo constatadas diferenças ($P>0,05$) entre elas quanto às variáveis avaliadas (**TAB. 2**).

As características da primeira e segunda onda do Grupo controle durante o protocolo de sincronização/indução do estro estão descritas na **TAB. 2**.

As ovelhas dos quatro Grupos experimentais, por permanecerem com a esponja inserida por um período de 4 ou 5 dias, 66% (8/12) do Grupo I, 33%

(2/6) do grupo II e 33% (4/12) do Grupo III, tiveram oportunidade de manifestar apenas a primeira onda, não apresentando diferenças entre os grupos controle e experimentais (**TAB. 1**).

Apesar do Grupo I também ser de curta duração ele apresentou um número maior de animais com a primeira onda, isso se deve ao fato de que esses animais tiveram o início da onda após o início do tratamento antes do que os outros grupos de curta duração (**TAB. 1**).

Nas doses empregadas (0,1 a 0,3 mg) a aplicação do estrógeno (BE) na colocação da esponja não provocou a atresia dos folículos pequenos e não interferiu no crescimento e no diâmetro do folículo maior, o folículo continuou crescendo normalmente, a emergência de uma nova onda de crescimento folicular não foi sincronizada, como pode ser comprovado pelo início da onda após o tratamento na **TAB. 1**.

TABELA 1 - Valores médios (média $\pm$ EPM), das características da primeira onda de crescimento folicular, observadas durante o tratamento de sincronização de estro das ovelhas Suffolk dos **Grupos controle e Experimentais (I a IV)**.

VARIÁVEL	GRUPO				
	CONTROLE (n =12/12)	I (n =8/12)	II (n =2/6)	III (n =4/12)	IV (n =10/14)
Diâm. fol. inicial (mm)	3,98 $\pm$ 0,26	4,43 $\pm$ 0,17	5,00 $\pm$ 0,19	4,99 $\pm$ 0,30	4,21 $\pm$ 0,32
Dia início da onda (dia)	2,17 $\pm$ 0,30	1,75 $\pm$ 0,43	1,50 $\pm$ 0,43	2,83 $\pm$ 0,39	1,50 $\pm$ 0,60
Duração da onda (dia)	6,79 $\pm$ 0,33	6,11 $\pm$ 0,20	5,50 $\pm$ 0,50	5,75 $\pm$ 0,63	5,55 $\pm$ 0,17
Duração do cresc. (dia)	2,67 $\pm$ 0,22	2,94 $\pm$ 0,18	2,00 $\pm$ 0,00	2,50 $\pm$ 0,29	2,50 $\pm$ 0,15
Duração da atresia (dia)	2,42 $\pm$ 0,18	1,89 $\pm$ 0,11	2,00 $\pm$ 0,00	1,75 $\pm$ 0,25	1,90 $\pm$ 0,22
Fase estática (dia)	1,92 $\pm$ 0,15	1,28 $\pm$ 0,15	1,50 $\pm$ 0,50	1,50 $\pm$ 0,29	1,20 $\pm$ 0,11
Dia do diâm. max. (dia)	3,65 $\pm$ 0,18	3,46 $\pm$ 0,18	3,00 $\pm$ 0,00	3,75 $\pm$ 0,48	3,35 $\pm$ 0,20
Intervalo inter-onda (dia)	4,75 $\pm$ 0,30	3,83 $\pm$ 0,31	3,50 $\pm$ 0,50	4,00 $\pm$ 0,00	4,60 $\pm$ 0,40
Taxa de cresc. (mm/dia)	0,85 $\pm$ 0,06	0,90 $\pm$ 0,12	1,05 $\pm$ 0,15	0,98 $\pm$ 0,09	1,00 $\pm$ 0,07
Taxa de atresia (mm/dia)	0,97 $\pm$ 0,04	0,98 $\pm$ 0,10	1,00 $\pm$ 0,10	1,21 $\pm$ 0,07	1,08 $\pm$ 0,10
Diâmetro max. (mm)	4,94 $\pm$ 0,13	5,26 $\pm$ 0,54	4,60 $\pm$ 0,20	5,75 $\pm$ 0,48	5,34 $\pm$ 0,19
Folículo pequeno (n^o)	10,25 $\pm$ 0,8	11,56 $\pm$ 1,72	6,50 $\pm$ 1,50	6,75 $\pm$ 1,11	0,10 $\pm$ 1,17
Folículo médio (n^o)	4,58 $\pm$ 0,48	4,56 $\pm$ 0,69	2,50 $\pm$ 1,50	3,25 $\pm$ 0,25	4,30 $\pm$ 0,70
Folículo grande (n^o)	2,75 $\pm$ 0,39	1,78 $\pm$ 0,36	1,50 $\pm$ 0,50	2,00 $\pm$ 0,41	2,30 $\pm$ 0,42
Folículo>4,5mm (n^o)	1,75 $\pm$ 0,25	1,22 $\pm$ 0,15	1,00 $\pm$ 0,00	1,25 $\pm$ 0,25	1,50 $\pm$ 0,17

EPM = Erro Padrão da Média. P > 0,05 entre os grupos, para todas as variáveis da onda estudadas

Diam.= diâmetro; fol.= folicular; cresc.= crescimento; diâm.= diâmetro max.= máximo; mm= milímet

Grupo controle MAP por 12 dias e na retirada da esponja eCG

Grupo I 0,1 mg de BE e MAP por 4 dias, na retirada da esponja aplicação de PGF_{2 α} e 48 h após a RE GnRH

Grupo II 0,1 mg de BE, 35 mg de progesterona injetável e MAP por 4 dias, na retirada da esponja aplicação de eCG e PGF_{2 α} e 48 h após a RE GnRH.

Grupo III 0,2 mg de BE, 35 mg de progesterona injetável e MAP por 4 dias, na retirada da esponja aplicação de eCG e PGF_{2 α} e 56 h após a RE GnRH.

Grupo IV 0,3 mg de BE, 35 mg de progesterona injetável e MAP por 5 dias, na retirada da esponja aplicação de PGF_{2 α} .

TABELA 2- Valores médios (média $\pm$ EPM), das características da primeira e segunda onda de crescimento folicular, observadas durante o protocolo de sincronização de estro das ovelhas Suffolk do **Grupo controle**.

VARIÁVEL	ONDA FOLICULAR – GRUPO CONTROLE	
	PRIMEIRA (n =12/12)	SEGUNDA (n = 8/12)
Duração da onda (dia)	6,79 $\pm$ 0,33	6,13 $\pm$ 0,44
Duração cresc. (dia)	2,67 $\pm$ 0,22	2,41 $\pm$ 0,26
Duração da atresia (dia)	2,42 $\pm$ 0,18	2,13 $\pm$ 0,30
Fase estática (dia)	1,92 $\pm$ 0,15	1,63 $\pm$ 0,18
Dia do diâm. max. (dia)	3,65 $\pm$ 0,18	3,16 $\pm$ 0,23
Intervalo inter-onda (dia)	4,75 $\pm$ 0,30	4,25 $\pm$ 0,25
Taxa cresc. (mm/dia)	0,85 $\pm$ 0,06	0,84 $\pm$ 0,11
Taxa de atresia (mm/dia)	0,97 $\pm$ 0,04	1,07 $\pm$ 0,08
Diâmetro max. (mm)	4,94 $\pm$ 0,13	4,86 $\pm$ 0,19
Folículos pequenos (nº)	10,25 $\pm$ 0,89	11,75 $\pm$ 1,25
Folículos médios (nº)	4,58 $\pm$ 0,48	5,25 $\pm$ 0,73
Folículos grandes (nº)	2,75 $\pm$ 0,39	1,75 $\pm$ 0,37
Folículos > 4,5 mm (nº)	1,75 $\pm$ 0,25	1,25 $\pm$ 0,25

EPM = Erro Padrão da Média. P > 0,05 entre os grupos, para todas as variáveis da onda estudadas
 rec.= crescimento; diâm.= diâmetro max.= máximo; mm= milímetro
Grupo controle MAP por 12 dias e na retirada da esponja eCG

4.1.2 Onda folicular ovulatória

A onda folicular ovulatória foi considerada a onda onde um ou mais folículos cresceram até o diâmetro ovulatório e ovularam (**TAB. 3**). Sendo observada em 100 % dos animais dos Grupos controle (12/12) e II (6/6), e em 50% (6/12) do Grupo I e 91% (11/12) do Grupo III, no Grupo IV não foram observados o estro e a ovulação, mas o efeito da dose do estrógeno (0,3 mg) no crescimento dos grandes e pequenos folículos e na emergência de uma nova onda de crescimento folicular (**TAB. 1 e 3**).

As descrições das características da onda folicular ovulatória (duração da onda, duração do crescimento, fase estática, taxa de crescimento, tamanho do folículo na RE (retirada da esponja), início da onda antes da RE, taxa de crescimento após a RE, número de folículos pequenos, médios, grandes e que ovularam) estão na **TAB. 3**.

A duração da onda folicular ovulatória no Grupo III foi mais curta ($4,59 \pm 0,26$ dias), que a onda ovulatória das fêmeas do Grupo II ($5,83 \pm 0,40$ dias) (**TAB. 3**).

O dia do diâmetro máximo aconteceu antes no Grupo I ($3,21 \pm 0,26$ dias), em relação ao Grupo II ($4,50 \pm 0,34$ dias) (**TAB. 3**).

As variáveis, duração do crescimento, taxa de crescimento, fase estática, início da onda antes da RE, número de folículos pequenos médios e grandes, e número de folículos que ovularam e o tamanho máximo do CL não diferiram significativamente ($P > 0,05$) entre os grupos (**TAB. 3**).

O diâmetro do folículo dos animais do Grupo I na retirada da esponja foram estatisticamente menor ($P < 0,05$), em relação ao Grupo controle que

apresentou uma taxa de crescimento após a retirada da esponja menor ($P < 0,05$) que a do Grupo III (**TAB. 3** e **FIG. 8**).

O início da onda antes da retirada da esponja não diferiu ($p > 0,05$) entre os grupos controle e experimentais (I a III) (**TAB. 3** e **FIG 9**).

No Grupo II o diâmetro máximo do folículo ovulatório foi significativamente maior ($P < 0,05$), que dos demais grupos (**TAB. 3** e **FIG. 10**).

4.2 Sincronização e ovulação

4.2.1 Eficácia dos protocolos de sincronização/indução do estro e ovulação

Após a indução e sincronização do estro 100% dos animais do protocolo controle (12/12) e do Grupo II (6/6) manifestaram estro e ovularam. No Grupo I apenas 25% (3/12) das ovelhas manifestaram estro e 58% (7/12) ovularam. No Grupo III 100% (12/12) manifestaram estro e 91% (11/12) ovularam, no grupo IV não foi observado o estro e a ovulação (**TAB. 5**).

A caracterização do início do estro, momento da ovulação o intervalo do estro a ovulação e do GnRH a ovulação dos Grupos controle e experimentais (I a III) estão citados na **TAB. 3**.

Como a aplicação de estrógeno (BE) nas doses de 0,1 a 0,3 mg não sincronizou a onda de crescimento folicular, houve uma assincronia no início das manifestações do estro e no momento da ovulação nos Grupos de curta duração (**TABS. 3 e 5; FIG. 14**).

No grupo controle as manifestações do início do estro ($40,42 \pm 0,98$ h) aconteceu antes, e diferiu do Grupo I que teve o estro depois ($52,33 \pm 2,33$ h) (**TAB. 3 e FIG. 12**).

O momento de ocorrência da ovulação do Grupo I diferiu dos demais grupos (**TABS. 3 e 5; FIG. 12.**).

O intervalo do estro até a ovulação no Grupo III foi menor ($17,55 \pm 0,97$ h), que a do Grupo I ($26,33 \pm 2,03$ h) (**TAB. 3 e FIG. 13**).

O momento da aplicação do GnRH à ovulação no Grupo III foi menor ($14,55 \pm 5,05$ h) do que o do Grupo I ($36,00 \pm 3,31$ h) (**TAB. 3 e FIG. 13**).

Os níveis plasmáticos de progesterona do Grupo controle e dos Grupos experimentais encontram-se resumidos na **TAB. 4**. Os níveis de progesterona aumentaram progressivamente do 5º ao 10º dia após a ovulação. Nestes dias as concentrações de progesterona do Grupo I ($3,02 \pm 0,47$ ng/mL) foram inferiores ao encontrado no Grupo controle ($5,90 \pm 0,72$ ng/mL) (**TAB. 4 e FIG. 14**).

Em 75% (9/12) das ovelhas do Grupo controle, 66% (8/12) do Grupo I, 16% (1/6) do Grupo II e 33% (4/12) do Grupo III apresentaram concentrações de progesterona inferiores a 1ng/mL 10 dias antes e no dia do início do tratamento. Dez dias após o tratamento 100% dos animais do Grupo controle (12/12) e do Grupo II (6/6), e 58% (7/12) do Grupo I, e 91% (11/12) do Grupo III apresentaram concentrações de P_4 superior a 1ng/mL (**TAB. 4 e FIG. 14**).

Todos os animais em que a ovulação foi constatada ultrasonograficamente apresentaram concentrações de progesterona acima de 1ng/mL (**TAB. 4**).

Em 6 ovelhas durante a formação do CL foram observados Corpos Lúteos cavitários de 2 a 5 mm de diâmetro.

Com relação à ovulação dos folículos, houve uma maior percentagem de ovulações no ovário direito (54,55%) do que do lado esquerdo (45,45%).

TABELA 3 - Valores médios (média $\pm$ EPM), das características da onda ovulatória, observadas durante a sincronização de estro das ovelhas Suffolk dos **Grupos controle e Experimentais (I a III)**.

VARIÁVEL	GRUPO			
	CONTROLE	I	II	III
	(n =12/12)	(n =6/12)	(n =6/6)	(n =11/12)
Duração da onda (dia)	5,29 $\pm$ 0,17 ^{ab}	4,86 $\pm$ 0,26 ^{ab}	5,83 $\pm$ 0,40 ^a	4,59 $\pm$ 0,26 ^b
Dia do diâm. max. (dia)	4,07 $\pm$ 0,13 ^{ab}	3,21 $\pm$ 0,26 ^b	4,50 $\pm$ 0,34 ^a	3,55 $\pm$ 0,27 ^{ab}
Duração cresc. (dia)	3,75 $\pm$ 0,12 ^a	3,07 $\pm$ 0,23 ^a	3,75 $\pm$ 0,17 ^a	3,27 $\pm$ 0,27 ^a
Fase estática (dia)	1,46 $\pm$ 0,17 ^a	1,64 $\pm$ 0,18 ^a	1,83 $\pm$ 0,17 ^a	1,23 $\pm$ 0,16 ^a
Início da onda antes da RE (dia)	-2,08 $\pm$ 0,48 ^a	-0,71 $\pm$ 0,52 ^a	-1,33 $\pm$ 0,49 ^a	-0,27 $\pm$ 0,30 ^a
Diâm. do fol. na RE (mm)	4,46 $\pm$ 0,18 ^a	3,11 $\pm$ 0,35 ^b	4,15 $\pm$ 0,31 ^{ab}	3,53 $\pm$ 0,27 ^{ab}
Taxa cresc. após a RE (mm/dia)	0,56 $\pm$ 0,07 ^b	0,78 $\pm$ 0,10 ^{ab}	0,78 $\pm$ 0,13 ^{ab}	0,95 $\pm$ 0,10 ^a
Taxa cresc. (mm/dia)	0,75 $\pm$ 0,05 ^a	0,91 $\pm$ 0,07 ^a	0,94 $\pm$ 0,08 ^a	0,91 $\pm$ 0,06 ^a
Diâmetro max. (mm)	5,36 $\pm$ 0,14 ^b	5,24 $\pm$ 0,13 ^b	6,39 $\pm$ 0,43 ^a	5,50 $\pm$ 0,23 ^b
Tamanho max. CL (mm)	1,03 $\pm$ 0,04 ^a	0,90 $\pm$ 0,03 ^a	1,04 $\pm$ 0,03 ^a	0,92 $\pm$ 0,04 ^a
Folículo pequeno (n ^o)	11,17 $\pm$ 0,82 ^a	11,86 $\pm$ 1,75 ^a	7,83 $\pm$ 0,60 ^a	7,73 $\pm$ 1,10 ^a
Folículo médio (n ^o)	5,92 $\pm$ 0,71 ^a	3,71 $\pm$ 0,47 ^a	5,17 $\pm$ 1,49 ^a	3,45 $\pm$ 0,34 ^a
Folículo grande (n ^o)	2,75 $\pm$ 0,46 ^a	2,00 $\pm$ 0,31 ^a	2,17 $\pm$ 0,60 ^a	2,00 $\pm$ 0,30 ^a
Folículos que ovularam (n ^o)	1,50 $\pm$ 0,19 ^a	1,14 $\pm$ 0,14 ^a	1,17 $\pm$ 0,17 ^a	1,27 $\pm$ 0,14 ^a
Início do Estro (horas)	40,42 $\pm$ 0,98 ^b	52,33 $\pm$ 2,33 ^a	48,33 $\pm$ 4,57 ^{ab}	49,00 $\pm$ 2,29 ^{ab}
Ovulação (horas)	61,50 $\pm$ 1,43 ^b	84,00 $\pm$ 3,31 ^a	71,33 $\pm$ 4,04 ^b	65,45 $\pm$ 2,52 ^b
Estro-ovulação (horas)	21,08 $\pm$ 1,42 ^{ab}	26,33 $\pm$ 2,03 ^a	23,00 $\pm$ 2,14 ^{ab}	17,55 $\pm$ 0,97 ^b
GnRH-ovulação (horas)	—	36,00 $\pm$ 3,31 ^a	23,33 $\pm$ 4,04 ^{ab}	14,55 $\pm$ 5,05 ^b

Diam.= diâmetro; fol.= folicular; cresc.= crescimento; diâm.= diâmetro max.= máximo; mm= milímet; CL= corpo lúteo.

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

EPM = Erro Padrão da Média.

Grupo controle MAP por 12 dias e na retirada da esponja eCG

Grupo I 0,1 mg de BE e MAP por 4 dias, na retirada da esponja aplicação de PGF_{2α} e 48 h após a RE GnRH

Grupo II 0,1 mg de BE, 35 mg de progesterona injetável e MAP por 4 dias, na retirada da esponja aplicação de eCG e PGF_{2α} e 48 h após a RE GnRH.

Grupo III 0,2 mg de BE, 35 mg de progesterona injetável e MAP por 4 dias, na retirada da esponja aplicação de eCG e PGF_{2α} e 56 h após a RE GnRH.

TABELA 4 - Valores médios (média $\pm$ EPM), das concentrações de progesterona (ng/mL) das ovelhas Suffolk que apresentaram concentrações de progesterona acima de 1ng/mL no 5^o e 10^o dia após a ovulação com estro sincronizado, dos **Grupos controle e Experimentais (I, II e III)**.

GRUPO	PROGESTERONA (ng/mL)	
	QUINTO DIA	DÉCIMO DIA
CONTROLE	3,92 $\pm$ 0,39 ^a (n = 12)	5,90 $\pm$ 0,72 ^a (n = 12)
I	1,97 $\pm$ 0,74 ^b (n=6)	3,02 $\pm$ 0,47 ^b (n =7)
II	2,19 $\pm$ 0,24 ^{ab} (n = 6)	4,41 $\pm$ 0,57 ^{ab} (n =6)
III	3,60 $\pm$ 0,53 ^{ab} (n = 11)	4,73 $\pm$ 0,65 ^{ab} (n = 11)

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

EPM = Erro Padrão da Média

Grupo controle MAP por 12 dias e na retirada da esponja eCG

Grupo I 0,1 mg de BE e MAP por 4 dias, na retirada da esponja aplicação de PGF_{2 α} e 48 h após a RE GnRH
Grupo II 0,1 mg de BE, 35 mg de progesterona injetável e MAP por 4 dias, na retirada da esponja aplicação de eCG e PGF_{2 α} e 48 h após a RE GnRH.

Grupo III 0,2 mg de BE, 35 mg de progesterona injetável e MAP por 4 dias, na retirada da esponja aplicação de eCG e PGF_{2 α} e 56 h após a RE GnRH.

TABELA 5 - Frequência de ovelhas Suffolk em estro e ovuladas após a retirada da esponja em programas de sincronização do estro e ovulação dos Grupos controle e experimentais (I, II e III).

Variável	Tempo (horas)	Número de ovelhas em estro e ovuladas								P
		Grupo								
		Controle		I		II		III		
		N	%	N	%	N	%	N	%	
Estro	< 40	6	50,0	0	0,0	2	33,3	2	16,7	0,1597
	40 a 50	6	50,0	1	33,3	2	33,3	6	50,0	
	51 a 60	0	0,0	2	66,7	1	16,7	3	25,0	
	61 a 70	0	0,0	0	0,0	1	16,7	1	8,3	
	Total	12	100,0	3	100,0	6	100,0	12	100,0	
Ovulação	< 60	3	25,0	0	0,0	0	0,0	2	18,2	0,0014
	60 a 72	9	75,0	0	0,0	3	50,0	7	63,6	
	73 a 85	0	0,0	4	66,7	2	33,3	2	18,2	
	86 a 98	0	0,0	2	33,3	1	16,7	0	0,0	
	Total	12	100,0	6	100,0	6	100,0	11	100,0	

P = nível descritivo do teste exato de Fisher

Grupo controle MAP por 12 dias e na retirada da esponja eCG

Grupo I 0,1 mg de BE e MAP por 4 dias, na retirada da esponja aplicação de PGF_{2α} e 48 h após a RE GnRH

Grupo II 0,1 mg de BE, 35 mg de progesterona injetável e MAP por 4 dias, na retirada da esponja aplicação de eCG e PGF_{2α} e 48 h após a RE GnRH.

Grupo III 0,2 mg de BE, 35 mg de progesterona injetável e MAP por 4 dias, na retirada da esponja aplicação de eCG e PGF_{2α} e 56 h após a RE GnRH.

4.3 Diferenças entre o maior folículo do grupo controle da primeira onda e o folículo ovulatório dos grupos controle e experimentais

Como era esperado que acontecesse a duração da onda ovulatória dos Grupos controle, I, III foram menor que a da primeira onda, pela ausência da fase de atresia (**TAB. 6**).

Não houve diferenças nas variáveis dia do diâmetro máximo, taxa de crescimento, número de folículos pequenos, médios, grandes e maiores de 4,5 mm entre primeira onda do Grupo controle e as ondas ovulatória dos Grupos Controle e experimentais de I a III (**TAB. 6**).

A fase estática foi mais curta nos animais do Grupo III (**TAB. 6**).

O diâmetro máximo do folículo ovulatório foi maior nas ovelhas do Grupo II (**TAB. 6**).

TABELA 6 - Valores médios (média $\pm$ EPM), das características da onda ovulatória, observadas durante a sincronização de estro das ovelhas Suffolk dos **Grupos controle e Experimentais (I a III)**, comparadas com as da primeira onda do **Grupo controle**.

VARIÁVEL	GRUPO				
	CONTROLE		I	II	III
	1ª Onda	Onda Ovul.			
Duração da onda (dia)	6,79 $\pm$ 0,33	5,29 $\pm$ 0,17*	4,86 $\pm$ 0,26*	5,83 $\pm$ 0,40	4,59 $\pm$ 0,26*
Dia do diâm. max. (dia)	3,65 $\pm$ 0,18	4,07 $\pm$ 0,13	3,21 $\pm$ 0,26	4,50 $\pm$ 0,34	3,55 $\pm$ 0,27
Duração do cresc. (dia)	2,67 $\pm$ 0,22	3,75 $\pm$ 0,12*	3,07 $\pm$ 0,23	3,75 $\pm$ 0,17*	3,27 $\pm$ 0,27
Fase estática (dia)	1,92 $\pm$ 0,15	1,46 $\pm$ 0,17	1,64 $\pm$ 0,18	1,83 $\pm$ 0,17	1,23 $\pm$ 0,16*
Taxa de cresc. (mm/dia)	0,85 $\pm$ 0,06	0,75 $\pm$ 0,05	0,91 $\pm$ 0,07	0,94 $\pm$ 0,08	0,91 $\pm$ 0,06
Diâmetro max. (mm)	4,94 $\pm$ 0,13	5,36 $\pm$ 0,14	5,24 $\pm$ 0,13	6,39 $\pm$ 0,43*	5,50 $\pm$ 0,23
Folículo pequeno (nº)	10,25 $\pm$ 0,8	11,17 $\pm$ 0,82	11,86 $\pm$ 1,75	7,83 $\pm$ 0,60	7,73 $\pm$ 1,10
Folículo médio (nº)	4,58 $\pm$ 0,48	5,92 $\pm$ 0,71	3,71 $\pm$ 0,47	5,17 $\pm$ 1,49	3,45 $\pm$ 0,34
Folículo grande (nº)	2,75 $\pm$ 0,39	2,75 $\pm$ 0,46	2,00 $\pm$ 0,31	2,17 $\pm$ 0,60	2,00 $\pm$ 0,30
Folículo >4,5mm	1,75 $\pm$ 0,25	1,50 $\pm$ 0,19	1,14 $\pm$ 0,14	1,17 $\pm$ 0,17	1,27 $\pm$ 0,14

Diam.= diâmetro; fol.= folicular; cresc.= crescimento; diâm.= diâmetro max.= máximo; mm= milímet

* Média difere da primeira onda do Grupo controle, pelo teste de Dunnett ($P < 0,05$).

EPM = Erro Padrão da Média.

Grupo controle MAP por 12 dias e na retirada da esponja eCG

Grupo I 0,1 mg de BE e MAP por 4 dias, na retirada da esponja aplicação de PGF_{2 α} e 48 h após a RE GnRH

Grupo II 0,1 mg de BE, 35 mg de progesterona injetável e MAP por 4 dias, na retirada da esponja aplicação de eCG e PGF_{2 α} e 48 h após a RE GnRH.

Grupo III 0,2 mg de BE, 35 mg de progesterona injetável e MAP por 4 dias, na retirada da esponja aplicação de eCG e PGF_{2 α} e 56 h após a RE GnRH.

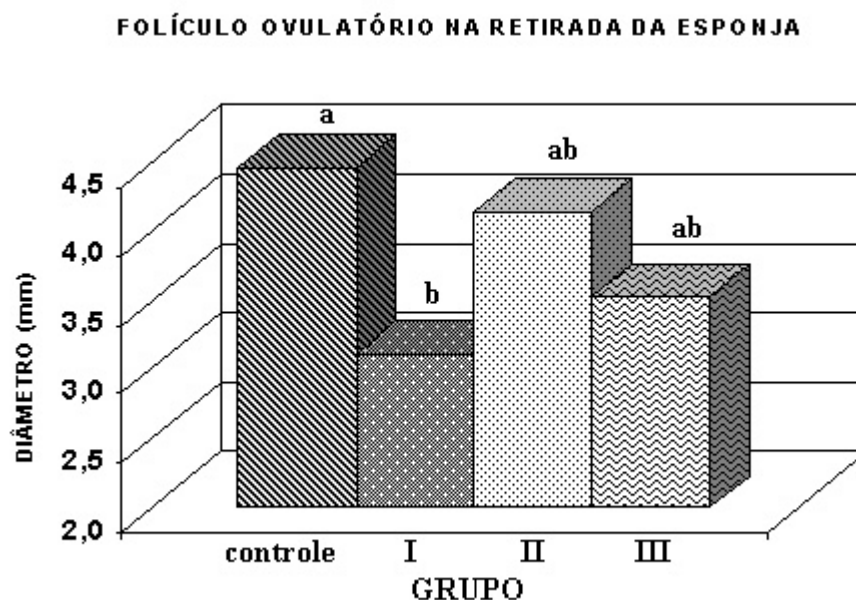


FIGURA 8 - Diâmetro do folículo ovulatório na retirada da esponja, durante o tratamento de sincronização de estro das ovelhas Suffolk com protocolo de longa duração (Grupo controle) ou curta duração (Grupos I a III).

Grupo controle MAP por 12 dias e na retirada da esponja eCG

Grupo I 0,1 mg de BE e MAP por 4 dias, na retirada da esponja aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$ e 48 h após a RE GnRH

Grupo II 0,1 mg de BE, 35 mg de progesterona injetável e MAP por 4 dias, na retirada da esponja aplicação de eCG e $\text{PGF}_{2\alpha}$ e 48 h após a RE GnRH.

Grupo III 0,2 mg de BE, 35 mg de progesterona injetável e MAP por 4 dias, na retirada da esponja aplicação de eCG e $\text{PGF}_{2\alpha}$ e 56 h após a RE GnRH.

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

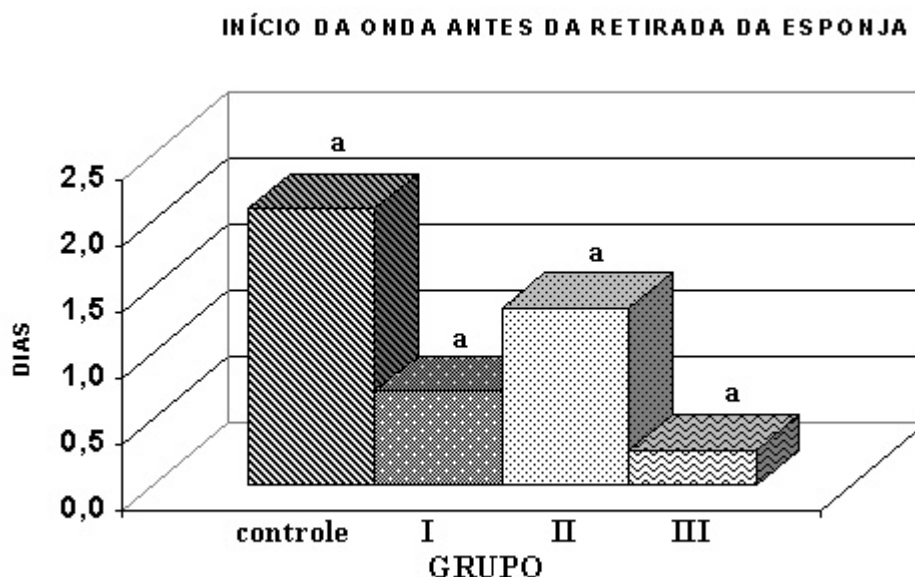


FIGURA 9 - Início da onda antes da retirada da esponja, durante o tratamento de sincronização do estro das ovelhas Suffolk com protocolo de longa duração (Grupo controle) ou curta duração (Grupos I a III)

Grupo controle MAP por 12 dias e na retirada da esponja eCG

Grupo I 0,1 mg de BE e MAP por 4 dias, na retirada da esponja aplicação de PGF_{2α} e 48 h após a RE GnRH

Grupo II 0,1 mg de BE, 35 mg de progesterona injetável e MAP por 4 dias, na retirada da esponja aplicação de eCG e PGF_{2α} e 48 h após a RE GnRH.

Grupo III 0,2 mg de BE, 35 mg de progesterona injetável e MAP por 4 dias, na retirada da esponja aplicação de eCG e PGF_{2α} e 56 h após a RE GnRH.

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

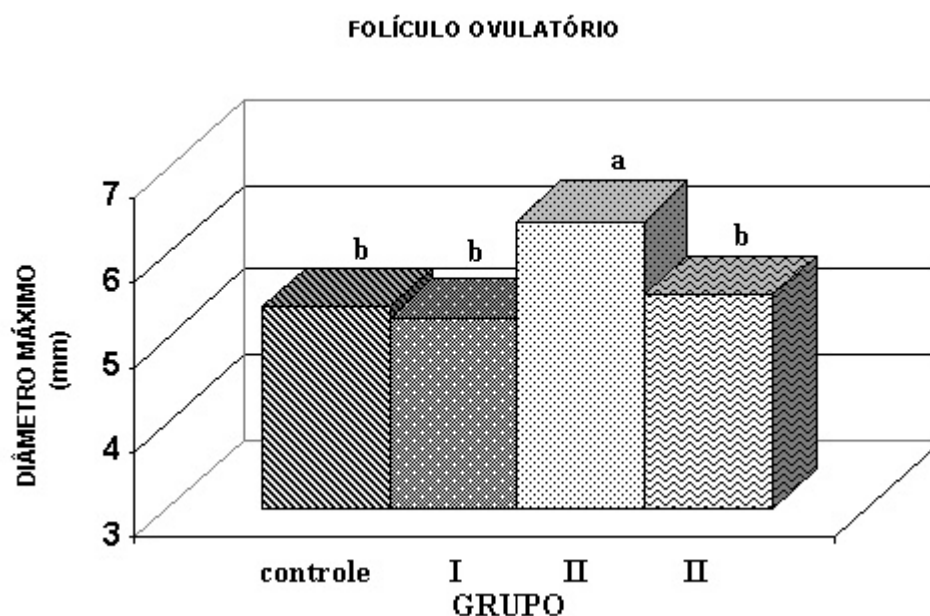


FIGURA 10 – Diâmetro máximo do folículo ovulatório, durante o tratamento de sincronização de estro das ovelhas Suffolk com protocolo de longa duração (Grupo controle) ou curta duração (Grupos I a III)

Grupo controle MAP por 12 dias e na retirada da esponja eCG

Grupo I 0,1 mg de BE e MAP por 4 dias, na retirada da esponja aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$ e 48 h após a RE GnRH

Grupo II 0,1 mg de BE, 35 mg de progesterona injetável e MAP por 4 dias, na retirada da esponja aplicação de eCG e $\text{PGF}_{2\alpha}$ e 48 h após a RE GnRH.

Grupo III 0,2 mg de BE, 35 mg de progesterona injetável e MAP por 4 dias, na retirada da esponja aplicação de eCG e $\text{PGF}_{2\alpha}$ e 56 h após a RE GnRH.

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

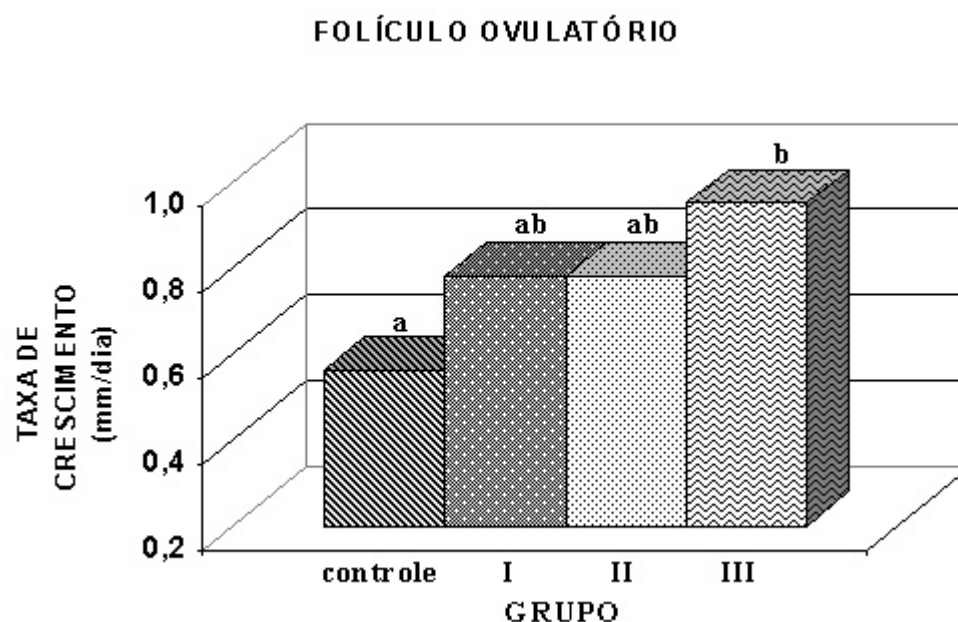


FIGURA 11 - Taxa de crescimento do folículo ovulatório após a retirada da esponja, durante o tratamento de sincronização de estro das ovelhas Suffolk com protocolo de longa duração (Grupo controle) ou curta duração (Grupos I a III)

Grupo controle MAP por 12 dias e na retirada da esponja eCG

Grupo I 0,1 mg de BE e MAP por 4 dias, na retirada da esponja aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$ e 48 h após a RE GnRH

Grupo II 0,1 mg de BE, 35 mg de progesterona injetável e MAP por 4 dias, na retirada da esponja aplicação de eCG e $\text{PGF}_{2\alpha}$ e 48 h após a RE GnRH.

Grupo III 0,2 mg de BE, 35 mg de progesterona injetável e MAP por 4 dias, na retirada da esponja aplicação de eCG e $\text{PGF}_{2\alpha}$ e 56 h após a RE GnRH.

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

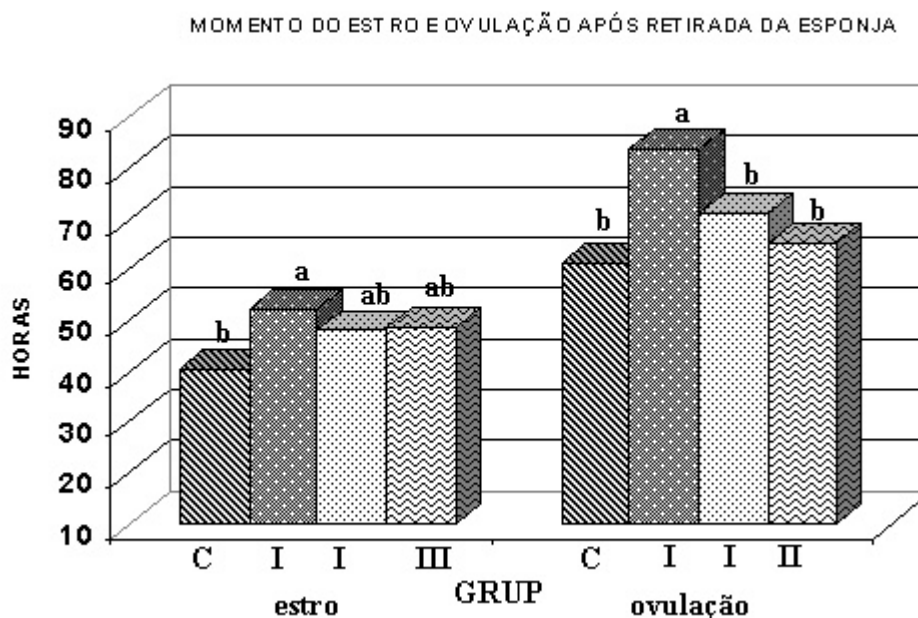


FIGURA 12 - Momento do início do estro e ovulação após a retirada da esponja durante o tratamento de sincronização de estro das ovelhas Suffolk com protocolo de longa duração (Grupo controle) ou curta duração (Grupos I a III)

Grupo controle MAP por 12 dias e na retirada da esponja eCG

Grupo I 0,1 mg de BE e MAP por 4 dias, na retirada da esponja aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$ e 48 h após a RE GnRH

Grupo II 0,1 mg de BE, 35 mg de progesterona injetável e MAP por 4 dias, na retirada da esponja aplicação de eCG e $\text{PGF}_{2\alpha}$ e 48 h após a RE GnRH.

Grupo III 0,2 mg de BE, 35 mg de progesterona injetável e MAP por 4 dias, na retirada da esponja aplicação de eCG e $\text{PGF}_{2\alpha}$ e 56 h após a RE GnRH.

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

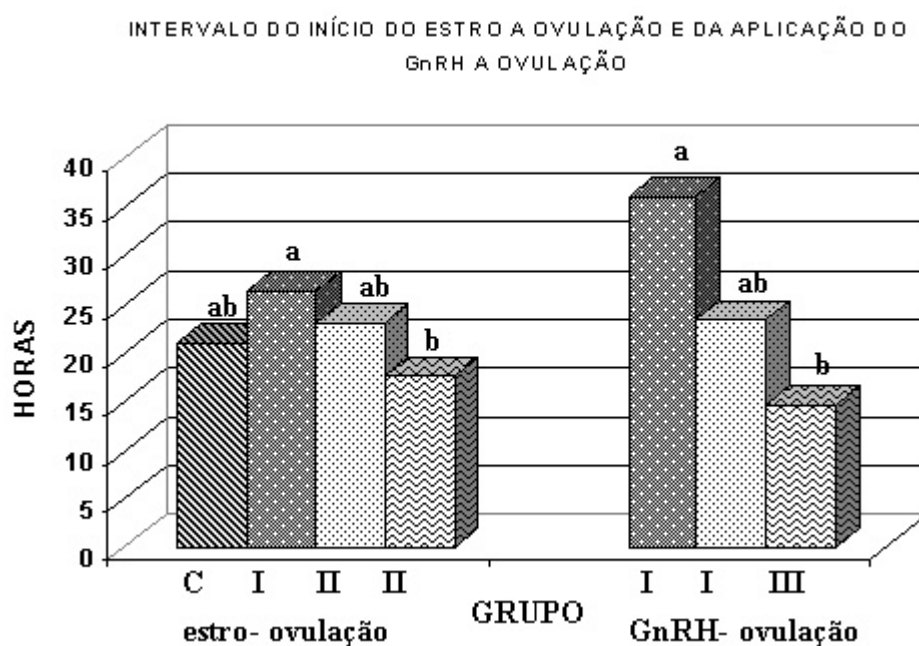


FIGURA 13 - Intervalo entre o início do estro e a ovulação e da aplicação do GnRH a ovulação após o tratamento de sincronização de estro das ovelhas Suffolk com protocolo de longa duração (Grupo controle) ou curta duração (Grupos I a III)

Grupo controle MAP por 12 dias e na retirada da esponja eCG

Grupo I 0,1 mg de BE e MAP por 4 dias, na retirada da esponja aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$ e 48 h após a RE GnRH

Grupo II 0,1 mg de BE, 35 mg de progesterona injetável e MAP por 4 dias, na retirada da esponja aplicação de eCG e $\text{PGF}_{2\alpha}$ e 48 h após a RE GnRH.

Grupo III 0,2 mg de BE, 35 mg de progesterona injetável e MAP por 4 dias, na retirada da esponja aplicação de eCG e $\text{PGF}_{2\alpha}$ e 56 h após a RE GnRH.

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

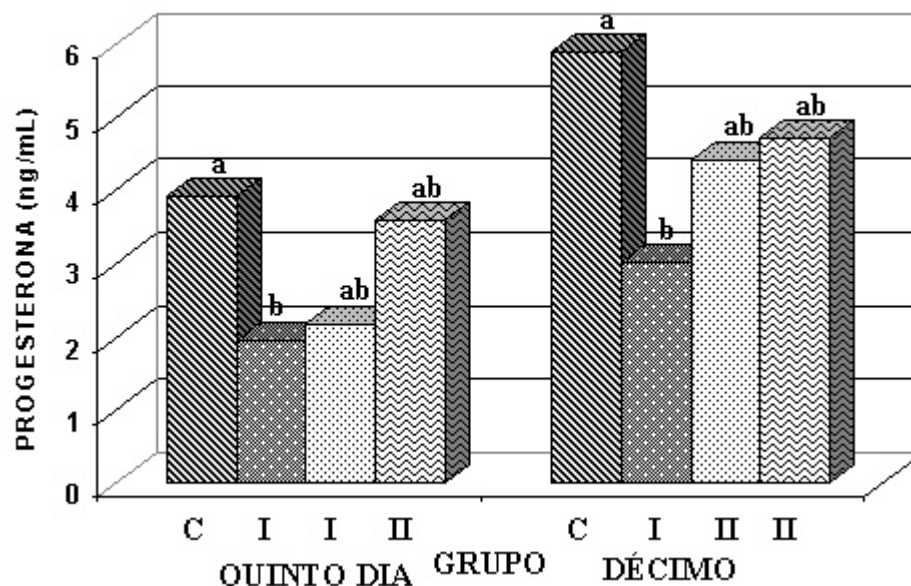


FIGURA 14 - Concentração de Progesterona no quinto e décimo dia após a ovulação das ovelhas Suffolk com estro sincronizado com protocolo de longa duração (Grupos controle) ou curta duração Grupos (I a III).

Grupo controle MAP por 12 dias e na retirada da esponja eCG

Grupo I 0,1 mg de BE e MAP por 4 dias, na retirada da esponja aplicação de PGF_{2α} e 48 h após a RE GnRH

Grupo II 0,1 mg de BE, 35 mg de progesterona injetável e MAP por 4 dias, na retirada da esponja aplicação de eCG e PGF_{2α} e 48 h após a RE GnRH.

Grupo III 0,2 mg de BE, 35 mg de progesterona injetável e MAP por 4 dias, na retirada da esponja aplicação de eCG e PGF_{2α} e 56 h após a RE GnRH.

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

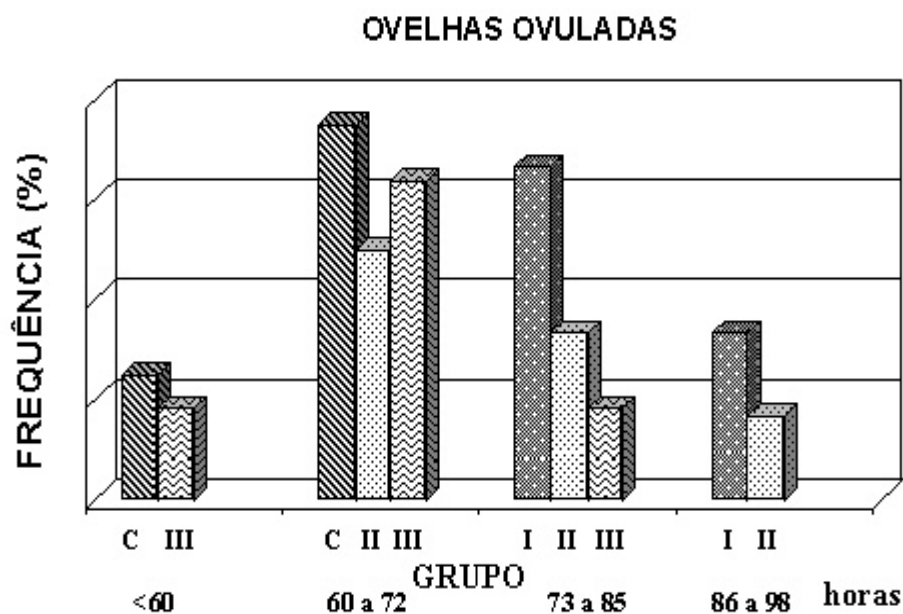


FIGURA 15 - Frequência de ovelhas ovuladas após a retirada da esponja durante o tratamento de sincronização de estro das ovelhas Suffolk com protocolo de longa duração (Grupo controle) ou curta duração (Grupos I a III)

Grupo controle MAP por 12 dias e na retirada da esponja eCG

Grupo I 0,1 mg de BE e MAP por 4 dias, na retirada da esponja aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$ e 48 h após a RE GnRH

Grupo II 0,1 mg de BE, 35 mg de progesterona injetável e MAP por 4 dias, na retirada da esponja aplicação de eCG e $\text{PGF}_{2\alpha}$ e 48 h após a RE GnRH.

Grupo III 0,2 mg de BE, 35 mg de progesterona injetável e MAP por 4 dias, na retirada da esponja aplicação de eCG e $\text{PGF}_{2\alpha}$ e 56 h após a RE GnRH.

$P < 0,00014$

P= nível descritivo do teste exato de Fischer.

5. DISCUSSÃO

5.1 Dinâmica folicular durante o tratamento de sincronização/indução do estro

Os exames de ultra-sonografia durante este estudo da dinâmica folicular foram realizados a cada 24 horas, para uma melhor caracterização do crescimento folicular em ovelhas, são necessárias observações em intervalo inferior a 24 h, devido à curta duração da onda folicular, e pelo aparecimento constante de folículos.

A existência de um padrão crescimento folicular em ovelhas foram descritos por NOEL et al., (1993); GINTHER et al., (1995); SOUZA et al., (1997); LEYVA et al., (1998); VINOLES et al., (1999); EVANS et al., (2000). O acompanhamento ultra-sonográfico realizado nesse estudo durante a indução/sincronização do estro em ovelhas Suffolk na pré-estação reprodutiva mostraram a existência de ondas de crescimento folicular, semelhante a encontrada por Bartlewski et al., (1999) em ovelhas Western White Face durante o início da estação reprodutiva.

O padrão de crescimento folicular durante a primeira onda do protocolo de sincronização/indução do estro nas ovelhas do experimento não apresentou diferença estatística entre os grupos. A emergência de uma nova onda de crescimento folicular após a aplicação de estrógeno (BE) não foi sincronizada (**TAB. 1 e 3**). As doses de estrógeno (BE) 0,1 a 0,3 mg utilizada nesse experimento não foi capaz de interferir no desenvolvimento folicular dos grupos experimentais, não houve a supressão do crescimento dos folículos grandes, e a sincronização da emergência de uma nova onda de crescimento folicular,

conforme foi observado por Meikle et al., (2001) após a aplicação de E_2 em ovelhas em anestro. Por hipótese a administração de estrógeno no início do tratamento deveria, suprimir o crescimento dos folículos grandes, e a atresia dos pequenos folículos sincronizando a emergência da onda de crescimento folicular. BO et al., (2000), compararam em vacas diferentes doses de E_2 e verificaram que 0,1 mg de E_2 foi incapaz de suprimir o crescimento do folículo dominante, não diferindo do grupo controle que recebeu óleo de gergelim. No grupo de 0,1 mg o aumento da concentração de E_2 foi de apenas 10 h não sendo suficiente para induzir supressão do crescimento folicular.

A duração da primeira onda durante o protocolo de sincronização variou de $5,50 \pm 0,50$ a $6,79 \pm 0,33$ próxima a encontrada por Bister et al., (1999) de 6 dias, Meikle et al., (2001) de $5,7 \pm 0,3$ dias e Bartlewski et al., (2000) de $6,1 \pm 0,2$ dias em ovelhas em anestro (**TAB. 1**).

Como a dinâmica folicular foi monitorada a cada 24 horas não foi possível detectar em todos os animais a duração da fase estática, sendo que para detectar a duração desta fase com precisão, seria necessária uma observação com menor intervalo de tempo.

Os animais dos Grupos controle e experimentais que apresentaram fase estática durante a onda 1 variou de $1,20 \pm 0,11$ dias a $1,92 \pm 0,15$ dias e na onda ovulatória de $1,23 \pm 0,16$ dias a $1,83 \pm 0,17$ dias, semelhante ao encontrado por Ravindra et al., (1994), Rubianes (1996^b) e Uribe et al., (1999) (**TAB. 1 e 3**).

A duração da atresia foi de $1,75 \pm 0,25$ d a $2,42 \pm 0,18$ dias estes resultados estão de acordo com aqueles citados por Ravindra et al., (1994) de

$2,4 \pm 0,2$ d; Bartlewski et al., (2000) de $1,9 \pm 0,2$ dias e Gibbons et al., (1999) de $1,9 \pm 0,5$ dias (**TAB. 1**).

A taxa de crescimento não diferiu estatisticamente entre os tratamentos de longa e curta duração variando de $0,85 \pm 0,06$ a $1,05 \pm 0,15$ mm/dia no folículo grande da primeira onda e de $0,75 \pm 0,05$ a $0,94 \pm 0,08$ mm/dia no folículo ovulatório, similar a encontrada por Ginther et al., (1994); Bister et al., (1999); Leiva et al., (1998); Uribe et al., (1999) e Bartlewski et al., (2000), e menor por Driancourt & Cahill, (1984); Gonzáles de Bulnes et al., (2001), e maior por Ravindra et al., (1994) (**TAB. 1 e 3**).

A taxa de atresia variou de $0,97 \pm 0,04$ a $1,21 \pm 0,07$ mm/dia, estes dados assemelham-se aos de Ravindra et al., (1994) de $1,1 \pm 0,06$ mm/dia e Evans et al., (1999) de $1,1 \pm 0,2$ mm/dia (**TAB. 1**).

O diâmetro máximo atingido pelo folículo maior da primeira onda variou de $4,94 \pm 0,13$ mm a $5,75 \pm 0,48$ mm semelhante ao encontrado nos folículos de diferentes ondas foliculares por Ravindra et al., (1994) de $5,5 \pm 0,3$ mm; Leiva et al., (1998) de $4,6 \pm 0,2$ mm; Evans et al., (1999) de $5,7 \pm 0,2$ mm (**TAB. 1**).

O diâmetro máximo do folículo ovulatório do Grupo controle foi de $5,36 \pm 0,14$ mm semelhante ao encontrado por Leyva et al., (1998) em ovelhas Suffolk $5,9 \pm 0,1$ mm após o tratamento com P_4 e eCG (**TAB. 3 e FIG. 10**).

Os folículos ovulatórios tiveram diâmetro máximo de $5,24 \pm 0,13$ mm a $6,39 \pm 0,43$ mm sendo próxima aos descrito por Ginther et al., (1994) de $5,9 \pm 0,2$ mm; Ravindra et al., (1994) de $6,9 \pm 0,1$ mm; Leiva et al., (1998) de $5,4 \pm$

0,2 mm Evans et al., (1999) de $6,2 \pm 0,2$ mm; Bister et al., (1999) de $5,9 \pm 0,8$ mm González-Bulnes et al., (2001) de $6,5 \pm 0,1$ mm (**TAB. 3** e **FIG. 10**).

O diâmetro máximo do folículo ovulatório do Grupo II ($6,39 \pm 0,43$ mm) diferiu dos demais grupos, o folículo da ovelha 2213 no momento da aplicação de GnRH se apresentava pequeno, crescendo até o diâmetro de 8,5 mm ocorrendo a ovulação 88 h após a retirada da esponja o que interferiu na média do grupo (**TAB. 3** e **FIG. 10**).

A pesar do diâmetro máximo dos animais do Grupo II ser estatisticamente maior que dos outros grupos o valor observado está de acordo com os resultados obtidos nos trabalhos de González - Bulnes et al., 2001 em ovelhas Mouflon (6,5 mm), Lopez - Sebastian et al., (1997) em ovelhas Merino monovular (6,4 mm), Bartlewski et al., (1999) em ovelhas Western White Face de (6,7 mm).

O intervalo inter-onda variou de $3,50 \pm 0,50$ a $4,75 \pm 0,30$ dias estes dados assemelharam-se ao de Leiva et al., 1998 de $3,6 \pm 0,8$ dias; Ginther et al., (1995) de 4,5 dias; Gibbons et al., (1999) de $4,6 \pm 0,4$ dias; Bartlewski et al., (2000) de $3,9 \pm 0,4$ dias e Meikle et al., (2001) de $4,8 \pm 0,5$ dias, e parece ser menor do que as encontradas por Noel et al., (1993) de 6 dias e Bartlewski et al., (1999) que variou de ($5,2 \pm 0,7$ a $9,2 \pm 0,4$ dias) (**TAB. 1**).

Durante este experimento foi observado que as ovelhas Suffolk têm um crescimento de folículos antrais maiores que 2 mm constantemente. O número de folículos pequenos, médios e grandes no início da estação reprodutiva durante o tratamento não apresentou diferença entre os Grupos controle e os

experimentais e nas primeiras ondas e a ovulatória (**TAB. 1 e 3**) semelhantes as encontradas por Bister et al., (1999) quando compararam o número de folículos pequenos (2 a 3,5 mm), médios (4 a 5 mm) e grandes acima de 5 mm, durante o início da estação reprodutiva, no final da estação reprodutiva e no meio da estação reprodutiva durante o ciclo estral, onde observaram que o número de folículos pequenos médios e grandes não diferiu entre os três períodos e durante a primeira, segunda e a onda ovulatória. Sendo que no início da estação o número de folículos pequenos foram de $5,0 \pm 0,8$ a $8,0 \pm 1,8$, de médios foram de $4,0 \pm 1,3$ a $6,2 \pm 1,7$ e grandes de $2,8 \pm 1,3$ a $3,2 \pm 1,5$ com uma taxa de ovulação de $1,2 \pm 0,4$, próximo ao encontrado nesse estudo (**TAB. 1 e 3**).

O diâmetro folículo no Grupo controle quando o eCG foi aplicado era de $4,46 \pm 0,18$ mm, similar a observada por Leiva et al., (1998) que foi de $4,1 \pm 0,5$ mm na aplicação do eCG (**TAB. 3**).

Na retirada da esponja e na aplicação do eCG o diâmetro do folículo foi maior no Grupo controle do que o do Grupo I (**TAB. 3 e FIG. 8**), e a taxa de crescimento dos folículos após a RE foi menor nos animais do Grupo controle do que a do Grupo III (**TAB. 3 e FIG. 11**), uma das possíveis explicações para estas diferenças seria o fato de que o folículo dos animais do grupo controle emergiu 2 dias antes, e o folículo já apresentava um diâmetro maior em relação ao Grupo I (**TAB. 3 e FIG. 8**),.

Embora, o início da onda antes da retirada da esponja não tenha apresentado diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$) entre os Grupos, os folículos dos animais do Grupo controle tiveram a emergência da

onda antes ($-2,08 \pm 0,48$) (**TAB. 2** e **FIG. 9**). No momento em que foi aplicado o eCG e RE os folículos estavam mais aptos a responder às gonadotrofinas. Segundo Viñoles et al., (2001) o folículo dominante dos animais tratados com protocolos de longa duração já tem um crescimento no final do tratamento com MAP. Esses folículos têm um processo de maturação completo, produzindo grandes quantidades de estradiol, manifestando estro após a retirada da esponja e ovulando nas 48 horas seguinte. Isso poderia explicar a maior secreção de progesterona pelo CL no Grupo controle em relação ao Grupo I, por ter formado um CL com uma maior capacidade esteroideogênica. Segundo Stubbings et al., (1986) a formação de um corpo lúteo inadequado ocorre em consequência de um rápido desenvolvimento folicular e da ovulação antes que as células da granulosa tenham adquirido a maturidade necessária para uma ótima luteinização em resposta ao LH, já que os animais do Grupo I na retirada da esponja apresentavam o diâmetro do folículo menor e não receberam a aplicação de eCG, com a retirada da esponja houve um aumento de secreção de gonadotrofinas provocado pela diminuição da progesterona, os folículos cresceram até o diâmetro ovulatório mas podem não ter produzido quantidades de estrógenos suficientes para que houvesse a manifestação de estro (3/12) o pico de LH e consequentemente a ovulação (7/12) (**TAB. 3** e **FIG. 8**), concordando com os relatos de Hunter et al., (1991) de que esses folículos nessas condições não atingiriam seu completo desenvolvimento em receptores gonadotróficos, ou a habilidade máxima de sintetizar estradiol e a duração da estimulação do folículo, antes do pico de LH seria crítica, podendo influenciar na formação um corpo lúteo anormal. Niswender et al., (2000) sugeriram que a

concentração de progesterona dependente da quantidade de tecido esteroideogênico, fluxo de sangue, e da capacidade do tecido esteroideogênico em sintetizar progesterona.

O número de folículos ovulatórios por onda foi de $1,14 \pm 0,14$ a $1,50 \pm 0,19$ concordando com as afirmações Bister et al., (1999) de que as ovelhas Suffolk são consideradas animais de baixa prolificidade apresentando taxa de ovulação de $1,2 \pm 0,4$ mm, resultados similares ao encontrado por Ginther et al., (1994) de $1,5 \pm 0,2$ e por Bartlewski et al., (2000) de $1,3 \pm 0,2$ (**TAB. 3**).

A dominância exercida pelos grandes folículos não foi tão evidente durante esse estudo, como nas definições de dominância em vacas descritas por Ginther et al., (1989). Neste estudo, entre os dois folículos maiores da onda não houve diferenças durante as ondas anovulatória, mas na onda folicular ovulatória o folículo pré-ovulatório parece suprimir o número de folículos e o crescimento de outros folículos horas antes da ovulação, o mesmo foi observado por Ravindra et al., (1994). Segundo Driancourt et al., (1990) e Lopez- Sebastian et al., (1997) a taxa de ovulação em ovelhas monovular seria limitada pelos altos níveis de atresia folicular mais do que pelos baixos níveis de recrutamento folicular dentro de um pool de folículos em crescimento

O folículo pré-ovulatório desse experimento foi o folículo maior que crescia, e que estava presente em ambos os ovários quando a luteólise foi induzida conforme descrito por Souza et al., (1997); González de Bulnes et al., (2001). Quando o folículo grande estava regredindo, o folículo pré-ovulatório originou-se de um pool de pequenos folículos antrais semelhante ao relatado

por McNatty et al., (1982). Segundo Tsonis et al., (1984) todos folículos maiores que 2 mm presentes no momento da luteólise podem ovular.

5.2 Sincronização/indução do estro e ovulação

As ovelhas do Grupo I não responderam a indução/sincronização da ovulação 41% (7/12) apresentaram concentrações de progesterona abaixo de 1ng/mL no 5° e 10° dia após a ovulação (**TAB. 4** e **FIG.14**).

A utilização da esponja por apenas 4 dias e a ausência do eCG no Grupo I foi incapaz de induzir o estro e a ovulação na totalidade das ovelhas, pois somente 25% (3/12) manifestaram estro e apenas 58% (7/12) ovularam. O início do estro no Grupo I foi estatisticamente diferente do Grupo controle e a ovulação do Grupo I diferiu dos demais grupos sendo mais tardio (**TABS. 3** e **5**; **FIG. 15**). Segundo Rubianes et al., (1998) o eCG deve estar associado ao progestágenos, para estimular a ovulação não só na estação reprodutiva, como fora dela e quando o eCG está ausente não há manifestação de estro.

Segundo Goodman, (1994) o aumento da circulação de progesterona antes da primeira ovulação no início da estação não altera o padrão de crescimento do folículo ovulatório em ovelhas, sendo de grande importância principalmente para induzir as manifestações do estro, junto com o primeiro pico pré-ovulatório de LH. Além de prevenir a regressão prematura do corpo lúteo durante a fase luteal seguinte (BEARD & HUNTER, 1996). Progesterona sistêmica é essencial para função luteal normal em ovelhas, tratamento com progesterona previne a luteólise reduzindo a resposta uterina para ocitocina no início da fase luteal (BEARD & HUNTER, 1996). O efeito da progesterona local

ou sistêmica pode ter um papel no estabelecimento do ciclo estral em ovelhas durante o período de transição para atividade cíclica (BARTLEWSKI et al., 1999).

Todos animais do Grupo controle tratado com P_4 e eCG ovularam e apresentaram função luteal normal (**TAB. 4** e **FIG. 14**), resultados similares foram encontrados por Leyva et al., (1998); Hunter et al., (1986); McLeod et al., (1982); McLeod et al., (1985) e Southee et al., (1988) em ovelhas em anestro induzidas ao estro.

No Grupo controle o início das manifestações do estro foi em $40,42 \pm 0,98h$ (**TAB. 3** e **FIG. 12**), próximo ao encontrado por Ungerfeld & Rubianes, (2002) que observaram início do estro após MAP e eCG de $46,5 \pm 2,4h$, e Simonetti et al., (1999) utilizando o mesmo protocolo que obtiveram estro em $46,99 \pm 12,22h$. Intervalo menor foram observados por Husein et al., (1997) em ovelhas em anestro induzidas ao estro com o início em $31 \pm 2h$ e ovulação em $53 \pm 1h$.

Nos protocolos de curta duração o início das manifestações de estro foram em $48,33 \pm 4,57$ a $52,33 \pm 2,33h$ (**TABS. 3 e 5; FIG. 12**), próxima a relatada por Ungerfeld & Rubianes, (2002) com uma média de $44,9 \pm 2,1h$. Nos grupos utilizando protocolo de curta duração o início do estro foi mais disperso sendo de 40 a 70 horas enquanto que no de longa duração foi de 36 a 50 h podendo ser explicado pelo fato que o início da onda antes da retirada da esponja no Grupo controle ocorreram em média 2 dias antes e no máximo no dia da retirada da esponja, já nos Grupos experimentais aconteceram em

média no dia da retirada da esponja chegando a ocorrer até 1 ou 2 dias após a retirada da esponja, levando a uma menor sincronia do início do estro e do momento da ovulação (**TAB. 3** e **FIG. 15**). Resultados similares foram observados por Viñoles et al., (2001) quando compararam protocolos de curta com o de longa duração onde verificaram que no protocolo de longa duração houve uma maior sincronia no início do estro enquanto que o de curta duração teve uma maior dispersão (36 a 144h).

O início da onda antes da RE no grupo de longa duração foi de $-2,08 \pm 0,48$ dias, e para o de curta duração com eCG $-0,27 \pm 0,30$ dias, e no de curta duração sem eCG de $-0,71 \pm 0,52$ dias (**TAB. 3** e **FIG. 9**), semelhante ao encontrado por Viñoles et al., (2001) $-2,2 \pm 0,8$, $0,5 \pm 0,5$ e $0,4 \pm 1,1$ dias respectivamente, e diferente das relatos de por Leiva et al., (1998) utilizando protocolo de longa duração ($-3,4 \pm 0,4$ dias).

Segundo Viñoles et al., (2001) o folículo dominante dos animais tratados com protocolos de longa duração tem um desenvolvimento mais prolongado, e provocam mudanças similares aquelas causadas pelos níveis de concentração de progesterona subluteais: aumentam a duração do folículo dominante (Viñoles et al., 1999). Em vacas foi observado que quando o folículo dominante foi prolongado por mais de 9 dias, ocorreu uma redução da saúde do folículo (MIHM et al., 1999). Embora, o folículo ovulatório tenha a capacidade de manter um oócito competente para ser fertilizado, a habilidade para atingir um estágio de 16 células, foi comprometida e ocorrendo morte embrionária precoce (AHMAD et al., 1995).

Em ovelhas durante o tratamento de longa duração o *turnover* folicular é mais lento durante o período final do tratamento, provavelmente em consequência de uma diminuição dos níveis de progesterona endógena e/ou da menor taxa de absorção de progesterona (HAMRA et al., 1986; McDONNELL, 1985) tendo uma baixa taxa de prenhez causada pela ovulação de folículo persistente. Tratamento de curta duração resulta em uma alta taxa de prenhez, devido à ovulação de folículos recrutados novos (Vinóles et al., 2001).

Em estudos realizados por Evans et al., (2001) não concordam com estes relatos onde após induzir a formação de folículos persistente observou que não houve influência na qualidade dos embriões colhidos e na taxa de prenhez quando comparado com folículos recrutados recentes.

A aplicação de GnRH nos tratamentos de curta duração não sincronizou a ovulação, pois como o estro e a ovulação aconteceram em um momento variável, a aplicação não foi realizada no momento adequado e nem todos os folículos estavam prontos para responder ao pico de LH, que se estabeleceu com a administração de GnRH. O grau de crescimento dos grandes folículos presentes quando GnRH é administrado é um fator importante a ser considerado, o ambiente endócrino antes da indução da elevação do LH é mais importante do que o tamanho do folículo em determinar a resposta ovulatória. Assim a habilidade do folículo em responder a estímulos ovulatórios exógenos depende provavelmente de gonadotrofinas durante o estágio de crescimento e de um ambiente hormonal em que está exposto (RUBIANES et al., 1997).

Segundo Souza et al., (1994) o pico de LH em ovelhas ocorre dentro de 4 a 8 horas do início do estro, o pico de LH após o tratamento com P₄ e eCG acontece em $45 \pm 0,9$ h e a ovulação $66,0 \pm 0,7$ h após a retirada da esponja (Leiva et al., 1998), Campbell et al., (1997) observaram o pico de LH após a aplicação de prostaglandina em $59,6 \pm 2,9$ h, o pico de LH depende do estágio de crescimento do folículo no momento em que é retirada a esponja ou a luteólise é induzida.

O corpo lúteo foi visível pela ultra-sonografia transretal no 3º dia pós-ovulação o mesmo também foi observado por Dickie et al., (1999), Leiva et al., (1998) e Uribe et al., (1999).

No décimo dia após a ovulação o diâmetro máximo do CL foi de $9,0 \pm 0,03$ a $10,4 \pm 0,03$ mm e a concentração de progesterona variou de $3,02 \pm 0,47$ a $5,90 \pm 0,72$ ng/mL, próximo ao encontrado por Leyva et al., (1998) em ovelhas Suffolk 8 dias após a ovulação com diâmetro máximo de $12,0 \pm 0,8$ mm e com níveis de progesterona de $6,4 \pm 3,8$ ng/mL, e por Ravindra et al., (1994) no 11º dia após a ovulação, com corpo lúteo de diâmetro de $11,7 \pm 0,4$ mm. O diâmetro máximo do CL observada por Bartlewski et al., (1999) no meio da fase luteal foi de 10 a 12 mm, com concentração máxima de progesterona de 2,88 ng/mL (**TABS. 2 e 4; FIG. 14**).

Segundo Ravindra et al., (1994) as concentrações de progesterona atingem o pico no 10º dia após a ovulação.

Durante o desenvolvimento do CL em 6 ovelhas foram observados corpos lúteos cavitários de 2 a 5 mm de diâmetro, sendo que estes achados concordam com os estudos de Bartlewski et al., (1999).

Schrick et al., (1993) relatam a ocorrência de CL cavitários em mais de 65% das estruturas após a indução do estro em ovelhas, não influenciando no perfil de secreção de progesterona, e no número de embriões colhidos.

As ovulações ocorreram mais do lado direito (54,55%) do que do lado esquerdo (45,45%), observações semelhantes foram relatada por Dickie et al., (1998) em ovelhas. Em vacas o ovário direito é mais ativo que o esquerdo, com 60% das ovulações ocorrendo deste lado (ARTHUR & NOAKES, 1996).

7. CONCLUSÕES

- 1 – Nos exames ultra-sonográficos realizados durante o protocolo de sincronização/indução do estro, foi observado que o crescimento folicular das ovelhas Suffolk durante a pré-estação reprodutiva ocorreu como padrão de ondas.
- 2 - As doses de benzoato de estradiol utilizadas foram insuficiente para sincronizar a emergência da onda folicular e de suprimir o crescimento do folículo dominante.
- 3 – O protocolo de curta duração por 4 dias com medroxiprogesterona sem eCG foi incapaz de induzir o estro e a ovulação na maioria das ovelhas Suffolk na pré-estação reprodutiva.
- 4 – O Protocolo tradicional de longa duração apresentou uma melhor sincronia do estro e ovulação, com uma boa funcionalidade do Corpo Lúteo.
- 5 – A aplicação de GnRH não foi eficaz para melhorar a sincronização da ovulação, podendo ter sido provocado principalmente pela falta de sincronia do estro e do tamanho dos folículos no momento da administração.

7. REFERÊNCIAS

ACRITOPOULOU, S.; HARESING, W.; FOSTER, J.P.; LAMMING, G.E. Plasma progesterone and LH concentrations in ewes after injection of and analogue of prostaglandin F_{2α}. **J. Reprod. Fert.** v.49, p. 337-340, 1977.

ADAMS, G.P. Comparative patterns of follicle development and selection in ruminants. **J. Reprod. Fertil.** v. 54, p. 17-32, 1999.

ADAMS, G.P., KO.; J.C.H.; SMITH, C.A.; GINTHER, O.J. Effect of the dominante follicle on regression of its subordinates. **Can. J. Anim. Sci.** v. 73, p. 267-275, 1993.

ADAMS, G.P.; MATTERI, R.L.; KASTELIC, J.P.; KO, J.C.H.; GINTHER, OJ. Association between surges of follicle stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. **J. Reprod. fertil.** v. 94, p. 177-188, 1992.

AHMAD, N.; SCHRICK, F.N.; BUTLER, R.L.; INSKEEP, E.R., Effects of persistent follicles on early embryonic losses in beef cows. ~~**Biol. Reprod.** v. 52,~~
p. 1129-1135, 1995.

AINSWORTH, L.; WOLYNETZ, M.S. Synchronization of estrus and reproductive performance of ewe treated with synthetic progestogens administred by subcutaneous ear implant or by intravaginal sponges pessary. **J. Anim. Sci.** v.54, n.6, p. 1120-1127, 1982.

ALBERIO, R.; SÁNCHEZ, H.E.; VÍVOLI, C. Validación de resultados de inducción y sincronizacion de celos en ovinos por medio de progestágenos. Ensaíos a campo. **Ver. Arg. Prod Anim.** v.14, n. 1-2, p. 115-116, 1994.

* ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 6023: informação e documentação – Referências – Elaboração. Rio de Janeiro, 2002. 22p.
BIOSIS. Serial sources for the BIOSIS preview database. Philadelphia, 1996. 468p.

ALIFAKIOTIS, T.; MICHAELIDS, I.; GAVRILIDIS, G. Induced breeding in anoestrus milking ewes of dairy breeds: comparison of norgestomed, medroxyprogesterone and fluorogestone in two regimes of PMSG. **Theriogenology**. v. 17, p. 603-610, 1982.

ALVAREZ, A.; RODRIGUEZ, O.; HERNANDEZ, J. Sincronización del estro en la borrega Pelibuey con la utilización de Prostaglandina F2 α . (Oestrus synchronization in Pelibuey sheep with prostaglandins) **Tec. Pec. Méx.** v. 32, p. 21-29, 1994.

ARTHUR, G.K.; NOAKES, D. E. Endogenous and exogenous control of ovarian cyclicity. In: ARTHUR, G.H.; NOAKES, D. E.; PEARSON, H.; PARKINSON, T.J. (Eds.) **Veterinary Reproduction and Obstetrics**. Londres, WB Saunders, 7th edition, p.3-48, 1996.

AULETTA, F.J.; FLINT; A.P.F. Mechanisms controlling corpus luteum function in sheep, cows, nonhuman primates, and women especially in relation to the time of luteolysis. **Endocrine Ver.** V. 9, p. 88-105, 1988.

AUSTIN, E.J.; MIHM, M.; RYAN, M.P.; WILLIAMS, D.H.; ROCHE, J.F. Effects of duration of dominance of the ovulatory follicle on onset of estrous and fertility in heifers. **J. Anim. Sci.** v. 77, p. 2219-2226, 1999.

BAIRD, D.T. Gonadotrophic control of follicular development and function during the oestrus cycle of the ewe. **J. Reprod. Fertil. Suppl.** v. 30, p. 119-133, 1981.

BAIRD, D.T. Factors regulating the growth of the preovulatory follicle in the sheep and human. **J. Reprod. Fertil.** v. 69, p. 343-352, 1983.

* ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 6023: informação e documentação – Referências – Elaboração. Rio de Janeiro, 2002. 22p.
BIOSIS. Serial sources for the BIOSIS preview database. Philadelphia, 1996. 468p.

BAIRD, D.T., CAMPBELL, B.K. Follicle selection in sheep with differences in ovulation rate. **Mol. Cel. Endocrinol.** v. 145, p. 89-95, 1998.

BAIRD, D.T., McNEILLY, A.S. Gonadotrophic control of follicular development and function during the oestrous cycle of the ewe. **J. Reprod. Fertil. Suppl.** V. 30, 24, p. 1013-1025, 1981.

BAIRD, D.T.; SCARAMUZZI, R.J. Changes in the secretion of ovarian steroids and pituitary luteinizing hormone in the peri-ovulatory period in the ewe: The effect of progesterone. **J. Endocrinol**, v. 70, p. 237-245, 1976.

BARNES, M.A.; KAZMER, G.W.; BIERLEY, S.T. Gonadotropic and ovarian responses in dairy cows treated with norgestomet and estradiol valerate. **Theriogenology**, v. 16, p. 13-25, 1981.

BARTLEWSKI, P.M.; BEARD, A.P.; COOK, SJ, RAWLINGS, N.C. Ovarian follicular dynamics during anoestrus in ewes. **J. Reprod. Fertil.**, v. 113, p. 275-285, 1998.

BARTLEWSKI, P.M.; BEARD, A.P.; RAWLINGS, NC. Ultrasonographic study of luteal function in breeds of sheep with different ovulation rates. **Theriogenology**, v. 2 (1), p. 115-130, 1999a.

BARTLEWSKI, P.M.; BEARD, A.P.; COOK, S.J.; CHANDOLIN, R.K.; HONARAMOOZ, A.; RAWLINGS, NC. Ovarian antra; follicular dynamics and their relationships with endocrine variables throughout the oestrus cycle in breeds of sheep differing in prolificacy. **J. Reprod. Fertil.**, v. 115, p. 111-124, 1999b.

BARTLEWSKI, P.M.; BEARD, A. P.; RAWLINGS, NC. Ultrasonographic study of the effects of the corpus luteum on antral follicular development in unilaterally

ovulating western white-faced ewes. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 65, p. 231-244, 2001.

BEAL, W.E. Current estrus synchronization and artificial insemination programs for cattle. **J. Anim. Sci.**, 76, Supplement, v. 3, p. 30-38, 1998.

BEARD, A.P.; LAMMING, G.E., Oestradiol concentration and the development of the uterine oxytocin receptor and oxytocin induced PGF2 α release in ewes. **J. Reprod. Fertil.**, v.100, p. 469-75, 1994.

BEARD, A.P.; HUNTER, M.G.; LAMMING, G.E. Quantitative control of oxytocin-induced PGF2 α release by progesterone and oestradiol in ewes. **J. Reprod Fertil**, v. 100, p. 143-50, 1994.

BEARD, A.P.; HUNTER, M.G.; Effects of exogenous oxytocin and progesterone on GnRH-induced short luteal phases in anoestrus ewes. **J. Reprod. Fertil**, v. 106, p. 55-61, 1996.

BECK, N.F.G.; DAVIES, B.; WILLIAMS, S.P. Oestrus synchronization in ewes: the effect of combining a prostaglandin analogue with a 5-day progestagen treatment. **Anim. Prod.**, v. 56, p. 207-210, 1993.

BERGFELT, D.R.; PLATA-MADRID, H.; GINTHER, O.J. Counteraction of the inhibitory effect of follicular fluid by administration of FSH in heifers. **Can. J. Anim.Sci.**, v. 74, p. 633-639, 1994.

BISTER, J.L.; PAQUAY, R. Fluctuations in the plasma level of the follicle-stimulating hormone during oestrus cycle, anestrus, gestation and lactation in the ewe. Evidence for an endogenous rhythm of FSH release. **Theriogenology**, v. 19, p. 565-582, 1983.

BISTER, J.L.; NOEL, B.; PERRAD, B.; MANDIKI, S.N.M.; MBAYAHAGA, J.; PAQUAY, R. Control of ovarian follicles activity in the ewe. **Domest. Anim. Endocrinol.** v. 17, p. 315-328, 1999.

BO, G.A.; PIERSON, R.A.; MAPLETOFT, R.J. The effect of estradiol valerate on follicular dynamics and superovulatory response in cows with Syncro-Mate-B implants. **Theriogenology**, v. 36, p. 169-183, 1991.

BO, G.A.; NASSER, L.F.; ADAMS, G.P.; PIERSON, R.A.; MAPLETOFT, R.J. Effect of estradiol valerate on ovarian follicles, emergence of follicular waves and circulating gonadotropins in heifers. **Theriogenology**, v. 40, p.225-239, 1993.

BO, G.A.; ADAMS, G.P.; PIERSON, R.A.; CACCIA, M.; TRIBULO, H.; MAPLETOFT, R.J. Follicular waves dynamics after estradiol-17 β treatment of heifers with or without a progestagen implant. **Theriogenology**, v. 41, p. 1555-1569, 1994.

BO, G.A.; ADAMS, G.P.; CACCIA, M.; PIERSON, R.A.; TRIBULO, H.; MAPLETOFT, R.J. Ovarian follicular wave emergence after treatment with progestagen and estradiol in cattle. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 39, p. 193-204, 1995.

BO, G.A.; BERGFELT, D.R.; BROGLIATTI, G.T.; PIERSON, R.A.; ADAMS, G.P.; MAPLETOFT, R.J. Local versus systemic effects of exogenous estradiol-17 β on ovarian follicular dynamics in heifers with progestogen implants. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 59, p. 141-157, 2000.

BOLAND, M.P.; LEMAINQUE, F.; GORDON, I. Comparison of lambing outcome in ewe after synchronization of oestrus by progestagen or prostaglandin treatment. **J. Agric. Camb.** V. 91, p. 765-766, 1978.

BOLAND, MP.; CROSBY, TF.; GORDON, I. Induction of pregnancy in lactating anoestus ewes. **J.Agric. Sci.** (Camb), v. 97, p. 465-467, 1981a.

BOLAND, MP.; CROSBY, TF.; GORDON, I. Effect of mating management and PMSG dose on lambing outcome in ewes bred in late anoestrus. **J. Agric. Sci.** (Camb), v. 97, p. 445-447, 1981b.

BOLT, D.J.; SCOTT, V.; KIRACOFE, G.H. Plasma de LH and FSH after estradiol, norgestomet and GnRH treatment in ovariectomized beef heifers. **Anim. Reprod. Sci.** v. 23, p. 263-271, 1990.

BRAND, A.; de JONG, W.H. Qualitative and quantitative micromorphological investigations of the tertiary follicle population during the oestrous cycle in sheep. **J. Reprod. Fertil.** v. 33, p. 431-439, 1973.

BUTLER, W.R.; KATZ, L.S.; ARRIOLA, J.; MILVAE, R.A.; FOOTE, R.H. On the negative feed-back regulation of gonadotropins in castrate and intact cattle with comparison of two FSH radioimmunoassays. **J. Anim. Sci.**, v. 56, p. 919-929, 1983.

CAHILL, L.P.; MARIANA, J.C.; MAULEON, P. Total follicular population in ewes of high and low ovulation rates. **J. Reprod. Fertil.** v. 55, p. 27-36, 1979.

CAHILL, L.P.; MAULEON, P. Influences of season, cycle and breed on follicle growth rates in sheep. **J. Reprod. Fertil.**, v. 58, p. 321-328, 1980.

CAMPBELL, L.B.K.; MANN, G.E.; McNEILLY, A.S.; BAIRD, D.T. The pattern of ovarian inhibin, estradiol and androstenedione secretion during the estrous cycle of the ewe. **Endocrinology**, v. 127, p. 227-235, 1990.

CAMPBELL, B.K.; DOBSON, H.; BAIRD, D.T.; SCARAMUZZI, R.J. Studies on role of LH in the maturation of the pre-ovulatory follicle in sheep using a GnRH-antagonist. **Anim. Reprod. Sci.**, v.48, 219-234, 1997.

CAMPBELL, B.K.; SCARAMUZZI, R.J.; WEBB, R. Control of antral follicle development and selection in sheep and cattle. In: SCARAMUZZI, R.J., NANCARROW, C.N., DOBERSKA, C. (Eds.), *Reproduction in Domestic Ruminants*, III, **J. Reprod. Fertil. Suppl.** V. 49, p. 335- 350, 1995.

CARATY, A.; LOCATELLI, A.; MARIN, G.B. Biphasic response in the secretion of gonadotrophin-releasing hormone in ovariectomized ewes injected with oestradiol. **J. Endocrinol.** v. 123, 375-382, 1989.

CÁRDENAS, H.; McCLURE, K.E.; POPE, W.F. Luteal function and blastocyst development in ewes following treatment with $\text{PGF}_{2\alpha}$ and GnRH. **Theriogenology**, v. 40, p. 856-872, 1993.

CASTILLO, R.H.; ROMAN, H.; ROJAS, J.; LOZANO, F.; MARTINEZ, P. Inducción del parto en borregas Tabasco (Lambing induction in Tabasco sheep). In: **Reunión Anual del INIP**, 15, 1981 México. p. 103-105.

CASTRO, T.; RUBIANES, E.; MENCHACA, A.; RIVERO, A. Ultrasonic study of follicular dynamics during the estrous cycle in goats. **Theriogenology**, v.49, p. 399 (abstract), 1998.

CASTONGUAY, F.; DUFOUR, J.J.; MINVIELLE, F.; ESTRADA, R. Follicular dynamics and dominance in Boroola x Finnish Landrace and Boroola x Suffolk ewes heterozygous for the F gene. **J. Reprod. Fertil.**, v. 89, p. 193-203, 1990.

CARSON, R.S.; FINDLAY, J. K.; CLARKE, I.J.; BURGER, H.G. Estradiol, testosterone, and androstenedione on ovine follicular fluid during growth and atresia of ovarian follicles. **Biol. Reprod.**, v. 24, p. 105-113, 1981.

CAVALLIERI, J.; KINDER, J.E.; DEATH, G.; FITZPATRICK, L.A. Effect of 48 h treatment with 17 β oestradiol or progesterone on follicular wave emergence and synchrony of ovulation in *Bos indicus* cows when administered at the end of a period of progesterone treatment. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 46, p. 187-201, 1997.

CHABBERT-BUFFET, N.; SKINNER, D.C.; CARATY, A.; BOUCHARD, P. Neuroendocrine effects of progesterone. **Steroids**, v. 65, p. 613-620, 2000.

CHAGAS, L.M.; SOUZA, C.J.H.; MOURA, A.; MORAES, J.C.F. Viabilidade do emprego de uma minidose de prostaglandina na sincronização de cios em ovinos. **Ciência Rural**, v. 24, p.355-338, 1994.

CHALHOUB, M.; PRESTES, N.C.; LOPES, M.D. Relação entre o comprimento craniocaudal e diâmetro da vesícula embrionária/fetal com idade de gestação por meio de avaliação ultra-sonográfica em ovino da raça Bergamácia. **Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.** V.53, n.1, p. 71-77, 2001.

CHRISTAKOS, S.; BAHL, O.P. Pregnant mare serum gonadotropin: purification and physicochemical, biological, and immunological characterization. **J. Biol. Chem.** V. 254, p. 4253-4261, 1979.

CLARK, I.J.; CUMMINS, J.T. Direct pituitary effects of estrogen and progesterone on gonadotropin secretion in the ovariectomized ewe. **Neuroendocrinol.**, v. 39, p. 267-274, 1984.

CLARK, I.J.; CUMMINS, J.T. GnRH pulse frequency determines LH pulse amplitude by altering the amount of releasable LH in the pituitary glands of ewes. **J. Reprod. Fertil.**, v. 73, p. 425-431, 1985.

CLARK, I.J.; THOMAS, G.B.; YAO, B.; CUMMINS, J.T. GnRH secretion throughout the ovine estrous cycle. **Neuroendocrinol**, v.46, p. 82-88, 1987.

CLARK, I.J.; CUMMINS, J.T. Pituitary receptors for gonadotropin-releasing hormone in relation to changes in pituitary and plasma gonadotrophins in ovariectomized hypothalamo/pituitary-disconnected ewes. II. A marked rise in receptor number during the acute feedback effects of estradiol. **Biol. Reprod.**, v. 39, p. 349-354, 1988.

CLARK, I.J.; CUMMINS, J.T.; CROWDER, M.E.; NETT, T.M. Long-term negative feedback effects of oestrogen and progesterone on the pituitary gland of the long-term ovariectomized ewe. **J. Endocrinol.**, v. 120, p. 207-214, 1989.

COLAS, G. Fertility in the ewe after artificial insemination with fresh and frozen semen at the induced oestrus, and influence of the photoperiod on the quality of the semen. **Livest. Prod. Sci.**, v. 6, p. 153-166; 1979.

COLE, H.H. Studies on reproduction with emphasis on gonadotrophins, antigonadotrophins and progonadotrophins. **Biol. Reprod.**, 12, 194-211, 1975.

COMBARNOUS, Y.; SALESSE, R.; GARNIER, J. Physico-chemical properties of pregnant mare serum gonadotropin. **Biochim Biop. Acta.** v. 667, p. 267-276, 1981.

COOPERATIVE REGIONAL RESEARCH PROJECT NE-161. Relationship of fertility to patterns of ovarian follicular development and associated hormonal profiles in dairy cows and heifers. **J. Anim. Sci.**, v. 74, p. 1943-1952, 1996.

COUBROUGH, C.A.; CASTELL, M.C. Fetal Sex determination by ultrasonically locating the genital tubercle in ewes. **Theriogenology**, v. 50, p. 263-267, 1998.

CRIGHTON, D.B.; FOSTER, J.P.; HARESIGN, W.; HAYNES, N.B.; SCOTT, S.A. Plasma LH and progesterone level after single or multiple injections of

synthetic LHRH in anestrus ewes and comparison with levels during the estrous cycle. **J. Reprod. Fertil.**, v. 44, p. 121-124, 1975.

CROSBY, T.F.; BOLAND, M.P.; GORDON, I. Effect of progestagen treatments on the incidence of oestrus and pregnancy rates in ewes. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 24, p. 109-118, 1991.

DACHEUX, L.J.; PISSELET, C.; BLANC, M.R.; HOCHEREAU-de- REVIER, M.T.; COUROT, M. Seasonal variations in rete testis fluid secretion and sperm production in different breeds of ram. **J. Reprod. Fertil.**, v. 61, p. 363-371, 1981.

DICKIE, A.M.; PATRSON, C.; ANDERSON, J.L.M.; BOYD, J.S. Determination of corpora lutea numbers in booroola – texel ewes using transrectal ultrasound. **Theriogenology**, v. 51, p. 1209-1224, 1999.

DRIANCOURT, M.A. Follicular dynamics in sheep and cattle. **Theriogenology**, v. 35, p. 55-78, 1991b.

DRIANCOURT, M.A. Lack of between-follicle interactions in the sheep ovary. **Reprod. Nutr. Dev.**, V. 34, p. 249-260, 1994

DRIANCOURT, M.A., CAHILL, L.P., Preovulatory follicular events in sheep. **J. Reprod. Fertil.**, v. 71, p. 205-211, 1984.

DRIANCOURT, M.A.; GAULD, I.K.; TERQUI, M.; WEBB, R. Variations in patterns of follicle development in prolific breeds of sheep. **J. Reprod. Fertil.**, v. 78, p. 565-575, 1986.

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

DRIANCOURT, M.A.; CASTONGUAY, F.; BINDON, B.M., PIPER, L.R., QUIRKE, J.F.; HANRAHAN, J.P. Ovarian follicular dynamics in lines of sheep (Finn, Merinos) selected on ovulation rate. **J. Anim. Sci.** v. 68, p. 2034-2041, 1990.

DRIANCOURT, M.A.; PHILIPON, P.; LOCATELLI, A.; JACQUES, E.; WEBB, R. Are differences in FSH concentrations involved in the control of ovulation rate in Romanov and Ile-de-France. **J. Reprod. Fertil.** v. 83, p. 509-516, 1988.

DRIANCOURT, M.A.; WEBB, R.; FRY, R.C. Does follicular dominance occur in ewes? **J. Reprod. Fertil.**, v. 93, p. 63-70, 1991.

DUFOUR, J.; CAHILL, L.P.; MAULEON, P. Short-and long-term effects of hypophysectomy and unilateral ovariectomy on ovarian follicular populations in sheep. **J. Reprod. Fertil.**, v. 57, p. 301-309, 1979.

ENGELHART, H.; WALTON, J.S.; MILLER, R.B.; KING, G.B. Estradiol induced blockade of ovulation in the cow: effect of luteinizing hormone release and follicular fluid steroids. **Biol. Reprod.**, v. 40, p. 1287-1297, 1989.

ECHTERNKAMP, S.E.; BOLT, D.J.; HAWK, H.W. Ovarian and pituitary hormones in blood of progesterone-treated ewe. **J. Anim. Sci.**, v. 42, p. 893-900, 1976.

EPPLESTON, J.; EVANS, G.; ROBERTS, E.M. Effect of time of PMSG and GnRH on the time of ovulation, LH secretion and reproductive performance after intrauterine insemination with frozen ram semen. **Anim Reprod. Sci.**, v. 26, p. 227-237, 1991.

EVANS, ACO.; FORTUNE, J.E. Selection of the dominant follicle in cattle occurs in the absence of differences in the expression of messenger ribonucleic acid for gonadotropin receptors. **Endocrinology**, v. 138, p. 2963-2971, 1997.

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

EVANS, ACO.; FLYNN, J.D.; DUFFY, P.; BOLAND, M.P. Follicle ablation and FSH concentration during the oestrous cycle in sheep. **J. Reprod. Fertil. Abstr.**, v. 23, p. 17, 1999.

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

EVANS, ACO.; KOMAR, C.M.; WANDJI, S.A.; FORTUNE, J.E. Changes in androgen secretion and luteinizing hormone pulse amplitude are associated with the recruitment and growth of ovarian follicle during the luteal phase of the bovine estrous cycle. **Biol. Reprod.**, v. 57, p. 394-401, 1997.

FABRE-NYS, C.; MARTIN, G.B. Roles of progesterone and oestradiol in determining the temporal sequence and quantitative expression of sexual receptivity and the preovulatory LH surges in the ewe. **J. Endocrinol.**, v. 130, p. 367-379, 1991.

FARNWORTH, P.G. Gonadotrophin secretion revisited – how many ways can FSH leave a gonadotroph. **J. Endocrinol.** v.130, p. 367-379, 1995.

FINDLAY, J.K.; DRUMMOND, A.E. Control of follicular growth. In: FILLICORI, M., FLAMIGNI, C., (Eds.) **The ovary: Regulation, dysfunction and treatment**, Amsterdam, Elsevier, 1996, p. 13-21.

FINDLAY, J.K.; ROBERTSON, D.M.; CLARKE, I.J.; KLEIN, R.; DOUGHTON, B.W.; XIAO, S.; RUSSEL, D.L.; SHUKOVSKI, L. Hormonal regulation of reproduction: general concepts. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 28, p. 319-328, 1992.

FLYNN, J.D.; DUFFY, P.; BOLAND, M.P.; EVANS, ACO. Progestagen synchronization in the absence of a corpus luteum results in the ovulation of a persistent follicle in cyclic ewe lambs. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 62, p. 285-296, 2000.

FORTUNE, J.E. Ovarian follicular growth and development in mammals. **Biol. Reprod.**, v. 50, p. 225-232, 1994.

GIBBONS, J.R.; KOT, K.; THOMAS, M.C.; WILTBANK, M.C.; GINTHER, O.J. Follicular and FSH dynamics in ewe with a history of high and low ovulations rates. **Theriogenology**, p. 1005-1020, 1999.

GINTHER, O.J. Influence of exogenous progesterone and the uterus on ovarian activity in sheep. **Endocrinology**, v. 83, p. 613-615, 1968.

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

GINTHER, O.J.; KNOPF, L.; KASTELIC, J.P. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrous cycle with two and three follicular waves. **J. Reprod. Fertil.**, v. 87, p. 223-230, 1989b.

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

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

GINTHER, O.J.; WILTBANK, MC.; FRICKE, P.M.; GIBBONS, J.R.; KOT, K. Selection of the dominant follicle in cattle. **Biol Reprod.** v. 55, p. 1178-1194, 1996.

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

GOMEZ-BRUNET, A.; LOPEZ-SEBASTIAN, A.; SANTIAGO-MORENO, J.; GONZALES DE BULNES, A.; GARCIA-LOPEZ., M.; DEL CAMPO-VENCINO, A.; CABALLERO, B. Secrecion de LH, poblacion folícular, tasa de ovulacion y actividad lúteal en ovejas tratadas con líquido folícular bovino durante la fase folícular del ciclo sexual. In: JORNADA SOBRE PRODUCCIÓN ANIMAL , 8, 1999, Zaragoza. Resumos... Zaragoza: Ass. Interprof. Des. Agr. (AINDA), 1999, p. 648-650.

GONÇALVES DE BULNES, A.; MORENO, J.S.; GARCIA, L.M.; GOMEZ, B.A, LOPEZ, S.A . Observacion del ovario en la oveja y eficacia en la deteccion de folículos y cuerpos lúteos mediante ecografía transrectal. **Invest. Agra.: Prod. San. Anim.**, v. 9, p. 319-329, 1994.

GONÇALVES DE BULNES, A.; MORENO, J.S.; GARCIA, L.M.; CAMPO, A.; GOMEZ, B.A.; LOPEZ, S.A. Origin of the preovulatory follicle in Mouflon sheep (*Ovis gmelini musimon*) and effect on growth of remaining follicles during the follicular phase of oestrous cycle. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 65, p. 265-272, 2001.

GONZALEZ-REYNA, A.; VALENCIA, J.; FOOTE, W.C.; MURPHY, B.D. Hair sheep in Mexico: Reproduction in the Pelibuey sheep. **Anim. Breed. Abstr.** v. 59, p. 509-524, 1991.

GOODMAN, A.C.; HODGEN, G.D. The ovarian control of the primate menstrual cycle. **Recent Prog. Horm. Res.** V. 39, p. 1-73, 1983.

GOODMAN, R.L. A quantitative analysis of the physiological role of estradiol and progesterone in the control of tonic and surge secretion of luteinizing hormone in the rat. **Endocrinology**, v. 102, p. 142-150, 1978.

GOODMAN, R.L. Neuroendocrine control of the ovine estrous cycle. In: KNOBIL E., NEIL, J.D., (eds.), the **Physiol Reprod**. New York: Raven Press, p. 725-769, 1994.

GOODMAN, R.L.; KARSH, F.J. Pulsatile secretion of luteinizing hormone: Differential suppression by ovarian steroids. **Endocrinology**, v. 107, p. 1286-1290, 1980.

GOODMAN, R.L.; LEGAN, S.J.; RYAN, K.D.; FOSTER, D.L.; KARSH, F.J. Importance of variation in behavioral and feedback actions of oestradiol to the control of seasonal breeding in the ewes. **J. Endocrinol.** v. 89, p. 229-240, 1981a.

GOODMAN, R.L.; BITTMAN, E.L.; FOSTER, D.L.; KARSCH, F.J. The endocrine basis of the synergistic suppression of luteinizing hormone by estradiol and progesterone. **Endocrinology**, v. 10, p. 1414-1417, 1981b.

GOODMAN, R.L.; BITTMAN, E.L.; FOSTER, D.L.; KARSCH, F.J. Alternations in the control of luteinizing hormone pulse frequency underlie the seasonal variation in estradiol negative feedback in the ewe. **Biol. Reprod.** v. 27, p. 580-589, 1982.

GORDON, I. Induction of early breeding in sheep by standard and modified progestagen-PMS treatments. **J. Agri. Sci., Camb.** V. 76, p. 337-341, 1971.

GORDON, I. **Controlled Reproduction in Sheep and Goats**. New York CAB International, 1997a, 450p.

GORDON I. Artificial control of oestrus and ovulation. GORDON I. (ed.), **Cont. Reprod. Sheep Goats** Cambridge: University Press; 1997b, v. 2, p. 86-115.

GORDON, D.N.; JUENGEL, J.L.; SILVA, P.J.; ROLLYSON, K. Mechanisms Controlling the Function and Life Span on The Corpus Luteum. **Physiol Review.** v. 80, p. 1-29, 2000.

GREYLING, J.P.C.; KOTZE, W.F.; TAYLOR, G.F.; HAGENDIJK, W.J.; CLOETE, F. Synchronization of oestrous in sheep: use of different doses of progestagen outside the normal breeding season. S. Afr. **J. Anim. Sci.** v. 24, p. 33-37, 1994.

HACKELOER, B.J.; FLEMING, R.; ROBINSON, H.P.; ADAM, A.H.; COUTTS, J.R.T. Correlation of ultrasonic and endocrinologic assessment of human follicle development. **Am. J. Obstet. Gynecol.** V. 135, p. 122- 128, 1979.

HAMRA, A.H.; MASSRI, Y.G.; MARCEK, J.M.; WHEATON, J.E. Plasma progesterone levels in ewes treated with progesterone-controlled internal drug-release dispensers, implants and sponges. **Anim. Reprod. Sci.** v. 11, p. 187-194, 1986.

HANSEN, W.; CONVEY, E.M. Physiology of the estrous cycle. **J. Anim. Sci.** v. 57 (Suppl. 2), p. 408-424, 1983.

HARESIGN, W.; LAMMING, G.E. Comparison of LH release and luteal function in cyclic and LHRH treated anestrus ewes pretreated with PMSG or oestrogen. **J. Reprod. Fertil.** v. 52, p. 349-353, 1978.

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

HAY, M.F.; MOOR, R.M. Functional and structural relationships in the Graafian follicle population of the sheep ovary. **J. Reprod. Fertil.** v. 45, p. 583-593, 1975.

HOOPER, S.B.; WATKINS, W. B.; THOURBURN, G.D. Oxytocin, oxytocin-associated neurophysin and prostaglandin $F_{2\alpha}$ concentrations in the utero-ovarian vein of pregnant and non-pregnant sheep. **Endocrinology**, v. 119, p. 2590-2597, 1986.

HOUGHTON, J.A.S.; LIBERATI, N.; SCHRICK, F.N.; TOWNSEND, E.C.; DALLEY, R.A.; INSKEEP, E.K., Day of estrous cycle affects follicular dynamics after induced luteolysis in ewes. **J. Anim. Sci.** v.73, p. 2094-2101, 1995.

HUNTER, M.G. Characteristics and causes of the inadequate corpus luteum. **J. Reprod. Fertil.**, v. 43, p. 91-99, 1991.

HUNTER, M.G.; SOUTHEE, J.A.; McLEOD, B.J.; HARESIGN, W. Progesterone pretreatment has a direct effect on GnRH-induced preovulatory follicles to determine their ability to develop into normal corpora lutea in anestrus ewes. **J. Reprod. Fertil.**, v. 76, p. 349-363, 1986.

HUNTER, M.G., AYAD, V.J., GILBERT, C.L., SOUTHEE, J.A , WATHES, D.C. Role of prostaglandin $F_2\alpha$ and oxytocin in the regression of GnRH-induced abnormal corpora lutea in anoestrus ewe. **J. Reprod. Fertil.** v. 85, p. 551-561, 1989.

HUSEIN, H.Q.; BAILEY, M.T.; ABABNEH, M.M.; ROMANO, J.E.; CRABO, B.G.; WHEATON, J.E. Effect of eCG the pregnancy rate of ewes transcervically inseminated with frozen-thawed semen outside the breeding season. **Theriogenology**, v. 49, p. 997-1005, 1998.

HUTCHINSON, J.S.M.; ROBERTSON, H.A. The growth of the follicle and corpus luteum in the ovary of sheep. **Res. Veter. Sci**, v. 7, p. 17-24, 1966.

HUTZ, R.J.; DIERSHKE, D.J.; WOLF, R.C. Induction of atresia of the dominant follicle in rhesus monkeys by the local application of estradiol- 17β . **Am. J. Anim. Sci.**, v. 58, p. 547-551, 1988.

IRELAND, J.J.; ROCHE, J.F. Effect of progesterone on basal LH and episodic LH and FSH secretion in heifers. **J. Reprod. Ferti.**, v. 64, p. 295-302, 1982.

JOHNSON, S.K.; DAILEY, R.A.; INSKEEP, E.K.; LEWIS, P.E. Effect of peripheral concentrations of progesterone on follicular growth and fertility in ewes. **Domest. Anim. Endocrinol.**, v. 13, p. 69-79, 1996.

JOSEPH, I.B.J.K.; CURRIE, W.D.; RAVINDRA, J.P.; COOK, S.J. Oestradiol and the surge release of gonadotrophins in the ewe. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 34, p. 217-230, 1994.

JOSEPH, I.B.J.K.; RAVINDRA, J.P.; RAWLINGS, N.C. Oestradiol and the preovulatory surges of luteinising hormone and follicle stimulating hormone in

the ewes during the breeding season and transition into anoestrous. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 40, p. 291-298, 1995.

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

KARSCH, F.J.; BOWEN, J.M.; CARATY, A.; EVANS, N.P. Gonadotrophin-releasing hormone requirements for ovulation. **Biol. Reprod.**, v. 56, p. 303-309, 1997.

KARSCH, F.J.; CUMMINS, J.T.; THOMAS, G.B.; CLARKE, I.J. steroid feedback inhibition of pulsatile secretion of gonadotropin-releasing hormone in the ewe. **Biol. Reprod.**, v. 36, p. 1207-1218, 1987.

KARSCH, F.J.; DAHL, G.E.; EVANS, N.P.; MANNING, J.M.; MAYFIELD, K.P.; MOENTER, S.M., FOSTER, D.L. Seasonal changes in gonadotropin-releasing hormone secretion in the ewe: Alterations in response to negative feedback action of estradiol. **Biol. Reprod.**, v. 49, p. 1377-1383, 1993.

KARSCH, F.J.; FOSTER, D.L.; LEGAN, S.J.; RYAN, K.D.; PETER, G.K. Control of the preovulatory endocrine events in the ewe: Interrelationship of estradiol, progesterone, and luteinizing hormone. **Endocrinology**, v. 105, p. 421-426, 1979.

KARSCH, F.J.; GOODMAN, R.L.; LEGAN, S.J. Feedback basis of seasonal breeding: test of an oestradiol. **J. Reprod. Fertil.**, v. 58, p. 521-535, 1980^b.

KARSCH, F.J.; LEGAN, S.J.; RYAN, K.D.; FOSTER, D.L. Importance of estradiol and progesterone in regulating LH secretion and estrous behaviour during the sheep estrous cycle. **Biol. Reprod.**, v. 23, p. 404-413, 1980^a.

KARSCH, F.J.; LEGAN, S.J.; HAUGER, R.L.; FOSTER, D.L. Negative feedback action of progesterone on tonic luteinizing hormone secretion in the ewe: Dependence on the ovaries. **Endocrinology**, v. 101, p. 800-806, 1977.

KARSCH, F.J., MALPAUX, B., WAYNE, N.L., ROBINSON, J.E. Characteristics of the melatonin signal that provide the photoperiodic code for timing seasonal reproduction in the ewe. **Reprod. Nutr. Dev.**, v. 28, p. 459-472, 1988.

KEISLER, D.H.; KEISLER, L.W. Formation and function of GnRH-induced subnormal corpora lutea in cyclic ewes. **J. Reprod. Fertil.**, v. 87, p. 267-273, 1989.

KERIN, J.F.; EDMONDS, D.K.; WARNES, G.M.; COX, L.W.; SEAMARK, R.F.; MATTHEWS, C.D., YOUNG, G.B., BAIRD, D.T. Morphological and functional relations of Graafian follicle growth to ovulation in women using ultrasonic, laparoscopic and biochemical measurements. **Br. J. Obstet. Gynaecol.**, v. 88, p. 81-90, 1981.

KINDER, J.E.; GARCIA-WINDER, M.; IMAKAWA, K.; DAY, M.L.; ZALESKY, D.D.; DÓCCHIO, M.L.; STUMPF, T.T.; KITTOCK, R.J., SCHANBACHER, B.D. Circulating concentration of 17β - estradiol influence pattern of LH in circulation in cows. **Domest. Anim. Endocrinol.**, v. 8, p. 463-469, 1991.

KINDER, J.E.; KOJIMA, F.N.; BERGFELD, E.G.; WEHRMAN, M.E.; FIKE, K.E. Progestin and estrogen regulation of pulsatile LH release and development of persistent ovarian follicles in cattle. **J. Anim. Sci.**, v. 74, p. 1424-1440, 1996.

LAHLOU-KASSI, A.; MARIANA, J.C. Ovarian follicular growth during the oestrous cycle in two breeds of ewes of different ovulation rate, the D'Man and the Timahdite. **J. Reprod. Fertil.**, v. 72, p. 301-310, 1984.

LAND, R.B. Ovulation rate of Finn-Dorset sheep following unilateral ovariectomy or chlorpromazine treatment at different stages of the oestrus cycle. **J. Reprod. Fertil.**, v. 33, p. 99-105, 1973.

LEGAN, S.J.; KARSH, F.J.; FOSTER, D.L. The endocrine control of seasonal reproductive function in the ewe: A marked changes in response to the negative feedback action of estradiol on luteinizing hormone secretion. **Endocrinology**, v. 3, p. 818-824, 1977.

LEGAN, S.J.; KARSH, F.J. Neuroendocrine regulation of the estrous cycle and seasonal breeding in the ewe. **Biol. Reprod.** v. 20, p. 74-85, 1979.

LEGAN, S.J.; KARSH, F.J. Photoperiodic control of seasonal breeding in ewes: modulation of the negative feedback action of estradiol. **Biol. Reprod.** v. 23, p. 1061-1068, 1980.

LEGAN, S.J.; IANSON, H.; FITZGERALD, B.P.; AKAYDIN, M.S. Importance of short luteal phases in the endocrine mechanism controlling initiation of estrous cycle in anestrous ewe. **Endocrinology**, v. 117, p. 1530-1536, 1985.

LEYVA, A.; BUCKRELL, B.C.; WALTON, J.S. Follicular activity and ovulation regulated by exogenous progestagen and PMSG in anestrous ewes. **Theriogenology**, v.50, p.377-393, 1998.

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

LEYVA, A.; WALTON, J.S.; BUCKRELL, B.C.; BUHR, M.M.; KING, W.A.; GARTLEY, C. Ultrasound examination of ovarian activity and ovulation regulated by exogenous progesterone in cycling ewes. **J. Anim. Sci.**, v. 73 (Suppl 1), ABSTR: p. 226, 1995.

LINCOLN, G.A.; MAEDA, K.I. Reproductive effects of placing microimplants of melatonin in the mediobasal hypothalamus and preoptic area in ram. **J. Endocrinol.**, v. 132, p. 201-215, 1992.

LOPEZ-SEBASTIAN, A . Descarga preovulatoria de LH y momento de la ovulación en ovejas con celo inducido mediante progestagenos y PMSG. Invest.Agrar.: **Prod. Sanid. Anim.**., v. 6, p. 123-130, 1991.

LOPEZ-SEBASTIAN, A.; GONZALEZ-BULNES, A.; SANTIAGO-MORENO, J.; GOMEZ BRUNET, A.; TOWNSEND, E. C.; INSKEEP, E.K. Patterns of follicular development during the estrous cycle in monovular Merino del Pais ewes. **Anim. Reprod. Sci.** v. 48, p. 279-291, 1997.

LUCY, M.C.; SAVIO, J.D.; BADINGA, L.; DE LA SOTA, R.L.; THATCHER, W.W. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. **J. Anim. Sci.**, v. 70, p. 3615-3626, 1992.

MADUREIRA, E.H. Controle Farmacológico do Ciclo Estral com Emprego de Progesterona e Progestágeno em Bovinos. In: SIMPÓSIO SOBRE O CONTROLE FARMACOLÓGICO DO CICLO ESTRAL DE RUMINANTES 2000, São Paulo. Anais... São Paulo, 2000, p. 89-98.

MALPAUX, B.; DAVEAU, A.; MAURICE, F.; GAYRARD, V.; THIERY, J.C. Short days effects of melatonin on luteinizing hormone secretion in the ewe: evidence for central sites of action in the mediobasal hypothalamus. **Biol. Reprod.**, v. 48, p. 752-760, 1993.

MALPAUX, B.; ROBINSON, J.E.; WAYNE, N.L.; KARSCH, F.J. Regulation of the onset of the breeding season of the ewe, importance of long days and of an endogenous reproductive rhythm. **J. Endocrinol.**, v. 122, p. 269- 278, 1989.

MANN, G.E.; HARESIGN, W. Effect of oestradiol treatment during GnRH-induced ovulation on subsequent PGF₂ α release and luteal life span in anoestrous ewes. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 67, p. 245-252, 2001.

MARTIN, G.B. Factors affecting the secretion of luteinizing hormone in the ewe. **Biol. Ver.**, v. 59, p. 1-87, 1994.

MARTIN, GB.; SCARAMUZZI, RJ. The induction of oestrus and ovulation in seasonally anovular ewes by exposure to rams. **J. Ster. Biochem.**, v. 19, p. 869-875, 1983.

MARTIN, G.B.; SCARAMUZZI, R.J.; HENSTRIDGE, J.D. Effects of estradiol, progesterone and androstenedione on the pulsatile secretion of luteinizing hormone in ovariectomized ewes during spring and autumn. **J. Endocrinol.**, v. 96, p. 181-193, 1983.

MARTINUK, S.D.; MANNING, A.W.; BLACK, W.D.; MURPHY, B.D. Effects of carbohydrates on the pharmacokinetics and biological activity of equine chorionic gonadotropin in vivo. **Biol. Reprod.**, v. 45, p. 598- 604, 1991.

MATTNER, P.E.; BRADEN, A.W. Secretion of oestradiol-17 β by the ovine ovary during the luteal phase of the oestrous cycle in relation to ovulation. **J. Reprod. Fertil.**, v. 28, p. 136-137, 1972.

McCRACKEN, J.A.; SCHAMS, W.; OKULICZ, W. C. Hormone receptor control of pulsatile secretion of PGF-2 α from the ovine uterus during luteolysis and its abrogation during early pregnancy. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 7, p. 31-55, 1984.

McDONNELL, H.F. Effects of progesterone-impregnated sponges treatment on peripheral plasma hormone levels and fertility in the cyclic ewe. **Theriogenology**, v.24, p. 575-586, 1985.

McGUIRE, W.J., JUENGEL, J.L., NIESWENDER, G.D. Protein kinase C second messenger system mediates the antisteroidogenic effects of prostaglandin $f2\alpha$ in the ovine corpus luteum in vivo. **Biol. Reprod**, v. 51, p. 800-806, 1994.

McINTOSH, J.E.; MOOR, R.M.; ALLEN, W.R. Pregnant mare serum gonadotrophin: rate of clearance from the circulation of sheep. **J. Reprod. Fertil.**, v. 44, p. 95- 1000, 1975.

McLEOD, B.J.; HARESIGN, W.; LAMMING, G.E. Response of seasonally anoestrus ewes to small-dose multiple injections of GnRH with and without progesterone pretreatment. **J. Reprod. Fertil.**, v. 65, p. 223-230, 1982.

McLEOD, B.J.; HARESIGN, W. Evidence that progesterone may influence subsequent luteal function in the ewes by modulating preovulatory follicle development. **J. Reprod. Fertil.**, v. 71, p. 381-386, 1984.

McNATTY, K.P.; BALL, K.; GIBB, M.; DOBSON, C.; BALL, K.; THURLEY, D.C. Induction of cyclic ovarian activity in seasonally anoestrous ewes with exogenous GnRH. **J. Reprod. fertil.**, v. 64, p. 93-96, 1982.

McNATTY, K.P.; GIBB, M.; DOBSON, C.; THURLEY, D.C. Evidence that changes in luteinizing hormone secretion regulate the growth of the preovulatory follicle in the ewe. **J. Endocrinol.** v. 90, p. 375-389, 1981.

McNATTY, K.P.; HUDSON, N.L.; HENDERSON, K.M.; LUN, S.; HEATH, D., GIBB, M.; BALL, K.; McDIARMID, J. M.; HURLEY, D.C. Changes in gonadotropin secretion and ovarian antral follicular activity in seasonally breeding sheep throughout the year. **J. Reprod. Fert.**, v. 80, p. 309-321, 1984.

McNEILLY, A.S.; HUNTER, M.G.; LAND, R.B.; FRASER, H.M. Inadequate corpus luteum function after the induction of ovulation of anoestrus ewe by LH-RH or na LH-RH agonist. **J. Reprod. Fertil.**, v. 63, p. 137-144, 1981.

McNEILLY, A.S., JONASSEN, J.A., FRASER, H.M. Supression of follicular development after LHRH immunoneutralization in the ewe. **J. Repro. Fertil.**, v. 76, p. 481-490, 1986.

McNEILLY, A.S.; O'CONNELL, M.; BAIRD, D.T. Induction of ovulation and normal luteal function by pulsed injection of luteinizing hormone in anestrus ewe. **Endocrinology**, v. 110, p. 1292-1299, 1982.

McNEILLY, A.S.; PINCTON, H.M.; CAMPBELL, B.F.; BAIRD, D.T. Gonadotrophic control of follicle growth in the ewe. **J. Reprod. Fertil.**, v. 43 (Suppl.), p. 177-186, 1991.

MEIKLE, A.; FORSBERG, E.G.; GARÓFALO, E.G.; CARLSSON, M.A.; LUNDEHEIM, N., RUBIANES, E. Circulating gonadotrophins and follicular dynamics in anestrus ewes after treatment with estradiol-17 β . **Anim. Reprod. Sci.**, v. 67, p. 79-90, 2001.

MENEGATOS, J.; CHADIO, S.; KARATZAS, G.; STOFOROS, E. Progesterone levels throughout progestagen treatment influence the establishment of pregnancy in the goat. **Theriogenology**, v. 43, p. 1365-1370; 1995.

MIHM, M.; BAGUISI, A.; BOLAND, M.P.; ROCHE, J.F. Association between the duration of dominance of the ovulatory follicle and pregnancy rate in beef heifers. **J. Reprod. Fertil.**, v. 102, p. 123-130, 1994.

MIHM, M.; CURRAN, N.; HYTTLE, P.; KNIGHT, P.G.; BOLAND, M.P.; ROCHE, J.F. Effect of dominance follicle persistence on follicular fluid oestradiol and

inhibin and on oocyte maturation in heifers. **J. Reprod. Fertil.**, v. 116, p. 293-304, 1999.

MILLER, W.T. Regulation of pituitary gonadotrophins by gonadotrophin releasing hormone, estradiol, progesterone, inhibin and activin. In: GWATKIN, R.B.L. (Ed.) **Genes in Mammalian Reproduction**, Wiley-liss Inc., 1993, p. 247-269,.

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 a reprodução animal**. São Paulo: Varela, 2002, c. 3, p. 25-35.

MORENO, J.S.; GONZALEZ DE BULNES, A.; GARCIA, L.M.; LOPEZ, S.A. Valoración de estadios precoces de gestacion en oveja y cabra mediante ecografia transretal. **Invest. Agrar. Prod. Sanid. Anim.**, v. 10, p. 53-61, 1995.

NANCARROW, C.D.; MURRAY, J.D.; BOLAND, M.P.; SUTTON, R.; HALZENTON, I.G. Effect of gonadotrophin releasing hormone in the production of single-cell embryos for pronuclear injection of foreign genes. In: D.R. LINDSAY & D.T. PEARCE (Eds), **REPRODUCTION IN SHEEP**, Australian: Academy of Science, Canberra, 1984, p. 286-288.

NEPHEW, K.P.; MCCLURE, K.E.; OTT, T.L.; DUBOIS, D.H.; BAZER, F.W.; POPE, W.F. Relationship between variation in conceptus development and differences in estrous cycle duration in ewes. **Biol. Reprod.**, v. 42, p. 536-539, 1991.

NETT, T.M.; McCLELLAN, M.C.; NISWENDER, G.D. Effects of prostaglandins on the ovine corpus luteum : Blood flow, secretion of progesterone and morphology. **Biol. Reprod.**, v. 15, v. 66-78, 1976.

NISWENDER, G.D.; NETT, T.M. The corpus luteum and its control in infraprimate species. In: The **Physiol. Reprod**, vol. 1, E Knobil E., Neill, J.D. (eds.) p. 781-816. Raven Press, Ltd. New York, 1994.

NISWENDER, G.D.; JUENGEL, J.L.; SILVA, P.J.; ROLLYSON, M.K.; McINTUSH, E.W. Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. **Physiol. Rev**, v. 80, p. 1-29, 2000

NOEL, B.; BISTER, J.L.; PAQUAY, R. Ovarian follicular dynamics in Suffolk ewes at different periods of the year. **J. Reprod. Fertil.**, v. 99, p. 695-700, 1993.

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

NOEL, B.; BISTER, J.L.; PERRAD, B.; GENICOT, G.; PAQUAY, R. Steroidogenesis of ovarian follicles stimulated in vitro by Melatonin. **Pflugers Arch**. v. 430, R8-19, 1995.

O'BYRNE, K.T.; THALABARD, J.C.; GROSSER, P.M. Radiotelemetric monitoring of hypothalamic gonadotropin-releasing hormone pulse generator activity throughout the menstrual cycle of the rhesus monkey. **Endocrinology**, v. 129, p. 1207- 1214, 1991.

O'DOHERTY, J.V.; CROSBY, T.F. The effect of progestagen type, PMSG dosage and time of ram introduction on reproductive performance in ewe lambs. **Theriogenology**, v.33, n.6, p.1279-1286, 1990.

O'SHEA, J.D.; CRAN, D.G.; HAY, M.F. Fate of the theca interna following ovulation in the ewe. **Cell Tiss. Res.** v.210, p.305-319, 1980.

O'SHEA, J.D.; RODGERS, R.J.; WRIGHT, P.J. Morphometric analysis and function in vivo and in vitro of corporea lutea from ewes treated with LH-RH during seasonal anoestrus. **J. Reprod. Fertil.**, v. 72, p. 75-85, 1984.

ORTAVANT, R.; PELLETIER, J.; RAVAUULT, J.P.; THIMONIER, J.; VOLLAND-NAIL, P. Photoperiod, main proximal and distal factor of the circannual cycle of reproduction in farm animal. Oxford River **Reprod. Biol.**, p. 562-571, 1985.

OYEDIJI, G.O.; AKASU, M.O.; EGBUNIKE, G.N. Comparative studies on the effectiveness of sil-estrus implants, Veramix sheep sponges and prostaglandin F2 α in the synchronizing estrus in West African Dwarf sheep. **Theriogenology**, v. 34, p. 613-618, 1990.

PANT, H.C.; HOPKINSON, C.R.N.; FITZPATRICK, R.J. Concentrations of oestradiol, progesterone, luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone in the jugular venous plasma of ewes during the oestrous cycle. **J. Endocrinol.** v. 77, p. 247-255, 1977.

PEARCE D.T.; ROBINSON, T.J. Plasma progesterone concentrations, ovarian and endocrinological responses and sperm transport in ewes with synchronized oestrus. **J. Reprod. Fertil.**, v. 75, p. 49-62; 1985.

PIERSON, R.A.; GINTHER, O.J. Ultrasonography of the bovine ovary. **Theriogenology**, v. 21, p. 495-504, 1984.

PIERSON, R.A.; GINTHER, O.J. Ultrasonic imaging of the ovaries and uterus in cattle. **Theriogenology**, v. 29, p. 21-37, 1988.

POWELL, M.R.; KAPS, M.; LAMBERSON, W.R.; KEISLER, D.H. Use of melengestrol acetate- based treatments to induce and synchronize oestrus in seasonally anoestrus ewes. **J. Anim. Sci.**, v. 74, p. 2292-2302, 1996.

PRICE, C.A.; WEBB, R. Steroid control of gonadotrophin secretion and ovarian function in heifers. **Endocrinology**, v. 122, p. 473-488, 1984.

PRICE, C.A.; WEBB, R. Steroid control of gonadotrophin secretion and ovarian function in heifers. **Endocrinology**, v. 122, p. 2222-2231, 1988.

QUIRKE, J.R.; JENNINGS, J.J.; HANRAHAN, J.P.; GOSLING, J.P. Oestrus, time of ovulation, ovulation rate and conception rate in progestagen-treated ewes given GnRH, GnRH- analogues and gonadotrophin. **J.Reprod. Fertil.**, v. 56, p. 479-488, 1979.

QUISPE, T.; ZARCO, L.; VALENCIA, J.; ORTIZ, A. Estrus synchronization with melengestrol acetate in cyclic ewes, insemination with fresh or frozen semen during the first or second oestrus post treatment. **Theriogenology**, v. 41, p. 1385-1392; 1994.

RAHMANIAN, M.S.; MURDOCH, W.J. Function of ovine corpora lutea after administration of luteinizing hormone-releasing hormone. **J. Anim. Sci.**, v. 64, p. 648-655, 1987.

RAJAKOSKI, E. The ovarian follicular system in sexually mature heifers with special reference to seasonal, cyclical, and left-right variations. **Acta Endocrinol.** v. 34 (Suppl. 52), p. 7-68, 1960.

RAVINDRA, J.P.; RAWLINGS, N.C.; EVANS, A.C.O.; ADAMS, J.P. Ultrasonic study of ovarian follicular dynamics in ewes during the estrous cycle. **J. Reprod. Fertil.**, v. 101, p. 501-509, 1994.

RAVINDRA, J.P.; RAWLINGS, N.C. Ovarian follicular dynamics in ewes during the transition from anoestrus to the breeding season. **J. Reprod. Fertil.**, v. 110, p. 279-289, 1997.

RAWLINGS, N.C.; COOK, S.J. LH secretion around the time of the preovulatory gonadotropin surge in the ewe. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 30, p. 289-299, 1992.

RAWLINGS, N.C.; JEFFCOATE, I.A.; RIEGER, D.L. The influence of estradiol 17 β and progesterone on peripheral serum concentrations of luteinizing hormone and follicle stimulating hormone in the ovariectomized ewe. **Theriogenology**, v. 22, p. 473-488, 1984.

RAWLINGS, N.C.; KENNEDY, S.W.; CHANG, C.H., HILL, J.R. Jr., HENRICKS, D.M., Onset of seasonal anestrus in the ewe. **J. Anim. Sci.**, v. 44, p. 791-797, 1977.

REEVES, I.J.; BECK, T.W.; NETT, T.M. Serum FSH in aoestrous ewes treated with 17beta-oestradiol. **J. Anim. Sci.**, v.38, p 374-377, 1980

REVAH, I.; BUTLER, W.R. Prolonged dominance of follicles and reduced viability of bovine oocytes. **J. Reprod. Fertil.** v. 106, p. 39-47, 1996.

ROBERSON, M.S.; WOLFE, N.W.; STUMPF, T.T.; KITOK, R.J.; KINDER, J.E. Luteinizing hormone secretion and corpus luteum function in cows receiving two levels of progesterone. **Biol. Reprod.**, v. 41, p. 997-1003, 1989.

ROBINSON, T.J. **The control of the Ovarian Cyclic in Sheep**. Sydney: University Press, 1967, p. 258.

ROBINSON, T.J.; MOORE, N.W.; HOLTS, P.J.; SMITH, J.F. The evaluation of several progestagens administred in intravaginal sponges for the synchronization of oestrous in the entire cyclic Merino ewe. In: ROBINSON, T.J. (Ed.), **The control of the Ovarian Cyclic in Sheep**. Sydney: University Press, 1967, p. 76-101.

ROBINSON, T.J.; MOORE, N.W.; LINDSAY, D.R.; FLETCHER, I.C.; SALAMON, S. Fertility following synchronization of oestrus in the sheep with intravaginal sponges. I Effects of vaginal douche, supplementay steroids, time of insemination, and numbers and diluition of spermatozoa. **Aust. J. Agric. Res.** v. 21, p. 767-781, 1970.

ROBINSON, T.J. Controlled breeding of sheep and goat. In: TOMES, G.J., ROBERTSON, D.E., LIGHTFOOT, RL., HARESIGN, N. (Eds.) **Sheep Breeding**. London: Betterworths, 1979, p. 423- 437.

ROBINSON, T.J.; KARSCH, F.J. Refractoriness to inhibitory day length initiates the breeding season of the Suffolk ewe. **Biol. Reprod.**, v. 32, p. 1024- 1030, 1985.

ROCHE, J.F.; MIHM, M.; DISKIN, M.G.; IRELAND, J.J. A review of regulation of follicle growth in cattle. **J. Anim. Sci.**, v. 76, (Suppl. 3), p. 16-29, 1998.

ROCHE, J.F.; AUSTIN, E.J.; RYAN, M.; O'ROURKE, M.; MIHM, M.; DISKIN, M.G. Regulation of follicle waves to maximize fertility in cattle. **J. Repro. Fertil.**, Supplement, v. 54, p. 61-71, 1999.

RODRIGUES, P.A. **Avaliação da sazonalidade reprodutiva e perfil secretório de melatonina em ovelhas (*ovis aries*) das raças Romney Marsh, Suffolk e Santa Inês**. 2001 Tese (doutoramento)- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

ROMANO, J.E.; RODAS, E.; FERRREIRA, A.; LAGO, I.; BENECH, A. Effects of progestagen, PMSG and artificial insemination time on fertilityu and prolificacy in Corriedale ewes. **Small Rumin. Res.**, v. 23, p. 157-162; 1996.

RUBIANES, E. Nociones basicas de fisiologia reproductiva en cabras y ovejas. In: CONTROLE FARMACOLÓGICO DO CICLO ESTRAL EM RUMINANTES, 2000a São Paulo. p. 255-282.

RUBIANES, E. Control farmacológico del ciclo estral en caprinos y ovinos. In: CONTROLE FARMACOLÓGICO DO CICLO ESTRAL EM RUMINANTES, 2000b anais São Paulo. p. 255-282.

RUBIANES, E.; CASTRO, T.; CARBAJAL, B. Effects of high progesterone levels during the growing phase of the dominant follicle of wave 1 in ultrasonically monitored ewes. **Can. J. Anim. Sci.** v. 76, p. 473-475, 1996.

RUBIANES, E.; UNGERFELD, R.; VIÑOLES, C.; RIVERO, A.; ADAMS, G, Ovarian response to stimulatory treatment initiated relative to wave emergency in ultrasonographically monitored ewes. **Theriogenology**, v. 47, p. 1479-1488, 1997a.

RUBIANES, E.; BEARD, AP.; DIERSCHKE, D.J.; BARTLEWSKI, P.M.; ADAMS, GP., RAWLINGS,N.C. Endocrine and ultrasound evaluation of the response to PGF2 na GnRH given at different stages of the luteal phase in cyclic ewes. **Theriogenology**, v. 48, p. 1093-1104, 1997b.

RUBIANES, E.; CASTRO, T.; KMAID, S. Estrus response after a short progesterone priming in seasonally anestrus goats. **Theriogenology**, v. 49, p. 356, 1998.

RUBIANES, E.; UNGERFELD, R.; CASTRO, T. Inducción y sincronización de celo en ovejas y cabras (Induction and synchronization of estrus in ewe and goats). In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCION ANIMAL, 3,1999, Córdoba, Argentina, Proceedings...Cordoba, 1999, p. 109-131.

SANCHEZ, T.; WEHRMAN, M.E.; BERGFELD, E.G.; PETTERS, K.E.; KOJIMA, F.N.; CUPP, A.S.; MARISCAL, V.; KITTOCK, R.J.; RASBY, R.J.; KINDER, J.E. Pregnancy rate is greater when the corpus luteum is present during the period of progestin treatment to synchronize time of estrus in cows and heifers. **Biol. Reprod.**, v. 49, p. 1102-1107, 1995.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT software**: changes and enhancements through release 6.12. Cary: Statistical Analysis System Institute, p.1167, 1997.

SAS INSTITUTE INC. **SAS OnlineDoc®**, Version 8, Cary, NC: SAS Institute Inc., 1999.

SAVIO, J.D.; KEENAN, L.; BOLAND, M.P.; ROCHE, J.F. Pattern of growth of dominant follicle during the oestrous cycle of heifers. **J. Reprod. Fertil.**, v. 83, p. 1479-1488, 1988.

SAVIO, J.D.; THATCHER, W.W.; BADINGA, L.; DE LA SOTA, R.L.; WOLFENSON, D. Regulation of dominant follicle turnover during the oestrus cycle in cows. **J. Reprod. Fertil.**, v. 97, p. 197-203, 1993.

SAVIO, J.D.; THATCHER, W.W.; MORRIS, G.R.; ENTWISTLE, K.; DROST, M.; MATTIACCI, M.R. Effects of induction of low plasma progesterone concentrations with a progesterone-releasing intravaginal device on follicular turnover and fertility in cattle. **J. Reprod. Fertil.**, v. 98, p. 77-84, 1993^b.

SCARAMUZZI R.J.; DOWNING J.A.; CAMPBELL B.K.; COGNIE Y. Control of fertility and fecundity of sheep by means of hormonal manipulation. **Austr. J. Biol. Sci.**, v. 41, p. 37-45; 1988.

SCARAMUZZI R.J.; ADAMS, N.R.; BAIRD, D.T.; CAMPBELL B.K.; DOWNING J.A.; FINDLAY, J.K.; MARTIN, G.B.; McNATTY, K.P.; McNEILLY, A.S.; TSONIS,

C.G. A model for follicle selection and the determination of ovulation rate in the ewe. **Reprod. Fertil. Dev.** v. 5, p. 459-478, 1993.

SCHAMS, D., BERISHA, B. Steroids as local regulators of ovarian activity in domestic animals, **Dom. Anim Endocrinol**, v. 23, p. 53-65, 2002.

SCHRICK, F.N.; SURFACE, R.A.; PRITCHARD, J.Y.; DAILEY, R.A.; TOWNSEND, E.C.; INSKEEP, E.K. Ovarian structures during the estrous cycle and early pregnancy in ewes. **Biol. Reprod.**, v. 49, p. 1133-1140, 1993.

SIMONETTI, L.; RAMOS, G.; GARDÓN, J.C. Estrus presentation and distribution in ewes treated with intravaginal sponges impregnated with medroxyprogesterone acetate (MAP) in combination with pregnant mare serum gonadotropin (PMSG). **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, v. 36, n. 5, 1999.

SIMONETTI, L.; BLANCO, M.R.; GARDÓN, J.C. Estrus synchronization in ewe treated with sponges impregnated with different doses of medroxyprogesterone acetate. **Small Rumin. Res.** v. 38, p. 243-247, 2000.

SIROIS, J.; FOURTUNE, J.E. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifer monitored by real-time ultrasonography. **Biol. Reprod.**, v. 39, p. 308-317, 1988.

SIROIS, J.; FOURTUNE, J.E. Lengthening the bovine estrous cycle with low levels of exogenous progesterone: a model for studying ovarian follicular dominance. **Endocrinology**, v. 127, p. 916-925, 1990.

SKINNER, D.C., BOUCHARD, P., CARATY, A. The progesterone blockade of the luteinizing hormone surge is overcome by RU 486. **J. Neuroendocrinol**, v. 11, p. 637-641, 1999.

SMEATON, T.C.; ROBERTSON, H.A. Studies on the growth and atresia of Graafian follicle in the ovary of the sheep. **J. Reprod. Fertil.**, v. 25, p. 243-252, 1971.

SMITH, P.A.; BOLAND, M.P.; GORDON, I. Effect of type of intravaginal progestagen on the outcome of fixed-time artificial insemination. **J. Agric. Sci. (Camb)**, v. 96, p. 243-245; 1981.

SMITH, P.L.; BOUSFIELD, G.R.; KUMAR, S.; FIETE, D.; BAENZIGER, J.U. Equine lutropin and chorionic gonadotropin bear oligosaccharides terminating with SO₄-4-GalNAc and Sia α 2,3Gal, respectively, **J. Bio. Chem.**, v. 268, p. 795-802, 1993.

SOUTHEE, J.A., HUNTER, M.G.; HARESIGN, W. Function of abnormal corpora lutea in vivo after GnRH-induced ovulation in the anestrus ewe. **J. Reprod. Fertil.**, v. 84, p. 131-137, 1988.

SOULES, M.R.; STEINER, R.A.; CLIFTON, D.K. Progesterone modulation of pulsatile luteinizing hormone secretion in normal women. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 58, p. 378-383, 1984.

SOUZA, C.J.H.; MORAES, J.C.F.; CHAGAS, L.M., Effects of the Boroola genes on time of ovulation and ovulatory dynamics. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 37, p. 7-13, 1994.

SOUZA, C.J.H.; CAMPBELL, B.K.; BAIRD, D.T. Follicular dynamics and ovarian steroid secretion in sheep during anoestrus. **J.Reprod. Fertil.**, v. 108, p. 101-106, 1996.

SOUZA, C.J.H.; CAMPBELL, B.K.; BAIRD, D.T. Follicular dynamics and ovarian steroid secretion in sheep during THE FOLLICULAR AND EARLY

LUTEAL PHASES OF THE ESTROUS CYCLE. **Biol. Reprod.** v.56, p. 483-488, 1997.

SUNDERLAND, S.J.; CROWE, M.A.; BOLAND, M.P.; ROCHE, J.F.; IRELAND, J.J. Selection, dominance and atresia of follicle during the oestrous cycle of heifers. **J. Reprod, Fertil.**, v. 101, p. 547-555, 1994.

STEWART, F.; ALLEN, W.R.; MOOR, R.M. Pregnant mare serum gonadotrophin: ratio of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone activities measured by radioreceptor assay. **J. Endocrinol**, v. 71, p. 371- 382, 1976.

STOCK, A.E.; FORTUNE, J.E. Ovarian follicular dominance in cattle: relationship between prolonged growth of the ovulatory follicle and endocrine parameters. **Endocrinology**, v. 132, p. 1108-1114, 1993.

STUBBINGS, R.B.; BOSU, W.T.R.; BAKER, C.A .V.; KING, G.J. Serum progesterone concentration associated with superovulation and premature corpus luteum failure in dairy goats. **Can. J. Vet. Res**, v. 50, p. 369-373, 1986.

STUMPF, T.T.; ROBERSON, M.S.; WOLFE, M.W. Progesterone, 17 beta estradiol, and opioid neuropeptides modulate pattern of luteinizing hormone in circulation of the cow. **Biol. Reprod.**, v. 49, p. 1096- 1101, 1993.

TAMANINI, C.; CROWDER, M.E.; NETT, T.M. Effects of estradiol and progesterone on pulsatile secretion of luteinizing hormone in ovariectomized ewes. **Acta Endocrinol.** (Copenhagen), v. 111, p.172-178, 1986.

TISDALL, D.J.; WATANABE, K.; HUDSON, W.L. FSH receptor gene expression during ovarian follicle development in sheep. **J. Mol. Endocrinol.** v. 15, p. 275-281, 1995.

THIERY, J.C.; MARTIN, G.B. Neurophysiological control of the secretion of gonadotrophin-releasing hormone and luteinizing hormone in sheep-A review. **Reprod. Fertil. Dev.**, v. 3, p. 137-173, 1991.

THIERY, J.C.; CHEMINEAU, P.; HERNANDEZ, X.; MINGAUD, M.; MALPAUX, B. Neuroendocrine interactions and seasonality. **Dom. Anim. Endocrinol**, v. 23, p. 87-100, 2002.

TRITSCHLER, J.P.; DUBY, R.T.; PARSON, E.M.; PARSONS, M.J.; GIORDANO, D.J. Comparison of two progestogens during out-of-season breeding in a commercial ewe flock. **Theriogenology**, v. 35, n. 5, p. 943-952, 1991.

TSONIS, C.G.; CAHILL, L.P.; CARSON, R.S.; FINDLAY, J.K. Identification at the onset of luteolysis of follicles capable of ovulation in the ewe. **J. Reprod. Fertil.**, v. 70, p. 609-614, 1984

TURNBULL, K.E.; BRADEN, A.W.H.; MATTNER, P.E. The pattern of follicular growth and atresias in the ovine ovary. **Aust. J. Biol.**, v. 30, p. 229-241, 1977.

THWAITES, C.J. Exogenous progesterone and estrous cycle length in the ewe. **J. Anim. Sci.** v. 77, p. 147-148, 1971.

UNGERFELD, R.; RUBIANES, E. Effectiveness of short-term progestogen primings for the induction of fertile oestrus with eCG in ewes during late seasonal anoestrus. **Anim. Sci.**, v. 68, p. 349-353, 1999.

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

URIBE-VELASQUES, L.F.; OBA, E.; SOUZA, M.I.L.; VILLA-VELASQUEZ, H.; LARA-HERRERA, L. Estudo ultrassonográfico da dinamica folícular e dos hormônios reprodutivos em ovelhas durante o ciclo estral. **Rer. Bras. Reprod. Anim.**, v. 23, p. 187-189, 1999.

VALLET, J.L.; LAMMING, G.E.; BATTEN, M. Control of endometrial oxytocin receptor and uterine response to oxytocin by progesterone and estradiol in ewe. **J. Reprod. Fertil.**, v. 90, p. 625-634, 1990.

VAN VUGT, D.A.; LAM, N.Y.; FERIN, M. Reduced frequency of pulsatile LH secretion in the luteal phase of the Rhesus Monkey: involvement of endogenous opiates. **Endocrinol.**, v. 115, p. 1095-1101, 1984.

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

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

VIGUIÉ, C.; CARATY, A.; LOCATELLI, A.; MALPAUX, B. Regulation of LHRH secretion by melatonin in the ewe. I. Simultaneous delayed in LHRH and LH pulsatile secretion. **Biol. Reprod.**, v. 52, p. 1114-1120, 1995

WALKER S.K.; SMITH D.H.; SEAMARK R.F. Timing of multiple ovulations in the ewe after treatment with FSH or PMSG with and without GnRH. **J.Reprod. Fertil.**, v. 77, p. 135-142, 1986.

WALKER S.K.; SMITH D.H.; FRENHAM A.; ASHMAN R.F.; SEAMARK R.F.. The use of synthetic gonadotropin releasing hormone treatment in the collection of sheep embryos. **Theriogenology**, v. 31, p. 741-752, 1989.

WALLACE, JM.; MCNEILLY, J.R.; BAIRD, D.T. Induction of ovulation during anoestrus in two breeds of sheep with multiple injections of LH alone or combination with FSH. **J. Endocrinol.**, v. 111, p. 181-190, 1986.

WALTON, J.S.; McNEILLY, J.R.; McNEILLY, A.S.; CUNNINGHAM, F.J. Changes in concentration of follicle-stimulating hormone, luteinizing hormone, prolactin and progesterone in the plasma of ewes during the transition from anoestres to breeding activity. **J. Endocrinol.**, v. 75, p. 127-136, 1977.

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. **J. Reprod. Fertil.**, v. 66, p. 169- 180, 1982.

WEBB, R.; GAULD, I.K.; DRIANCOURT, M.A. Morphological and functional characterization of large antral follicle in three breeds of sheep with different ovulation rates. **J. Reprod. Fertil.**, v. 87, p. 243-255, 1989.

WHEATON, J.E.; CARLSON, K.M.; WINDELS, H.F.; JOHNTON, L.J. CIDR: A new progesterone-releasing intravaginal device for induction of estrus and cycle control in sheep and goats. **Anim. Reprod. Sci.** v. 33, p. 127-141, 1993.

WHEELER, A.G.; LAND, R.B. Seasonal variations in oestrus and ovarian activity of Finnish Landrace, Tasmanian Merino and Scottish Blackface ewes. **Anim. Prod.** V. 24, p. 363-376, 1977.

WOODY, C.O.; FIRST, N.L.; POPE, A. L. Effects of exogenous progesterone on estrous cycle length. **J. Anim. Sci.** v. 26, p. 139-141, 1967.

ZARCO, L.; STANBENFELDT, G.H.; QUIDE, J.F.; KINDAHL, H.; BRADFORD, G.E. Release of prostaglandin F and the timing of events associated with luteolysis in ewe with oestrous cycles of different lengths. **J. Reprod. Fert.**, v. 83, p. 517-526, 1988.

ZAR, J.H. **Biostatistical analysis**. New Jersey: Prentice-Hall, 4. ed p. 930 1998.

TABELA. 7 - Especificidade do anti-soro de progesterona Coat-A-Count para progesterona, com baixa reatividade cruzada para outros estróides ou drogas terapêuticas.

Componentes	ng/mL	Conc. ³ aparente	Percent. de reatividade cruzada
Progesterona	—	—	100%
Andronestediona	1,000	ND	ND
Corticosteróide	500	4,4	0,9%
Cortisol	5,000	1,7	0,03%
Danazol	25,000	1,5	0,006%
11-Deoxicorticostroide	150	3,3	2,2%
DHE-SO ₄	4,000	0,07	0,002%
20 α -Dihidroprogesterona	1,000	1,9	0,2%
Estradiol	100	ND	ND
17 α -Hidroxiprogesterona	50	1,7	3,4%
Medroxiprogesterona	1,250	3,9	0,3%
Pregnona	100	ND	ND
5 β -Pregnon-3 α -ol-20-one	2,000	1,0	0,05%
5 $\alpha\beta$ -Pregnon-3,20-dione	30	2,7	9,0%
5 β -Pregnon-3,20-dione	60	1,9	3,2%
Pregnenolona	2,400	2,5	0,1%
5-Pregnen-3 β -ol-20-one-sulfato	4,000	2,0	0,05%
Teststerona	2,000	2,1	0,1%

ND: não detectável

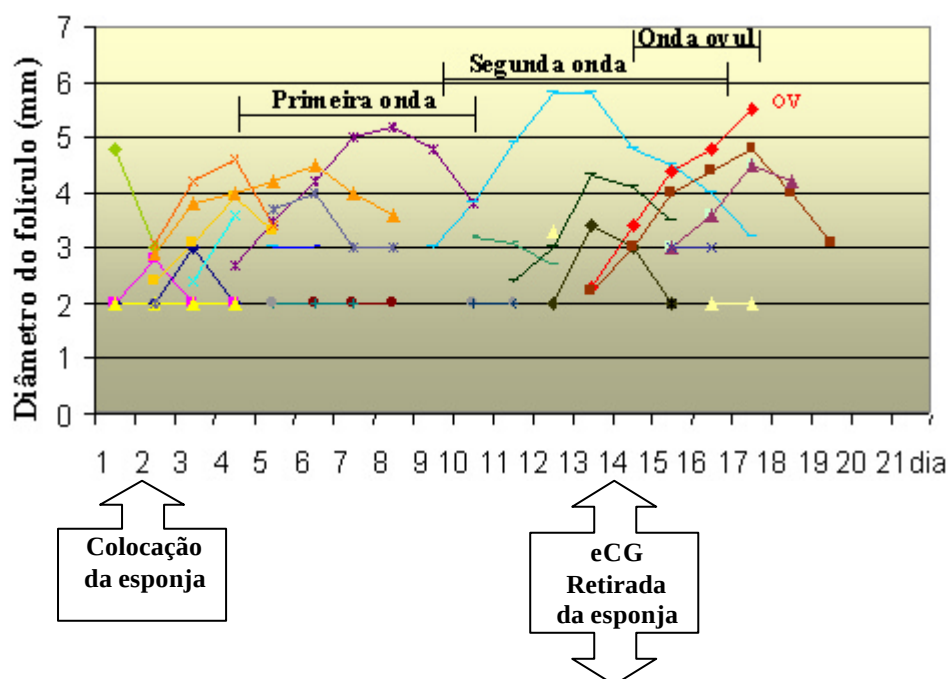


Figura 16 - Padrão de crescimento folicular durante o protocolo de sincronização/indução do estro, da ovelha 8116 do Grupo ccontrole (MAP por 12 dias e na retirada da esponja aplicação de eCG).

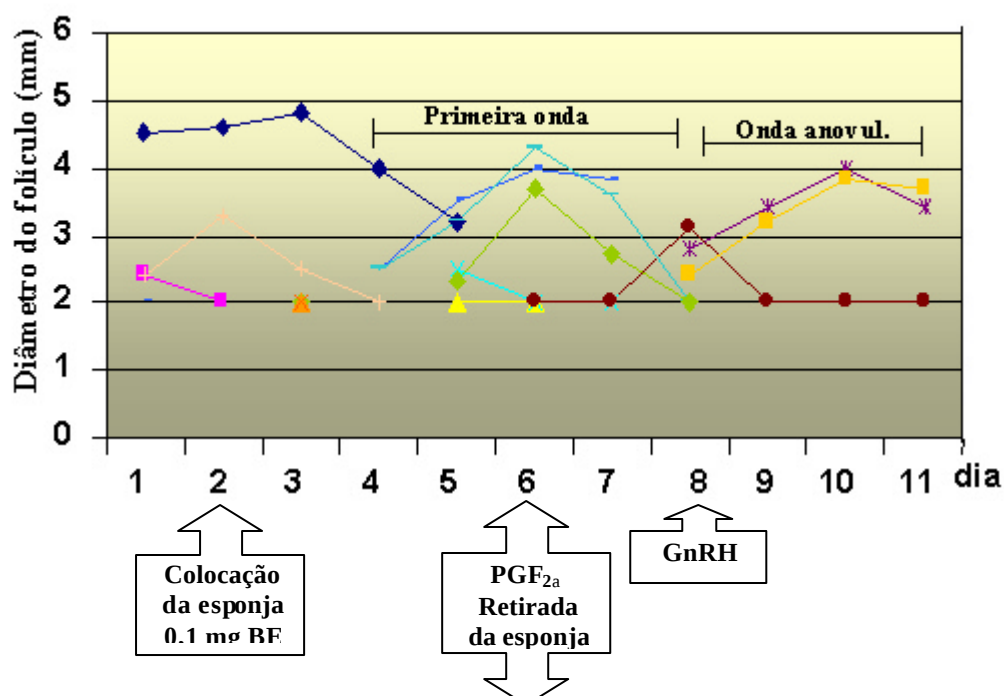


Figura 17 ANEXO III - Padrão de crescimento folicular durante o protocolo de sincronização/indução do estro, da ovelha 9210 do Grupo Experimental I (MAP por 4 dias e 0,1 mg de BE, na retirada da esponja aplicação de PGF_{2α} e 48 h após a RE GnRH)

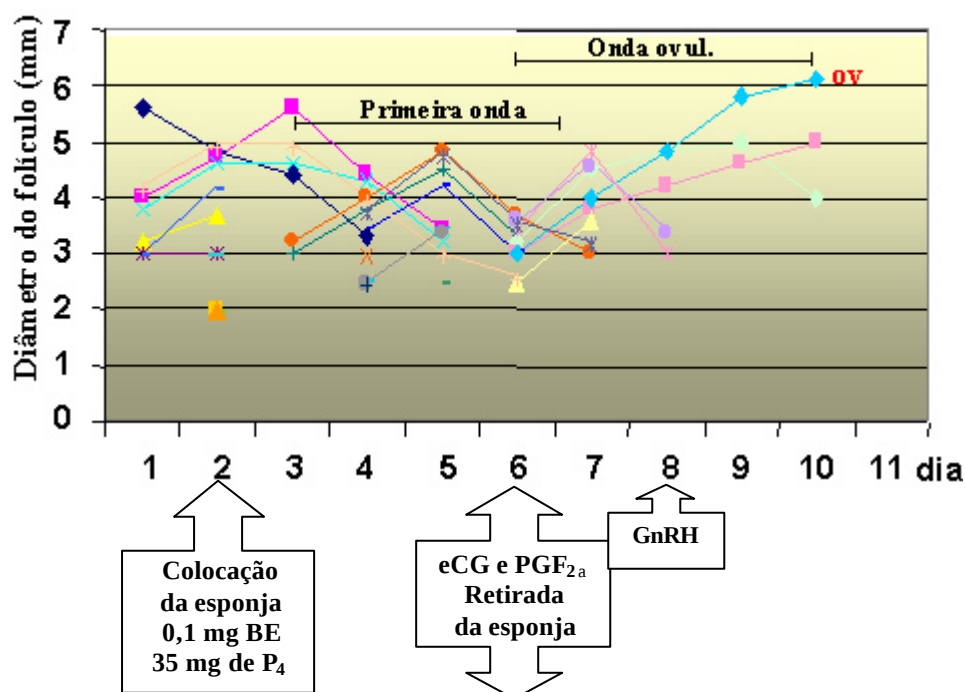


Figura 18 - Padrão de crescimento folicular durante o protocolo de sincronização/indução do estro, da ovelha 3050 do Grupo Experimental II (0,1 mg de BE, 35 mg de P_4 injectável e MAP por 4 dias, na retirada da esponja aplicação de eCG e $PGF_{2\alpha}$ e 48 h após a RE GnRH).

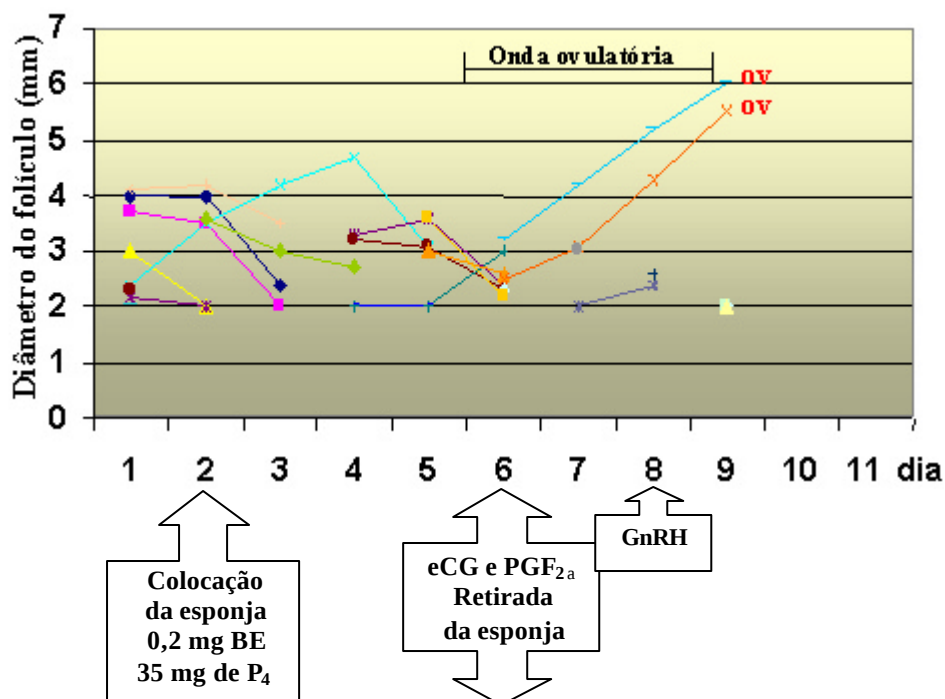


Figura 19 - Padrão de crescimento folicular durante o protocolo de sincronização/indução do estro, da ovelha 9189 do Grupo Experimental III (0,2 mg de BE, 35 mg de P_4 injectável e MAP por 4 dias, na retirada da esponja aplicação de eCG e $PGF_{2\alpha}$ e 56 h após a RE GnRH).

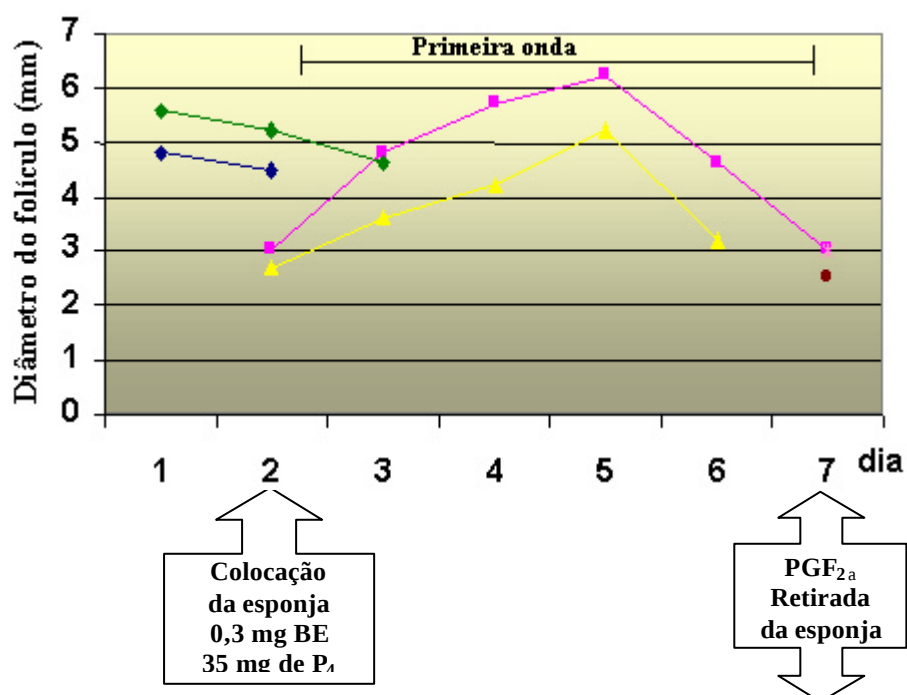


Figura 20 - Padrão de crescimento folicular durante o protocolo de sincronização/indução do estro, da ovelha 2030 do Grupo Experimental IV (0,3 mg de BE, 35 mg de P₄ injectável e MAP por 5 dias, na retirada da esponja aplicação de PGF_{2α}).

Takada, L. *Evaluation of the ovarian answer in the synchronization the estrous and the ovulation using protocol of short-term in Suffolk ewes*. Botucatu, 2004. 152p. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

ABSTRACT

The experiment was conducted under controlled conditions, in the early reproductive season among Suffolk ewes aiming at to study the effectiveness of the protocol of short-term in synchronization of the estrous using estrogen for synchronization of the emergency of the wave follicular and consequently the ovulation. The effects of exogenous hormones in the follicular ovarian growth standards, through ultrasonographic exams, progesterone quantification and observations of the beginning the estrus and ovulation. The females with induced estrus were divided in five groups being the control group MAP for 12 days, and eCG by removal of the sponge. In experimental Group I, the protocol of 0.1 mg of BE and 60 mg MAP sponges for 4 days was used and, by removal of the sponge, PGF_{2α} was applied and 48h after GnRH. In experimental Group II, the protocol of 35 mg IM progesterone, 0.1 mg of BE, MAP sponges for 4 days was used, and by removal of the sponge PGF_{2α} and eCG were applied, and 48 h after GnRH. In experimental Group III, the protocol of 35 mg IM progesterone, 0.2 mg of BE, MAP sponges for 4 days was used, and by removal of the sponge PGF_{2α} and eCG were applied, and 56h after GnRH and in the experimental Group IV, the protocol of 35 mg of injectable progesterone and 0.3 mg of BE, MAP sponges for 5 days was used and, upon removal of the sponge, PGF_{2α} was applied. Ovaries were monitored daily by using ultrasound starting 2 days before initiating the protocol up to the tenth day of ovulation. 4 Blood samples were collected through jugular vein puncture, 10 days before induction, on sponge insertion day on the 5th and 10th day after ovulation in order to determine the plasmatic concentrations of progesterone. Ultrasonography

exams showed that the follicular growth seen during treatment occurred as a wave pattern not showing differences between the first wave in control Group and experimental Group. However, some parameters evaluated in the ovulating wave were statistically different between the groups: the beginning moment for estrus and ovulation in Group I differed the most from the other groups; control Group had a greater synchrony of estrus and ovulation. Doses of estrogen utilized in the experimental groups were not capable of synchronizing the emergence of a new wave in follicular growth. The lack of injectable progesterone and application of eCG in Group I caused this protocol to be less efficacious in induction and synchronization of estrus and ovulation.

Key words: Follicular dynamics; Estrus; Estrogen; Ewe; Ovulation; Synchronization