

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**

**AVALIAÇÃO DOS PROTOCOLOS DE SINCRONIZAÇÃO
DE ESTRO EM OVELHAS, COM DIFERENTES TEMPOS DE
EXPOSIÇÃO AOS PROGESTÁGENOS E DISTINTAS DOSES DE
eCG**

JUNGIRO IWAMURA

Botucatu – SP

Dezembro - 2008

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**

**AVALIAÇÃO DOS PROTOCOLOS DE SINCRONIZAÇÃO DE ESTRO
EM OVELHAS, COM DIFERENTES TEMPOS DE EXPOSIÇÃO AOS
PROGESTÁGENOS E DISTINTAS DOSES DE eCG**

JUNGIRO IWAMURA

**Dissertação apresentada à
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.**

Orientadora: Profa. Dra. Eunice Oba
Co-Orientadora: Profa. Dra. Maria
Inês Lenz Souza

Nome do Autor: Jungiro Iwamura

Título: AVALIAÇÃO DOS PROTOCOLOS DE SINCRONIZAÇÃO DE ESTRO EM OVELHAS, COM DIFERENTES TEMPOS DE EXPOSIÇÃO AOS PROGESTÁGENOS E DISTINTAS DOSES DE eCG

COMISSÃO EXAMINADORA

Profa. Dra. Eunice Oba
Presidente e Orientadora
Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária
FMVZ – UNESP – Botucatu

Prof. Dr. Sony Dimas Bicudo
Membro
Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária
FMVZ – UNESP - Botucatu

Prof. Dr. Wilter Ricardo Russiano Vicente
Membro
Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal
FCAV – UNESP – Jaboticabal

Data da Defesa: 12 de dezembro de 2008.

DEDICATÓRIA

A Deus, pelo dom da vida e por todas as graças concedidas.

Ao meu pai e *in memoriam* a minha mãe, por me proporcionarem mais uma conquista.

Aos meus irmãos, Massae, Leikka e Shiguenori, pela motivação e colaboração na realização deste mestrado.

AGRADECIMENTOS

Ao curso de Pós-graduação da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus de Botucatu-SP e ao Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária (RARV) pela oportunidade de aprimoramento técnico-científico e acadêmico.

À orientadora, professora Dra. Eunice Oba, pelos valiosos ensinamentos técnicos, pela dedicação, compreensão, não medindo esforços para a realização deste trabalho.

À Co-orientadora, professora Dra. Maria Inês Lenz Souza, pela valiosa colaboração sem a qual não seria possível a realização deste trabalho.

Aos professores Dr. Sony Dimas Bicudo e João Carlos Pinheiro Ferreira, pela importante colaboração e sugestões.

Ao colega de profissão, Fernando Pampani, pelo apoio, amizade e ajuda na realização deste trabalho.

Ao Doutorando Rodrigo Bittencourt, pela amizade, colaboração na estatística e ensinamentos que foram compartilhados.

Ao proprietário da fazenda Lago Azul, Daniel César Garrido dos Santos, por ter cedido os animais e seus funcionários para execução deste experimento.

Aos colegas de pós-graduação, Luciana Leal, Jeane, Giovana, pelos valiosos auxílios na condução do experimento.

Aos colegas de pós-graduação, Ian, Nina, Wolff, Caroline e Leandro, pelas sugestões.

Aos funcionários da Fazenda Lago Azul.

A todos os professores, pelo excelente convívio e pelas lições científicas que nos transmitiram.

Aos funcionários da secretaria de pós-graduação, Maria, Denise e Zé Roberto.

A todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram nesta importante etapa de minha formação profissional.

MUITO OBRIGADO!

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Ocorrência de estro em ovelhas Santa Inês Tratadas com MAP e eCG	25
TABELA 2 - Valores médios (\pm dp) das concentrações plasmática de progesterona (ng/mL) em ovelhas Santa Inês tratadas com MAP e eCG, na inserção (H1), remoção da esponja (H2) e no dia da inseminação artificial (H3)	27
TABELA 3 - Taxa de prenhez e cordeiros nascidos em ovelhas Santa Inês tratadas com MAP e eCG	29

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Representação esquemática do protocolo de sincronização do estro em ovelhas da raça Santa Inês no Grupo I	21
Figura 2 -	Representação esquemática do protocolo de sincronização do estro em ovelhas da raça Santa Inês no Grupo II	21
Figura 3 -	Representação esquemática do protocolo de sincronização do estro em ovelhas da raça Santa Inês no Grupo III	21

SUMÁRIO

	página
RESUMO	ix
ABSTRACT	x
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	3
2.1. Foliculogênese	3
2.2. O ciclo estral em ovinos	5
2.2.1. Fase Folicular	5
2.2.2. Fase Luteal	6
2.3 Fármacos utilizados para controle do ciclo estral ovino	7
2.3.1. Progesterona e progestágenos	7
2.3.2. Gonadotrofina Coriônica Equina (eCG)	9
2.3.3. Prostaglandina F ₂ α (PGF ₂ α) e análogos	10
2.3.4. Hormônio Liberador de Gonadotrofinas (GnRH)	11
2.4. Protocolos de sincronização do ciclo estral e da ovulação dos ovinos	11
2.4.1. Protocolos com progesterona/progestágenos	12
2.4.2. Protocolos com prostaglandinas e análogos	15
2.4.3. Protocolos com prostaglandinas e análogos	16
3. OBJETIVOS	19
3.1. OBJETIVO GERAL	19
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
4. MATERIAIS E MÉTODOS	20
4.1. Local e animais	20
4.2. Manejo experimental	20
4.2.1. Experimento I	20
4.2.2. Experimento II	22
4.2.3. Detecção do estro pós-tratamento	22
4.2.4. Inseminação artificial	22
4.2.5. Diagnóstico de gestação	23
4.2.6. Dosagem de progesterona	23
4.2.7. Análise estatística	23

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
6. CONCLUSÕES	33
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34
8. TRABALHO CIENTÍFICO	42

IWAMURA, J. **Avaliação dos protocolos de sincronização de estro em ovelhas com diferentes tempos de exposição aos progestágenos e distintas doses de eCG.** Botucatu, 2008. 58p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

RESUMO

Objetivou-se avaliar protocolos de sincronização do estro e da ovulação, com esponja impregnada de acetato de medroxiprogesterona (MAP), mantida por diferentes períodos (G – grupo - I e GII – 6 dias, GIII e GIV – 9 dias e GV e GVI – 13 dias) e associado a duas dosagens de gonadotrofina coriônica eqüina (eCG, GII, GIV e GVI – 350UI e GIII, GV e GVI – 500UI). Assim, ovelhas da raça Santa Inês (n=53) receberam pessários intra-vaginais de MAP, com administração do eCG no momento da retirada. A inseminação foi realizada 48 horas após a retirada dos pessários, pela via cervical superficial, empregando-se sêmen fresco. A taxa de gestação foi determinada através da ultra-sonografia 60 dias após a inseminação. A progesterona plasmática foi determinada através de radiomunoensaio. As taxas de estro e prenhez nos grupos GI, GII, GIII, GIV, GV e GVI foram, respectivamente, 90% e 30 %; 100% e 33,3%; 100% e 33,3; 20% e 20%; 100% e 37,50 % e 80% e 40%. Foi observada diferença estatística quanto ao número de ovelhas em estro ($P<0,05$), mas a taxa de prenhez entre os grupos foram semelhantes. No momento da retirada do pessário, a concentração de progesterona foi superior ($P<0,05$) para os grupos de nove dias (GII e GV). Conforme os resultados obtidos neste estudo, conclui-se que a dosagem de eCG não influenciou os resultados obtidos e que o protocolo de curta duração pode ser utilizado com eficácia semelhante ao de longa duração, para a sincronização de estro das ovelhas.

Palavras-Chave: Progestágeno, eCG, ovelha, sincronização de estro, inseminação.

IWAMURA, J. **Evaluation of protocols for synchronization of estrus in sheep with different times of exposure to different doses of progestogen and eCG.** 58p. Botucatu, 2008. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

Abstract

The aim was to analyze the estrous and ovulation synchronization's protocols, with medroxyprogesterone acetate (MAP), maintained by different periods (G – group - I and GII - 6 days, GIII and GIV - 9 days and GV and GVI - 13 days) and linked to two doses of equine chorionic gonadotropin (eCG, GII, GIV and GVI - 350UI and GIII, GV and GVI- 500UI). Thus, Santa Ines sheep breed (n=53) received intravaginal pessaries of MAP, with administration of eCG at the time of withdrawal. The insemination was performed 48 hours after the withdrawal of pessaries, through superficial cervical, using fresh sperm. The pregnancy rate was determined by ultrasound 60 days after insemination. The progesterone plasma was determined by radiomunoensaio. The rate of estrus and pregnancy in groups GI, GII, GIII, GIV, GV and GVI were respectively, 90% and 30%; 100% and 33.3%; 100% and 33.3; 20% and 20%; 100% and 37.50% and 80% and 40%. The number of ewes in estrus was a statistical difference in ($P < 0.05$), but the pregnancy rates between the groups were similar. At the time of withdrawal of the pessaries, the concentration of progesterone was higher ($P < 0.05$) for groups of nine days (GII and GV). It was concluded that the strength of eCG did not influence the results and that the protocol of short duration can be used with similar efficacy to the long-term for the synchronization of estrus of sheep.

Key words: Progestagen, eCG, sheep, synchronization of estrus, insemination.

INTRODUÇÃO

1 Introdução

A ovinocultura tem-se destacado no setor agropecuário, proporcionando bom retorno econômico ao empreendedor, sendo uma atividade que apresenta enorme potencial produtivo. Segundo dados preliminares do IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2006), o rebanho ovino efetivo do Brasil, no referido ano, era de 13.856.747 de cabeças, com o maior número de animais na região Nordeste (7.752.139), seguida pela região Sul (3.998.753). Em quarto lugar está a região Sudeste, que passou de 399.925 cabeças em 2001, para 763.617 em 2006. O Estado de São Paulo, com o maior rebanho da região Sudeste (460.746), representa 60,3% desses ovinos (IBGE, 2006). Do ano de 2003, quando o rebanho ovino era de apenas 287.722 animais (IBGE, 2003), até o ano de 2006 (IBGE, 2006), o Estado registrou um avanço de 62,4% no número de cabeças, mais de 20% ao ano, devido ao aquecimento da ovinocultura na região e no Brasil.

Contudo, apesar de o Brasil ser um dos maiores produtores de ovinos do mundo, a sua produção ainda está bem abaixo da demanda do mercado interno de carne e couro dessa espécie. Ainda que o rebanho de ovinos, de um modo geral, esteja mostrando sinais de crescimento, são principalmente as importações que têm crescido nos últimos três anos. Para o abastecimento do mercado interno, o Brasil importou em 2004 cerca de 3,1 milhões de toneladas de carne, saltando para 7,2 milhões de toneladas de carne de ovinos, em 2006. Cerca de 95% das importações provêm do Uruguai que tem conseguido colocar seu produto no País, com qualidade e a um preço relativamente menor do que o praticado no mercado interno (COSTA e ZANELLA, 2006).

Nesse cenário de crescimento da ovinocultura, busca-se uma maior produtividade e menor custo de produção (SIMPLICIO, 2006). A sincronização do estro é uma ferramenta importante, por possibilitar concentração de partos e, conseqüentemente, melhor supervisão durante o nascimento, gastos reduzidos com mão-de-obra, melhorando o manejo dos animais e maximizando a sua produtividade, além de servir como base para diversas biotécnicas reprodutivas, o que eleva a sua importância na reprodução animal. Associada à inseminação artificial, a sincronização do estro possibilita melhorias no manejo reprodutivo do rebanho ovino e promove o desenvolvimento genético do mesmo, através da utilização de reprodutores zootecnicamente superiores. Além disso, reduz o risco de disseminação de enfermidades

no rebanho, já que se tem o controle sanitário do doador de sêmen (BARBAS et al., 2002) e proporciona a obtenção de lotes de animais mais homogêneos para o abate (COSTA et al., 2007).

O protocolo mais utilizado para a sincronização do estro é a associação da progesterona ou progestágenos ao eCG, o que possibilita aumento na resposta ovulatória, na taxa de concepção e no percentual de partos múltiplos por ovulação induzida e reduz o tempo entre a retirada da esponja e o estro (BARRET et al., 2004). No entanto, a taxa de fertilidade está diretamente relacionada ao tempo de tratamento. Nos tratamentos curtos há maior ovulação de folículos jovens e, conseqüentemente, maior fertilidade (BECK et al., 1993; BICUDO e SOUSA, 2003). O contrário ocorre com tratamentos longos, devido à ovulação de ovócitos velhos (VIÑALES et al., 2001; MENCHACA e RUBIANES, 2004).

Assim, o objetivo geral foi avaliar as diferentes durações de protocolos de sincronização de estro em ovinos, utilizando-se progestágeno.

REVISÃO DE LITERATURA

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Foliculogênese

A foliculogênese na ovelha inicia-se na vida fetal e, ao nascimento, já tem-se determinado o número de folículos primordiais nas gônadas (COSTA, 2007). Grande parte desses folículos degenera-se durante o seu desenvolvimento pelo processo conhecido como atresia folicular e, apenas uma pequena parte destes passará pelo processo de maturação e chegará à ovulação (MORAES et al., 2002).

O crescimento folicular dá-se em ondas e, segundo Evans (2003), o número de ondas foliculares por ciclo estral na ovelha é de dois a quatro. Durante seu crescimento, o folículo primordial pode chegar até a ovulação ou sofrer atresia. Geralmente, apenas um folículo chega a ovular (COCCIA et al., 2004), enquanto a grande maioria atrofia (HUNTER et al., 2004i; McNATTY et al., 2007). Uma diminuição nos receptores de FSH (Hormônio folículo-estimulante) nas células da granulosa do folículo pode levá-lo à atresia, pois o FSH estimula a mitose naquelas células (HAFEZ e HAFEZ, 2004). Na passagem do folículo primordial a primário ou pré-antral, fatores de crescimento estão envolvidos (FORTUNE et al., 2004; McNATTY et al., 2007) e, na fase pré-antral, as gonadotrofinas têm uma certa importância no crescimento daquele folículo, porém menor em relação aos fatores de crescimento (WEBB et al., 2004).

Na fase de folículo primário, começam a formar-se receptores de gonadotrofinas, para o LH (Hormônio luteinizante) na teca e para FSH na granulosa, necessários para entrar na fase dependente de gonadotrofinas. Nesta fase, sob estímulo do FSH, as células da granulosa convertem os andrógenos, produzidos nas células da teca pela ação do LH, em estrógenos (FORTUNE et al., 2004).

Com a formação do antro, pela atuação do estrógeno e FSH nas células da granulosa, os folículos entram em rápido período de crescimento e há uma maior dependência ao FSH, com mais receptores sendo formados pela atuação do estrógeno, ficando mais susceptíveis à atresia (MOURA, 2000).

O FSH é responsável pelo início de uma nova onda folicular e pelo recrutamento de novos folículos (GINTHER et al., 1995; FORTUNE et al., 2001). Duggavathi et al. (2005), pesquisando se existe um ritmo no pico de FSH em ovelhas, com a onda de crescimento folicular, concluíram que o padrão de crescimento do folículo parece não depender do ritmo daquele hormônio. No período de anestro, de acordo com Evans

(2003), existem flutuações na concentração de FSH durante o desenvolvimento folicular. Na fase luteal, ocorre o crescimento do folículo sob a dependência do FSH (PICAZO e LÓPEZ-SEBASTIAN, 1995).

A utilização de suplementação de progesterona e estradiol, durante 20 dias, em ovelhas, determinou inibição da emergência da onda folicular pela inibição do pico de FSH e redução da reserva de folículos menores (2 – 3 mm - milímetro) (BARRET et al., 2007). Ao utilizar implante de estradiol houve inibição no pico de FSH e na emergência de uma nova onda mas, ao fornecer FSH (ovino), recomeçou novo crescimento (BARRET et al., 2006). No anestro, Meikle et al. (2001) estudaram a ação do estradiol naquela espécie, com três grupos experimentais: Grupo I – controle – com solução salina; grupo II uma aplicação de estradiol (1 µg/kg); no grupo III, duas aplicações de estradiol, com a segunda dose 24 horas após a primeira, constatando-se que esse tratamento não induziu a ovulação, mas provocou a regressão dos folículos grandes, sincronizando uma nova onda de crescimento folicular.

Para testar a dominância do maior folículo sobre os outros em ovelhas, Evans (2003) eliminou esse folículo e observou a emergência de uma nova onda folicular. Ao eliminar todos os folículos, nos dias quatro e cinco depois do estro, iniciou-se uma segunda onda folicular com a liberação de FSH, indicando o efeito do folículo dominante sobre os outros. Esta dominância existe pela atuação de fatores intraovarianos sobre os seus subordinados (GONZALEZ-AÑOVER et al., 2007)

Sob ação dos hormônios FSH, estrógeno, LH e por fatores parácrinos e autócrinos produzidos localmente, como fator de crescimento semelhante à insulina (IGF), proteínas de união ao IGF (IGFBP), inibina e ativina no folículo antral, começam a formar-se receptores para LH nas células da granulosa, enquanto os de FSH diminuem (GINTHER et al., 1999), pela atuação da inibina, a qual controla a sua secreção, mas o contrário não acontece (McNEILLY et al., 1989; CAMPBELL et al., 1991). O folículo torna-se, progressivamente, mais dependente ao LH e começa a ser responsável pela secreção de estrógeno (RICHTER et al., 2002; BERLINGUER, 2007). De acordo com Campbell et al. (1990), antes do estro o folículo ovulatório secreta androstenediona e estradiol, em resposta à baixa amplitude no pulso de LH (1 – 2 ng/mL) e, depois do estro, o pulso atinge 20 a 100 ng/mL até cessar abruptamente, pelo aumento da progesterona. Dobson et al. (1997) administrando em ovelhas um antagonista de GnRH (Hormônio liberador de gonadotrofina) e o hormônio LH de forma contínua, isto é, por

várias horas, mimetizando o pulso de LH, na dose de 1 ng/mL por 8 dias, observaram que o folículo respondeu, nesse período, secretando estrógeno e androstenediona até declinar. Pelas pesquisas feitas por Campbell et al. (2007), o desenvolvimento do folículo ovulatório não requer pulsatilidade de LH.

Vinte e quatro horas antes da ovulação, o oócito reinicia a meiose que havia parado na profase I e termina após a formação do primeiro corpúsculo polar (LEAL e ADONA, 2006) e, 32 horas após o início do estro, ocorre a ovulação (SOUZA et al., 1994).

2.2 O ciclo estral em ovinos

A ovelha inicia a sua fase reprodutiva em torno dos seis meses de idade, com o aparecimento do primeiro estro que, na maioria das vezes, é infértil por não ocorrer ovulação. A ocorrência da primeira ovulação é influenciada pela raça, idade, peso, estação do ano e nutrição (GRANADOS et al., 2000; PAPACHRISTOFOROU et al., 2000).

O ciclo estral é regulado por mecanismos endócrinos e neuroendócrinos, relacionados principalmente com os hormônios hipotalâmicos, as gonadotrofinas e os esteróides (HAFEZ e HAFEZ, 2004). A secreção de hormônios gonadotróficos e a ocorrência do comportamento sexual durante o ciclo estral das ovelhas são conseqüências da interação entre os mecanismos regulatórios de vários hormônios ovarianos (KARSCH et al., 1980).

O ciclo estral da ovelha tem duração de 17 ± 2 dias e divide-se em uma fase luteal, que se estende do dia 2 (estro = 0) até o dia 13, e uma fase folicular, que compreende desde o dia 14 até o dia 1 (RUBIANES, 2000a).

2.2.1 Fase Folicular

A fase folicular dura cerca de 20% do ciclo estral e é o período compreendido entre a luteólise e a ovulação (MORELLO e CHEMINEAU, 2008). Esta fase é caracterizada pelas alterações hipotalâmicas, com a diminuição da retroalimentação negativa do estradiol e aumento na liberação dos pulsos de LH (KINDER et al., 1995). Esta fase apresenta dois períodos: o proestro e o estro.

O proestro tem duração de dois a cinco dias e é iniciado quando a concentração dos níveis plasmáticos de progesterona diminuem abaixo de 1ng/mL, como consequência da secreção de prostaglandina uterina, que provoca a luteólise (MORELLO e CHEMINEAU, 2008). A partir daí há um incremento na secreção das gonadotrofinas hipofisárias, que promovem o crescimento folicular e, conseqüentemente, estimulam a secreção e liberação de estrógeno na corrente sanguínea.

As concentrações séricas de estrógeno aumentam progressivamente e estão associadas com alterações nos órgãos reprodutivos e com o aumento no suprimento sanguíneo no trato genital. As ovelhas não apresentam sinais evidentes durante o proestro, entretanto, com a aproximação do estro, aparecem os sinais como vulva intumescida, vestíbulo hiperêmico, e as glândulas da cérvix e da vagina produzem secreção serosa semelhante a uma descarga vaginal (JAINUDEEN e HAFEZ, 1993). É importante citar que, para que o estradiol desencadeie, na ovelha, o comportamento de estro, é necessário um período de exposição prévio da fêmea à progesterona (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

A duração do estro varia de 20 a 48 horas na ovelha (LINDSAY, 1991; MORAES et al., 2002). O pico de LH, que inicia em sincronia com o começo do estro, resulta em dois fenômenos independentes: a luteinização das camadas da parede folicular e a ruptura do folículo ovulatório, culminando com a ovulação (MORAES et al., 2002). Esta é espontânea e ocorre no final do estro, cerca de 24 a 27 horas após o início deste. Ovulações duplas e triplas são comuns, e ocorrem dentro de duas horas após a primeira ovulação (LINDSAY, 1991).

2.2.2 Fase Luteal

O início desta fase ocorre com o rompimento do folículo ovulatório e a formação de um corpo lúteo que começa a secretar quantidade significativa de progesterona, um ou dois dias pós-ovulação, alcançando sua função plena após cinco dias (MORAES et al., 2002).

À medida que o corpo lúteo evolui, as concentrações de progesterona (P₄) no sangue periférico, começam a aumentar, no terceiro dia após a ovulação, quando um novo corpo lúteo inicia a sua atividade. As concentrações máximas foram observadas

nos dias 10 – 12 (5 ng/mL – nanograma por mililitros) (FOSTER et al., 1975) e mantidas até a luteólise nos dias 14 – 15 (HAUGER et al., 1977). Norris et al. (1989) encontraram concentrações plasmáticas de progesterona nas ovelhas, no terceiro dia, de $1,79 \pm 0,23$ ng/mL, as quais atingiram sua máxima concentração de $4,90 \pm 0,50$ ng/mL, no dia 12 do ciclo, sendo que ainda houve uma concentração média de P_4 , desde o quarto ao décimo quarto dias de $5,11 \pm 2,02$ ng/mL, enquanto que, nos outros dias do ciclo, as concentrações mantiveram-se abaixo de 2 ng/mL. Já González-Reyna et al. (1991), trabalhando com ovelhas deslanadas, encontraram o pico de P_4 sérica no nono dia do ciclo estral com um valor de 1,8 ng/mL. A partir desse momento, as concentrações diminuíram significativamente para atingirem valores abaixo de 1 ng/mL, no dia 17. Com o aumento da concentração de progesterona, há uma diminuição da frequência e um aumento da amplitude no pulso de LH, sem o crescimento dos folículos maiores. Com a redução dos níveis de progesterona, observa-se o efeito contrário (McNEILLY et al., 1987). Este evento ocorre devido à atuação inibitória da progesterona sobre a liberação tônica e pulsátil de GnRH (ROBINSON et al., 2000).

De acordo com Goodman et al. (1981), a concentração de progesterona sérica na dose de 1 ng/mL, em ovelhas, inibiu a liberação de LH apenas na presença de altos níveis de estrógeno e, para Caraty e Skinner (1999), a inibição da secreção do LH depende desses dois hormônios.

A progesterona produzida pelo corpo lúteo inibe a ocorrência da ovulação devido à retroalimentação negativa na secreção de LH, sem afetar a liberação de FSH (PELUSO, 2006). Desta forma há o crescimento folicular até o momento de desvio do mesmo (GINTHER et al., 1995). Caso neste momento ocorra a suplementação artificial com LH, poderá ocorrer a ovulação desse folículo (MORAES et al., 2002), com probabilidade de formação de um corpo lúteo anormal.

O final da fase luteal acontece pela presença do fator luteolítico, a prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$), produzida pelo endométrio durante todo o ciclo estral, mas com sua concentração máxima atingida no momento pré-luteólise (COSTA, 2007).

2.3 Fármacos utilizados para controle do ciclo estral ovino

Desde o início da década de 60, um dos grandes avanços no manejo reprodutivo de ovinos foi o uso dos progestágenos e/ou progesterona (ROBINSON, 1964) que atuam bloqueando a liberação de LH (CONTRERAS-SOLES et al., 2008). Depois,

surgiram outros hormônios utilizados para o controle do ciclo estral, tais como a eCG, a prostaglandina e o GnRH. A eCG possui funções de FSH e LH. Nas pesquisas realizadas por Liu et al. (2007), durante o uso da eCG associada com progestágenos em ovelhas ocorreram modificações na estrutura do folículo antral, com aumento do seu crescimento e alteração na atividade secretória de estrógeno.

O segundo hormônio citado é a prostaglandina, sintética ou natural, com funções luteolíticas. Ele atua no corpo lúteo funcional (ROSADO et al., 1998), interrompendo a fase gestacional do ciclo estral e iniciando um novo ciclo (HERRERA et al., 1990).

O terceiro hormônio é o GnRH, que atua na liberação de LH e possui bons resultados em protocolos para sincronização da ovulação, podendo contribuir para os programas de inseminação artificial em tempo fixo (MENCHACA e RUBIANES, 2004).

2.3.1 Progesterona e progestágenos

A progesterona é o progestágeno natural mais conhecido, um hormônio esteróide produzido pelo corpo lúteo, pela placenta e pelas glândulas adrenais (HAFEZ e HAFEZ, 2004), e muitos análogos sintéticos têm sido desenvolvidos através da alteração da sua estrutura sintética. A progesterona e os progestágenos são amplamente utilizados para a sincronização do estro em ovelhas (RUBIANES et al., 1997) e os compostos mais empregados são medroxiprogesterona, fluorogestona (FGA), melengestrol, norgestomet, aliltrembolone e proligestone (BENITES, 1999).

Atualmente, existem no mercado dois tipos de progesterona, a progesterona natural e a sintética, aplicada pelas vias subcutânea (implantes ou injeção) ou intramuscular, pessário intravaginal e via oral (MENEGATOS et al., 2003). Das progesteronas sintéticas, o FGA e o MAP, impregnados na esponja, são as mais utilizadas para o controle do ciclo estral ovino, sendo o FGA 25 vezes mais potente que a progesterona natural (ROBINSON, 1964). Das fontes de progesterona natural, tem-se o CIDR (*Controlled internal drug release dispenser*), um dispositivo intravaginal com 0,3 mg de progesterona que é liberada e absorvida na mucosa vaginal e lançada na corrente sanguínea, sendo eficiente para bloquear a liberação de gonadotrofinas (WHEATON et al., 1993). Esse dispositivo causa menos vaginite que as esponjas intravaginais (RUBIANES, 2000a).

Os progestágenos atuam inibindo a secreção hipofisária de LH (HAFEZ e HAFEZ, 2004). A utilização destes compostos tem como objetivo aumentar seu nível plasmático, simulando uma fase luteínica artificial, diminuindo-o posteriormente, desencadeando uma fase estrogênica e promovendo, conseqüentemente, o estro e a ovulação (BENITES, 1999, RUBIANES, 2000b). Entretanto os progestágenos podem causar uma assincronia entre estro e ovulação, dependendo do estado de desenvolvimento do folículo no momento de sua retirada (ROCHE et al., 1999), levando o folículo ovulatório a crescer em diâmetro e resultar numa baixa fertilidade (GONZALEZ-BULNES et al., 2005; BERLINGUER et al., 2007). Para Flynn et al. (2000), com o uso da esponja com progesterona por 14 dias, em ovelhas, verifica-se uma diminuição da liberação da progesterona pela esponja até o dia 14, já a partir do segundo dia (HUSEIN et al., 2002), com efeito inibitório deste hormônio sobre a frequência do pulso de LH, havendo, no entanto, o crescimento do folículo em diâmetro. Apesar da ovulação destes folículos envelhecidos, Evans (2003) ressalta que os ovócitos produzidos são menos competentes para gerar embriões de qualidade em relação aos folículos novos, como acontece nos protocolos curtos (BECK et al., 1993; BICUDO e SOUSA, 2003). Viñoles et al. (2001) demonstraram que o comprimento do tratamento com progestágeno, em ovelhas, determina a duração do crescimento do folículo ovulatório, a qual foi inversamente proporcional à taxa de prenhez das ovelhas.

2.3.2 Gonadotrofina Coriônica Eqüina

A gonadotrofina coriônica eqüina, originalmente chamada gonadotrofina sérica da égua prenhe (PMSG) foi descoberta a partir de experiências com ratos imaturos, nos quais o sangue de éguas prenhas produzia maturidade sexual. A eCG foi uma das primeiras gonadotrofinas comercialmente disponíveis na indústria da superovulação dos animais domésticos (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

O protocolo de sincronização do estro e da ovulação em ovelhas mais utilizado rotineiramente envolve as esponjas intravaginais com progestágenos, mantidas por 12 a 14 dias, associadas à eCG (ZARKAWI, 2001). De acordo com Evans (2003), o uso dessa associação interfere no desenvolvimento, na idade e no número de folículos.

Ustuner et al. (2007) estudaram o momento da aplicação da eCG na sincronização de estro de ovelhas utilizando protocolo com FGA em 68 ovelhas. A

aplicação da eCG (300 UI) foi realizada 24 horas antes da retirada da esponja, no momento da retirada e 24 horas depois da retirada da esponja, sem resultar em nenhuma diferença estatística nas taxas de prenhez e de nascimento.

Para Cline et al. (2001) e Timurkan et al. (2005), a eCG apresenta bons resultados de sincronização do estro e da ovulação, na associação com os progestágenos e com a inseminação artificial em tempo fixo. Porém o uso repetido da eCG pode causar a formação de anticorpos anti-eCG e levar a uma baixa fertilidade, devido aos efeitos negativos sobre a resposta ovulatória e estro tardio (MAUREL et al., 2003).

2.3.3 Prostaglandina F₂α e análogos

As prostaglandinas foram isoladas, inicialmente, de glândulas sexuais acessórias e receberam essa nomenclatura pela sua associação com a glândula prostática, sendo que quase todos os tecidos orgânicos podem secretá-las. A PGF₂α é o agente luteolítico natural associado ao final da fase luteínica do ciclo estral (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

Com a caracterização da PGF₂α como agente luteolítico foram desenvolvidos diversos análogos sintéticos, de custo reduzido e com o benefício de poderem ser usados em doses menores com efeitos satisfatórios (RUBIANES, 2000b).

A aplicação de PGF₂α ou seus análogos durante a fase luteal do ciclo estral resulta em luteólise e conseqüente queda nas concentrações plasmáticas de progesterona. Isso permite o incremento da frequência de pulsos da secreção tônica de LH e aumento da secreção de FSH, levando ao crescimento folicular e ovulação (MORELLO e CHEMINEAU, 2008). De acordo com Menchaca et al. (2004), um dos maiores empecilhos para o uso dos protocolos com prostaglandina é saber se a fêmea encontra-se na fase responsiva à prostaglandina, ou seja, com um corpo lúteo de, no mínimo, três dias (RUBIANES et al., 2003).

A eficácia da PGF₂α depende do estágio de funcionalidade do corpo lúteo. Como no início do ciclo o corpo lúteo ainda se encontra em formação, a PGF₂α apresenta-se inefetiva (RUBIANES, 2000b). Desta forma a luteólise pode ser induzida com uma única aplicação de análogos da PGF₂α, desde que a fêmea se encontre do terceiro dia do ciclo estral em diante, já que nos ruminantes o corpo lúteo começa a organizar-se logo após a ovulação, tornando funcional após um ou dois dias, com

função plena após cinco dias (MORAES et al., 2002; RUBIANES et al., 2003), quando as ovelhas se encontram responsivas à ação da $PGF_2\alpha$ (BENITES, 1999).

2.3.4 Hormônio Liberador de Gonadotrofinas

O GnRH liga-se aos receptores das células da adeno-hipófise estimulando a retenção de cálcio, a ativação da proteína quinase C e o aumento na mobilidade do inositol, resultando em síntese e secreção do LH e/ou FSH (HAFEZ e HAFEZ, 2004). A ação do GnRH e seus efeitos na liberação das gonadotrofinas depende da dose, via de administração, estágio do ciclo estral e frequência das aplicações. Os níveis máximos de FSH e LH são atingidos por volta de uma a duas horas após a administração do GnRH e declinam em quatro a seis horas. A presença de estrógenos aumenta a capacidade gonadotrófica do GnRH e a progesterona a diminui. Os análogos sintéticos podem aumentar a sua ação (BENITES, 1999).

A adição de GnRH nos protocolos de sincronização tem o objetivo de sincronizar a ovulação (MENCHACA e RUBIANES, 2004), facilitando a implementação da inseminação artificial em tempo fixo (IATF). Segundo Bartlewski et al. (2004), um dos problemas do uso de GnRH é o momento da sua aplicação. Takada (2004) observou que a aplicação de 50 μ g de GnRH não foi eficaz para a indução da ovulação devido à falta de sincronia do estro e do tamanho dos folículos no momento da administração do GnRH. Isso ocorreu porque nem todos os folículos estavam aptos para responder ao pico de LH estabelecido com a administração do GnRH.

2.4 Protocolos de sincronização do ciclo estral e da ovulação dos ovinos

O objetivo da sincronização do estro consiste em encurtar ou prolongar o ciclo estral, através da utilização de hormônios ou associações hormonais que induzam a luteólise ou prolonguem a vida do corpo lúteo, de forma que um grupo de animais entre em estro e/ou ovule durante um período de tempo ou até mesmo num único dia (MORAES et al., 2002).

A sincronização da ovulação permite inseminar as ovelhas em horário pré-fixado ou em um único dia (MORAES et al., 2002), devidos aos hormônios utilizados causarem a indução do pico pré-ovulatório de LH e, conseqüentemente, a ovulação em determinado momento (VEIGA-LOPEZ et al., 2008).

2.4.1 Protocolos com progesterona/progestágenos

Avaliando a eficácia de diversas fontes exógenas de progestágenos, em um protocolo de sincronização de 12 dias em ovelhas da raça Karakul, no período de anestro, Hasemi et al. (2006) usaram CIDR-G[®] (0,3 mg), MAP (60 mg) e uma progesterona à base de óleo, administrada pela via intramuscular no segundo dia (20 mg). Na retirada da esponja e/ou do dispositivo e no décimo segundo dia de protocolo com progesterona à base de óleo, foram administradas 500 UI (unidade internacional) de eCG. O intervalo entre o fim do tratamento e o começo do estro foi maior com o uso da progesterona com óleo, 51,4 horas \pm 10, quando comparado ao CIDR-G[®] (30,1 horas \pm 7,6) e ao MAP (29,6 horas \pm 5,6). Com o CIDR-G[®] e a esponja, 93,3% e 100% apresentaram estro, respectivamente, e 80% com progesterona à base de óleo, mostrando que o protocolo com CIDR-G[®] e o MAP associado com eCG mostraram-se mais eficientes para sincronizar o estro. Husein et al. (2008) alcançaram resultados semelhantes com o CIDR-G[®] e o MAP por 12 dias. Nesse estudo, houve o fornecimento de 10 mg de MAP pela via oral e 25 mg de progesterona intramuscular, respectivamente, para as ovelhas com CIDR-G[®] e MAP, 24 horas antes da retirada dos pessários, obtendo-se 100% de animais em estro nos dois protocolos, 72 horas pós-tratamento. O alto índice de manifestação de estro (92,9%) também foi observado por Simonetti et al. (1999), utilizando 300 ovelhas da raça Merino, com o uso do MAP (60 mg) por 14 dias, associado a 375 UI de eCG na retirada da esponja.

Stow et al. (2002), testando o CIDR (0,3 mg) e a esponja intravaginal (30 mg FGA) por 10 dias, em ovelhas da raça Suffolk e cruzadas, verificaram um intervalo entre retirada da esponja/dispositivo e estro de 53,2 e 53,4 horas, respectivamente, sem diferenças entre os dois tratamentos, demonstrando a eficácia de ambos os protocolos em sincronizar o estro das ovelhas.

Administrando, durante a estação de monta, implantes de progesterona pela via subcutânea e esponjas intravaginais impregnadas com MAP por 14 dias e, na retirada destes, 500 UI de eCG, Menegatos et al. (2003) demonstraram diferenças na apresentação de estro (45,3 \pm 2,7 horas para implante e 21,5 \pm 1,2 horas para esponja). Os autores concluíram que a via de aplicação da progesterona pode afetar o momento de apresentação de estro.

Com a demonstração de que maiores períodos de manutenção da fonte de progestágeno exógeno, no programa de sincronização do estro, podem promover baixos índices de fertilidade das ovelhas (VIÑALES et al., 2001), alguns trabalhos surgiram com o objetivo de estudar protocolos mais curtos de sincronização. Assim, Ustuner et al. (2007) testaram o protocolo de seis dias (ST- curta duração) versus 12 dias (LT- longa duração), com esponja contendo FGA em 68 ovelhas. Os autores verificaram um maior número de ovelhas com estro até 140 horas depois da remoção da esponja, nos grupos de longa duração (88,2% - porcentagem) em relação ao de curta duração (77,1%), com taxas de prenhez de 35,7% e 31%, e nascimento de 32,1% e 28,56%, respectivamente, nos grupos de curta e longa duração com inseminação pela via intracervical. Neste estudo não foram observadas diferenças estatísticas nas taxas de prenhez e de nascimento obtidas entre os tratamentos, somente na apresentação de estro. Entretanto Viñales et al. (2001) alcançaram índices de prenhez superiores ($P < 0,03$) para os tratamentos curtos, 6 dias, (87%) de sincronização, quando comparados ao tratamento longo, 12 dias (63%).

Husein et al. (2007) também avaliaram o efeito do tempo de tratamento com progestágenos e da administração de eCG sobre a taxa de fertilidade em ovelhas no anestro estacional e cobertas por monta controlada. Para tanto desenvolveram quatro protocolos de sincronização do estro: o primeiro com FGA (40 mg) mais 500 UI de eCG no momento da retirada da esponja, dividido em dois grupos, o L (longa) 1 com a permanência da esponja por 12 dias e o S (curta) 2, com a manutenção da esponja por 4 dias. O segundo protocolo utilizou FGA (40 mg), sem aplicação do eCG, por 12 (L3) e 4 (S4) dias. Os resultados mostraram 66% de fêmeas gestantes no protocolo L3 e 50% no S4 ao primeiro serviço. Quando foi administrada a eCG na retirada da fonte de progestágeno houve uma melhora nos índices de prenhez de 91% e 75%, respectivamente, para os grupos L1 e S2. Os autores concluíram que o protocolo de quatro dias pode substituir o de 12 dias, desde que seja associado à eCG.

Simonetti et al. (2002), em experimento para verificar a eficiência da dose de eCG, 400 UI (GI) e 350 UI (GII), administrada no momento da retirada da esponja (MAP, 60mg por 14 dias) e o efeito do número de inseminações (pela via cervical com sêmen fresco diluído com tris-gema-frutose), obtiveram taxas de parição de 76,47% e 54,32% e prolificidade de 1,45 e 1,36 nos grupos GI e GII, respectivamente, em ovelhas Merino adultas. Em relação ao número de inseminações, a taxa de parição foi 67% e

42% e prolificidade 1,46 e 1,33, em uma única (7 a 11 horas após a detecção do estro) e dupla inseminações (3 a 4 e 8 a 9 horas após a detecção do estro), respectivamente. Nesse estudo observou-se que a taxa de parição não foi afetada pelo número de inseminações, mas foi influenciada pela dose de eCG, visto que o grupo de ovelhas submetido à maior dose de eCG demonstrou os melhores índices, sendo o número de cordeiros nascidos maior em relação à menor dose de eCG, 65 e 44, respectivamente. A prolificidade não foi afetada pelas variáveis testadas.

Rodrigues et al. (2004), avaliando a eficiência da associação do FGA mais eCG por 14 dias, em diferentes dosagens (0, 200, 300 e 400 UI) e somente com o FGA, por 14 dias, para sincronizar o estro e o efeito das doses de eCG (0, 200, 300 e 400 UI) sobre a taxa de estro e ovulação, conseguiram um maior percentual de ovelhas em estro na associação de progestágeno com eCG, 98 a 100 %, em relação ao protocolo com FGA, 36 %. Não houve diferenças estatísticas na taxa de ovulação e estro, pelo efeito das doses de eCG.

Com o objetivo de avaliar a melhor fonte de progestágeno e o momento ideal e a via de administração de eCG (300 UI) para a sincronização de ovelhas, Zeleke et al (2005) utilizaram os seguintes grupos experimentais: Grupo I, esponja impregnada com MAP (60 mg); Grupo II, FGA (40 MG), ambos por 14 dias; Grupo III, administração do eCG 24 horas antes da retirada da esponja; Grupo 4, administração de eCG no momento da retirada da esponja; Grupo V, administração 24 horas depois da inserção; Grupo VI, administração do eCG pela via subcutânea e Grupo VII, por via intramuscular. Após a inseminação transcervical das ovelhas, 53 a 55 horas após a retirada da esponja, com sêmen fresco, observaram as seguintes taxas de prenhez e de estro: GI – 70,6%, 98%; GII – 74%, 96%; GIII – 78%, 92,3%; GIV – 75%, 94,6%; GV – 70,2%, 98,2%; GVI – 78,8%, 98,8%; GVII – 70,1; 95,4%. Os autores concluíram que o MAP e FGA foram igualmente eficientes para sincronização do estro das ovelhas e a aplicação do eCG 24 horas antes e no momento de retirada da esponja apresentou melhor resultado de fertilidade, em relação a 24 horas após. A via subcutânea de administração de eCG apresentou melhor índice de fertilidade e uma menor prolificidade, comparado com a via intramuscular.

Rabassa et al. (2007), inseminando ovelhas da raça Corriedale, com sêmen congelado, 52 a 60 horas após a retirada da esponja com MAP (11 dias) e aplicação de 500 UI de eCG, pelas vias cervical superficial, cervical média, cervical profunda e

intrauterina, obtiveram 25%, 43,7%, 41,7% e 50%, respectivamente. Entretanto Padilha et al. (2007), inseminando pela via cervical superficial, 55 horas após a retirada da esponja com MAP por 14 dias, e na retirada, aplicação de 500UI de eCG, com sêmen refrigerado diluído com água de côco, alcançaram 50% de taxa de prenhez e 1,4 de prolificidade.

Nas pesquisas feitas por Cardwell et al. (1998), a ocorrência da ovulação deu-se 70 a 80 horas após a retirada do implante com norgestomet por 10 dias, mais 500 UI de PMSG na sua retirada. Porém Takada (2004), com o protocolo de 12 dias com a esponja contendo MAP e, na retirada, aplicação de 400 UI de eCG, observaram que as ovulações ocorreram num intervalo de 60 e entre 60 e 72 horas após a retirada do dispositivo intravaginal de 25% e 75%, respectivamente.

Estudando a eficácia da utilização do FSH como uma alternativa à eCG na sincronização do estro, em ovelhas das raças Chios e Berrichon, associado ao uso de pessários impregnados com progestágeno, Boscos et al. (2002) verificaram que, no começo da estação reprodutiva, as doses de 5 e 10 UI de FSH foram mais efetivas para a sincronização e indução do estro, em relação ao uso de 400 UI de eCG (62,5 *versus* 33,3%). Entretanto, no meio da estação reprodutiva, o FSH foi igualmente efetivo em relação à eCG, na taxa de manifestação de estro (91,3 *versus* 90,9%), prenhez (78,4 *versus* 68,9%) e prolificidade ($1,3 \pm 0,2$ *versus* $1,1 \pm 0,2$).

2.4.2 Protocolos com prostaglandinas e análogos

De acordo com Menchaca et al. (2004), uma limitação ao uso dos protocolos com prostaglandina é ter-se o conhecimento do começo do estro e do momento da ovulação, o que pode ser um dos motivos dos protocolos tradicionais com intervalo de 10 dias ou mais terem uma baixa taxa de prenhez. Desta forma, esses autores testaram um intervalo de sete dias entre as aplicações de um análogo da prostaglandina (Delprostenate® – 160 mg) em 436 ovelhas nulíparas e múltíparas, divididas em três grupos, de acordo com o momento das inseminações, realizadas pela via cervical com sêmen fresco. Os momentos das inseminações foram de 42 (n - número =152), 48 (n=120) e 54 horas (n=164) depois da segunda aplicação da prostaglandina. As taxas de prenhez alcançaram 37%, 26% e 23%, respectivamente. A maior incidência de estro entre os animais ocorreu entre 25 a 48 horas, 80%.

Devido ao baixo índice de fertilidade obtido com a utilização apenas da $\text{PGF}_2\alpha$ para a sincronização das ovelhas, alguns autores têm sugerido a associação de hormônios que auxiliem na indução da ovulação aos protocolos de sincronização. Desta forma, bons índices de fertilidade foram obtidos por Ataman et al. (2006) utilizando a $\text{PGF}_2\alpha$ em duas aplicações intercaladas, por nove dias, e administração de 400 UI de eCG, 48 horas após a segunda dose. Os resultados de observação do estro, prenhez, taxa de nascimento e prolificidade foram de 86,6%, 84,6%, 81,8% e 1,66, respectivamente.

A prostaglandina pode ser associada aos tratamentos de curta duração com progestágenos com a finalidade de acelerar a ovulação, evitando que ocorra o atraso na mesma, como quando esses tratamentos são realizados sozinhos (THIMONIER, 1981). Com a utilização da associação de esponjas intravaginais contendo 60 mg de MAP por cinco dias e uma aplicação de 125 μg (micrograma) de cloprostenol na retirada da esponja, Beck et al. (1993) obtiveram 100% manifestação de estro das ovelhas.

2.4.3 Protocolos com Hormônio Liberador de Gonadotrofinas

Com o intuito de avaliar a eficácia da associação entre $\text{PGF}_2\alpha$, GnRH e eCG para a sincronização do estro de ovelhas, Ataman et al. (2006), utilizando 30 ovelhas adultas da raça Karaman, na estação reprodutiva, acasaladas por monta natural, testaram dois grupos experimentais: Grupo I com GnRH (10 μg) no Dia 1 e administração da $\text{PGF}_2\alpha$ no quinto dia, seguido por 400 UI eCG no dia 7; Grupo II com duas doses de $\text{PGF}_2\alpha$ em um intervalo de 9 dias, com aplicação de 400 UI de eCG, 48 horas após a segunda dose. Os resultados de observação do estro, prenhez, taxa de nascimento e prolificidade foram, respectivamente, 93,7%; 85,7%, 83,3% e 1,70 no GI e 86,6%, 84,6%, 81,8% e 1,66 no GII. Neste trabalho, ficou demonstrado que ambos os protocolos testados foram efetivos para sincronizar o estro das ovelhas, e os resultados de fertilidade obtidos confirmam que os mesmos podem ser utilizados como alternativa aos protocolos convencionais com progestágenos.

Türk et al. (2008) estudaram três protocolos de sincronização na raça Awassi, na estação de monta. O primeiro e o segundo protocolos envolveram o uso de esponja impregnada com FGA, por 12 dias, com aplicação de 500 UI de eCG na retirada e duas inseminações (12 e 24 horas após a retirada da esponja) com sêmen fresco, pela via intracervical, a partir do começo do estro. Depois da segunda inseminação, aplicaram solução fisiológica 0,9% e GnRH (4 μg) nos protocolos 1 e 2, respectivamente. O

terceiro protocolo diferiu dos dois anteriores na retirada da esponja, sendo aplicados 150 µg de PGF₂α e 500 UI eCG e, no momento da segunda inseminação, mais 4 µg de GnRH. No terceiro protocolo, o intervalo de início do estro foi menor em relação aos protocolos 1 e 2. A taxa de prenhez nos protocolos 2 e 3 foi de 81,8% e no protocolo 1, de 63,6%. No primeiro protocolo, verificaram maior número de gestações com um feto, em relação aos protocolos 2 e 3. A prolicidade foi 0,73, 1,27 e 1,55, nos protocolos 1, 2 e 3, respectivamente. No entanto as diferenças não foram estatisticamente significativas. Desta forma, com o uso do hormônio GnRH, conseguiram aumentar o número de partos múltiplos e a utilização da PGF₂α encurtou o intervalo de início de estro.

Ovelhas da raça Kivircik em anestro (n = 69) foram usadas por Dogan e Nur (2006) para sincronizar o estro com diferentes protocolos: MAP (60 mg) por 12 dias (GI), MAP mais 1,5 mL de solução salina por 12 dias (controle), MAP mais 125 µg de prostaglandina por 12 dias (GII); MAP mais 500 UI eCG por 12 dias (GIII), MAP por 12 dias mais 500 UI eCG e 125 µg cloprostenol no décimo dia (GIV). Todas as fêmeas foram inseminadas pela via transcervical, duas vezes, 48 e 60 horas após retirada da esponja, com sêmen fresco diluído com leite desnatado. Alcançaram resultados nos grupos GI, GII, GIII e GIV, no período de 24 ± 6 h e 120 horas em estro, de 5,6%, 7,6%, 72,2%, 52,6% e 77,8%, 85,7%, 88,9%, 73,7%, respectivamente. Em relação à taxa de prenhez, verificaram 44,4%, 57,1%, 76,5%, 41,2%, nos grupos GI, GII, GIII e GIV, respectivamente. Com base nesses resultados, concluíram que o protocolo MAP mais eCG foi efetivo para sincronizar o estro e permitiu melhores taxas de prenhez em relação aos outros protocolos.

Reyna et al. (2007), para testarem o momento da ovulação e a fertilidade após a inseminação em tempo fixo, em ovelhas da raça Merino, realizaram dois experimentos. No primeiro, avaliaram o momento da ovulação, utilizando dois protocolos durante a estação reprodutiva e no anestro, com esponjas (30 mg FGA) por 12 dias, aplicando, no primeiro protocolo (controle), 400 UI de PMSG na retirada e, no segundo, 40 µg de GnRH, trinta e seis horas após a aplicação do PMSG. Na estação reprodutiva, a sincronização da ovulação foi melhor com o uso do GnRH, 50,1 horas e 54,6 horas para o grupo controle, do que no período de anestro, 42 a 60 horas para o grupo controle e 42 a 54 horas no grupo com GnRH. No segundo experimento, avaliando a fertilidade durante o anestro, após inseminação por laparoscopia, com sêmen congelado, no período de 42 a 48 horas após a retirada da esponja, obtiveram 23% e 21% para os

grupos com GnRH e controle, respectivamente, sem diferença entre eles. Portanto, o GnRH melhorou a sincronização da ovulação, mas não a proporção de fertilidade após a inseminação artificial.

OBJETIVOS

3 OBJETIVOS:

3.1 OBJETIVO GERAL:

Avaliar diferentes protocolos de sincronização de estros em ovinos, usando progestágenos, comparando-se períodos longos, médios e curtos de tratamento, quanto à incidência de estros e à fertilidade.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

Comparar a sincronização de estros com esponjas intravaginais impregnadas com acetato de medroxiprogesterona, em três durações de tratamento e duas dosagens de gonadotrofina coriônica equina, no momento da retirada dos mesmos, com relação à manifestação estral e à fertilidade na inseminação artificial.

Quantificar as concentrações de progesterona plasmática antes, durante e depois do tratamento, no dia do estro, em fêmeas ovinas sincronizadas com esponjas intravaginais, em tratamentos longos, médios e/ou curtos com duas diferentes doses de eCG.

Avaliar as taxas de prenhez e a prolificidade.

MATERIAIS E MÉTODOS

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Local e animais

O experimento foi realizado entre fevereiro e setembro de 2007, com as sincronizações ocorrendo do dia 23 de fevereiro até 31 de março de 2007, na Fazenda Lago Azul, situada no município de Avaí, SP, com latitude 22°08'48'' S, longitude 49°19'59'' W e altitude de 481 metros.

Utilizaram-se 53 ovelhas da raça Santa Inês, nulíparas e pluríparas, com idade entre 1 e 3 anos, peso médio de 41 kg (Quilograma) e escore corporal variando entre 2,5 e 3 (escala de um a cinco). As fêmeas foram mantidas em pastagem de capim *Brachiaria brizantha*, em sistema rotacionado, com sal mineral e água à vontade. Houve suplementação com capim napier picado (*Pennisetum purpureum*) mais polpa cítrica nos meses de fevereiro a maio, e só com capim napier no período de junho a julho.

Todos os animais utilizados no experimento foram examinados quanto ao estado clínico (anamnese e exame físico) e reprodutivo (avaliação do aparelho genital feminino e masculino), anteriormente ao início do experimento, e durante todo o período fez-se controle parasitário, através da contagem de ovos por grama de fezes.

4.2 Manejo experimental

4.2.1 Experimento I

Para este estudo, vinte e cinco ovelhas foram divididas aleatoriamente em três grupos experimentais: Grupo I (n = 10), Grupo II (n = 6) e Grupo III (n = 9) e tiveram o estro sincronizado com esponjas intravaginais impregnadas com 60 mg de acetato de medroxiprogesterona (Progespon[®], Syntex), inseridas na porção caudal da cérvix, permanecendo por 6 dias (protocolo de curta duração), 9 dias (protocolo de média duração) e 13 dias (protocolo de longa duração), respectivamente. No momento da retirada das esponjas administraram-se uma dose de 500 UI de gonadotrofina coriônica equina (Folligon[®], Intervet), por via intramuscular, em cada fêmea. Nas figuras 1, 2 e 3 estão demonstrados esses três protocolos experimentais.

No dia da inserção dos pressários vaginais (D₀), no momento da retirada dos mesmos (D₆/GI, D₉/GII, D₁₃/GIII) e no dia da inseminação artificial (D₈/GI, D₁₁/GII, D₁₅/GIII), colheu-se o sangue das ovelhas por venopunção jugular, em tubos de vácuo,

contendo anticoagulante (heparina), e o plasma foi congelado para posterior quantificação das concentrações plasmáticas de progesterona.

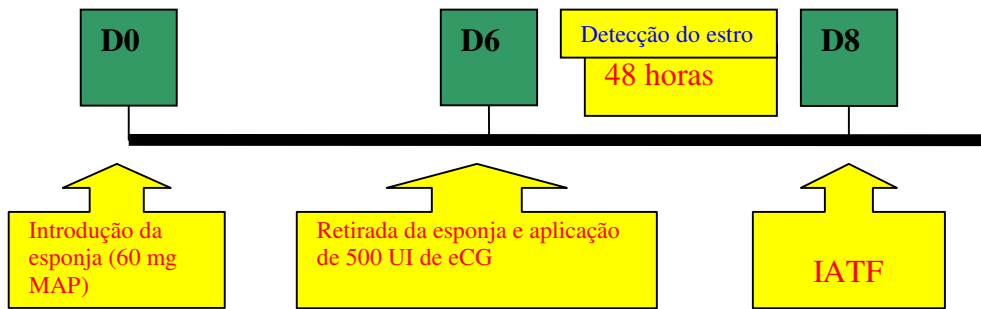


Figura 1 - Representação esquemática do protocolo de sincronização do estro em ovelhas da raça Santa Inês no Grupo I.

D0 – dia zero; D6 – dia seis; D8 – dia oito; IATF – inseminação artificial em tempo fixo

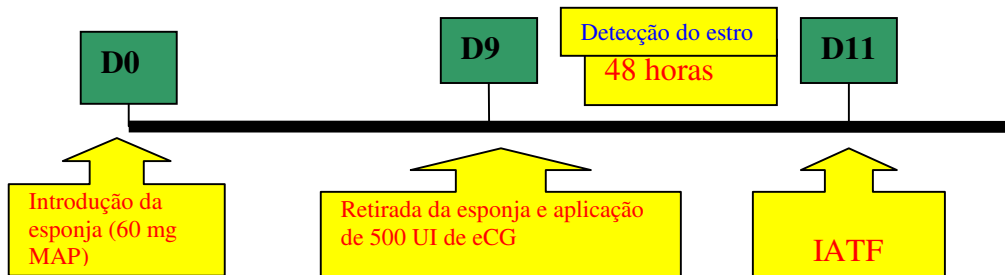


Figura 2 - Representação esquemática do protocolo de sincronização do estro em ovelhas da raça Santa Inês no grupo II.

D0 – dia zero; D9 – dia nove; D11 – dia onze; IATF – inseminação artificial em tempo fixo

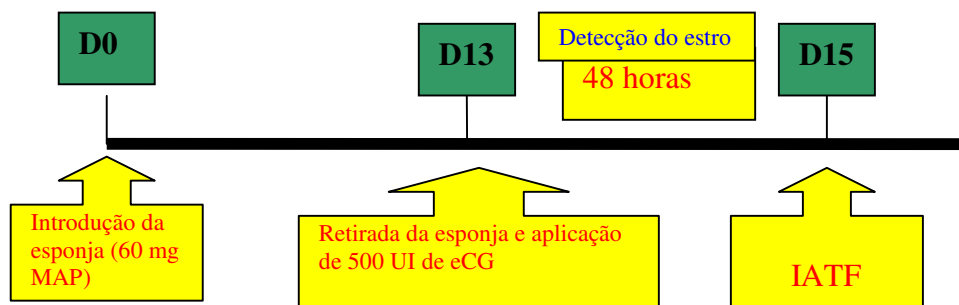


Figura 3 - Representação esquemática do protocolo de sincronização do estro em ovelhas da raça Santa Inês no grupo III.

D0 - dia zero; D13 – dia treze; D15 – dia quinze; IATF – inseminação artificial em tempo fixo

4.2.2 Experimento II

Este experimento seguiu os mesmos protocolos descritos no Experimento I quanto a sua duração (Figuras 1, 2 e 3), diferindo apenas na dose de eCG utilizada. Os grupos IV (n = 10; 6 dias), V (n = 8; 9 dias) e VI (n = 10; 13 dias) receberam 350 UI de eCG no momento da retirada dos pessários intravaginais de MAP.

A colheita de sangue para a dosagem de progesterona plasmática também foi realizada nos mesmos momentos do experimento anterior.

4.2.3 Detecção do estro pós-tratamento

A observação de estro realizou-se após a retirada dos pessários intravaginais das ovelhas, com a utilização de seis fêmeas androgenizadas que receberam três aplicações de hormônio (30 mg propionato de testosterona, 60 mg fempropionato de testosterona, 60 mg decanoato de testosterona - Durateston[®], via intramuscular), sendo a primeira (250mg/animal) uma semana antes de começar a detecção do estro, a segunda (125mg/animal) 19 dias após a primeira aplicação e a terceira (125mg/animal) 14 dias após a segunda.

Na região esternal desses animais foi colocada uma mistura de óleo comestível mais pó xadrez (cor vermelha) e, no intervalo de 24 a 48 horas, após a retirada da esponja, o estro foi detectado pela manhã. As ovelhas que estavam em estro eram identificadas pela presença de tinta na região da garupa, caracterizando a receptividade dessas ao rufião. Porém, como as fêmeas androgenizadas detectaram um baixo número de ovelhas em estro, os grupos II e V foram refeitos, mas utilizando um carneiro mantido preso à corda e sempre impedido de fazer a monta.

4.2.4 Inseminação artificial

O sêmen foi colhido do reprodutor (um carneiro mestiço - Dorper x Texel), por meio de vagina artificial, e avaliado quanto às características físicas e morfológicas, volume, cor, aspecto, motilidade progressiva, vigor, turbilhonamento e concentração espermática. A diluição do sêmen realizou-se com leite desnatado Longa Vida, na proporção de uma parte de sêmen para duas de meio diluidor.

A inseminação artificial foi realizada com sêmen fresco, aproximadamente 48 horas após a retirada da esponja contendo progestágeno, através da técnica cervical superficial, em todas as ovelhas sincronizadas, marcadas ou não pelo rufião. Porém aquelas efetivamente detectadas em estro tiveram preferência na ordem de inseminação.

4.2.5 Diagnóstico de gestação

Cerca de 60 dias após a inseminação, procedeu-se ao diagnóstico de gestação com aparelho de ultrassonografia Aloka® 500 (Aloka Co. Ltda., Japão), acoplado a um transdutor de linear de 5 MHz, posicionado na região retal.

4.2.6 Dosagem de progesterona

O sangue colhido nos diferentes momentos citados anteriormente foi centrifugado a 125g (intensidade de centrifugação em gravidade), por 15 minutos, e o plasma resultante acondicionado em eppendorff e mantido em freezer a -20°C.

A dosagem de progesterona foi realizada no Laboratório de Endocrinologia da FMVZ, UNESP, Botucatu, SP, através de radioimunoensaio (RIA), utilizando-se kits comerciais para progesterona (Coat-A-Count Progesterona, fase sólida, Diagnostic Products Corporation, 5700 West 96th Street, Los Angeles, CA 90045-5597, USA).

4.2.7 Análise estatística

O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado, considerando-se os animais como repetições e os protocolos de sincronização (GI, GII, GIII, GIV, GV e GVI) como tratamentos.

As análises estatísticas das características avaliadas foram realizadas conforme Sampaio (1998), empregando-se o pacote estatístico Statistical Analysis System (SAS) – versão 5.0 (1996). Para todos os testes estatísticos foi utilizado o nível de significância de 5%. Assim, realizou-se a seguinte sequência de análises:

1 – A consistência dos dados e a análise descritiva (médias e desvio padrão) das características de interesse ao estudo testaram-se mediante o emprego do PROC MEANS;

2 – As dosagens de progesterona (intervalo entre a retirada da esponja e estro) foram comparadas nos diferentes grupos (GI, GII, GIII, GIV, GV e GVI) e confrontadas nos

diferentes experimentos (I e II), por meio do PROC GLM, utilizando-se o teste de Student – Newman – Keuls (SNK);

3 – Para comparação das taxas de prenhez e estro entre as fêmeas submetidas aos diferentes protocolos de sincronização utilizou-se o teste qui-quadrado;

4 – A prolificidade foi comparada nos diferentes grupos (G1, GII, GIII, GIV, GV e GVI) e confrontada nos diferentes experimentos (I e II), por meio do PROC GLM, utilizando-se o teste de Student – Newman – Keuls (SNK);

RESULTADOS E DISCUSSÃO

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

ESTRO

A resposta ao estro em ovelhas da raça Santa Inês nos grupos GI a GVI é apresentada na tabela 1.

Houve duas ovelhas eliminadas neste experimento, uma do grupo GIII e outra do GII, devido à perda do implante vaginal de progestágeno no início do programa de sincronização do estro.

Foi observada diferença ($P < 0,05$) na taxa de estro entre os grupos experimentais estudados, tendo o grupo GIV obtido índice inferior, conforme se verifica na tabela 1.

TABELA 1. Ocorrência de estro em ovelhas Santa Inês tratadas com MAP e eCG.

Período com MAP /Dose eCG	Resposta ao Tratamento	
	(Ovelhas em estro/Total)	%
6 dias/500UI	(9/10)	90 ^a
9 dias/500UI	(6/6)	100 ^a
13 dias/500UI	(9/9)	100 ^a
6 dias/350UI	(2/10)	20 ^b
9 dias/350UI	(8/8)	100 ^a
13 dias/350UI	(8/10)	80 ^a
Total	(42/53)	81,6

Letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente, (Qui-quadrado)

Embora a utilização de fêmeas androgenizadas seja tão eficiente quanto os machos na detecção do estro (BAKER e BOSU, 1980), os resultados observados neste estudo induzem a existência de falhas no protocolo utilizado, o que acabou influenciando nos resultados encontrados. Após a observação do baixo índice de estro detectado no GIV com as fêmeas androgenizadas, estas foram substituídas por machos inteiros sob contenção, para detecção de cio das fêmeas dos grupos GII e GV, resultando em índices de 100% de estro (Tabela 1). Uma das possíveis explicações para o baixo índice de estro detectado no GIV seria o tempo para o hormônio aplicado nas fêmeas, a testosterona, começar a fazer efeito, pois foi aplicado uma semana antes de introduzir a esponja. No entanto, no GI, as mesmas fêmeas androgenizadas detectaram 90%, sendo que foram introduzidas nos dois grupos no mesmo dia.

Em relação ao protocolo de longa duração, 13 dias, associado com 500 UI de eCG (Tabela 1), Hasemi et al. (2006) também conseguiram 100% de ovelhas em estro. Já no protocolo associado com 350 UI de eCG, Simonetti et al. (1999) verificaram um resultado maior, 92,9%. Porém o protocolo de curta duração (Tabela 1), pode ter obtido apenas 20% de estro por falha na detecção do estro, mas o protocolo de curta duração, com 500 UI, foi semelhante ao de Simonetti et al. (1999), com 90% de estro

Com o protocolo de curta duração associado a 500 UI de eCG (GI, 6 dias), a porcentagem de ovelhas em estro não diferiu dos de longa duração (GIII e GVI, 13 dias) com 90%, 100% e 80% de estro para os grupos GI, GIII e GVI, respectivamente. Entretanto Ustuner et al. (2007) conseguiram uma porcentagem maior de ovelhas em estro no protocolo de longa duração (88,2%) em relação ao de curta duração (77,1%), utilizando como progestágeno o FGA. É importante ressaltar que a utilização de diferentes fontes de progestágenos (FGA ou MAP) para a sincronização de estro em ovelhas não deve interferir nos resultados obtidos (ZELEKE et al., 2005). Os valores deste experimento, com a associação do progestágeno mais eCG (Tabela 1), foram mais altos que os encontrados por Ustuner et al. (2007), embora esses autores tivessem conseguido um resultado melhor no protocolo de longa duração.

A concentração de estro nas primeiras 48 horas após a retirada do implante foi de 81,6%, semelhante à observada por Menchaca et al. (2004), de 80%. Mesmo não ocorrendo diferenças nos resultados de estro nos protocolos com progestágenos associados com eCG em relação ao protocolo com prostaglandina, a associação de progestágenos mais eCG é a mais utilizada para a sincronização do estro nas ovelhas por obter um resultado melhor (BARRET et al., 2004).

Uma variação de 80 a 100% de estro observada nos grupos experimentais deste estudo está de acordo com o encontrado nos trabalhos de Zeleke et al (2005) e Rodrigues et al. (2004), inclusive naqueles grupos com protocolos de sincronização que não utilizaram fonte de progestágenos, como os 93,7% de estro relatados por Ataman et al. (2006), ao sincronizarem o estro das ovelhas com uma associação de GnRH, PGF₂ α e eCG.

CONCENTRAÇÃO DE PROGESTERONA

Os valores médios da concentração de progesterona (ng/mL), antes da colocação da esponja (H1), na retirada (H2) e no dia da inseminação (H3), constam na tabela 2, onde

se pode observar a ocorrência de diferenças estatísticas entre os grupos experimentais nos diferentes momentos ($P < 0,05$).

TABELA 2. Valores médios ($\pm dp$) das concentrações plasmáticas de progesterona em ovelhas Santa Inês tratadas com MAP e eCG, na inserção (H1) e remoção da esponja (H2) e no dia da inseminação artificial (H3).

Período com MAP /Dose eCG	Progesterona (ng/mL)		
	H1	H2	H3
6 dias/500UI	0,15 \pm 0,17 ^c (0/10)*	0,11 \pm 0,11 ^c (0/10)	0,48 \pm 0,54 ^b (0/10)
9 dias/500UI	0,70 \pm 0,59 ^{ab} (2/6)	0,77 \pm 0,65 ^b (2/6)	0,40 \pm 0,23 ^b (0/6)
13 dias/500UI	0,95 \pm 0,51 ^a (6/9)	0,39 \pm 0,44 ^c (1/9)	0,21 \pm 0,04 ^b (0/9)
6 dias/350UI	0,30 \pm 0,29 ^{bc} (0/10)	0,21 \pm 0,17 ^c (0/10)	0,53 \pm 0,70 ^b (2/10)
9 dias/350UI	0,61 \pm 0,53 ^{abc} (3/8)	1,15 \pm 0,63 ^a (4/8)	1,74 \pm 1,59 ^a (4/8)
13 dias/350UI	0,22 \pm 0,17 ^{bc} (0/10)	0,04 \pm 0,04 ^c (0/10)	0,06 \pm 0,08 ^b (0/10)

* (ovelhas com P4 acima de 1 ng/mL em relação ao total em cada grupo)

Letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente (teste de Student – Newman - Keuls)

A concentração média de progesterona antes da introdução da esponja nas ovelhas, de todos os grupos estava abaixo de 1 ng/mL, indicando que não havia corpo lúteo funcional e o maior valor numérico da concentração de progesterona foi observado no grupo III, mas esse foi semelhante ($P > 0,05$) ao encontrado no GII e GV. Entretanto havia duas, seis e três ovelhas com concentrações de progesterona entre 1 a 2 ng/mL, nos grupos II, III e V, respectivamente. Pela análise, foi observado que as concentrações plasmáticas de progesterona foram baixas ($0,15 \pm 0,17$ ng/mL), sugerindo que deveriam ser colhidas amostras de sangue para análise das concentrações plasmáticas de progesterona, 10 dias no mínimo, antes de se iniciar o protocolo de sincronização de estro. Assim, se a concentração plasmática de progesterona fosse baixa e se mantivesse nesse nível, as ovelhas certamente estariam em anestro e estaria procedendo-se a indução do estro e não a sincronização do mesmo.

No momento da retirada da esponja, havia duas, uma e quatro ovelhas com concentrações de progesterona plasmática entre 1 a 2 ng/mL, nos grupos II, III e V, respectivamente. No dia da inseminação artificial havia duas e uma ovelhas com concentrações plasmáticas entre 1 a 2 ng/mL para os grupos III e V, respectivamente. Já no grupo V, três ovelhas apresentaram concentrações de progesterona entre 2 a 3 ng/mL. O maior valor numérico da concentração de progesterona no momento da colocação da esponja foi observado no grupo III, semelhante ($P>0,05$) ao encontrado no GII e GV.

Os níveis de progesterona no momento da retirada da esponja em todos os grupos deste experimento exceto no GV, reduziram-se ou mantiveram-se semelhantes aos do dia da colocação da esponja, indicando a eficácia dos protocolos para a inibição da ovulação (Tabela 2). Dentre todos os grupos, a concentração de progesterona foi superior ($P<0,05$) para os de nove dias (GII e GV), mas diferiram entre si, sendo observadas, para o grupo GV, concentrações de progesterona superiores a 1 ng/mL (1,15 ng/mL), demonstrando presença da ciclicidade (corpo lúteo funcional) em metade das ovelhas submetidas a esse protocolo (4/8), indicando a baixa eficácia do mesmo para inibição do término do crescimento folicular até a sua respectiva ovulação.

A concentração de 1 ng/mL já tem efeito inibitório sobre o LH (GOODMAN et al., 1981) e consecutivamente sobre a ovulação. O corpo lúteo torna-se funcional a partir do terceiro dia pós-ovulação. Desde o quarto ao décimo quarto dia pós-ovulação a concentração de progesterona teve uma média de $5,11 \pm 2,2$ ng/mL, no experimento de Norris et al. (1989), valores estes bem superiores ao observados neste estudo, no grupo GV, indicando que, provavelmente, devido aos fatores inibitórios da fonte de progestágeno exógena presente na esponja, houve uma menor taxa de crescimento do folículo ovulatório com a formação de um corpo lúteo com menor capacidade de produção de progesterona.

No momento da inseminação artificial, os níveis plasmáticos de progesterona no grupo V continuaram elevados e superiores ($P<0,05$) aos dos demais grupos.

TAXA DE PRENHEZ

A taxa de prenhez observada para os diferentes grupos experimentais encontra-se na Tabela 3. Não houve diferenças estatísticas para os índices de prenhez nos diferentes grupos.

TABELA 3. Taxa de prenhez e cordeiros nascidos em ovelhas Santa Inês tratadas com MAP e eCG.

Período com MAP /Dose eCG	Prenhez		Cordeiros nascidos	
	(Ovelhas prenhas/Total)	%	Total	Prolificidade
6 dias/500UI	(3/10)	30,0	7	2,3
9 dias/500UI	(2/6)	33,3	3	1,5
13 dias/500UI	(3/9)	33,3	4	1,3
6 dias/350UI	(2/10)	20,0	5	2,5
9 dias/350UI	(3/8)	37,5	7	2,3
13 dias/350UI	(4/10)	40,0	4	1,0
Total	(17/53)	32,3	30	1,8

Em todos os grupos experimentais observado um aumento na produção de muco vaginal e cervical, causado pela atuação de hormônios utilizados no protocolo de sincronização de estro e liberados pela tração mecânica, o que dificultou o procedimento da inseminação artificial, além de promover, em algumas situações, o refluxo de parte da dose inseminante aplicada. Esses fatores podem ter contribuído para o comprometimento dos índices de prenhez obtidos, abaixo dos observados em outros estudos com a inseminação cervical superficial, com sêmen fresco. Dogan et al. (2006.), por exemplo, inseminando intracervicalmente, obtiveram taxas de 76,5% de prenhez, após sincronização com protocolo MAP mais 500 UI de eCG por 12 dias. Türk et al. (2008) verificaram 63,6% de prenhez, com FGA, por 12 dias, mais administração de 500 UI de eCG na retirada da fonte de progestágeno e duas inseminações (12 e 24 horas após retirada do implante). Entretanto Menchaca et al. (2004), inseminando pela via cervical, com sêmen fresco, tiveram uma taxa de prenhez inferior à deste estudo (26%), usando apenas a prostaglandina para a sincronização do estro.

Assim como verificado neste trabalho, Ustuner et al. (2007) não encontraram diferenças estatísticas em relação à taxa de concepção para os grupos sincronizados com FGA por seis (35,7%) e 12 dias (31%) e inseminadas intracervicalmente com sêmen fresco. No entanto Viñoles et al. (2001), com o uso de progestágenos por seis dias (curta duração), obtiveram uma maior taxa de prenhez do que com o de 12 dias (longa duração). Segundo

Husein et al. (2007), a permanência da esponja com progéstagénos em curta duração pode substituir os protocolos de longa duração, caso seja associado com eCG. Por ter dupla função, de FSH e LH, essa gonadotrofina induz à ovulação de folículos mais novos e, conseqüentemente, com uma maior fertilidade (BECK et al., 1993; BICUDO e SOUSA, 2003). Esse fato foi relatado por Husein et al. (2007) que, utilizando monta controlada, com a introdução do reprodutor por determinado período, alcançaram maior índice de prenhez, respectivamente, de 91% e 75% para o protocolo de curta (4 dias), sendo este melhor que o de longa duração (12 dias), utilizando implante com FGA (40 mg) e aplicação de 500 UI de eCG na retirada.

O uso de progestágenos mais eCG para sincronizar a ovulação e inseminar em tempo fixo apresenta maior fertilidade (32,3%), ao comparar-se com o protocolo de prostaglandina (26% *versus* 23%; MENCHACA et al., 2004), e com GnRH (REYNA et al., 2007). Para Bartlewski et al. (2004) e Takada (2004), um dos problemas do uso desse hormônio é saber o momento exato da sua aplicação, pois o folículo pode até ovular, mas o ovócito encontrar-se imaturo e ter uma baixa fertilidade.

De acordo com a Tabela 3, não houve diferença na prenhez em relação à dose de eCG. Entretanto Simonetti et al. (2002) demonstraram que há influência da dose de eCG e, quanto maior, melhor o resultado obtido, dentro de limites estreitos. Além disso, o momento da aplicação desse hormônio associado com progestágenos não influencia nos resultados de prenhez, de acordo com Ustuner et al. (2007). Contrariamente, Zeleke et al. (2005) demonstraram que há influência do momento de aplicação do eCG nos índices gerais de fertilidade das fêmeas.

Com a presença do corpo lúteo, a progesterona produzida por este inibe a ocorrência da ovulação pela retroalimentação negativa na liberação do LH (PELUSO et al., 2006), porém há o crescimento do folículo até o desvio (GINTHER et al., 1995) e, se houver a suplementação com LH exógeno pode ocorrer a ovulação, com probabilidade de formar um corpo lúteo anormal (MORAES et al., 2002). Esse fato pode justificar a taxa de prenhez dos animais do GV não ter diferido dos outros grupos, que possivelmente conseguiram ovular sob ação do LH exógeno, presente no eCG, com estabelecimento da gestação, indicando a formação de um corpo lúteo funcional, com produção de níveis normais de progesterona, suficientes para manutenção da gestação.

NÚMEROS DE CORDEIROS E PROLIFICIDADE

Os números de cordeiros e prolificidade dos grupos I, II, III, IV, GV e VI foram de 7, 2,3; 3, 1,5; 4, 1,3; 5, 2,5; 7, 2,3 e 4, 1,0, respectivamente (Tabela 3). Não houve diferenças estatísticas nos resultados ($P>0,05$). Embora Simonetti et al. (2002) tenham observado um número maior de cordeiros nascidos com a dose de 400 UI (65 cordeiros) em comparação à dose de 350 UI de eCG (44 cordeiros), aplicadas na retirada da esponja mantida por 14 dias, eles não observaram diferenças estatísticas na prolificidade com as distintas doses de eCG, 400 e 350 UI, de 1,45 e 1,36, respectivamente. Estes últimos foram semelhantes aos verificados no presente experimento, com o protocolo de 13 dias com progestágeno e na retirada aplicação de 500 e 350 UI de eCG, 1,3 e 1,0, respectivamente (Tabela 3).

Assim, não houve diferenças entre os tratamentos de curta e longa duração com a associação de eCG com progestágenos, pois, provavelmente, quando foi associada a gonadotrofina coriônica equina com progestágenos ou progesterona ocorreu a interferência no número de folículos que ovulam, e na idade, fazendo com que novos folículos ovulem, mesmo nos protocolos de curta duração (EVANS, 2003). Já com o uso apenas de progestágenos ou progesterona por longos períodos, os índices são menores pela ovulação de folículos envelhecidos (GONZALEZ-BULNES, 2005).

Apesar de não ter havido diferenças estatísticas entre os grupos no número de cordeiros e na prolificidade, o protocolo de curta duração apresentou um aumento de partos múltiplos em comparação ao de longa duração, devido, provavelmente, a uma maior ovulação de folículos jovens, com o uso do eCG (BECK et al., 1993; BICUDO e SOUSA, 2003). Türk et al. (2008) verificaram, no protocolo de longa duração com progestágenos (12 dias) mais eCG (500 UI), maior ocorrência de partos com um feto, e com o uso do hormônio GnRH, ocorreu maior número de partos múltiplos. Na tabela 3, no protocolo de 13 dias com progestágenos associados a 500 UI de eCG, observa-se semelhança com os resultados obtidos por Türk et al. (2008): em partos com um cordeiro. E, como a prolificidade está interligada ao número de cordeiros (pois a prolificidade representa o número de cordeiros nascidos por números de partos), no protocolo de curta duração ocorreu um aumento de cordeiros e, conseqüentemente, houve um incremento na prolificidade, 2,3 (GI), 2,5 (GIV), que foi numericamente maior que o protocolo de longa duração, 1,3 (GIII) e 1,0 (GVI). Das dezessete ovelhas gestantes nasceram trinta cordeiros(as) (Tabela 3).

A sincronização do estro é importante, pois possibilita concentrar os partos, melhorar a supervisão durante o nascimento e maximizar a produtividade (BARBAS et al., 2002). Também proporciona a formação de lotes mais homogêneos para o abate (COSTA et al., 2007), apesar do aumento do custo de produção com a utilização dos protocolos de sincronização do estro, que acaba sendo justificado pelo custo benefício positivo. Neste experimento o custo com a produção foi de R\$ 55,00/cabeça, incluindo os gastos com a mão-de-obra do veterinário e dos hormônios utilizados (eCG e progestágeno) no ano de 2007. Como o custo com a produção ficaria alto, compensaria utilizar este protocolo para os animais de alto valor genético, cuja venda ficaria acima de R\$ 2.000,00/cabeça.

CONCLUSÕES

6 CONCLUSÕES

Com os resultados obtidos neste estudo, permitiu-se concluir que as dosagens de eCG utilizadas não influenciaram os resultados obtidos e o protocolo de curta duração com progestágeno associado com 500 UI de eCG, aplicado na retirada de esponja, também pode ser utilizado de forma alternativa ao de longa duração, para a sincronização de estro das ovelhas.

Recomenda-se a realização de novos estudos com um número maior de animais, para verificar possíveis significâncias das diferenças numéricas encontradas nas variáveis estudadas, entre os protocolos experimentais.

REFERÊNCIAS
BIBLIOGRÁFICAS

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ATAMAN, M. B.; AKÖZ, M. GnRH-PGF2 α AND PGF2 α synchronization in akkaraman cross-bred sheep in the breeding season. **Bull. Vet. Inst. Pulawy.** v.50, p.101-104, 2006.

BAKER, C.A.V.; BOSU, W.T.K. Studies on experimentally androgenized females: goats. **Dairy Goat J.**, v.58, p.944-948, 1980.

BARBAS, J.; BAPTISTA, C.; MASCARENHAS, R.; HORTA, A.E.M. Effect of two doses of eCG on fertility prolificacy and fecundity in Serra da estrela ewes subjected to double artificial insemination. **Rev. Port. Zootec.**, v.9, n.2, p.13-26, 2002.

BARRET, D.M.; DUGGAVATHI, R.; DAVIES, K.L.; BARTLEWSKI, P.M.; BAGU, E.T.; RAWLINGS, N.C. Differential effects of various estradiol – 17 beta treatments on follicle –stimulating hormone peaks, luteinizing hormone pulses basal gonadotropin concentrations, and antral follicle and luteal development in cyclic ewes. **Biol. Reprod.**, v.77, n.2, p.252-62, 2007.

BARRET, D.M.W.; BARTLEWSKI, P.M.; BATISTA-ARTEAGA, M.; SYMINGTON, A.; BAWLINGS, N.C. Ultrassound and endocrine evaluation of the ovarian response to a single dose of 500 UI of eCG following a 12 day treatment with progestogen-releasing intravaginal sponges in the breeding and nonbreeding season in ewe. **Theriogenol.**, v.61, n.2, p.311-327, 2004.

BARRET, D.M.W.; BARTLEWSKI, P.M.; DUGGAVATHI, R.; DAVIES, K.L.; RAWLINGS, N.C. Suppression of follicle wave emergence in cyclic ewes by supraphysiologic dose of exogenous ovine follicle-stimulating hormone. **Biol. Reprod.**, v.75, p.633-641, 2006.

BARTLEWSKI, P.M.; ARAVINDAKSHAN, J.; BEARD, A.O.; NELSON, M. L.; BATISTA-ARTEGA, M.; COOK, S.J.; RAWLINGS, N.C. Effects of medroxyprogesterone acetate (MAP) on ovarian abtral follicle development, gonadotrophin secretion and response to ovulation with gonadotrophin – releasing hormone (GnRH) in sea sonally anoestrous ewes. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 21, n. 1-2, p. 63-75, 2004.

BECK, N.F.G.; DAVIES, B.; WILLIAMS, S.P. Oestrous synchronization in ewes: effect of combining a prostaglandin analogue with a 5-day progestágeno treatment. **Anim. Prod.**, v.53, p.207-210, 1993.

BENITES, N.R. Medicamentos empregados para sincronização do ciclo estral e transferência de embriões. c.28. In: SPINOSA, H.S.; GÓRNIK, S.L.; BERNARDI, M.M. **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária.** 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.

BERLINGUER, F.; GONZALEZ-BULNES, A.; SUCCU, S.; LEONI, G.; MOSSA, F.; BEBBERE, D.; ARIZNAVARETA, C.; TRESGUERRES, J.A.F.; VEIGA-LOPEZ, A.; NAITANA, S. Effects of progestagens on follicular growth and oocyte developmental competence in FSH – treated ewes. **Dom. Anim. Endocrinol.**, v.32, p.303 -314, 2007.

BICUDO, S.D.; SOUSA, D.B. Associação de progestágeno, prostaglandina e eCG em protocolos de curta duração para indução/sincronização do estro em ovelhas Suffolk. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v. 27, n. 3, p. 473-474, 2003.

BOSCOS, C.M.; SAMARTZI, F.C.; DELLIS, S.; ROGGE, A.; STEFANAKIS, A.; KRAMBOVITIS, E. Use of progestagen-gonadotrophin treatments in estrus synchronization of sheep. **Theriogenol.**, v.58, p.1261-1272, 2002.

CAMPBELL, B.K.; KENDALL, N.R.; BAIRD, D.T. The effect of the presence and pattern of luteinizing hormone stimulation on ovulatory follicle development in sheep. **Biol. Reprod.**, v.76, p.719-727, 2007.

CAMPBELL, 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. **Endocrinol.**, v.127, p.227-235, 1990.

CAMPBELL, B. K.; MCNEILLY, A. S.;MANN, G. E.; BAIRD, D. T. The effect of stage of estrous cycle and follicular maturation on ovarian inhibin production in sheep. **Biol. Reprod.**, v. 41, p. 483-490, 1991.

CARATY, A.; SKINNER, D.C. Progesterone priming IS essential for the full expression of the positive feedback effect of estradiolin inducing the preovulatory gonadotropin-releasing hormone surge in the ewe. **Endocrinol.**, v.140, n.1, p.165-170, 1999.

CARDWELL, B.E.; FITCH, G.Q.; GEISERT, R.D. Ultrasonic evaluation for the time of ovulation in ewes treated with norgestomet followed by pregnant mare`s serum gonadotropin. **J. Anim. Sci.**, v.76, p.2235-2238, 1998.

CLINE, M.A.; RALSTON, J.N.; SEALS, R.C.; LEWIS, G.S. Intervals from norgestomet withdrawal and injection of equine chronic gonadotrophin or PG.600 to estrus and ovulation in ewes. **J. Anim. Sci.**, v.79, p.589-594, 2001.

COCCIA, M.E.; COMPARETTO, C.; BRACCO, G. L.; SCARSELLI, G. GnRH antagonists. **J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod.**, v. 115, p. 44-56, 2004.

CONTRERAS-SOLES, I.; DIAZ, T.; LOPEZ, G.; CAIGUA, A.; LOPEZ-SEBASTIAN, A.; GONZALEZ-BULNES, A. Systemic and intraovarian effects of corpus luteum on follicular dynamics during estrous cycle in hair breed sheep. **Anim. Reprod. Sci.**, v.104, n.1, p.47-55, 2008.

COSTA, R.L.D.da; QUIRINO, C.R.; AFONSO, V.A.C.; SILVA, R.M.C.da; MELO, E.B. **Avaliação de diferentes protocolos de sincronização de estro em ovelhas da raça Santa Inês na região norte Fluminense.** Disponível em: www.caprilvirtual.com.br/artigos/indu%283%A7%C3%A3ocio_ov_apt.htm. Acesso em: 17/08/2007.

COSTA, N.G.; ZANELLA, M. **Ovinocaprinocultura: Sinais de modernização mudam a cara do setor.** Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/2006/defaulttab_censoagro.shtm Acesso em: 20/02/2008.

COSTA, R.L.D. de. **Aspectos reprodutivos das ovelhas.** Disponível em: www.aptaregional.sp.gov.br/artigo.php?id_artigo=487. Acesso em 17/08/2007.

- DOBSON, H.; CAMPBELL, B.K.; GORDON, B.M.; SCARAMUZZI, R.J. Endocrine activity of induced persistent follicles in sheep. **Biol. Reprod.**, v.56, p.208-213, 1997.
- DOGAN, I.; NUR, Z. Different estrous induction methods during the non – breeding season in kivircik ewes. **Vet. Med.**, v.51, n.4, p.133-138, 2006.
- DUGGAVATHI, R.; BARTLEWSKI, P.M.; AGG., E.; FLINT, S.; BARRET, D.M.W.; RAWLINGS, N.C. The effect of the manipulation of follicle stimulating hormone (FSH) peak characteristics on follicular wave dynamics in sheep: Does an Ovarian – independent endogenous Rhythm in FSH secretion exist? **Biol. Reprod.**, v.72, p.1466-1474, 2005.
- EVANS, A.C.O. Ovarian follicle growth and consequences for fertility in sheep. **Anim. Reprod. Sci.**, v.78, n.3- 4, p.289-306, 2003.
- FLYNN, J.D.; DUFFY, P.; BOLAND, M.P.; EVANS, A.C.O. 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.; RIVERA, G.M.; EVANS, A.C.O.; TURZILLO, A.M. Differentiation of dominant versus subordinate follicles in cattle. **Biol. Reprod.**, v.65, p.648-654, 2001.
- FORTUNE, J.E.; RIVERA, G.M.; YANG, M.Y. Follicular development: the role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle. **Anim. Reprod. Sci.**, v.82-83, p.109-126, 2004.
- FOSTER, D.L.; LEMOS, J.A.; JAFFE, R.B.; NISWENDER, G.D. Sequential patterns of circulating luteinizing hormone and follicle stimulating hormone in female sheep from early postnatal life through the first estrous cycles. **Endocrinol.**, v.97, p.985-989, 1975.
- GINTHER, O.J.; BERGFELT, D.R.; KULICK, L.J.; KOT, K. Selection of the dominant follicle in cattle: establishment of follicle deviation in less than 8 hours through depression of FSH concentrations. **Theriogenol.**, v.52, p.1079-93, 1999.
- GINTHER, O.J.; KOT, K.; WILTBANK, M.C. Associations between emergence of follicular waves and fluctuations in FSH concentrations during the estrous cycle in ewes. **Theriogenol.**, v.43, n.3, p.689-703, 1995.
- GONZALEZ-AÑOVER, P.; ENCINAS, T.; VEIGA-LOPEZ, A.; AMMOUN, I.; CONTRERAS, I.; ROS, J.M.; ARIZNAVARRETA, C.; TRESGUERRES, J.A.F.; GONZALEZ-BULNES, A.. Effects of breed on follicular dynamics and oestradiol secretion during the follicular phase in sheep. **Reprod. Dom. Anim.**, v.42, p.29-33, 2007.
- GONZALEZ-BULNES, A.; VEIGA-LOPEZ, G.L.; GARCIA-GARCIA, R.M.; ARIZNAVARRETA, C.; SANCHEZ, M.A.; TRESGUERRES, J.A.F.; COCERO, M.J.; FLORES, J.M. Effects of progestagens and prostaglandin analogues on ovarian function and embryo viability in sheep. **Theriogenol.**, v.63, p.2523-2534, 2005.
- GONZALÉZ-REYNA, A.; VALENCIA, M.J.; FOOKE, W.C.; MURPHY, B.D. Hair sheep in México: reproduction in the pelibuey sheep. **Anim. Breed. Abst.**, v.59, p.509-524, 1991.

- 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. **Endocrinol.**, v.109, p.1414-1417, 1981.
- GRANADOS, L.B.C.; DIAS, A.J.B.; SALES, M.P.de. Aspectos gerais da reprodução de caprinos e ovinos. Disponível em: www.caprtec.com.br/pdf/reproduçãodeovinoscaprinos.pdf. Acesso em: 01/03/2008.
- HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. Ciclos Reprodutivos. c.4. HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. **Reprodução Animal**. 7.ed. Barueri: Manole, 2004.
- HASEMI, M.; SAFDARIAN, M.; KAFI, M. Estrous response to synchronization of estrus using different progesterone treatments outside the natural breeding season in ewes. **Small Rum. Res.**, v.65, n.3, p.279-283, 2006.
- HAUGHER, R.L.; KARSCH, F.D.; FOSTER, D.L. A new concept for control of the estrous cycle of the ewe based on the temporal relationship between luteinizing hormone, estradiol and progesterone in peripheral serum and evidence that progesterone in peripheral serum and evidence that progesterone inhibits tonic LH secretion. **Endocrinol.**, v.101, p.807-817, 1977.
- HERRERA, H.L.; FELDMAN, S.D.; ZARCO, Q.L.; VALENCIA, M.J.; ORTIZ, H.A.; ANGELES, C.S. Evaluación del efecto luteolítico de la prostaglandina F2 α en diferentes días del ciclo estral de la borrega. **Vet. Mex.**, v.21, p.143-147, 1990.
- HUNTER, M.G.; HUDSON, H.; MITCHELL, M.; WALKER, R., WEBB, R. Resumption of follicle growth in gilts after ovarian autografting. **Anim. Reprod. Sci.**, v.80, p.317-328, 2004.
- HUSEIN, M.Q.; ABABNEH, M.M. New strategy for superior reproductive performance of ewes bred out-of-season utilizing progestagen supplement prior to withdrawal of intravaginal pessaries. **Theriogenol.**, v.69, n.3, p.376-83, 2008.
- HUSEIN, M.Q.; ABABNEH, M.M.; ABU-RUMAN, D.S. The effects of short or long term FGA treatment with or without eCG on reproductive performance of ewes bred out-of-season. **Am. J. Anim. Vet. Sci.**, v.2, n.1, p.23-28, 2007.
- HUSEIN, M.Q.; KRISDLI, R.T. Reproductive responses Awassi ewes treated with either naturally occurring progesterone or synthetic progestagen. **Asian-Aust. J. Anim. Sci.**, v.15, n.15, p.1257-1262, 2002.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção da Pecuária Municipal**, Rio de Janeiro, v.31, 2003.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo agropecuário 2006**. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatística/economia/agropecuaria/censoagro/2006/defaulttab_censoagro.shtm/. Acesso em: 25/02/2008.
- JAINUDEEN, M.R.; HAFEZ, E.S.E. Sheep and goat. In: HAFEZ, E.S.E. **Reproduction in farm animals**. 6.ed. Philadelphia: Lea & Fabiger, 1993. p.330-342.

- KARSCH, F.J.; LEGAN, S.J.; RYAN, K.D.; FOSTER, D.L. Importance of estradiol and Progesterone in regulating LH Secretion and Estrous Behavior during the Sheep Estrous Cycle. **Biol. Reprod.**, v.23, p.404-413, 1980.
- KINDER, J.E.; BERGFELD, E.G.; WEHRMAN, M.E.; PETERS, K.E.; KOJIMA, F.N. Endocrine basis for puberty in heifers and ewes . **J. Reprod. Fertil. Suppl.**, v.49, p.393-407, 1995.
- LEAL, C.L.V., ADONA, P.R. O bloqueio meiótico e a maturação *in vitro*. **Acta Sci. Vet.**, v.34, supl.1, p.131-144, 2006.
- LINDSAY, D.R. Reproduction in the Sheep and Goat. In : CUPPS, P.T. **Reproduction in domestic animals**. 4.ed. San Diego: Academic Press, 1991, p.491-515.
- LIU, X.; DAI, Q.; HART, E.J.; BARRETT, D.M.; RAWLINGS, N.C.; PIERSON, R.A.; BARTLEWSKI, P.M. Ultrasonographic characteristics of ovulatory follicles and associated endocrine changes in cyclic ewes treated with medroxyprogesterone acetate (MAP) releasing intravaginal sponges and equine chorionic gonadotropin (eCG). **Reprod. Dom. Anim.**, v.42, n.4, p.393-401, 2007.
- MAUREL, M.C.; ROY, F.; HERVÉ, V; BERTIN, J.; VAIMAN, D.; CRIBUU, E.; MANFREDI, E.; BOUVIER, F.; LANTIER, I.; BOUE, P.; GUILLOU, F. Immune response to equine chorionic gonadotrophin used for the induction of ovulation in goats and ewes . **Gynecol. Obstet. Fertil.**, v.31, n.9, p.766-769, 2003.
- McNATTY, K.P.; READER, K.; SMITH, P.; HEATH, D.A.; JUENGEL, J.L. Control of ovarian follicular development to the gonadotrophin – dependent phase: a 2006 perspective. **Soc. Reprod. Fert.**, suppl., v.64, p.55-68, 2007. Abstr.
- McNEILLY, A.S.; SWANSTON, I.A.; CROW, W.; TSONIS, C.G.; BAIRD, D.T. Changes in the plasma concentrations of inhibin throughout the normal sheep oestrous cycle and after the infusion of FSH. **J. Endocrinol.**, v.120, n.2, p.295-305, 1989. Abstr.
- McNEILLY, A.S.; FRASER, H.M. Effect of gonadotrophin-releasing hormone agonist –induced suppression of LH and FSH on follicle growth and corpus luteum function in the ewe. **J. Endocrinol.**, v.115, n.2, p. 273-282, 1987.
- MEIKLE, A.S.; FORSBERG, M.; GAROFALO, E.G.; CARLSON, 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.
- MENCHACA, A; MÜLLER,V.; GIL, J.; PINCZAK, A.; LACA, M.; RUBIANES, E. Prostaglandin F₂ α treatment associated with timed artificial insemination in ewes. **Reprod. Dom. Anim.**, v.39, n.5, p.352-355, 2004.
- MENCHACA, A.; RUBIANES, E. New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. **Reprod. Fert. Dev.**, v.16, p.403-413, 2004.
- MENEGATOS, J.; CHADIO, S.; KALOGIANNIS, T.; KOUSKOURA, T.; KOWIMTZIS, S. Endocrine events during the peri-estrous period and the subsequent estrous cycle in ewes after estrus synchronization . **Theriogenol.**, v.59, n.7, p.1533-1543, 2003.

- MORAES, J.C.F.; SOUZA, C.J.H.de; GONÇALVES, P.B.D. Controle do estro e da ovulação em bovinos e ovinos. In: **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. São Paulo: Varela, 2002, c.3, p.25-56.
- MORELLO, H.H.; CHEMINEAU, P. Características anatômicas e funcionais do sistema reprodutor da fêmea. c.2. AISEN, E.G. **Reprodução ovina e caprina**. 1.ed. São Paulo: MedVet, 2008, 203p.
- MOURA, J.L.de. Hormônios: Regulação e ação. In: **Fisiologia Animal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000, c. 8 e 9, p.278-322.
- NORRIS, T.A.; WEESNER, G.D.; SHELTON, J.M.; HARMS, P.G.; FORREST, D.W. Biological activity of LH during the peripartum period and the peripartum period and the estrous cycle of the ewe. **Dom. Anim. Endocrinol.**, Abstr., v.6, n.1, p.25-33, 1989.
- PADILHA, R.T.; MAIA-JUNIOR, A; BRASIL, A.F.; ARAÚJO, A.A. Taxa de gestação em ovelhas Santa Inês após sincronização do estro e da ovulação com diferentes dispositivos intravaginais. **Acta Sci. Vet.**, v.35, supl.3, p.1115, 2007.
- PAPACHRISTOFOROU, C.; KOUMAS, A.; PHOTIOU, L. Seasonal effects on puberty and reproductive characteristics of female Chios sheep and Damascus goats born in Autumm or in february. **Small Rumin. Res.**, v.38, n.1, 2000.
- PELUSO, J.J. Multiplicity of progesterone's actions and receptors in the mammalian ovary. **Biol. Reprod.**, v.75, p.2-8, 2006.
- PICAZO , R.A.; LÓPEZ-SEBASTIAN, A. Desarrollo folicular em el ovário de la espécie ovina. **Invest. Agr.: Prod. Sanid. Anim.**, v.10, n.1, p.77-93, 1995.
- RABASSA, V.R.; TABELÃO, V.C.; PFEIFER, L.F.M.; SCHNEIDER, A; ZIGUER, E.A.; SCHOSSLER, E.D.; SEVERO, N.C.; PINO, F.A.B.; CORRÊA, M.V. Efeito das técnicas transcervical e laparoscópica sobre a taxa de prenhez de ovelhas inseminadas em tempo fixo. *Ciência Animal Brasileira*, v.8, n.1, p.127-133, 2007.
- REYNA, J.; THOMSON, P.C.; EVANS, G.; MAXWELL, W.M.C. Synchrony of ovulation and follicular dynamics in Merino ewes treated with GnRH in the breeding and non-breeding seasons. **Reprod. Dom. Anim.**, v.42, p.410-417, 2007.
- RICHTER, T.A.; ROBINSON, J.E.; EVANS, N.P. Progesterone blocks the estradiol-stimulated luteinizing hormone surge by disrupting activation in response to a stimulatory estradiol signal in the ewe. **Biol. Reprod.**, v.67, p.119-125, 2002.
- ROBINSON, T.J. Synchronization of oestrus in sheep by intravaginal and subcutaneous application of progestin impregnated sponges. **Proc. Austr. Soc. Anim. Prod.**, v.5, n.47, p.47-52, 1964.
- ROBINSON, J.E.; HEALEY, A.E.; HARRIS, T.G.; MESSENT, E.A.; SKINNER, D.C.; TAYLOR, J.A.; EVANS, N.P. The negative feedback action of progesterone on luteinizing hormone release is not associated with changes in GnRH mRNA expression in the ewe. **J. Neuroendocrinol.**, v.12, n.2, p.121-129, 2000.
- ROCHE, J. F.; MIHM, M.; DISKIN, M.G.; RELAND, J.J.A. A review of regulation of follicle growth in cattle. **J. Anim. Sci.**, v.76, suppl.3, p.16-29, 1999.

- RODRIGUES, L.F.de; ARAUJO, A.Ade; NUNES, J.F.; MOURA, A.A.; MOUREIRA, E.P. Sincronização do estro em ovelhas deslanadas: efeito de diferentes doses de gonadotrofina coriônica eqüina sobre a taxa de ovulação. **Rev. Ciênc. Agrár.**, n.41, p.215-222, 2004.
- ROSADO, J.; SILVA, E.; GALINA, M.A. Reproductive management of hair sheep with progesterone and gonadotropins in the tropics. **Small Rum. Res.**, v.27, p.237-242, 1998.
- RUBIANES, E. Control farmacológico del ciclo estral em caprinos y ovinos. In: **Controle farmacológico do ciclo estral em ruminantes**. São Paulo, p.255-282, 2000^a.
- RUBIANES, E. Nociones basicas de fisiologia reproductiva em cabras y ovejas. In: BARRUSELI, P.S.; MADUREIRA, E.H. **Anais...** Simpósio sobre controle farmacológico do ciclo estral em ruminantes. 332 p. São Paulo, p.255-282, 2000b.
- RUBIANES, E.; BEARD, A.; DIERSCHKE, D.J; BARTLEWSKI, P.; ADAMS, G.P.; RAWLINGS, N.C. Endocrine and ultrasound evaluation of the response to PGF2 α and GnRH given at different stages phase in cyclic ewes. **Theriogenol.**, v.48, p.1093-1104, 1997.
- RUBIANES, E.; MENCHACA, A.; CARBAJAL, B. Response of the 1-5 day-aged ovine corpus luteum to prostaglandin F2 α . **Anim. Reprod. Sci.**, v.78, n.1-2, p.47-55, 2003.
- SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. 1.ed. Belo Horizonte: FEPMVZ, 1998. 221p.
- SAS. **User's guide: statistics**, version 5. Cary: SAS Institute Inc., 1996. 956p.
- SIMONETTI, L.; GARDON, J.C.; RAMOS, G. Residual levels on medroxyprogesterone acetate (MAP) impregnated sponges after estrus synchronization treatment in cyclic ewes. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, v.36, n.5, 1999. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-95961999000500003&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 28/09/2008.
- SIMONETTI, L.; RAMOS, G.; GARDÓN, J.C. Effect of estrus synchronization and artificial insemination on reproductive performance of Merino sheep. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, v.39, n.3, p.143-146, 2002.
- SIMPLÍCIO, A.A. Caprinocultura e ovinocultura de corte: Desafios e oportunidades. **Rev. Cons. Fed. Med. Vet.**, v.12, n.39, p.7-18, 2006.
- SOUZA, C.J.H.; MORAES, J.C.F.; CHAGAS, L.M. Effect of the Booroola gene on time of ovulation and ovulatory dynamics. **Anim. Reprod. Sci.**, v.37, p.7-13, 1994.
- STOW, T.J.; FARIS, B. R.; ROSS., T.T. ; LOOPER, M.L. Comparison of progesterone containing sponge and controlled internal drug releasing device pessaries on estrous behavior and pregnancy in sheep. **J. Proc. Am. Soc. Anim. Sci. West. Sect.**, v.53, p.174-176, 2002.
- TAKADA, L. **Avaliação da resposta ovariana na sincronização do estro e da ovulação utilizando protocolo de curta duração em ovelhas da raça Suffolk**. 2004.

151. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo, 2004.

THIMONIER, J. Practical uses of prostaglandins in sheep and goats. **Acta Vet. Scand.**, Suppl., v.77, p.193-208, 1981.

TIMURKAN, H.; YILDIZ, H. Synchronization of oestrus in hamdani ewes: the use of different PMSG doses. **Bull .Vet. Inst. Pulawy**, v.49, p.311-14, 2005.

TÜRK, G.; GUR, S.; SONMEZ, M.; BOZKURT, T.; AKSU, E.H.; AKSOY, H. Effect of exogenous GnRH at the time of artificial insemination on reproductive performance of Awassi ewes synchronized with progestagen – PMSG - PGF2 α combination. **Reprod. Dom. Anim.**, v.43, n.1, p.53-58, 2008.

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

VEIGA-LOPEZ, A; ENCINAS, T.; McNEILLY, A.S.; GONZALEZ-BULNES, A. Timing of preovulatory LH surge and ovulation in superovulated sheep are affected by follicular status at start of the FSH treatment. **Reprod. Dom. Anim.**, v.43, n.1, p.92-98, 2008.

VIÑALES, L.; FOSBERG, M.; BANCHERO, G.; RUBIANES, E. Effect of long-term and short-term progestagen treatment and pregnancy rate in cyclic ewes. **Theriogenol.**, v.55, n.4, p.993-1004, 2001.

WEBB, R.; GARNSWORTHY, P.C.; GONG, J.G.; ARMSTRONG, D.G. Control of follicular growth: local interaction and nutritional influences. **J. Anim. Sci.**, v.82, p.63-74, 2004.

WHEATON, J.E.; CARLSON, K.M.; WINDELS, H.F.; JOHNSTON, 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.127-41, 1993.

ZARKAWI, M. Estrous synchronization and twinning rate of Syrian Awassi ewes treated with progesterone and PMSG during the breeding season. New Zealand. **J. Agric. Res.**, v 44, p.159-163, 2001.

ZELEKE, M.; GREYLING, J.P.C.; SCHWALBACH, L.M.J.; MULLER, T.; ERASMUS, J.A. Effect of progestagen and PMSG on oestrous synchronization and fertility in Dorper ewes during the transition period. **Small Rumin. Res.**, v.56, n.1-3, p.47-53, 2005.

TRABALHO CIENTÍFICO

8 Trabalho enviado para a revista veterinária e zootecnia.

Instruções da revista:

Devem ser estruturados de acordo com os seguintes itens:

1. Página de rosto, com:

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

2. Página com resumo, abstract e resumen

- Tanto o resumo, como o abstract e o resumen devem ser seguidos do título do trabalho, no respectivo idioma, e conter no máximo 400 palavras cada um, com informações referentes à introdução, metodologia, resultados e conclusões. O texto deve ser justificado e digitado em parágrafo único e espaço 1,5, começando por RESUMO. O abstract, e o resumen, devem ser tradução fiel do resumo. Se for apresentado em inglês, deve conter também, resumos em português e espanhol; se for em espanhol, resumos em português e inglês.

- Devem conter, no máximo, cinco palavras-chave, key words, e palavras-clave que identifiquem o conteúdo do texto.

3. A estrutura do artigo deverá conter:

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

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

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

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

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

Referências: Devem ser apresentadas de acordo com as normas da ABNT, e o arranjo deve ser em ordem alfabética por sobrenome do autor (modelos anexos).

Deverão ser editorados em Microsoft Word for Windows, para edição de textos, Excel (qualquer versão) para gráficos, formato JPEG ou GIF (imagem) para fotografias, desenhos e mapas, **em três vias (uma original e duas cópias)** impressas, formato A4 (21,0 x 29,7 cm), em espaço duplo, mantendo margens de 2,5 cm, nas laterais, no topo e pé de cada página, fonte Times New Roman, tamanho 12 e numeração consecutiva das páginas em algarismos arábicos, a partir da folha de identificação. Ilustrações e legendas devem ser apresentadas em folhas separadas. Encaminhar cópia em disquete 3 ½” de alta densidade ou CD, identificado com título do artigo e nome dos autores. Nas duas cópias **deve(m) ser omitido(s) o(s) nome(s) do(s) autor(es), o local onde se realizou o trabalho, bem como o rodapé.**

Não serão fornecidas separatas. Os artigos estarão disponíveis no formato PDF no endereço eletrônico da revista. Para as demais seções da revista são válidas as normas anteriores. Não devem exceder a 15 páginas. Abreviaturas não usuais devem ser empregadas após escritas por extenso na primeira utilização.

SINCRONIZAÇÃO/ INDUÇÃO DO ESTRO EM OVELHAS, COM DIFERENTES TEMPOS DE EXPOSIÇÃO AOS PROGESTÁGENOS E DISTINTAS DOSES DE GONADOTROFINA CORIÔNICA EQUINA (eCG)Jungiro Iwamura¹Eunice Oba²Maria Inês Lenz Souza³Fernando Pampani⁴Luciana da Silva Leal⁴Giovana Pavão⁴Nina Miglioranza Velloso⁴Rodrigo Bittencourt⁴**RESUMO**

Objetivou-se testar a fertilidade de 53 ovelhas da raça Santa Inês, divididas em seis grupos e submetidas a diferentes protocolos de sincronização de estro, utilizando progestágenos associados ao eCG. Nos grupos GI, GII, GIII, GIV, GV e GVI, os animais foram sincronizados com esponjas intravaginais contendo 60 mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP) durante 6, 6, 9, 9, 13 e 13 dias, respectivamente e, na retirada, aplicaram 500, 350, 500, 350, 500, 350 UI de eCG, respectivamente. A observação do estro foi realizada durante dois dias, no período da manhã, utilizando-se fêmeas androgenizadas e um carneiro. A inseminação realizou-se por via cervical superficial, 48 horas após a retirada do dispositivo intravaginal, empregando-se sêmen fresco diluído em leite desnatado. As taxas de gestação foram determinadas 60 dias após a inseminação artificial, por ultrassonografia com um transdutor transretal de 5,0 MHz. Para a análise estatística das taxas de prenhez e de estro utilizou-se o teste Qui-quadrado, por meio do pacote Statistical Analysis System (SAS, 1996). As taxas de estro e prenhez nos grupos I, II, III, IV, V e VI foram de 90%, 30 %; 100%, 33,3%;

¹ Acadêmico de Pós-graduação em Reprodução Animal, Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, FMVZ, UNESP, Campus Botucatu – Distrito de Rubião Jr., s/n - Botucatu - SP, 18618-000, jungiro2005@hotmail.com, Tel/Fax: (014)38116249. Autor para correspondência.

² Professora Titular Dra. Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, FMVZ, UNESP, Botucatu, SP, 18618-000, euniceoba@fmvz.unesp.br

³ Professora Adjunto Dra. Departamento de Morfofisiologia, UFMS, Campo Grande, MS, 79070-900, mariaines@nin.ufms.br

⁴ Acadêmicos (as) de Pós-graduação em Reprodução Animal, Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, FMVZ – UNESP, Botucatu, SP, 18618-000

100%, 33,3%; 20%, 20%; 100%, 37,50 % e 80%, 40%, respectivamente. Foi observada diferença estatística quanto ao número de ovelhas em estro ($P < 0,05$), enquanto os índices de prenhez entre os grupos mostraram-se semelhantes. Baseado-se nos resultados, conclui-se que o protocolo de curta duração apresentou melhores resultados na sincronização de estro e fertilidade em ovelhas que o de longa duração.

Palavras-chaves: progestágeno, eCG, Ciclo estral, ovelha, sincronização de estro.

SYNCHRONIZATION/ INDUCTION OF ESTRUS IN SHEEP WITH DIFFERENT TIMES OF EXPOSURE TO DIFFERENT DOSES OF PROGESTOGEN AND EQUINE CHORIONIC GONADOTROPHIN (eCG)

ABSTRACT

The objective was to test the fertility of 53 sheep breed of Santa Ines, divided into six groups and subjected to different protocols for synchronization of estrus, using progestogen associated with eCG. In groups GI, GII, GIII, GIV, GV and GVI, the animals were synchronized with intravaginal sponges containing 60 mg of medroxyprogesterone acetate (MAP) for 6, 6, 9, 9, 13 and 13 days respectively, and the withdrawal was applied 500, 350, 500, 350, 500, 350 IU of eCG, respectively. The observation of estrus was held for two days in the morning, using androgenizadas females and a lamb. The insemination was carried out by cervical surface 48 hours after the withdrawal of the intravaginal device, using fresh sperm diluted with skimmed milk. The rates of pregnancy were determined 60 days after artificial insemination by ultrasonography with a transrectal transducer of 5.0 MHz. For statistical analysis of the rates of pregnancy and estrus was used chi-square test, using the package Statistical Analysis System (SAS, 1996). The rate of estrus and pregnancy in groups I, II, III, IV, V and VI were 90%, 30%, 100%, 33.3%, 100%, 33.3%, 20%, 20%; 100 %, 37.50% and 80%, 40%, respectively. In the number of ewes in estrus was a statistical difference ($P < 0.05$), but the pregnancy rates between the groups were similar. Based on the results concluded that the protocol of short duration showed better results in the synchronization of oestrus and fertility in sheep which the long-term.

Key Words: Progestogen, eCG, estrous cycle, sheep, synchronization of estrus

SINCRONIZACIÓN/ INDUCCIÓN DEL ESTRO EN OVEJAS, CON DIVERSAS ÉPOCAS DE LA EXPOSICIÓN AL PROGESTÁGENOS Y A LAS DOSIS DISTINTAS DEL GONADOTROFINA CORIÓNICA EQUINA (eCG)

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue probar la fertilidad de 53 ovejas de la raza Santa Inés, divididas en seis grupos y sometidas a distintos protocolos de sincronización del estro, utilizando progestágenos asociados con eCG. En los grupos GI, GII, GIII, GIV, GV y GVI, los animales fueron sincronizados con esponjas intravaginales empapadas con 60 mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP) durante 6, 6, 9, 9, 13 y 13 días respectivamente, y en la retirada se aplicó 500, 350, 500, 350, 500, 350 UI de eCG, respectivamente. La observación del estro se realizó durante dos días, cada mañana, utilizando hembras androgenizadas y un carnero. La inseminación se llevó a cabo por el cuello del útero 48 horas después de la retirada del dispositivo intravaginal utilizando semen fresco diluido en leche descremada. Las tasas de embarazo se determinaron 60 días después de la inseminación artificial, por ultrasonido con un transductor transrectal de 5,0 MHz. Para el análisis estadístico de las tasa de embarazo y del estro se utilizó Chi-cuadrado, utilizando el paquete estadístico del Sistema de Análisis Estadístico (SAS, 1996). La tasa de celo y del embarazo en los protocolos I, II, III, IV, V y VI fue de 90%, 30%; 100%, 33,3%; 100%, 33,3%; 20%; 20% , 100%, 37,50% y 80%, 40%, respectivamente. Fue una diferencia estadística significativa en el número de ovejas en estro ($P < 0,05$), pero sus tasas de embarazo entre los grupos fueron similares. Basándose en los resultados, llegó a la conclusión de que los protocolos de corta duración mostraron mejores resultados en la sincronización del celo y en la fertilidad de los ovinos que los protocolos de largo período.

Palabras-claves: Progestágeno, eCG, ciclo estral, oveja, sincronización del estro

INTRODUÇÃO

Neste cenário de crescimento da ovinocultura, busca-se uma maior produtividade e um menor custo de produção (SIMPLICIO, 2006). A sincronização do estro é uma ferramenta importante, por possibilitar uma concentração de partos e, conseqüentemente, uma melhor supervisão durante o nascimento, gastos reduzidos com

mão-de-obra, melhorando o manejo dos animais e maximizando a sua produtividade, além de servir como base para diversas biotécnicas reprodutivas, o que eleva a sua importância na reprodução animal. Associada à inseminação artificial, a sincronização do estro possibilita melhorias no manejo reprodutivo do rebanho ovino e promove o desenvolvimento genético do mesmo, através da utilização de reprodutores zootecnicamente superiores. Além disso, reduz o risco de disseminação de enfermidades no rebanho, já que se tem o controle sanitário do doador de sêmen (BARBAS et al., 2002) e proporciona a obtenção de lotes de animais mais homogêneos para o abate (COSTA et al., 2007).

O protocolo mais utilizado para a sincronização do estro é a associação do progesterona ou progestágenos ao eCG, o que possibilita um aumento na resposta ovulatória, na taxa de concepção e no percentual de partos múltiplos por ovulação induzida e reduz o tempo entre a retirada da esponja e o estro (BARRET et al., 2004). No entanto a taxa de fertilidade está diretamente relacionada ao tempo de tratamento. Nos tratamentos curtos há maior ovulação de folículos jovens e, conseqüentemente, maior fertilidade (BECK et al., 1993; BICUDO e SOUSA, 2003). O contrário ocorre com tratamentos longos, devido à ovulação de ovócitos velhos (VIÑALES et al., 2001; MENCHACA e RUBIANES, 2004).

O presente trabalho teve como objetivo testar diferentes durações de protocolos de sincronização de estro em ovinos, usando progestágenos, comparando-se períodos longos, médios e curtos de tratamento associado com diferentes dosagens de eCG (500 e 350 UI), quanto à incidência de estros e à fertilidade.

MATERIAIS E MÉTODOS

Local e animais

O experimento foi realizado entre fevereiro e setembro de 2007, na Fazenda Lago Azul, situada no município de Avaí, SP, com latitude 22°08'48'' S, longitude 49°19'59'' W e altitude de 481 metros.

Utilizaram-se 53 ovelhas da raça Santa Inês, nulíparas e pluríparas, com idades entre 1 e 3 anos, peso médio de 41 kg e escore corporal variando entre 2,5 e 3 (escala de um a cinco). As fêmeas foram mantidas em pastagem de capim *Brachiaria brizantha*, em sistema rotacionado, com sal mineral e água à vontade. Houve suplementação com

capim napier picado (*Pennisetum purpureum*) mais polpa cítrica nos meses de fevereiro a maio, e só com capim napier no período de junho a julho.

Todos os animais utilizados no experimento foram examinados quanto ao estado clínico (anamnese e exame físico) e reprodutivo (avaliação do aparelho genital feminino e masculino), anteriormente ao início do experimento e, durante todo o período, fez-se controle parasitário, através da contagem de ovos por grama de fezes.

Manejo experimental

Experimento I

Para este estudo, vinte e cinco ovelhas foram divididas aleatoriamente em três grupos experimentais: Grupo I (n = 10), Grupo II (n = 6) e Grupo III (n = 9), e tiveram o estro sincronizado com esponjas intravaginais impregnadas com 60 mg de acetato de medroxiprogesterona⁵, inseridas na porção anterior da cérvix, permanecendo por 6 dias (protocolo de curta duração), 9 dias (protocolo de média duração) e 13 dias (protocolo de longa duração), respectivamente. No momento da retirada das esponjas administrou-se uma dose de 500 UI de gonadotrofina coriônica equina⁶, por via intramuscular, em cada fêmea.

Experimento II

Este experimento seguiu os mesmos protocolos descritos no Experimento I quanto a sua duração, diferindo apenas na dose de eCG utilizada. Os grupos 4 (n = 10; 6 dias), 5 (n = 8; 9 dias) e 6 (n = 10; 13 dias) receberam 350 UI de eCG no momento da retirada dos pessários intravaginais de MAP.

Deteção do estro pós-tratamento

A observação de estro realizou-se após a retirada dos pessários intravaginais das ovelhas, com a utilização de seis fêmeas androgenizadas, que receberam três aplicações de hormônio (30 mg propionato de testosterona, 60 mg fempropionato de testosterona, 60 mg decanoato de testosterona - Durateston[®], via intramuscular), sendo a primeira (250mg/animal) uma semana antes de começar a detecção do estro, a segunda

⁵ Progespon®, Syntex S.A., Buenos Aires – Argentina

⁶ Folligon® 5000 UI, Intervet International B.V., Boxmeer - Holanda

(125mg/animal) 19 dias após a primeira aplicação e a terceira (125mg/animal), 14 dias após a segunda.

Na região esternal destes animais foi colocada uma mistura de óleo comestível mais pó xadrez (cor vermelha) e, no intervalo de 24 a 48 horas, após a retirada da esponja, o estro foi detectado pela manhã. As ovelhas que estavam em estro eram identificadas pela presença de tinta na região da garupa, caracterizando a receptividade dessas ao rufião. Porém, como as fêmeas androgenizadas detectaram um baixo número de ovelhas em estro, nos grupos II e V, dos experimentos I e II, respectivamente, este último foi refeito, mas utilizando um carneiro mantido preso à corda e sempre impedido de fazer a monta.

Inseminação artificial

O sêmen foi colhido do reprodutor (um carneiro mestiço - Dorper x Texel), por meio de vagina artificial, e avaliado quanto às características físicas e morfológicas, volume, cor, aspecto, motilidade progressiva, vigor, turbilhonamento e concentração espermática. A diluição do sêmen realizou-se com leite desnatado, na proporção de uma parte de sêmen para duas de meio diluidor.

A inseminação artificial foi realizada com sêmen fresco, aproximadamente 48 horas após a retirada da esponja, contendo progestágeno, através da técnica cervical superficial, em todas as ovelhas sincronizadas, marcadas ou não pelo rufião. Porém aquelas efetivamente detectadas em estro tiveram preferência na ordem de inseminação.

Diagnóstico de gestação

Cerca de 60 dias após a inseminação, procedeu-se ao diagnóstico de gestação com o auxílio do aparelho de ultrassonografia⁷ acoplado a um transdutor de linear de 5 MHz, posicionado na região retal.

Análise estatística

O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado, no qual considerando-se os animais como repetições e os protocolos de sincronização (GI, GII, GIII, GIV, GV e GVI) como tratamentos.

⁷ Aloka® 500 (Aloka Co. Ltda., Japão)

As análises estatísticas das características estudadas foram realizadas conforme Sampaio (1998), empregando-se o pacote estatístico Statistical Analysis System (SAS) – versão 5.0 (1996). Para todos os testes estatísticos foi utilizado o nível de significância de 5%. Assim, realizou-se a seguinte seqüência de análises:

1 – A consistência dos dados e a análise descritiva (médias e desvio padrão) das características de interesse ao estudo testaram-se mediante o emprego do PROC MEANS;

2 – Para comparação das taxas de prenhez e estro entre as fêmeas submetidas aos diferentes protocolos de sincronização utilizou-se o teste qui-quadrado.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A resposta ao estro em ovelhas da raça Santa Inês nos grupos GI, GII, GIII, GIV, GV e GVI apresenta-se na tabela 1.

Houve duas ovelhas eliminadas deste experimento, uma do grupo GIII e outra do GII, devido à perda do implante vaginal de progestágeno no início do programa de sincronização do estro.

Foi observada diferença ($P < 0,05$) na taxa de estro entre os grupos experimentais estudados, cujo grupo GIV obteve o pior índice, como pode ser verificada na tabela 1.

TABELA 1. Ocorrência de estro em ovelhas Santa Inês tratadas com MAP e eCG.

Período com MAP /Dose eCG	Resposta ao Tratamento	
	(Ovelhas em estro/Total)	%
6 dias/500UI	(9/10)	90 ^a
9 dias/500UI	(6/6)	100 ^a
13 dias/500UI	(9/9)	100 ^a
6 dias/350UI	(2/10)	20 ^b
9 dias/350UI	(8/8)	100 ^a
13 dias/350UI	(8/10)	80 ^a
Total	(42/53)	81,6

Letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente, (Qui-quadrado)

Embora a utilização de fêmeas androgenizadas seja tão eficiente quanto os machos na detecção do estro (BAKER e BOSU, 1980), os resultados observados neste estudo induz a conclusão de falhas no protocolo utilizado, o que acabou influenciando

nos resultados encontrados. Após a observação do baixo índice de estro detectado no GIV com as fêmeas androgenizadas estas foram substituídas por machos inteiros sob contenção, para detecção de cio das fêmeas dos grupos GII e GV, resultando em índices de 100% de estro (Tabela 1). Uma das possíveis explicações para o baixo índice de estro detectado no GIV seria o tempo para o hormônio aplicado nas fêmeas, testosterona, começar a fazer efeito, pois foi aplicado uma semana antes de introduzir a esponja. No entanto, no GI, as mesmas fêmeas androgenizadas detectaram 90%, sendo que foram introduzidas nos dois grupos no mesmo dia.

Em relação ao protocolo de longa duração, de 13 dias associado com 500 UI de eCG (Tabela 1), Hasemi et al. (2006), também conseguiram 100% de ovelhas em estro. Já no protocolo associado com 350 UI de eCG, Simonetti et al. (1999) verificaram um resultado maior, 92,9%. Porém, o protocolo de curta (Tabela 1), pode ter obtido apenas 20% de estro por falha na detecção do estro, mas em relação ao protocolo de curta duração com 500 UI foi semelhante ao de Simonetti et al. (1999), 90% de estro

Com o protocolo de curta duração associado a 500 UI de eCG (GI, 6 dias), a porcentagem de ovelhas em estro não diferiu dos de longa duração (GIII e GVI, 13 dias) com, 90%, 100% e 80% de estro, para os grupos GI, GIII e GVI, respectivamente. Entretanto, Ustuner et al. (2007) conseguiram uma porcentagem maior de ovelhas em estro no protocolo de longa duração (88,2%) em relação ao de curta duração (77,1%), utilizando como progestágeno o FGA. É importante ressaltar que a utilização de diferentes fontes de progestágenos (FGA ou MAP), para a sincronização de estro em ovelhas, não deve interferir nos resultados obtidos (ZELEKE et al., 2005). Os valores deste experimento com a associação do progestágeno mais eCG (Tabela 1) foram mais altos que os encontrados por Ustuner et al. (2007), embora estes autores conseguiram um resultado melhor no protocolo de longa duração.

A concentração de estro nas primeiras 48 horas após a retirada do implante foi de 81,6%, semelhante aos observados por Menchaca et al. (2004), 80%. Mesmo não ocorrendo diferenças nos resultados de estro nos protocolos com progestágenos associado com eCG em relação ao protocolo com prostaglandina, a associação de progestágenos mais eCG é a mais utilizada para a sincronização do estro nas ovelhas por obter um resultado melhor (BARRET et al., 2004).

Uma variação de 80 a 100% de estro observados nos grupos experimentais deste estudo estão de acordo com o encontrado nos trabalhos de Zeleke et al (2005) e

Rodrigues et al. (2004), inclusive naqueles com protocolos de sincronização que não utilizaram fonte de progestágenos, como os 93,7% de estro relatados por Ataman et al. (2006), ao sincronizar o estro das ovelhas com uma associação de GnRH, PGF₂ α e eCG.

Na taxa de prenhez, os grupos GI, GII, GIII, GIV, GV e GVI obtiveram, respectivamente, 30%, 33,3%, 33,3%, 20%, 37,5% e 40%. Não houve diferenças estatísticas para os resultados (Tabela 2; P > 0,05).

TABELA 2. Taxa de prenhez em ovelhas Santa Inês tratadas com MAP e eCG.

Período com MAP /Dose eCG	Prenhez	
	(Ovelhas prenhes/Total)	%
6 dias/500UI	(3/10)	30,0
9 dias/500UI	(2/6)	33,3
13 dias/500UI	(3/9)	33,3
6 dias/350UI	(2/10)	20,0
9 dias/350UI	(3/8)	37,5
13 dias/350UI	(4/10)	40,0
Total	(17/53)	32,3

Em todos os grupos experimentais observado um aumento na produção de muco vaginal e cervical, causado pela atuação de hormônios utilizados no protocolo de sincronização de estro e liberados pela tração mecânica, o que dificultou o procedimento da inseminação artificial, além de promover, em algumas situações, o refluxo de parte da dose inseminante aplicada. Esses fatores podem ter contribuído para o comprometimento dos índices de prenhez obtidos, abaixo dos observados em outros estudos com a inseminação cervical superficial, com sêmen fresco. Dogan et al. (2006.), por exemplo, inseminando intracervicalmente, obtiveram taxas de 76,5% de prenhez, após sincronização com protocolo MAP mais 500 UI de eCG por 12 dias. Türk et al. (2008) verificaram 63,6% de prenhez, com FGA, por 12 dias, mais administração de 500 UI de eCG na retirada da fonte de progestágeno e duas inseminações (12 e 24 horas após retirada do implante). Entretanto Menchaca et al. (2004), inseminando pela via

cervical, com sêmen fresco, tiveram uma taxa de prenhez inferior à deste estudo (26%), usando apenas a prostaglandina para a sincronização do estro.

Assim como verificado neste trabalho, Ustuner et al. (2007) não encontraram diferenças estatísticas em relação à taxa de concepção para os grupos sincronizados com FGA por seis (35,7%) e 12 dias (31%) e inseminadas intracervicalmente com sêmen fresco. No entanto Viñoles et al. (2001), com o uso de progestágenos por seis dias (curta duração), obtiveram uma maior taxa de prenhez do que com o de 12 dias (longa duração). Segundo Husein et al. (2007), a permanência da esponja com progéstagenos em curta duração pode substituir os protocolos de longa duração, caso seja associado com eCG. Por ter dupla função, de FSH e LH, essa gonadotrofina induz à ovulação de folículos mais novos e, conseqüentemente, com uma maior fertilidade (BECK et al., 1993; BICUDO e SOUSA, 2003). Esse fato foi relatado por Husein et al. (2007) que, utilizando monta controlada, com a introdução do reprodutor por determinado período, alcançaram maior índice de prenhez, respectivamente, de 91% e 75% para o protocolo de curta (4 dias), sendo este melhor que o de longa duração (12 dias), utilizando implante com FGA (40 mg) e aplicação de 500 UI de eCG na retirada.

O uso de progestágenos mais eCG para sincronizar a ovulação e inseminar em tempo fixo apresenta maior fertilidade (32,3%), ao comparar-se com o protocolo de prostaglandina (26% versus 23%; MENCHACA et al., 2004), e com GnRH (REYNA et al., 2007). Para Bartlewski et al. (2004) e Takada (2004), um dos problemas do uso desse hormônio é saber o momento exato da sua aplicação, pois o folículo pode até ovular, mas o ovócito encontrar-se imaturo e ter uma baixa fertilidade.

De acordo com a tabela 2, não houve diferença na prenhez em relação à dose de eCG. Entretanto Simonetti et al. (2002) demonstraram que há influência da dose de eCG e, quanto maior, melhor o resultado obtido, dentro de limites estreitos. Além disso, o momento da aplicação desse hormônio associado com progestágenos não influencia nos resultados de prenhez, de acordo com Ustuner et al. (2007). Contrariamente, Zeleke et al. (2005) demonstraram que há influência do momento de aplicação do eCG nos índices gerais de fertilidade das fêmeas.

Com a presença do corpo lúteo, a progesterona produzida por este inibe a ocorrência da ovulação pela retroalimentação negativa na liberação do LH (PELUSO et al., 2006), porém há o crescimento do folículo até o desvio (GINTHER et al., 1995) e, se houver a suplementação com LH exógeno pode ocorrer a ovulação, com

probabilidade de formar um corpo lúteo anormal (MORAES et al., 2002). Esse fato pode justificar a taxa de prenhez dos animais do GV não ter diferido dos outros grupos, que possivelmente conseguiram ovular sob ação do LH exógeno, presente no eCG, com estabelecimento da gestação, indicando a formação de um corpo lúteo funcional, com produção de níveis normais de progesterona, suficientes para manutenção da gestação.

Com os resultados obtidos neste estudo, permitiu-se concluir que as dosagens de eCG utilizadas não influenciaram os resultados obtidos e que o protocolo de curta duração com progestágeno, associado com 500 UI de eCG, aplicada na retirada de esponja, pode também ser utilizado, de forma alternativa, no de longa duração, para a sincronização de estro das ovelhas, sem comprometer o índice de fertilidade após a inseminação em tempo fixo.

Recomenda-se a realização de novos estudos com um número maior de animais, para verificar possíveis significâncias das diferenças numéricas encontradas nas variáveis estudadas, entre os protocolos experimentais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ATAMAN, M. B.; AKÖZ, M. GnRH-PGF2 α AND PGF2 α synchronization in akkaraman cross-bred sheep in the breeding season. **Bull. Vet. Inst. Pulawy**. v. 50, p. 101-104, 2006.

BAKER, C.A.V.; BOSU, W.T.K. Studies on experimentally androgenized females: goats. **Dairy Goat J.**, v.58, p.944-948, 1980.

BARBAS, J.; BAPTISTA, C.; MASCARENHAS, R.; HORTA, A.E.M. Effect of two doses of eCG on fertility prolificacy and fecundity in Serra da estrela ewes subjected to doublé artificial insemination. **Rev. Port. Zootec.**, v.9, n.2, p.13-26, 2002.

BARRET, D.M.W.; BARTLEWSKI, P.M.; BATISTA-ARTEAGA, M.; SYMINGTON, A.; BAWLINGS, N.C. Ultrassound and endocrine evaluation of the ovarian response to a single dose of 500 UI of eCG following a 12 day treatment with progestogen-releasing intravaginal sponges in the breeding and nonbreeding season in ewe. **Theriogenol.**, v.61, n.2, p. 311-327, 2004.

BARTLEWSKI, P.M.; ARAVINDAKSHAN, J.; BEARD, A.O.; NELSON, M. L.; BATISTA-ARTEGA, M.; COOK, S.J.; RAWLINGS, N.C. Effects of medroxyprogesterone acetate (MAP) on ovarian abtral follicle development, gonadotrophin secretion and response to ovulation with gonadotrophin – releasing hormone (GnRH) in sea sonally anoestrous ewes. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 21, n. 1-2, p. 63-75, 2004.

BECK, N.F.G.; DAVIES, B.; WILLIAMS, S.P. Oestrous synchronization in ewes: effect of combining a prostaglandin analogue with a 5-day progestágeno treatment. **Anim. Prod.**, v. 53, p. 207-210, 1993.

BICUDO, S.D.; SOUSA, D.B. Associação de progestágeno, prostaglandina e eCG em protocolos de curta duração para indução/sincronização do estro em ovelhas Suffolk. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v. 27, n. 3, p. 473-474, 2003.

COSTA, R. L. D. da; QUIRINO, C.R.; AFONSO, V. A. C.; SILVA, R. M.C. da; MELO, E. B. **Avaliação de diferentes protocolos de sincronização de estro em ovelhas da raça Santa Inês na região norte Fluminense.** Disponível em: [www.caprilvirtual.com.br/artigos/indu%\(3%A7%C3%A3ocio_ov_apt.htm](http://www.caprilvirtual.com.br/artigos/indu%(3%A7%C3%A3ocio_ov_apt.htm). Acesso em: 17/08/2007.

DOGAN, I.; NUR, Z. Different estrous induction methods during the non – breeding season in kivircik ewes. **Vet. Med.**, V. 51, n. 4, p. 133-138, 2006.

GINTHER, O.J.; KOT, K.; WILTBANK, M.C. Associations between emergence of follicular waves and fluctuations in FSH concentrations during the estrous cycle in ewes. **Theriogenol.**, v.43, n.3, p.689-703, 1995.

HASEMI, M.; SAFDARIAN,M.; KAFI,M. Estrous response to synchronization of estrus using different progesterone treatments outside the natural breeding season in ewes. **Small Rum. Res.**, v. 65, n.3, p. 279-283, October, 2006.

HUSEIN, M. Q.; ABABNEH, M. M.; ABU – RUMAN, D. S. The effects of short or long term FGA treatment with or without eCG on reproductive performance of ewes bred out-of-season. **Am. J. Anim. Vet. Sci.**, v. 2, n. 1, p. 23-28, 2007.

MENCHACA, A.; MÜLLER, V.; GIL, J.; PINCZAK, A.; LACA, M.; RUBIANES, E. Prostaglandin F2 α treatment associated with timed artificial insemination in ewes. **Reprod. Dom. Anim.**, v. 39, n. 5, p.352-355, 2004.

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

MORAES, J.C.F.; SOUZA, C.J.H.de; GONÇALVES, P.B.D. Controle do estro e da ovulação em bovinos e ovinos. In: **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. São Paulo: Varela, 2002, c.3, p.25-56.

PELUSO, J.J. Multiplicity of progesterone's actions and receptors in the mammalian ovary. **Biol. Reprod.**, v.75, p.2-8, 2006.

REYNA, J.; THOMSON, P.C.; EVANS, G.; MAXWELL, W.M.C. Synchrony of ovulation and follicular dynamics in Merino ewes treated with GnRH in the breeding and non-breeding seasons. **Reprod. Dom. Anim.**, v.42, p.410-417, 2007.

RODRIGUES, L.F.de; ARAUJO, A.Ade; NUNES, J.F.; MOURA, A.A.; MOUREIRA, E.P. Sincronização do estro em ovelhas deslanadas: efeito de diferentes doses de gonadotrofina coriônica equina sobre a taxa de ovulação. **Rev. Ciênc. Agrár.**, n.41, p.215-222, 2004.

SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. 1.ed. Belo Horizonte: FEPMVZ, 1998. 221P.

SAS. **User's guide: statistics**, version 5. Cary: SAS Institute Inc., 1996. 956p.

SIMONETTI, L.; GARDON, J.C.; RAMOS, G. Residual levels on medroxyprogesterone acetate (MAP) impregnated sponges after estrus synchronization treatment in cyclic ewes. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, v.36, n.5, 1999. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-95961999000500003&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 28/09/08.

SIMONETTI, L.; RAMOS, G.; GARDÓN, J. C. Effect of estrus synchronization and artificial insemination on reproductive performance of Merino sheep. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, v. 39, n. 3, p.143-146, 2002.

SIMPLÍCIO, A. A.. Caprinocultura e ovinocultura de corte: Desafios e oportunidades. **Rev. Cons. Fed. Med. Vet.**, v.12, n.39, p. 7 - 18, 2006.

TAKADA, L. **Avaliação da resposta ovariana na sincronização do estro e da ovulação utilizando protocolo de curta duração em ovelhas da raça Suffolk.** 2004. 151. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo, 2004.

TÜRK, G.; GUR, S.; SONMEZ, M.; BOZKURT, T.; AKSU, E. H.; AKSOY, H. Effect of exogenous GnRH at the time of artificial insemination on reproductive performance of Awassi ewes synchronized with progestagen – PMSG - PGF2 α combination. **Reprod. Dom. Anim.**, v. 43, n. 1, p. 53-58, 2008.

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

VIÑALES, L.; FOSBERG, M.; BANCHERO, G.; RUBIANES, E. Effect of long-term and short-term progestagen treatment and pregnancy rate in cyclic ewes. **Theriogenol.**, v. 55, n. 4, p.993-1004, 2001.

ZELEKE, M.; GREYLING, J.P.C.; SCHWALBACH, L.M.J.; MULLER, T.; ERASMUS, J.A. Effect of progestagen and PMSG on oestrous synchronization and fertility in Dorper ewes during the transition period. **Small Rumin. Res.** v.56, n. 1-3, p. 47-53, 2005.