

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

SINCRONIZAÇÃO DO ESTRO DE OVELHAS SANTA INÊS UTILIZANDO FSH:LH

NATHALIA HACK MOREIRA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS ANIMAIS

**BRASÍLIA/DF
FEVEREIRO DE 2013**



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

SINCRONIZAÇÃO DO ESTRO DE OVELHAS SANTA INÊS UTILIZANDO FSH:LH

Aluna: Nathalia Hack Moreira

Orientador: Alexandre Floriani Ramos

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS ANIMAIS

PUBLICAÇÃO: 79/2013

**BRASÍLIA/DF
FEVEREIRO DE 2013**

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA E CATALOGAÇÃO

MOREIRA, N. H. **Sincronização do estro de ovelhas Santa Inês utilizando FSH:LH.** Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2013, 70p. Dissertação de Mestrado.

Documento formal, autorizando reprodução desta dissertação de mestrado para empréstimo ou comercialização, exclusivamente pra fins acadêmicos, foi passado pelo autor à Universidade de Brasília e acha-se arquivado na Secretaria do Programa. O autor e o seu orientador reservam para si os outros direitos autorais, de publicação. Nenhuma parte desta dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor ou do seu orientador. Citações são estimuladas, desde que citada à fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA

MOREIRA, Nathalia Hack. **Sincronização do estro de ovelhas Santa Inês utilizando FSH:LH.** Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2013, 70p. Dissertação de Mestrado. (Mestrado em Ciências Animais) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, 2013.

1. Folículo. 2. Ovulação. 3. Ovino. 4. Fertilidade. 5. Inseminação

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**SINCRONIZAÇÃO DO ESTRO DE OVELHAS SANTA INÊS UTILIZANDO
FSH:LH**

NATHALIA HACK MOREIRA

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDA
AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS ANIMAIS, COMO PARTE DOS
REQUISITOS NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO
DO GRAU DE MESTRE EM CIÊNCIAS
ANIMAIS.**

APROVADA POR:

**ALEXANDRE FLORIANI RAMOS, DOUTORADO (EMBRAPA RECURSOS
GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA) (ORIENTADOR)**

IVO PIVATO, DOUTORADO (UnB) (EXAMINADOR INTERNO)

**DANIELA OLIVEIRA BRANDÃO, DOUTORADO (FACULDADES INTEGRADAS
DA UNIÃO EDUCACIONAL DO PLANALTO CENTRAL) (EXAMINADOR
EXTERNO)**

BRASÍLIA/DF, 18 de Fevereiro de 2013.

Aos meus pais, Olga e Cláudio, Magna e Eduardo, que sempre me apoiaram. Às minhas irmãs e melhores amigas, Aline, Marina e Maria Eduarda, por todo companheirismo, compreensão e apoio. Aos meus Avós, e principalmente ao meu Avô Sebastião, que sempre me incentivou acreditando e confiando em minha capacidade. Ao meu querido amor, Oscar, uma das pessoas mais importantes na realização deste sonho. A vocês dedico.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Dr. Alexandre Floriani Ramos, pela grande oportunidade, confiança, dedicação, paciência e ensinamentos. Sempre te considerei como um “Pai” na Veterinária, obrigada por tudo.

À Pesquisadora Dra. Bianca Damiani por compartilhar comigo sua experiência em ovinos e em inseminação artificial.

Ao Professor Dr. Ivo Pivato pelas conversas e ensinamentos, pelo carinho e amizade, além de aceitar participar da banca examinadora. Estará sempre no meu coração, obrigada por tudo.

À Professora Dra. Daniela, que fez parte da minha formação profissional como Médica Veterinária, por aceitar o convite de participação na banca examinadora.

Ao mestrando Oscar Oliveira Brasil, por todos os ensinamentos, conversas científicas, estudos, por todo o esforço oferecido, dedicação, amizade. Por sempre me apoiar e até pelos puxões de orelha. Sem você não conseguiria desenvolver e finalizar tudo o que fizemos ao longo de dois anos. Tenho muito orgulho do que você é, terá sempre o meu amor e carinho.

Aos amigos Gilberto, Paula, Heitor, Eleonora, Rodrigo, Priscilla, Mairon, João, Carolle, Vladinis, Mateus, José Felipe, Anelise, pelas discussões acadêmicas, ajuda no trabalho, pela amizade, apoio, companheirismo, preocupação, conselhos, comemorações e por me ajudarem a crescer profissionalmente.

Ao amigo e técnico do laboratório Normandes, pelo apoio, ajuda e paciência.

Aos funcionários da EMBRAPA do Setor Campo Experimental Fazenda Sucupira, “Dona Zefinha”, “Dona Lia”, “Dona Mara”, Manoel, Weber, “Japão” e todos os outros que fizeram parte da minha vida durante este trabalho e pela amizade.

À Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, pelo suporte ao trabalho realizado.

Ao CNPq, pela bolsa concedida.

À Universidade de Brasília (UnB) e o programa de Pós Graduação em Ciências Animais.

E a todos que direto ou indiretamente, tenham apoiado de alguma forma a realização deste projeto, meu muito obrigada.

ÍNDICE

Capítulos/Subcapítulos	Página
RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	x
LISTA DE FIGURAS.....	xii
LISTA DE TABELAS.....	xiii
LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIACÕES.....	xiv
CAPÍTULO 1.....	1
1 INTRODUÇÃO.....	2
1.1 Objetivo Geral.....	4
1.2 Objetivos Específicos.....	4
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	5
2.1 Ciclo reprodutivo da ovelha.....	5
2.2 Controle do ciclo estral de ovinos.....	9
2.2.1 Controle do ciclo estral com progestágenos.....	10
2.2.2 Promotor do crescimento folicular.....	12
2.2.2.1 Gonadotrofina coriônica equina (eCG).....	12
2.2.2.2 Hormônio folículo estimulante (FSH).....	17
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	19
CAPÍTULO 2 – SINCRONIZAÇÃO DO ESTRO DE OVELHAS SANTA INÊS UTILIZANDO FSH:LH.....	30
1 RESUMO.....	31
2 ABSTRACT.....	33
3 INTRODUÇÃO.....	35
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	37
4.1 Local do Experimento e animais experimentais.....	37
4.2 Experimento 1.....	38
4.3 Experimento 2.....	40
4.4 Análise estatística.....	41
5 RESULTADOS.....	42
6 DISCUSSÃO.....	45
7 CONCLUSÕES.....	49
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	50
CAPÍTULO 3.....	55
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	55

RESUMO

SINCRONIZAÇÃO DO ESTRO DE OVELHAS SANTA INÊS UTILIZANDO FSH:LH

Nathalia Hack Moreira¹, Alexandre Floriani Ramos^{1,2}.

¹Faculdade de Agronomia e Veterinária - UnB, Brasília-DF, ² Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília-DF.

Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes fontes de promotores do crescimento folicular (FSH:LH e eCG) na sincronização do estro, ovulação e fertilidade de ovelhas Santa Inês. Para tanto, matrizes Santa Inês foram submetidas a protocolos de sincronização seguida de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) com sêmen congelado. No Experimento 1, as matrizes (n=44) iniciaram protocolo com dispositivos intravaginais impregnados com progestágenos (60 mg de acetato de medroxiprogesterona - Progespon®) e mantidos por 12 dias. Na remoção do pessário, os animais foram divididos em quatro grupos: G300eCG receberam 300 UI de ECG por via intramuscular; G20FSH:LH receberam 20 UI de FSH:LH; G40FSH:LH receberam 40 UI de FSH:LH; e G20/20FSH:LH receberam 40 UI de FSH:LH dividido em duas doses administradas 12 horas antes e no momento da remoção do pessário. Os animais foram mantidos com rufião para detecção do estro. Os folículos foram avaliados (ultrassonografia) em intervalos de 4 horas até a ovulação e os corpos lúteos sete dias após a ovulação. O sangue foi coletado para avaliação da concentração sérica de P₄ por radioimunoensaio. No Experimento 2 foi realizado por inseminação artificial em tempo fixo por laparoscopia as 64 e 74 horas após a remoção do MAP, nos grupos G300eCG e G20FSH:LH respectivamente, com o objetivo de avaliar a eficiência dos protocolos. Na análise estatística utilizou-se ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Duncan, as

variáveis sem distribuição normal foram analisadas pelo teste de Kruskal-Wallis, e os dados binomiais pelo teste de Qui-quadrado. A hora do estro e da ovulação, diâmetro do maior folículo, volume luteal e concentração sérica de progesterona foram semelhantes entre os protocolos ($P>0,05$). O tempo entre a remoção do pessário intravaginal até o estro e ovulação variaram de $46,3\pm 11,8$ a $53,0\pm 7,2$ e $80,4\pm 17,3$ a $95,3\pm 6,1$, respectivamente. A alta variação na distribuição do estro e da ovulação, em todos os tratamentos, mostrou que nenhum dos protocolos foi eficiente na sincronização do estro e ovulação, evidenciando a necessidade de desenvolvimento de protocolos mais eficientes. O número de ovelhas em estro não diferiu entre os grupos G300eCG e G20FSH:LH, tendo valores de 72% e 71%, respectivamente ($P>0,05$). A taxa de fertilidade foi semelhante ao utilizar 300 UI de eCG (38%) ou 20 UI de FSH:LH (26,9%) após a remoção do pessário vaginal ($P>0,05$). Durante a estação seca, tanto o protocolo utilizando eCG quanto FSH:LH nas diferentes doses, não foram eficientes na sincronização do estro e da ovulação, resultando em baixa taxa de fertilidade com IATF usando sêmen congelado, no entanto a semelhança entre os tratamentos sugere que o eCG pode ser substituído pelo FSH:LH em programas de sincronização do estro.

Palavras chaves: Folículo, ovulação, ovino, fertilidade, inseminação.

ABSTRACT

ESTROUS SYNCHRONIZATION IN SANTA INES SHEEP USING FSH:LH

Nathalia Hack Moreira¹, Alexandre Floriani Ramos^{1,2}.

¹School of Agronomy and Veterinary Medicine - UnB, DF, ² Embrapa Genetic Resources and Biotechnology

The purpose of this study to evaluate the effect of different sources of follicular growth promoters (FSH:LH and eCG) on estrus synchronization, ovulation and fertility of Santa Inês ewes. Therefore, arrays Santa Inês underwent synchronization protocols followed by fixed-time artificial insemination (TAI) with frozen semen. In Experiment 1, the arrays (n=44) initiated protocol with intravaginal devices impregnated with progesterone (60 mg of medroxyprogesterone acetate - Progespon®) and kept for 12 days. On P4 removal, the animals were divided into four groups: G300eCG received 300 IU intramuscularly ECG; G20FSH: LH received 20 IU FSH:LH; G40FSH:LH received 40 IU FSH:LH, and G20/20FSH:LH received 40 IU FSH:LH administered in two divided doses, 12 hours before and at the time of P4 removal. The animals were maintained with teaser for estrus detection. The follicles were ultrasound evaluated with 4 hours interval and again seven days after ovulation for corpora lutea assessment. Radioimmunoassay was performed to access P4 from serum of collected blood samples. In Experiment 2 TAI was performed using laparoscopy at 64 and 74 hours after removal of MAP, in groups G300eCG G20FSH: LH respectively, in order to evaluate protocols efficiency. For statistical analysis was used ANOVA and means were compared by Duncan test, variables without normal distribution were analyzed using Kruskal-Wallis test, and binomial data by Chi-square. The time of oestrus and ovulation,

largest follicle diameter, luteal volume and progesterone concentration were similar among protocols ($P > 0.05$). The time between removal of intravaginal device to estrus and ovulation ranged from 46.3 ± 11.8 to 53.0 ± 7.2 and 80.4 ± 17.3 to 95.3 ± 6.1 , respectively. The high variation in the estrus and ovulation distribution in all treatments showed that none of protocols was effective in estrus and ovulation synchronization, suggesting the need for development of more efficient protocols. The number of ewes in estrus did not differ between groups G300eCG (72%) and G20FSH:LH (71%) ($P > 0.05$). Fertility rate was similar when using 300 IU eCG (38%) or 20 IU FSH: LH (26.9%) after removal of vaginal pessary ($P > 0.05$). During the dry season, both eCG as FSH:LH using at different doses protocol was not effective in estrus and ovulation synchronization, resulting in low fertility rate with TAI using frozen semen, however the similarity among treatments suggests that the eCG can be replaced by FSH:LH in oestrus synchronization programs.

Keywords: Follicle, ovulation, sheep, fertility, insemination.

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
Capítulo 2		
Figura 2.1	Representação esquemática dos tratamentos para sincronização do estro em ovelhas Santa Inês.	38
Figura 2.2	Distribuição do estro de ovelhas Santa Inês submetidas a protocolos de sincronização usando 300 UI de ECG, 20 UI de FSH:LH; 40 UI de FSH:LH; ou 40 UI de FSH:LH dividido em duas doses administradas com intervalo de 12 horas.	43
Figura 2.3	Distribuição da ovulação de ovelhas Santa Inês submetidas a protocolos de sincronização usando 300 UI de ECG, 20 UI de FSH:LH; 40 UI de FSH:LH; ou 40 UI de FSH:LH dividido em duas doses administradas com intervalo de 12 horas.	43

LISTA DE TABELAS

Tabela		Página
Capítulo 2		
Tabela 2.1	Incidência de estro, período entre o final do protocolo ao estro e à ovulação em ovelhas Santa Inês submetidas a protocolos de sincronização usando 300 UI de ECG, 20 UI de FSH:LH; 40 UI de FSH:LH; ou 40 UI de FSH:LH dividido em duas doses administradas com intervalo de 12 horas	42
Tabela 2.2	Diâmetro do maior folículo pré-ovulatório, número de folículos ovulados, volume da massa luteal e concentração sérica de progesterona em ovelhas Santa Inês submetidas a protocolos de sincronização usando 300 UI de ECG, 20 UI de FSH:LH; 40 UI de FSH:LH; ou 40 UI de FSH:LH dividido em duas doses administradas com intervalo de 12 horas	44
Tabela 2.3	Incidência de estro e taxa de fertilidade em ovelhas Santa Inês submetidas a protocolos de sincronização usando 300 UI de ECG ou 20 UI de FSH:LH	44

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIACÕES

- > – Maior
- < – Menor
- % – Porcentagem
- °C – Graus Celsius
- ANOVA – Análise de Variância
- Anti-eCG ou ¹²⁵I-eCG – Anticorpo monoclonal anti-eCG
- CBRA – Colégio Brasileiro de Reprodução Animal
- CEUA - Comitê de Ética no Uso Animal
- CIDR – Dispositivo Intravaginal Liberador de Progesterona
- CL – Corpo Lúteo
- D – dia
- Da – Diâmetro longitudinal
- Db – Diâmetro transversal
- DF – Distrito Federal
- E2 – Estradiol
- eCG – Gonadotrofina Coriônica Equina
- EUA – Estados Unidos da América
- FGA – Acetato de Fluorogestona
- FSH – Hormônio Folículo Estimulante
- GnRH – Hormônio Liberador de Gonadotrofinas
- h – Horas
- IA – Inseminação Artificial
- IAC – Inseminação Artificial Intracervical
- IAL – Inseminação Artificial Intrauterina Laparoscópica
- IATF – Inseminação Artificial em Tempo Fixo
- IAV – Inseminação Artificial Vaginal
- IBGE– Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
- INMET – Instituto Nacional de Meteorologia do Brasil
- LH – Hormônio Luteinizante
- kDa – Kilodalton
- m - Metros
- MAP – Acetato de medroxiprogesterona
- mg – Miligramas
- MHz – Mega Hertz
- min – minutos
- mL – Mililitros
- mm – Milímetro
- MN – Monta Natural
- n – Número de amostras
- ng – Nanograma
- P – Probabilidade de erro
- P4 – Progesterona
- PGF2 α – Prostaglandina-F2alfa
- PGL – Propilenoglicol
- PVP – Polivinilpirrolidona
- R – raio

RIA – Radioimunoensaio

SAEG – Software Analysis and Experimentation Group

UI – Unidades Internacionais

V – volume

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO

O contínuo crescimento da população mundial faz dos ovinos animais de grande importância na produção de alimentos, principalmente para as economias de países em desenvolvimento, e em particular, para aqueles com condições climáticas adversas ou com terras subfértis. Segundo o IBGE (2011), o rebanho nacional de ovinos possui aproximadamente 17,6 milhões de cabeças. O maior efetivo do rebanho se encontra no Nordeste, que detém cerca de 57,23%, seguidos pelas regiões Sul (27,99%) e Centro-Oeste (6,84%). Ainda assim, o rebanho ovino das regiões tradicionais de criação é insuficiente para suprir o mercado interno brasileiro. Desta forma, o espaço para a carne importada vem aumentando - de 1997 a 2008 a importação de carne ovina passou de um valor de US\$ 6 milhões para mais de US\$ 23 milhões (ASPACO, 2010).

Ao longo dos anos, a domesticação, a pressão adaptativa e a distribuição cosmopolita das raças fizeram com que muitos grupos raciais ampliassem o período de atividade reprodutiva, havendo casos em que a estacionalidade praticamente inexistente (Bicudo et al., 2009). A raça deslanada Santa Inês, vem demonstrando ter um alto potencial de adaptação à região nordestina, sendo consideradas como poliéstricas contínuas por apresentarem atividades reprodutivas durante todo o ano nesta região. Possuem bons índices produtivos e reprodutivos, com boa conformação de carcaça, fertilidade, prolificidade, precocidade, rusticidade e resistência a parasitas gastrointestinais. Essa raça vem adquirindo grande importância a nível nacional, sendo considerada uma excelente alternativa na produção de carne para quase todas as regiões tropicais do Brasil, em especial nas zonas semiáridas nordestinas (Silva et al., 2010).

No Brasil a expansão da criação de ovinos tem sido percebida em todas as regiões geográficas, entretanto, a velocidade de crescimento e a organização da cadeia produtiva ainda são insatisfatórias e têm representado o principal obstáculo à popularização da adoção da Reprodução Assistida e consolidação do emprego das Biotécnicas, importantes por permitir a maximização de material genético, controle e concentração dos períodos de parição e desmama, obtendo uma maior uniformidade no lote de abate (Abecia et al., 2012). Diversos são os entraves ainda existentes, alguns deles inerentes as peculiaridades fisiológicas da espécie ovina, outros decorrentes das conjunturas regionais e circunstâncias econômicas (Bicudo et al., 2009).

A sincronização do estro é uma das importantes biotecnologias que deve ser empregada a fim de aumentar a eficiência reprodutiva. O protocolo mais utilizado para a sincronização é a associação da progesterona ou progestágeno (Iida et al., 2004; Zeleke et al., 2005) à gonadotrofina coriônica equina (eCG) (Maurel et al., 2003; Barrett et al., 2004), gerando uma sincronia que permite o emprego da inseminação artificial em tempo fixo (IATF) (Oliveira et al., 2009). Embora, muitas vezes, sejam obtidos altos índices de fertilidade, existe uma inconsistência nos resultados, entre rebanhos ou mesmo dentro do mesmo rebanho, que podem estar relacionadas a diferenças de manejo (Silva & Araújo, 2000) ou a formação de anticorpos anti-eCG após sucessivos usos, do eCG, no mesmo animal (Bodin et al., 1997; Roy et al., 1999).

A fim de evitar os efeitos indesejáveis da utilização sucessiva do eCG, a utilização dos hormônios folículo estimulante (FSH) associado ao hormônio luteinizante (LH) pode ser uma alternativa viável na substituição do eCG, evitando o seu uso contínuo em consecutivos programas de sincronização do estro. Além disso, também existe uma crescente preocupação por alimentos mais saudáveis com a mínima quantidade de resíduos hormonais e eliminação de metabólitos no meio ambiente (MAPA, 2010), sendo assim, a substituição poderia ser benéfica uma vez que o eCG possui meia-vida longa (Christakos & Bahl, 1979; Dieleman et al., 1993) enquanto que o FSH possui eliminação rápida do organismo (Ammoun et al., 2006).

1.1 Objetivo Geral

Avaliar o efeito de diferentes fontes de promotores do crescimento folicular (FSH:LH e eCG) na sincronização do estro, ovulação e fertilidade de ovelhas da raça Santa Inês.

1.2 Objetivos Específicos

Avaliar o efeito de diferentes protocolos com FSH:LH ou eCG sobre o tempo de manifestação do estro e da ovulação ovina.

Avaliar o efeito de diferentes protocolos com FSH:LH ou eCG no tamanho do folículo pré-ovulatório e volume luteal no sétimo dia após a ovulação, bem como, a concentração sérica de progesterona.

Avaliar a fertilidade de ovelhas Santa Inês submetidas a protocolos de sincronização do estro com FSH:LH ou eCG e inseminadas com sêmen congelado em tempo fixo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Ciclo reprodutivo da ovelha

Os ovinos são poliéstricos sazonais. Sendo assim, a atividade reprodutiva na ovelha é caracterizada de duas formas. A primeira é na forma de ciclo estral com duração de 16 a 17 dias. A outra é um ritmo anual de ciclicidade ovariana, caracterizada por uma parada (anestro) e restauração (estação reprodutiva) dos ciclos ovarianos ovulatórios, dependendo da estação do ano (Revisado por: Driancourt et al., 1985; Viu et al., 2006). A última forma, no entanto, ocorre principalmente em animais criados em latitudes superiores a 35°, tanto no hemisfério norte quanto no sul (Chemineau et al., 1991). O comprimento do ciclo estral é pouco variável ao longo da estação reprodutiva, existindo pequenas diferenças entre raças, idade das ovelhas (Bartlewski et al., 2011).

O ovário de ovelhas adultas contém entre 40.000 a 300.000 folículos primordiais e entre 100 e 400 folículos em crescimento, dos quais 10-40 são visíveis na superfície do ovário (Driancourt, 1991; Souza et al., 1997a). O crescimento do folículo primordial até a fase pré-ovulatória em ovelhas é superior a seis meses. O crescimento do folículo primordial até a fase pré-antral precoce (~ 0,2 mm de diâmetro) tem duração aproximada de 130 dias (Cahill & Mauleon, 1980); para que o folículo atinja 0,5 mm são necessários mais 24-35 dias, e mais 5 dias para que ele chegue a 2,2 mm de diâmetro; o tamanho pré-ovulatório (pelo menos 4 mm de diâmetro) é atingido aproximadamente 4 dias

mais tarde (Turnbull et al., 1977). À medida que o diâmetro folicular aumenta para cerca de 1-2 mm, a ultrassonografia ovariana torna-se uma ferramenta útil para a avaliação do desenvolvimento folicular, ovulação e formação do corpo lúteo (Schrick et al., 1993; Viñoles et al., 2004; Gonzalez-Bulnes et al., 2010).

Durante a época reprodutiva os ovinos apresentam um padrão de 3 a 4 ondas foliculares. A “onda” folicular é o período em que o número de folículos pequenos, médios e grandes cresce até chegar à fase estática onde irá ovular (onda ovulatória) ou entrar em atresia (fase de regressão folicular) (Evans et al., 2000; Zieba et al., 2002). O padrão de desenvolvimento folicular está intimamente associado a aumentos diários nas concentrações séricas de FSH. Pouco antes da emergência da onda pode-se observar a formação de picos transitórios na concentração de FSH. Apesar do FSH ter sido relacionado ao controle inicial do crescimento de folículos antrais, o desenvolvimento folicular e subsequente atresia são independentes das flutuações de FSH (Bartlewski et al., 1999a; Bartlewski et al., 2000; Duggavathi et al., 2003a). Além disso, a emergência da onda folicular está associada com o início do aumento transitório nas concentrações séricas de estradiol, e o pico de estradiol coincide com o final da fase de crescimento dos maiores folículos de cada onda (Bartlewski et al., 2000; Duggavathi et al., 2003a).

Em cada onda folicular, entre 1 a 4 folículos atingem o estágio final de desenvolvimento (Bartlewski et al., 1999a; Gibbons et al., 1999). Na maioria das raças de ovinos, apenas um folículo ovula ao final de cada ciclo estral, porém, a taxa de ovulação entre raças pode variar de 1 a 5 (Notter, 2012). Em ovulações múltiplas, os folículos pré-ovulatórios podem ser oriundos da última e/ou penúltima onda do ciclo estral (Bartlewski et al., 1999a; Gibbons et al., 1999). O fato de folículos de ondas diferentes poderem vir a ovular simultaneamente, sugere que a dominância folicular é fraca ou ausente na ovelha (Bartlewski et al., 2011).

Em ovelhas prolíferas, que possuem um maior número de crias nascidas ao parto (Figueiredo et al., 2007), assim como pode ser observado na raça Santa Inês, que possui prolificidade variando entre 1,18 a 1,94 (Silva e Araújo, 2000; Figueiredo et al., 2007), o tamanho do folículo pré-ovulatório normalmente atinge um diâmetro menor do que em ovelhas não-prolíferas (Driancourt et al., 1986; Souza et al., 1997b). É provável que também exista diferença na capacidade de resposta endócrina dos folículos, entre ovelhas prolíferas e não-prolíferas, em termo de tamanho de folículo (Bartlewski et al., 2011). Alguns folículos,

embora estejam grandes e saudáveis, podem não ser considerados competentes para se tornar pré-ovulatórios em relação aos outros, devido a sua característica morfológica se mostrar inapropriada (número e/ou qualidade das células da granulosa) e também, por características funcionais deficientes (habilidade da célula da granulosa de dividir ou na diferenciação de receptores de gonadotrofinas) (Driancourt et al., 1985).

O ciclo estral está associado a uma sequência de eventos endócrinos inter-relacionados regulados pelo hipotálamo, que produz o hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), a hipófise que secreta o FSH, o LH e a ocitocina; o folículo antral secreta estrogênios e inibina, o corpo lúteo (CL) secreta a progesterona e ocitocina, e o endométrio uterino produz PGF2 α (Scaramuzzi et al., 1993). O desenvolvimento do folículo ovariano, a maturação, a esteroidogênese, a ovulação e a formação de CL são principalmente controlados pelas gonadotrofinas hipofisárias (Fonseca, 2005).

A regulação da secreção e a biodisponibilidade de hormônios gonadotróficos dependem de uma interação complexa entre vários fatores internos e externos. Os fatores internos em questão incluem produção local de aminoácidos e de peptídeos/hormônios proteicos, esteroides ovarianos e outros hormônios foliculares, tais como inibina, ativina e folistatina, neurotransmissores e neuromoduladores e produtos uterinos. Os fatores externos que incluem o fotoperíodo, os ferormônios, a nutrição e o estresse, que também influenciam as funções do eixo hipotálamo-hipófise-ovário (Bartlewski et al., 2011).

A descarga pré-ovulatória de GnRH e subsequentemente de LH e FSH, atinge um pico em aproximadamente 14 horas antes da ovulação. Esse surgimento das gonadotrofinas ocorre devido à diminuição da progesterona e aumento da secreção de estradiol durante a fase final do ciclo estral. Durante a fase folicular do ciclo estral na ovelha, as concentrações circulantes de estradiol aumentam de 3 a 4 vezes (Rawlings & Cook, 1993; Bartlewski et al., 1999a).

O primeiro aumento ocorre um dia após o início da luteólise, este aumento é concomitante com o aumento da frequência dos pulsos de LH. Durante todos os estágios reprodutivos da ovelha, ocorrem pulsos rítmicos de LH gerados pela secreção de GnRH (Rawlings & Cook, 1993; Karsch et al., 1997). O aumento contínuo da secreção de estradiol durante a fase folicular do ciclo estral reflete em um aumento da quantidade de receptores para o LH nos folículos pré-ovulatórios (Rawlings & Cook, 1993). O pico de LH pré-ovulatório é determinado por um aumento na frequência e amplitude dos pulsos de LH

(Karsch et al., 1997). No momento do surgimento do pico de LH, as concentrações de progesterona no fluido folicular aumentam, enquanto que as concentrações de estradiol diminuem para um valor mínimo, dentro de 16-24 horas do pico de LH (Rawlings & Cook, 1993). Aumentos subsequentes na secreção de estradiol ocorrem durante a fase lútea, em 3 a 4 dias de intervalo (Bartlewski et al, 1999a).

A progesterona e o estradiol agindo em conjunto modulam a frequência e amplitude dos pulsos de LH e a liberação pulsátil de LH sendo inversamente relacionada com as concentrações circulantes de progesterona (Bartlewski et al., 2000; Duggavathi et al., 2005; Barrett et al., 2007). O FSH em ovelhas cíclicas também parece ser controlado pela progesterona, desta forma, foi sugerido dois mecanismos de regulação do número e periodicidade dos picos de FSH. Primeiramente a progesterona age reduzindo a pulsatilidade do GnRH, favorecendo a secreção de FSH em relação ao LH (Nakayama & Arisaka, 1997). Em segundo lugar, as concentrações circulantes de progesterona podem determinar a taxa de eliminação do FSH circulante. Altas concentrações de progesterona favorecem a secreção de isoformas de FSH com maior meia-vida enquanto que isoformas com uma menor meia-vida são secretadas em baixas concentrações de progesterona (P4) (Bartlewski et al., 2011).

O padrão das concentrações circulantes de progesterona durante a fase luteal do ciclo estral em ovelhas foi um dos primeiros a ser descrito com precisão (Alecozay et al., 1988; Niswender et al., 2000). As concentrações muito baixas de progesterona imediatamente após a ovulação (dia 0) e durante o período de formação de CL são seguidas por um aumento entre os dias 3 e 7, atingindo um pico em até aproximadamente 12 dias, e um rápido declínio atingindo concentrações basais antes do estro e ovulação seguinte (Bartlewski et al., 1999b). Estudos utilizando o monitoramento por ultrassonografia de ovelhas revelaram que as mudanças no tamanho do CL estão correlacionadas com as concentrações séricas de progesterona apenas durante os períodos iniciais de formação de CL e durante a luteólise (Bartlewski et al., 1999b; Duggavathi et al., 2003b; Davies et al. , 2006).

O corpo lúteo (CL) do ciclo estral da ovelha é formado, principalmente, pela ação do LH, envolvendo uma cascata de alterações funcionais e fenotípicas das células da granulosa e da teca dos folículos rompidos (Niswender et al., 2000). O suporte de LH é obrigatório para o crescimento inicial do CL e diferenciação celular. Entre 3 a 4 dias após a ovulação, o CL possui 6-8 mm de diâmetro, e atinge o seu máximo diâmetro de 11-14 mm,

aproximadamente seis dias mais tarde (Bartlewski et al., 1999b). A luteólise ocorre durante 2 a 3 dias, entre os dias 12 e 15 após a ovulação (Bartlewski et al., 2011).

Um menor tamanho de CL está relacionado a um maior número de ovulações (Bartlewski et al., 1999b) e a um menor tamanho dos folículos ovulatórios (Henderson et al., 1988). Desta forma, ovelhas com um único corpo lúteo pode produzir maiores concentrações de progesterona do que ovelhas com múltiplos corpos lúteos (Bartlewski et al., 2011). Além de existir uma relação inversa entre o número e o volume do CL individual, também existe um efeito inibitório local do CL sobre o crescimento dos coexistentes (Bartlewski et al., 1999b). Também foi observado que ovários que contêm CL podem suprimir localmente o crescimento de folículos antrais para diâmetros de 3 mm (Bartlewski et al., 2001), mas não há esse efeito inibitório sobre o crescimento de folículos de diâmetros maiores, nem no número de ovulações por ovário, em ovelhas cíclicas. Essas observações parecem apoiar a noção de que os efeitos da progesterona sobre o crescimento dos grandes folículos antrais são sistêmicas e não locais (Bartlewski et al., 2011).

A prostaglandina $F2\alpha$ ($PGF2\alpha$) é secretada pelas glândulas endometriais uterinas e é o fator luteolítico em ruminantes (Mann et al., 2001). A $PGF2\alpha$ é transportada para os ovários, através de veias uterinas e vasos linfáticos para a artéria ovariana (Einer-Jensen & Hunter, 2005). Perto do fim da fase lútea, o estradiol folicular aumenta a secreção de $PGF2\alpha$ e promove a formação de receptores endometriais de ocitocina, estando estes significativamente aumentados devido à exposição prévia à progesterona (Mann et al., 2001). O declínio das concentrações circulantes de $P4$, no início da luteólise funcional, está associado com a ocorrência de outro aumento dos níveis de receptores de ocitocina e na secreção pulsátil de $PGF2\alpha$ (Shirasuna et al., 2004).

2.2 Controle do ciclo estral de ovinos

A reprodução dos pequenos ruminantes pode ser controlada por diversos métodos desenvolvidos nas últimas décadas. Alguns destes envolvem a administração de

hormônios que modificam a cadeia fisiológica de acontecimentos envolvidos no ciclo estral. Outros não incluem os hormônios, mas apenas "métodos naturais", tais como controle de luz (Chemineau et al., 1992; Abecia et al., 2012) ou exposição ao macho (Gelez & Fabre-Nys, 2004; Delgadillo et al., 2009; Abecia et al., 2012).

Em ovinos, as modificações da cadeia fisiológica do ciclo estral envolvem a sincronização do estro através de uma redução na duração da fase lútea do ciclo estral por meio da utilização de PGF2 α ou através do prolongamento do ciclo estral artificialmente com P4 exógena ou com progestágenos mais potentes (Evans & Maxwell, 1986; Kusina et al., 2000). Nesta revisão será focado apenas o controle do ciclo estral por meio do uso de progesterona/progestágenos.

2.2.1 Controle do ciclo estral com progestágenos

Os primeiros tratamentos consistiram de 14 injeções subcutâneas diárias de 10 mg de progesterona, totalizando 140 mg de progesterona, permitindo uma redução do período de serviço e aumentando a sincronia dos partos (O'Mary et al., 1950). Melhores resultados utilizando progestágenos poderiam ser alcançados se a atividade da progesterona fosse interrompida abruptamente (Robinson, 1964; Robinson & Lamond, 1966). Shelton (1964), estudando vários progestágenos diferentes e vias de aplicação, descobriu um composto denominado de 17 α -acetoxo-9 α -fluoro-11 β -hidroxypregn-4-en-3, 20-dione (Searle, Chicago, Código No. SC-9880) que parecia ter todas as características da progesterona, porém 25 vezes mais potente. Além disso, obteve evidências de que determinadas quantidades de progestágenos poderiam ser absorvidos através da parede vaginal, quando aplicados topicamente. A via de administração intravaginal de progesterona ou análogos facilitou a remoção abrupta desses hormônios, principalmente quando da utilização de pessários intravaginais, mostrando ser este, um método simples e eficaz para controlar a ovulação e o estro em ovelhas cíclicas (Robinson, 1964).

Métodos que utilizam a progesterona ou seus análogos são baseados nos efeitos sobre a fase luteal do ciclo, simulando a ação da progesterona natural (Abecia et al., 2011; Abecia et al., 2012). Assim, o controle da vida do corpo lúteo ou manipulação de concentrações circulantes de progesterona permite bloquear o estro e a ovulação, sincronizando o estro após a remoção do progestágeno/progesterona (Carlson et al., 1989; Wiley et al., 1997). Desse modo, protocolos de sincronização do estro usando diferentes tempos de exposição e tipos de progesterona/progestágenos foram testados (Wagner et al., 1960; Roberts, 1966; Deweese et al., 1970; Greyling & Brink, 1987; Carlson et al., 1989; Hamra et al., 1989; Wheaton et al., 1993; Wildeus, 1999; Naqvi et al., 2001; Boscos et al., 2002; Ungerfeld & Rubianes, 2002; Timurkan & Yildiz, 2005; Moeini et al., 2007).

Protocolos longos com 12 a 14 dias de exposição à esponjas intravaginais contendo progestágenos como o acetato de fluorogestona (FGA) (Abecia et al., 2012) e o acetato de medroxiprogesterona (MAP) (Silva et al., 2010), ou mesmo a progesterona em si, por meio de dispositivos de liberação de progesterona (CIDR) (Vilariño et al., 2013), se tornaram os mais convencionais. O último ao contrário das esponjas, não absorve nem impede a drenagem de secreções vaginais (Greyling & Brink, 1987; Carlson et al., 1989; Wheaton et al., 1993).

Outra vantagem da utilização do CIDR está relacionada à menor quantidade na produção de fluido cervical anormal (Carlson et al., 1989), tendo também como vantagem o fato do CIDR ter a própria progesterona como base hormonal, o que resulta em uma sincronização mais precoce e mais compacta, devido ao seu desbloqueio ser mais rápido e intenso, fatores esses, que podem torná-lo um agente mais eficiente na sincronização do estro e consequentemente na IATF (Greyling & Brink, 1987; Wheaton et al., 1993).

O uso exclusivo de progestágenos/progesterona na sincronização do estro causa anomalias na secreção de estradiol (E2) durante a fase pré-ovulatória e reduz a capacidade de ovular um oócito que é capaz de ser fertilizado, bem como, ocasiona na redução da secreção de progesterona pelos corpos lúteos subsequentes. Dessa forma, os dispositivos de progesterona ou análogos são rotineiramente complementados com tratamentos estimulatórios do desenvolvimento folicular, com gonadotrofina coriônica equina (eCG) (Gonzalez-Bulnes et al. 2005) e alguns casos com FSH (Knights et al., 2003; Breen & Knox, 2012), principalmente se for utilizado inseminação artificial em tempo fixo (Maxwell, 1986).

2.2.2 Promotor do crescimento folicular

2.2.2.1 Gonadotrofina coriônica equina (eCG)

A molécula de eCG é uma glicoproteína hormonal altamente glicosilada que exibe uma meia-vida plasmática prolongada (21,2 h) (McIntosh et al., 1975). Com isso, uma única administração é suficiente (Christakos & Bahl, 1979). Há a hipótese de que a mesma molécula de eCG possui dois sítios de ligação para os receptores de LH e FSH (Siris et al., 1978) e que a sua atividade semelhante ao FSH é maior do que a atividade do LH. O eCG aplicado após os tratamentos com progestágenos, inicia os eventos pré-ovulatórios, aumentando as concentrações de gonadotrofinas endógenas (Powell et al., 1996) devido a sua ação análoga ao FSH.

Alguns trabalhos buscaram o melhor momento de aplicação do eCG, às 24 horas antes, no momento e 24 horas após a remoção do pessário. Alta fertilidade foi alcançada quando o eCG foi aplicado no momento da remoção do pessário, enquanto que uma menor prolificidade foi obtida em ovelhas tratadas com eCG, 24 horas após a remoção do pessário (Koyuncu & Alticekic, 2010). Altas taxas de fertilidade também foram obtidas na aplicação do eCG na retirada do pessário vaginal e às 24 horas antes da remoção deste (Zelege et al., 2005). Esses trabalhos sugerem que o tratamento padrão que utiliza a aplicação do eCG no momento da remoção do progestágeno é o mais indicado.

As doses de aplicação do eCG no dia da remoção do dispositivo variam entre 250 a 500 UI, dependendo de alguns fatores como: a idade (250-300 UI em cordeiras, 350-500 UI em ovelhas adultas), a estação (400-500 UI durante anestro, 300-350 UI durante a época de reprodução), e a raça (dose mais baixa para as raças prolíferas) (Abecia et al., 2012).

Em um estudo utilizando uma pequena diferença na dose de eCG (400 e 375 UI), na raça Merino, na estação não reprodutiva, Simonetti et al. (2002) obteve diferenças nas taxas de parição após a IA cervical com sêmen fresco de 76,47% e 54,32%, para as doses de

eCG estudadas respectivamente. Por outro lado, Dias et al. (2001), sincronizando ovelhas deslanadas no Nordeste brasileiro, durante a primavera e início do verão, com doses de eCG de 200 e 400 UI, apesar de altas taxas de estro nos animais (76,7% e 96,7%, respectivamente), baixas taxas de prenhez de 33% e 20%, sem diferença significativa, foram obtidas utilizando IA intrauterina com sêmen congelado. Isso demonstra que existe uma grande variação nos resultados, não só dependente da dose de eCG, mas de outros fatores como a condição corporal e estado fisiológico das fêmeas reprodutoras, o momento e o tipo de inseminação, a época do ano e o tipo de sêmen (Menchaca & Rubianes 2004), a fazenda, o carneiro, o intervalo parto/inseminação artificial, o técnico e o ano, podendo estes serem mais importantes do que a dose de eCG (Anel et al., 2005).

Barrett et al. (2004) verificaram que a influência do eCG na sincronização do estro e da ovulação só é significativa em animais em anestro estacional. Ovelhas da raça Western, em anestro sazonal e ovelhas cíclicas, foram sincronizadas com progestágeno com ou sem a aplicação de 500 UI de eCG. O estudo mostrou que no período de anestro o eCG foi significativamente importante em vista que todas as ovelhas deste grupo ovularam ao contrário do grupo somente com progestágeno, que apenas uma ovelha ovulou, mostrando a importância dessa gonadotrofina na estimulação do desenvolvimento folicular e ovulação neste período. Já quando o estudo foi realizado quando as ovelhas estavam cíclicas, os resultados obtidos não diferiram entre os grupos, observando que neste período a resposta dos animais variou mais, estando essas possivelmente relacionadas a fatores endógenos do que propriamente ao protocolo utilizado. Também foi observado que a sincronização da ovulação foi atrasada, acontecendo de forma mais irregular em ovelhas cíclicas.

Outro ponto que pode influenciar nos resultados são os diferentes momentos do ciclo estral em que o dispositivo de progesterona é inserido. A inserção do progestágeno, em diferentes fases do ciclo estral da ovelha, ou seja, com presença ou ausência de corpo lúteo, gera variações significativas nas taxas de ovulação (Noël et al., 1999; Leyva et al., 1998). Em bovinos (*Bos indicus*), altas concentrações de progesterona em vacas tratadas com implante de progesterona com a presença de um CL funcional estão relacionadas a menores taxas de crescimento folicular e ovulação, devido a menor frequência de pulsos de LH, justificando a utilização da PGF2 α no tratamento de sincronização (Carvalho et al., 2008).

Em ovelhas, também foi observado que a associação da progesterona endógena com a exógena reflete em alterações na dinâmica folicular, gerando variações entre as

ovelhas, no momento do estro após a retirada da progesterona. Sugere-se que a falta de sincronia do estro e da ovulação está associada a baixa fertilidade, quando o tempo da inseminação artificial (IA) é pré-fixado (Leyva et al., 1998). Nesse estudo, foi observado que ovelhas que tiveram a progesterona inserida no dia 6 após a ovulação atrasaram o tempo do pico de LH e ovulação em comparação a progesterona inserida nos dias 0 e 12 após a ovulação (Leyva et al., 1998). Neste sentido, uma aplicação de PGF2 α após seis dias de progestágeno, causaria a luteólise, mantendo todos os animais sob a mesma condição, somente expostos a P4 exógena, o que poderia tornar o crescimento folicular e as ovulações mais sincronizadas.

Nos programas de sincronização do estro de ovinos, após os animais apresentarem estro, são encaminhados para a monta natural (MN) ou para a IA (Abecia et al., 2012). No anestro estacional, utilizando 350 UI de eCG ao fim do tratamento de 14 dias de MAP em ovinos Romney Marsh, não foi observado bons resultados de fertilidade (34,6%) após a MN apesar de uma boa quantidade de ovelhas apresentarem estro (89,7%) (Ungerfield & Rubianes, 2002). Taxas mais altas (67%) foram encontradas na estação reprodutiva com ovelhas Polwarth, entretanto ainda foram consideradas como baixas, sendo associadas à persistência de um folículo dominante e conseqüentemente ovulação de um oócito envelhecido, com menor chance de ser fertilizado (Viñoles et al., 2001). Contrariamente, em outro estudo, Zonturlu et al. (2011) utilizando ovelhas Awassi, no final da estação não reprodutiva, obtiveram a resposta de estro variando entre 81% a 92,6%. A taxa de fertilidade variou em torno de 80% em ovelhas tratadas com progestágeno com ou sem eCG ao fim do tratamento.

A metodologia utilizada na inseminação artificial e o tipo de sêmen empregado nos programas de sincronização do estro que utilizam o eCG como promotor do crescimento folicular, também são considerados como fonte de variação nos valores obtidos para a taxa de fertilidade (Menchaca & Rubianes 2004), assim, o eCG foi testado utilizando diferentes métodos de inseminação artificial.

A inseminação artificial intravaginal (IAV) normalmente é associada com o uso do sêmen fresco ou resfriado em ovelhas, sendo preconizada a inseminação entre 12 e 18 horas após o início do estro, podendo resultar em taxas de gestação variando de baixas a aceitáveis, de 30-50% (Cseh et al., 2012). Após a IAV em 17.631 ovelhas da raça Churra utilizando sêmen resfriado, taxas de fertilidade de apenas 31,25% foram obtidas. Entretanto,

essa raça possui uma morfologia cervical diferente, com um tamanho menor e maior número de dobras (Halbert et al., 1990), justificando a baixa taxa de fertilidade ao utilizar essa técnica. Ao utilizar a inseminação artificial intrauterina por laparoscopia (IAL) e sêmen congelado, a taxa de fertilidade foi superior (44,89%), mostrando que esta técnica é a mais indicada para essa raça do que a IAV, contudo foi verificado que, ainda assim, as baixas taxas de fertilidade dependem significativamente de muitos fatores intrínsecos e/ou extrínsecos (Anel et al., 2005).

O desenvolvimento da técnica de inseminação intracervical (IAC) e dos protocolos de criopreservação de sêmen aumentaram as taxas de gestação, podendo atingir valores maiores que 60% (Anel et al., 2005; Paulenz et al., 2005). Segundo Cseh et al. (2012) o tempo de inseminação ideal é de 55 horas após a remoção do progestágeno/progesterona. A utilização de sêmen congelado nessa técnica é limitada devido às baixas taxas de nascimento (25-35%). Técnicas de inseminação transcervical intrauterinas também foram desenvolvidas, entretanto o processo de manipulação do aplicador de sêmen ao longo da cérvix foi associado a lesões cervicais, formação de abscessos, infecções e baixas taxas de nascimento. Sendo as taxas de fertilidade geralmente mais baixas do que utilizando IAL (sêmen fresco: 40-80%; sêmen congelado: 30-70%) (Cseh et al., 2012).

O desenvolvimento da IAL tem sido muito significativo nos últimos anos. Ao utilizar a laparoscopia, as dificuldades na IAV ou IAC podem ser contornadas (Naqvi et al., 2001; Cseh et al., 2012). A principal vantagem da IAL é uma melhora nas taxas de fertilidade obtidas com sêmen congelado. As taxas de concepção são maiores (60-80%) do que para a inseminação com sêmen congelado intracervical e semelhantes aos de monta natural após o controle estral. Em caso de sincronização estral, o momento ideal de inseminação é entre 60 e 65 horas após a remoção do progestágeno/progesterona (Cseh et al., 2012). Embora existam melhoras no uso de sêmen congelado, resultados baixos também são encontrados, como demonstrado por Dias et al. (2001), que ao utilizar doses de 200 ou 400 UI de eCG obtiveram baixas taxas de fertilidade (33,3% e 20%, respectivamente).

Além da aplicação intrauterina do sêmen, a IAL também pode ser usada simultaneamente para diagnosticar problemas no trato reprodutivo, permitindo assim que as ovelhas com problemas reprodutivos (subdesenvolvidos ou com malformação na genitália - 1,62% dos casos, aderências e patologias do útero e ovários), sejam detectadas para serem

removidas do lote de inseminação. Esses problemas possivelmente passariam despercebidos ao realizar a IAV ou a IAC, prejudicando os resultados de fertilidade (Anel et al., 2005).

Boas taxas de gestação foram verificadas em um estudo com 28.447 ovelhas Merino por meio de IAL com sêmen congelado, obtendo média global de 71,1%, observando taxas inferiores de 64,6% quando utilizado MAP em relação ao pessário com FGA (74,7%) (Hill et al., 1998). Esses mesmos autores, verificaram que as taxas de gestação foram superiores com sêmen fresco (~80%) do que com sêmen congelado (~70%). Medeiros et al. (2002) apesar de utilizar sêmen resfriado tiveram resultados mais baixos (~60%).

Uma das preocupações a respeito do eCG, é o fato da sua origem heteróloga juntamente ao seu elevado peso molecular (45 kDa), e o seu elevado nível de glicosilação, conferindo ao eCG um alto potencial imunogênico (Combarous et al., 1981), muito embora, existam alguns relatos a respeito dos anticorpos formados pelo eCG, o seu mecanismo de ação parece possuir varias intervenções gerando informações divergentes, que não foram ainda bem elucidadas. Alguns autores relataram que simultâneos tratamentos com eCG não prejudica a taxa de gestação (Gherardi & Martin, 1978; Diekman, 1995), enquanto outros relatam existir uma redução na fertilidade após a IA devido a alta produção de anticorpos anti-eCG (Bodin et al., 1997).

Alguns estudos observaram altos níveis de ligação a anticorpos (^{125}I -eCG), após consecutivos tratamentos de sincronização utilizando o eCG, que foi correlacionado com efeitos negativos sobre a fertilidade subsequente (Bodin et al., 1997; Roy et al., 1999). Nesses trabalhos, os autores observaram que a concentração plasmática de anticorpo é uma característica inerente a cada fêmea, e que as ovelhas podem ser agrupadas em três categorias de acordo com a produção de anticorpos, como: baixa, média e alta. As diferenças nas respostas imunes ocorrem entre diferentes idades e indivíduos, porém também entre raças ou entre espécies (Roy et al., 1999).

Embora os anticorpos anti-eCG, pareçam interferir na estimulação dos folículos ovarianos e conseqüentemente na esteroidogênese folicular e fertilidade pela inativação da atividade do eCG, outros autores relatam que repetidas injeções de eCG não induziram a produção de anticorpos (Gherardi & Lindsay, 1980; Diekman et al., 1995), ou ainda, que algumas fêmeas tratadas poderiam exibir alta fertilidade e uma hiperprolificidade após a IA, apesar de uma alta concentração residual de anticorpos anti-eCG (Wehbi et al., 2010). Dessa forma, há necessidade de maiores aprofundamentos e esclarecimentos através

das pesquisas, para ter a certeza, se de fato, existe ou não tal interferência ou se as variações apresentadas em alguns estudos são inerentes a outros fatores que também se relacionam com a atividade estral.

Embora existam indícios que as concentrações de anticorpos anti-eCG seja um fator de risco de infertilidade após a IA, outros fatores como a nutrição, o estresse, a idade e o manejo da reprodução pode também implicar na redução da fertilidade após a IA. Outro fator que pode reduzir a importância dos anticorpos anti-eCG sobre a fertilidade, é que em condições a campo, de forma indireta os animais com alta produção de anticorpos acabam sendo descartados devido à baixa fertilidade, selecionando assim animais com baixa formação de anticorpos e com maior fertilidade. O que pode justificar diferenças raciais, principalmente em animais com maior pressão de seleção (Roy et al., 1999).

2.2.2.2 Hormônio folículo estimulante (FSH)

Novas abordagens visando a substituição do eCG são necessárias, devido aos indícios de que tratamentos simultâneos com este fármaco, induz a formação de anticorpos que influenciam nos resultados de fertilidade. Em teoria, o FSH poderia ser utilizado como uma alternativa ao eCG para aumentar as taxas de ovulação e fertilidade, o mecanismo de ação provavelmente seria semelhante.

Em comparação ao eCG, o FSH no entanto, possui uma meia-vida curta (110 min) (Fry et al., 1987), portanto, deve ser administrado em mais de uma aplicação (Dankó, 2003), ou ser diluído em veículos oleosos (Knights et al., 2001), apesar de resultados satisfatório de fertilidade terem sido alcançados com uma única aplicação sem diluição em veículo oleoso (Boscos et al., 2002).

Normalmente, o FSH é utilizado em programas de superovulação, com boas respostas alcançadas após injeções repetidas ao longo de 2 a 3 dias (Dattena et al., 1994). A simplificação do processo utilizando uma única aplicação de FSH foi testada. Alguns autores

utilizando uma única dose de FSH associado a um veículo oleoso, propilenoglicol (PGL) ou polivinilpirrolidona (PVP) observaram aumentos nas taxas de ovulações (Lopez-Sebastian et al., 1993; Dattena et al., 1994; Ahmad et al., 1996). No entanto, poucos trabalhos foram realizados observando a eficácia de uma única injeção de FSH após o uso de P4 na sincronização estral (Lofstedt & Eness, 1982; Knights et al., 2001; Boscos et al., 2002)

Um dos primeiros trabalhos registrados com FSH para a sincronização do estro foi realizado por Tsakalof et al. (1977), em ovelhas sincronizadas com implante subcutâneo de progesterona por 15 dias e aplicação de 500 UI de FSH no dia da remoção do implante de progesterona. Nesse estudo foram relatadas taxas de parição variando de 49% a 68%. Em estudo posterior, usando um pessário vaginal de P4 e quatro aplicações de 2 mg de FSH em intervalos de 12 horas, iniciando a aplicação as 12 horas antes da remoção do pessário vaginal, obtiveram uma alta variação no tempo de manifestação de estro e baixas taxas de parição, embora também tenha sido verificado no tratamento com eCG (Lofstedt & Eness, 1982).

Em um estudo utilizando ovelhas em anestro de diferentes fazendas no estado da Virgínia (EUA), 55 mg de FSH (Folltropin®) foi administrado 24 horas antes da remoção do pessário de P4, sendo verificado 77% das ovelhas em estro em até 5 dias após a remoção do dispositivo de P4, com a maior concentração deste ocorrendo em até 48 horas, obtendo taxa de fertilidade de 48%. O FSH foi capaz de melhorar as taxas de prenhez durante a estação não reprodutiva do que o tratamento apenas com progestágeno (Knights et al., 2001).

O uso de pequenas doses de FSH (2,5; 5,0; 10 UI) foram testadas durante o início da estação reprodutiva sobre a resposta estral e ovulatória em comparação ao eCG, após um tratamento de 12 dias de MAP (Boscos et al., 2002). Nesse trabalho, a dose de 10 UI de FSH foi mais eficiente do que o eCG na manifestação clínica do estro e semelhante na taxa de ovulação. Em um segundo experimento feito pelos mesmos autores, comparando a aplicação de 10 UI de FSH e eCG, em ovelhas da raça Chios e Berrichon, não observaram diferenças na manifestação de estro, na taxa de parição e no número de cordeiros nascidos.

Todos os trabalhos citados acima, utilizando o FSH em substituição ao eCG foram feitos utilizando monta natural após a sincronização, sendo necessário novos estudos para confirmar a real aplicabilidade do FSH na sincronização e para descobrir qual regime maximiza a fertilidade e fecundidade, principalmente em programas de inseminação artificial em tempo fixo.

3 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABECIA, J. A.; FORCADA, F.; GONZÁLEZ-BULNES, A. Hormonal control of reproduction in small ruminants. **Animal Reproduction Science**. v. 130, p. 173-179. 2012
- ABECIA, J. A.; FORCADA, F.; GONZÁLEZ-BULNES, A. Pharmaceutical Control of Reproduction in Sheep and Goats. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**. v. 27, p. 67-79. 2011.
- AHMAD, N.; LEWIS, P. E.; WALKER, C. Z.; ALT, F. L.; INSKEEP, E. K. FSH in propylene glycol on ovulation rate and prolificacy in anestrus ewes. **Journal of Animal Science**. (Abstract). v. 74, p. 212. 1996.
- ALECOZAY, A. A.; SELCER, K. W.; CLARK, J. R.; BURNS, J. M.; NORMAN, R. L.; NISWENDER, G. D.; LEAVITT W. W. Pattern of ovarian progesterone secretion during the luteal phase of the ovine estrous cycle. **Biology of Reproduction**. v. 39, n. 2, p. 287-294. 1988.
- AMMOUN, I.; ENCINAS, T.; VEIGA-LOPEZ, A.; ROS, J. M.; CONTRERAS, I.; GONZALEZ-AÑOVER, P.; COCERO, M. J.; MCNEILLY, A. S.; GONZALEZ-BULNES, A. Effects of breed on kinetics of ovine FSH and ovarian response in superovulated sheep. **Theriogenology**. v. 66, n. 4, p. 896-905. 2006.
- ANEL, M. K.; ABROUG, B.; ALVAREZ, M.; ANEL, E.; BOIXO, J. C.; DE LA FUENTE, L. F.; DE PAZ, P. Factors influencing the success of vaginal and laparoscopic artificial insemination in churra ewes: a field assay. **Theriogenology**. v. 63, p. 1235-1247. 2005.
- ASPACO – Associação Paulista de Criadores de Ovinos. [2010]. **Carne ovina: produção e consumo no Brasil e nas Américas**. Disponível em: <<http://www.aspaco.org.br/ovinoicias.php?id=848>>. Acesso em: 02/12/2012.
- BARRETT, D. M.; DUGGAVATHI, R.; DAVIES, K. L.; BARTLEWSKI, P. M.; BAGU, E. T.; RAWLINGS, N. C. Differential effects of various estradiol-17beta treatments on follicle-stimulating hormone peaks, luteinizing hormone pulses, basal gonadotropin

- concentrations, and antral follicle and luteal development in cyclic ewes. **Biology of Reproduction**. v. 77, n. 2, p. 252-262. 2007.
- BARRETT, D. M. W.; BARTLEWSKI, P. M.; BATISTA-ARTEAGA, M.; SYMINGTON, A.; RAWLINGS, N. C. Ultrasound and endocrine evaluation of the ovarian response to a single dose of 500 IU of eCG following a 12-day treatment with progestogen-releasing intravaginal sponges in the breeding and nonbreeding seasons in ewes. **Theriogenology**. v. 61, p. 311-327. 2004.
- BARTLEWSKI, P. M.; BABY, T. E.; GIFFIN, J. L. Reproductive cycles in sheep. Review. **Animal Reproduction Science**. v. 124, p. 259-268. 2011.
- BARTLEWSKI, P. M.; BEARD, A. P.; RAWLINGS, N. C. Ultrasonographic study of the effects of the corpus luteum on antral follicular development in unilaterally ovulating western white-faced ewes. **Animal Reproduction Science**. v. 65, p. 231-244. 2001.
- BARTLEWSKI, P. M.; BEARD, A. P.; RAWLINGS, N. C. An ultrasound-aided study of temporal relationships between the patterns of LH/FSH secretion, development of ovulatory-sized antral follicles and formation of corpora lutea in ewes. **Theriogenology**. v. 54, p.229-245. 2000.
- BARTLEWSKI, P. M.; BEARD, A. P.; COOK, S. J.; CHANDOLIA, R. K.; HONARAMOOZ, A.; RAWLINGS, N. C. Ovarian antral follicular dynamics and their relationships with endocrine variables throughout the oestrous cycle in breeds of sheep differing in prolificacy. **Journal of Reproduction and Fertility**. v. 115, n. 1, p. 111-24. 1999a.
- BARTLEWSKI, P. M.; BEARD, A. P.; RAWLINGS, N. C. An ultrasonographic study of luteal function in breeds of sheep with different ovulation rates. **Theriogenology**. v. 52, p. 115-130. 1999b.
- BICUDO, S. D.; RODELLO, L.; BITTENCOURT, R. F.; MONTEIRO, C. D.; CROCOMO, L. F.; FALLEIROS, M. B.;BISCARDE, C. E. A.; OLIVEIRA, T. M. Gargalos tecnológicos na reprodução assistida em ovinos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v. 33, Suppl. 6, p. 167-181. 2009.
- BODIN, L.; DRION, P. V.; REMY, B.; BRICE, G.; COGNIE, Y.; BECKERS, J. F. AntiPMSG antibody levels in sheep subjected annually to oestrus synchronisation. **Reproduction Nutrition Development**. v. 37, p. 651-660. 1997.
- BOSCOS, C. M.; SAMARTZI, F. C.; DELLIS, S.; ROGGE, A.; STEFANAKIS, A.; KRAMBOVITIS, E. Use of progestagen-gonadotrophin treatments in estrus synchronization of sheep. **Theriogenology**. v. 58, p. 1261-1272. 2002.
- BREEN, S. M.; KNOX, R. V. The impact of dose of FSH (Folltropin) containing LH (Lutropin) on follicular development, estrus and ovulation responses in prepubertal gilts. **Animal Reproduction Science**. v. 132, p. 193-200. 2012.
- CAHILL, L. P.; MAULÉON, P. Influences of season, cycle and breed on follicular growth rates in sheep. **Journal of Reproduction and Fertility**. v. 58, n. 2, p. 321-328.1980.

- CARLSON, K. M.; POHL, H. A.; MARCEK, J. M.; MUSER, R. K.; WHEATON, J. E. Evaluation of progesterone controlled internal drug release dispensers for synchronization of estrus in sheep. **Animal Reproduction Science**. v. 18, p. 205-218. 1989.
- CARVALHO, J. B.; CARVALHO, N. A.; REIS, E. L.; NICHI, M.; SOUZA, A. H.; BARUSELLI, P. S.; Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus*, and *Bos taurus* heifers. **Theriogenology**. v. 69 n. 2, p. 167-75. 2008.
- CHEMINEAU, P.; MALPAUX, B.; DELGADILLO, J. A.; GUÉRIN, Y.; RAVVAULT, J.P.; THIMONIER, J.; PELLETIER, J. Control of sheep and goat reproduction: Use of light and melatonin. **Animal Reproduction Science**. v. 30, p. 157-184. 1992.
- CHEMINEAU, P.; COGNIÉ, Y.; GUÉRIN, Y.; ORGEUR, P.; VALLET, J. C. Training manual on artificial insemination in sheep and goats. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Rome, p. 222. 1991.
- CHRISTAKOS, S.; BAHL, O. P. Pregnant mare serum gonadotropin: purification and physicochemical, biological, and immunological characterization. **Journal of Biological Chemistry**. v. 254, p. 4253-4261. 1979.
- COMBARNOUS, Y.; SALESSE, R.; GARNIER, J. Physico-chemical properties of pregnant mare serum gonadotropin. **Biochimica et Biophysica Acta**. v. 667, p. 267-276. 1981.
- CSEH, S.; FAIGL, V.; AMIRIDIS, G. S. Semen processing and artificial insemination in health management of small ruminants. **Animal reproduction science**. v.130, p. 187-192. 2012.
- DANKÓ, G. N. Some Practical and Biotechnological Methods for Improving Reproduction Traits in Sheep. **Comunicado Técnico**, v.11, p. 1-6. 2003. Disponível em: <<http://www.date.hu/acta-agraria/2003-11/novotnine.pdf>>. Acesso em: 02/12/2012.
- DATTENA, M.; VESPIGNANI, S.; BRANCA, A.; GALLUS, M.; LEDDA, S.; NAITANA, S.; CAPPAL, P. Superovulatory response and quality of embryos recovered from anestrus ewes after a single injection of porcine FSH dissolved in polyvinylpyrrolidone. **Theriogenology**. v. 42, p. 235-239. 1994.
- DAVIES, K. L.; BARTLEWSKI, P. M.; PIERSON, R. A.; RAWLINGS, N. C. Computer assisted image analyses of corpora lutea in relation to peripheral concentrations of progesterone: a comparison between breeds of sheep with different ovulation rates. **Animal Reproduction Science**. v. 96, p. 165-175. 2006.
- DELGADILLO, J. A.; GELEZ, H.; UNGERFELD, R.; HAWKEN, P. A. R.; MARTIN, G. B. The “male effect” in sheep and goats—Revisiting the dogmas. **Behavioural Brain Research**. v. 200, p. 304-314. 2009.
- DEWEESE, W. P.; GLIMP, H. A.; DUTT, R. H. Comparison of Medroxyprogesterone Acetate Orally and in Vaginal Sponges for Synchronizing Estrus in Ewes. **Journal of Animal Science**. v. 31, p. 394-397. 1970.

- DIAS, F. E. F.; LOPES JUNIOR, E. S.; VILLAROEL, A. B. S.; RONDINA, D.; LIMAVERDE, J. B.; PAULA, N. R. O.; FREITAS, V. J. F. Sincronização do estro, indução da ovulação e fertilidade de ovelhas deslanadas após tratamento hormonal com gonadotrofina coriônica equina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 53, n. 5, p. 618-623. 2001.
- DIEKMAN, M. A.; NEARY, M. K.; KELLY, G. R. Repeated injections of pregnant mare serum gonadotrophin (PMSG) failed to induce antibody production in fall-lambing ewes. **Journal of Animal Science**. Supplement 1. v. 73, p. 51. 1995.
- DIELEMAN S. J.; BEVERS M. M.; VOS P. L. A. M.; DE LOOS F. A. M. PMSG/anti-PMSG in cattle: a simple and efficient superovulatory treatment. **Theriogenology**. v. 39, p. 25-41. 1993.
- DRIANCOURT, M. A. Follicular dynamics in sheep and cattle. **Theriogenology**. v. 35, p. 55- 79. 1991.
- DRIANCOURT, M. A.; GAULD, I. K.; TERQUI. M.; WEBB, R. Variations in patterns of follicle development in prolific breeds of sheep. **Journal of Reproduction and Fertility**. v. 78, p.565-575.1986.
- DRIANCOURT, M. A.; GIBSON, W. R., CAHILL, L. P. Follicular dynamics throughout the oestrus cycle in sheep. A review. **Reproduction Nutrition Development**. v. 25, p. 1-15. 1985.
- DUGGAVATHI, R.; BARTLEWSKI, P. M.; BARRETT, D. M.; RAWLINGS, N. C. The temporal relationship between patterns of LH and FSH secretion, and development of ovulatory-sized follicles during the mid- to late-luteal phase of sheep. **Theriogenology**. v. 64, n. 2, p. 393-407. 2005.
- DUGGAVATHI, R.; BARTLEWSKI, P. M.; BARRETT, D. M.; RAWLINGS, N. C. Use of high-resolution transrectal ultrasonography to assess changes in numbers of small ovarian antral follicles and their relationships to the emergence of follicular waves in cyclic ewes. **Theriogenology**. v. 60, n. 3, p. 495-510. 2003a.
- DUGGAVATHI, R.; BARTLEWSKI, P. M.; PIERSON, R. A.; RAWLINGS, N. C. Luteogenesis in cyclic ewes: echotextural, histological, and functional correlates. **Biology of Reproduction**. v. 69, n. 2, p. 634-639. 2003b.
- EINER-JENSEN, N.; HUNTER, R. Counter-current transfer in reproductive biology. Review. **Reproduction**. v. 129, n. 1, p. 9-18. 2005.
- EVANS, A. C. O.; FLYNN, J. D.; QUINN, K. M.; DUFFY, P.; QUINN, P.; MADGWICK, S., CROSBY, T. F.; BOLAND, M. P.; BEARD, A. P. Ovulation of aged follicles does not affect embryo quality or fertility after a 14 day progestagen estrus synchronization protocol in ewes. **Theriogenology**. v. 56, n. 5, p. 923-936. 2001.
- EVANS, A. C. O.; DUFFY, P.; HYNES, N.; BOLAND, M. P. Waves of follicle development during the estous cycle in the sheep. **Theriogenology**. v. 53, p. 699-715. 2000.

- EVANS, G.; MAXWELL, W. M. C. **Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goats**. Sidney, Boston: Butterworth, 194 p. 1987.
- FIGUEIREDO, C. L.; BALIEIRO, J. C. C.; MATTOS, E. C.; BALIEIRO, C. C.; ELER, J. P.; FERRAZ, J. B. S. Estimativas de parâmetros genéticos para fertilidade ao parto e número de cordeiros nascidos ao parto em ovinos da raça Santa Inês. In: 44ª REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, **Anais...** São Paulo: Sociedade Brasileira de Zootecnia, p. 1-3, 2007.
- FONSECA, J. F. Estratégias para o controle do ciclo estral e superovulação em ovinos e caprinos. In: 16º CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, **Anais...** Goiânia: Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, p. 1-9, 2005.
- FRY, R. C.; CAHILL, L. P.; CUMMINS, J. T.; BINDON, B. M.; PIPER, L. R.; CLARKE, I. J. The half-life of follicle-stimulating hormone in ovary intact and ovariectomized Booroola and control Merino ewes. **Journal of Reproduction and Fertility**. v. 81, p. 611-615. 1987.
- GELEZ, H.; FABRE-NYS, C. The "male effect" in sheep and goats: a review of the respective roles of the two olfactory systems. **Hormones and Behavior**. v. 46, p. 257-271. 2004.
- GHERARDI, P. B.; LINDSAY, D. R. The effect of season on the ovulatory response of Merino ewes to serum from pregnant mares. **Journal of Reproduction and Fertility**. v. 60, p. 425-429. 1980.
- GHERARDI, P. B.; MARTIN, G. B. The effect of multiple injections of PMSG on the ovarian activity of Merino ewes. **Proceedings of the Australian Society of Animal Production**. v. 12, p.260. 1978.
- GIBBONS, J. R.; KOT, K.; THOMAS, D. L.; WILTBANK, M. C.; GINTHER, O. J. Follicular and FSH dynamics in ewes with a history of high and low ovulation rates. **Theriogenology**. v. 52, n. 6, p. 1005-1020. 1999.
- GONZALEZ-BULNES, A.; PALLARES, P.; VAZQUEZ, M. I. Ultrasonographic imaging in small ruminant reproduction. **Reproduction in Domestic Animals**. Supplement. v. 45, n. 2, p. 9-20. 2010.
- GONZALEZ-BULNES, A.; VEIGA-LOPEZ, A.; GARCIA, P.; 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. **Theriogenology**. v. 63, p. 2523-2534. 2005.
- GREYLING, J. P. C.; BRINK, W. C. J. Synchronisation of oestrus in sheep: the use of intravaginal progestagen CIDR dispensers. **South African Journal of Animal Science**. v. 17, p. 128-131. 1987.
- HALBERT, G. W.; DOBSON, H.; WALTON, J. S.; BUCKRELL B. C. The structure of the cervical canal of the ewe. **Theriogenology**. v. 33, n.5, p. 977-992. 1990.

- HAMRA, A. H.; MCNALLY, J. W.; MARCEK, J. M.; CARLSON, K. M.; WHEATON, J. E. Comparison of progesterone sponges, cronolone sponges and controlled internal drug release dispensers on fertility in anestrus ewes. **Animal Reproduction Science**. v. 18, p. 219-226. 1989.
- HENDERSON, K. M.; SAVAGE, L. C.; ELLEN, R. L.; BALL, K.; MCNATTY, K. P. Consequences of increasing or decreasing plasma FSH concentrations during the preovulatory period in Romney ewes. **Journal of Reproduction and Fertility**. v. 84, p. 187-196. 1988.
- HILL, J. R.; THOMPSON, J. A.; PERKINS, N. R. Factors affecting pregnancy rates following laparoscopic insemination of 28,447 Merino ewes under commercial conditions: a survey. **Theriogenology**. v. 49, p. 697-709. 1998.
- IBGE. **Pesquisa Pecuária Municipal**, [2011]. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/protabl.asp?c=73&z=t&o=24&i=P>>. Acesso em: 17/01/2013.
- IIDA, K.; KOBAYASHI, N.; KOHNO, H.; MIYAMOTO; FUKUI, Y. A comparative study of induction estrus and ovulation by three different intravaginal devices in ewes during the non-breeding season. **Journal of Reproduction and Development**. v.50, p.63-69. 2004.
- KARSCH, F. J.; BOWEN, J. M.; CARATY, A.; EVANS, N. P.; MOENTER, S. M. Gonadotropin-releasing hormone requirements for ovulation. Review. **Biology of Reproduction**. v. 56, n. 2, p. 303-309. 1997.
- KNIGHTS, M.; BAPTISTE, Q. S.; DIXON, A. B.; PATE, J. L.; MARSH, D. J.; INSKEEP, E. K.; LEWIS, P. E. Effects of dosage of FSH, vehicle and time of treatment on ovulation rate and prolificacy in ewes during the anestrus season. **Small Ruminant Research**. v. 50, p. 1-9. 2003.
- KNIGHTS, M.; HOEHN, T.; LEWIS, P. E.; INSKEEP, E. K. Effectiveness of intravaginal progesterone inserts and FSH for inducing synchronized estrus and increasing lambing rate in anestrus ewes. **Journal of Animal Science**. v. 79, n. 5, p. 1120-1131. 2001.
- KOYUNCU, M.; ALTICEKIC, O. S. Effects of Progestagen and Pmsg on Estrous Synchronization and Fertility in Kivircik Ewes during Natural Breeding Season. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**. v.23, n. 3, p. 308-311. 2010.
- KUSINA, N. T.; TARWIREI, F.; HAMUDIKUWANDA, H.; AGUMBA, G.; MUKWENA, J. A comparison of the effects of progesterone sponges and ear implants, PGF2alpha, and their combination on efficacy of estrus synchronization and fertility of Mashona goat does. **Theriogenology**. v. 53, p. 1567-1580. 2000.
- LEYVA, V.; BUCKRELL, B. C.; WALTON, J. S. Regulation of follicular activity and ovulation in ewes by exogenous progestagen. **Theriogenology**. v. 50, p. 395-416. 1998.
- LOFSTEDT, R. M.; ENESS, P. G. The use of FSH and GnRH as alternative compounds to PMSG for springtime breeding of ewes. **Theriogenology**. v. 18, n. 2, p. 119-125. 1982.

- LOPEZ-SEBASTIAN, A.; GOMEZ-BRUNET, A.; LISHMAN, A. W.; JOHNSON, S. K.; INSKEEP, E. K. Modification by propylene glycol of ovulation rate in ewes in response to a single injection of FSH. **Journal of Reproduction and Fertility**. v. 99, p. 437-442. 1993.
- MANN, G. E.; PAYNE, J. H.; LAMMING, G. E. Hormonal regulation of oxytocin-induced prostaglandin F2 α secretion by the bovine and ovine uterus in vivo. **Domestic Animal Endocrinology**. v. 21, p. 127-141. 2001.
- MAUREL, M. C.; ROY, F.; HERVE, V.; BERTIN, J.; VAIMAN, D.; CRIBIU, E.; MANFREDI, E.; BOUVIER, F.; LANTIER, I.; BOUE, P.; GUILLOU, F. Immune response to Equine Chorionic Gonadotropin used for the induction of ovulation in goats and ewes. **Gynecologie, Obstetrique & Fertilité**. v.31, p.766-769, 2003.
- MAXWELL, W. M. C. Artificial insemination of ewes with frozen-thawed semen at a synchronized oestrus. 1. Effect of time of onset of oestrus, ovulation and insemination on fertility. **Animal Reproduction Science**. v. 10, p. 301-308. 1986.
- MCINTOSH, J. E.; MOOR, R. M.; ALLEN, W. R. Pregnant mare serum gonadotrophin: rate of clearance from the circulation of sheep. **Journal of Reproduction and Fertility**. v. 44, p. 95-100. 1975.
- MEDEIROS, A. L. N.; MEDEIROS, C. H. N.; VIEIRA, D. G. I.; MEDEIROS, M. N.; MONTEIRO, A. W. U.; FACÓ, O.; GUSMÃO, A. L. Inseminação laparoscópica a campo em ovelhas mestiças no Sertão Central do Ceará (dados preliminares). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. Suplemento, n. 5, p. 84-86. 2002.
- MENCHACA, A.; RUBIANES, E. New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. **Reproduction, Fertility and Development**. v. 16, p. 403-414. 2004.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO – MAPA. **Biotechnologia Agropecuária**. Boletim Técnico. Brasília, DF. [2010]. p. 72. Disponível em: < http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Animal/Qualidade%20dos%20alimentos/biotechnologia_F.pdf >. Acesso em: 21/01/2013.
- MOEINI, M. M.; MOGHADDAM, A. A.; BAHIRALE, A.; HAJARIAN, H. Effects of breed and progestin source on estrus synchronization and rates of fertility and fecundity in Iranian Sanjabi and Lori ewes. **Pakistan Journal of Biological Sciences**. v. 10, n. 21, p. 3801-3807. 2007.
- NAKAYAMA Y, ARISAKA O. Regulation of gonadotropin secretion. Review. **Nihon Rinsho**. v. 55, p. 2855-2859. 1997.
- NAQVI, S. M. K.; JOSHI, A.; DAS, G. K.; MITTAL, J. P. Development and application of ovine reproductive technologies: An Indian experience. **Small Ruminant Research**. v. 39, p. 199-208. 2001.

- NISWENDER, G. D.; JUENGEL, J. L.; SILVA, P. J.; ROLLYSON, M. K.; MCINTUSH, E. W. Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. Review. **Physiological reviews**. v. 80, n. 1, p. 1-29. 2000.
- NOËL, B.; MANDIKI, S. M. N.; PERRAD, B.; BISTER, J. L.; PAQUAY, R. Terminal follicular growth, ovulation rate and hormonal secretion after melatonin pretreatment prior to FGA-PMSG synchronization in Suffolk ewes at the onset of the breeding season. **Small Ruminant Research**. v.32, p.269-277. 1999.
- NOTTER, D. R. Genetic improvement of reproductive efficiency of sheep and goats. **Animal Reproduction Science**. Review. v. 130, p. 147-151. 2012.
- OLIVEIRA, V. S.; MATOS, J. E.; FERREIRA, A. D.; AZEVEDO, H. C.; ALMEIDA, T. S. Utilização da técnica de inseminação artificial com sêmen congelado por via transcervical em tempo fixo em ovelhas da raça Santa Inês no Estado de Sergipe. In: 47^a REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, **Anais...** Salvador: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2010.
- O'MARY, C. C.; POPE A. L.; CASIDA, L. E. The use of progesterone in the synchronization of the estrual period in a group of ewes and the effect on their subsequent lambing records. **Journal of Animal Science**. v. 9, n. 4, p. 499-503. 1950.
- PAULENZ, H.; SÖDERQUIST. L.; ADNØY. T.; NORDSTOGA, A. B.; ANDERSEN BERG, K. Effect of vaginal and cervical deposition of semen on the fertility of sheep inseminated with frozen-thawed semen. **The Veterinary record**. v. 156, n. 12, p. 372-375. 2005.
- POWELL, M. R.; KAPS, M.; LAMBERSON, W. R.; KEISLER, D. H. Use of melengestrol acetate-based treatments to induce and synchronize estrus in seasonally anestrous ewes. **Journal of Animal Science**. v. 74, p. 2292-2302. 1996.
- RAWLINGS, N. C.; COOK, S. J. LH secretion around the time of the preovulatory gonadotrophin surge in the ewe. **Animal Reproduction Science**. v. 30, p. 289-99. 1993.
- ROBERTS, E. M. The use of intravaginal sponges impregnated with 6-methyl-17-acetoxyprogesterone (MAP) to synchronize ovarian activity in cyclic Merino ewes. **Proceedings of the Australian Society of Animal Production**. v. 6, p. 32-37. 1966.
- ROBINSON, T. J.; LAMOND, D. R. Control of reproduction in sheep and cattle (Invited Paper). **Proceedings of the Australian Society of Animal Production**. v. 6, p. 10-18. 1966.
- ROBINSON, T. J. Synchronization of oestrus in sheep by intravaginal and subcutaneous application of progestin impregnated sponges. **Proceedings of the Australian Society of Animal Production**. v. 5, p. 47-52. 1964.
- ROY, F.; COMBES, B.; VAIMAN, D.; CRIBIU, E. P.; POBEL, T.; DELÉTANG, F.; COMBARNOUS, Y.; GUILLOU, F.; MAUREL, M. C. Humoral immune response to equine chorionic gonadotropin in ewes: association with major histocompatibility

- complex and interference with subsequent fertility. **Biology of Reproduction**. v. 61, n. 1, p. 209-218. 1999.
- SCARAMUZZI, R. J.; ADAMS, N. R.; BAIRD, D. T.; CAMPBELL, B. K.; DOWNING, J. A.; FINDLAY, J. K.; HENDERSON, K. M.; MARTIN, G. B.; MCNATTY, K. P.; MCNEILLY, A. S.; et al. A model for follicle selection and the determination of ovulation rate in the ewe. Review. **Reproduction, Fertility, and Development**. v. 5, n. 5, p. 459-78. 1993.
- SCHRICK, F. N.; SURFACE, R. A.; PRITCHARD, J. Y.; DAILEY, R. A.; TOWNSEND, E. C.; INSKEEP, E. K. Ovarian structures during the estrous cycle and early pregnancy in ewes. **Biology of Reproduction**. v. 49, p. 1133-1140. 1993.
- SHELTON, J. N. An assessment of newer progestins for the control of oestrus and ovulation. **Proceedings of the Australian Society of Animal Production**. v. 5 (in press). p. 43-46. 1964.
- SHIRASUNA, K.; ASAOKA, H.; ACOSTA, T. J.; WIJAYAGUNAWARDANE, M. P.; OHTANI, M.; HAYASHI, K. G.; MATSUI, M.; MIYAMOTO, A. Real-time dynamics of prostaglandin F₂{alpha} release from uterus and corpus luteum during spontaneous luteolysis in the cow. **Reproduction**. v. 128, n. 2, p. 189-195. 2004.
- SILVA, B. D. M.; SARTORI, R.; SILVA, T. A. S. N.; CARDOZO, D. M. M.; OLIVEIRA, M. A. L. O.; NEVES, J. P. Sincronização de estro com prostaglandina f_{2a} versus progestágeno associado à gonadotrofina coriônica equina (eCG) em ovelhas Santa Inês no Distrito Federal, Brasil. **Ciências Animais**. v. 11, n. 2, p. 417-424. 2010.
- SILVA, F. L. R.; ARAÚJO, A. M. Características de reprodução e de crescimento de ovinos mestiços Santa Inês, no Ceará. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 29, n. 6, p.1712-1700. 2000.
- SIMONETTI, L.; RAMOS, G.; GARDÓN, J. C. Effect of estrus synchronization and artificial insemination on reproductive performance of Merino sheep. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v. 39, n. 3, p. 143-146. 2002.
- SIRIS, E. S.; NISULA, B. C.; CATT, K. J.; HORNER, K.; BIRKEN, S.; CANFIELD R. E.; ROSS, G. T. New evidence for intrinsic follicle-stimulating hormone-like activity in human chorionic gonadotropin and luteinizing hormone. **Endocrinology**. v. 102, n. 5, p. 1356-1361. 1978.
- SOUZA, C. J.; CAMPBELL, B. K.; BAIRD, D. T. Follicular dynamics and ovarian steroid secretion in sheep during the follicular and early luteal phases of the estrous cycle. **Biology of Reproduction**. v. 56, p. 483-488. 1997a.
- SOUZA, C. J.; CAMPBELL, B. K.; WEBB, R.; BAIRD, D. T. Secretion of inhibin A and follicular dynamics throughout the estrous cycle in the sheep with and without the Booroola gene (FecB). **Endocrinology**. v. 138, n. 12, p. 5333-5340. 1997b.

- TIMURKAN, H.; YILDIZ, H. Synchronization of oestrus in Hamdani ewes: The use of different PMSG doses. **The Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy**. v. 49, p. 311-314. 2005.
- TSAKALOF, P.; VLACHOS, N.; LATOUSAKIS, D. Observations on the reproductive performance of ewe lambs synchronised for oestrus. **The Veterinary record**. v. 100, n. 18, p. 380-382. 1977.
- TURNBULL, K. E.; BRADEN, A. W.; MATTNER, P. E. The pattern of follicular growth and atresia in the ovine ovary. **Australian Journal of Biological Sciences**. v. 30, n. 3, p. 229-41. 1977.
- UNGERFELD, R.; RUBIANES, E. Short term primings with different progestogen intravaginal devices (MAP, FGA and CIDR) for eCG-estrous induction in anestrus ewes. **Small Ruminant Research**. v. 46, p. 63-66. 2002.
- VILARIÑO, M.; RUBIANES, E.; MENCHACA, A. Ovarian responses and pregnancy rate with previously used intravaginal progesterone releasing devices for fixed-time artificial insemination in sheep. **Theriogenology**. v. 79, n. 1, p. 206-210. 2013.
- VIÑALES, C.; MEIKLE, A.; FORSBERG, M. Accuracy of evaluation of ovarian structures by transrectal ultrasonography in ewes. **Animal Reproduction Science**. v. 80, p. 69-79. 2004.
- VIÑALES, C.; FORSBERG, M.; BANCHERO, G.; RUBIANES, E. Effect of long-term and short-term progestagen treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. **Theriogenology**. v. 55, p. 993-1004, 2001.
- VIU, M. A. O.; FILHO, B. D. O.; LOPES, D. T.; VIU, A. F. M.; SANTOS, K. J. G. S. Fisiologia e manejo reprodutivo de ovinos: revisão. **Revista Eletrônica Faculdade Montes Belos**. v. 1, n. 1, p. 79-98. 2006.
- WAGNER, J. F.; REINEKE, E. P.; NELLOR, J. E.; HENNEMAN, H. A. Hormonal Control of Reproductive Activity in the Cycling and Anestrus Ewe. **Journal of Animal Science**. v. 19, p. 607-615. 1960.
- WEHBI, V.; DECOURTYE, J.; PIKETTY, V.; DURAND, G.; REITER, E.; MAUREL, M. C. Selective modulation of follicle-stimulating hormone signaling pathways with enhancing equine chorionic gonadotropin/antibody immune complexes. **Endocrinology**. v. 151, n. 6, p. 2788-2799. 2010.
- 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. **Animal Reproduction Science**. v. 33, p. 127-141. 1993.
- WILDEUS, S. Current concepts in synchronization of estrus: Sheep and goats. **Proceedings, American Society of Animal Science**. v. 77, p. 1-14. 1999.

- WILEY, T. M.; CÁRDENAS, H.; POPE, W. F. Effect of the rate of progesterone decline at luteolysis on the ovulatory follicles and subsequent estrous cycle length in ewes. **Animal Reproduction Science**. v. 46, n. 1-2, p. 79-87. 1997.
- 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 Ruminant Research**. v. 56, n. 1-3, p. 47-53. 2005.
- ZIEBA, D. A.; MURAWSKI, M.; SCHWARZ, T.; WIERZCHOS E. Pattern of follicular development in high fecundity Olkaska ewes during the estrous cycle. **Reproductive Biology**. v. 2, p. 39-58. 2002.
- ZONTURLU, A. K.; ÖZYURTLU, N.; KAÇAR, C. Effect of Different Doses PMSG on Estrus Synchronization and Fertility in Awassi Ewes Synchronized with Progesterone During the Transition Period. **Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**. v. 17, n. 1, p. 125-129. 2011.

CAPÍTULO 2

SINCRONIZAÇÃO DO ESTRO DE OVELHAS SANTA INÊS UTILIZANDO FSH:LH

1 RESUMO

Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes fontes de promotores do crescimento folicular (FSH:LH e eCG) na sincronização do estro, ovulação e fertilidade de ovelhas Santa Inês. Para tanto, matrizes Santa Inês foram submetidas a protocolos de sincronização seguida de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) com sêmen congelado. No Experimento 1, as matrizes (n=44) iniciaram protocolo com dispositivos intravaginais impregnados com progestágenos (60 mg de acetato de medroxiprogesterona - Progespon®) e mantidos por 12 dias. Na remoção do pessário, os animais foram divididos em quatro grupos: G300eCG receberam 300 UI de ECG por via intramuscular; G20FSH:LH receberam 20 UI de FSH:LH; G40FSH:LH receberam 40 UI de FSH:LH; e G20/20FSH:LH receberam 40 UI de FSH:LH dividido em duas doses administradas 12 horas antes e no momento da remoção do pessário. Os animais foram mantidos com rufião para detecção do estro. Os folículos foram avaliados (ultrassonografia) em intervalos de 4 horas até a ovulação e os corpos lúteos sete dias após a ovulação. O sangue foi coletado para avaliação da concentração sérica de P₄ por radioimunoensaio. No Experimento 2 foi realizado por inseminação artificial em tempo fixo por laparoscopia as 64 e 74 horas após a remoção do MAP, nos grupos G300eCG e G20FSH:LH respectivamente, com o objetivo de avaliar a eficiência dos protocolos. Na análise estatística utilizou-se ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Duncan, as variáveis sem distribuição normal foram analisadas pelo teste de Kruskal-Wallis, e os dados binomiais pelo teste de Qui-quadrado. A hora do estro e da ovulação, diâmetro do maior folículo, volume luteal e concentração sérica de progesterona foram semelhantes entre os protocolos (P>0,05). O tempo entre a remoção do pessário intravaginal até o estro e ovulação variaram de 46,3±11,8 a 53,0±7,2 e 80,4±17,3 a 95,3±6,1, respectivamente. A alta variação na

distribuição do estro e da ovulação, em todos os tratamentos, mostrou que nenhum dos protocolos foi eficiente na sincronização do estro e ovulação, evidenciando a necessidade de desenvolvimento de protocolos mais eficientes. O número de ovelhas em estro não diferiu entre os grupos G300eCG e G20FSH:LH, tendo valores de 72% e 71%, respectivamente ($P>0,05$). A taxa de fertilidade foi semelhante ao utilizar 300 UI de eCG (38%) ou 20 UI de FSH:LH (26,9%) após a remoção do pessário vaginal ($P>0,05$). Durante a estação seca, tanto o protocolo utilizando eCG quanto FSH:LH nas diferentes doses, não foram eficientes na sincronização do estro e da ovulação, resultando em baixa taxa de fertilidade com IATF usando sêmen congelado. No entanto, a semelhança entre os tratamentos sugere que o eCG pode ser substituído pelo FSH:LH em programas de sincronização do estro.

Palavras chave: folículo, ovulação, ovino, fertilidade, inseminação.

2 ABSTRACT

ESTROUS SYNCHRONIZATION IN SANTA INES SHEEP USING FSH:LH

The purpose of this study was evaluate the effect of different sources of follicular growth promoters (FSH:LH and eCG) on estrus synchronization, ovulation and fertility of Santa Inês ewes. Therefore, arrays Santa Inês underwent synchronization protocols followed by fixed-time artificial insemination (TAI) with frozen semen. In Experiment 1, the arrays (n=44) initiated protocol with intravaginal devices impregnated with progesterone (60 mg of medroxyprogesterone acetate - Progespon®) and kept for 12 days. On P4 removal, the animals were divided into four groups: G300eCG received 300 IU intramuscularly ECG; G20FSH: LH received 20 IU FSH:LH; G40FSH:LH received 40 IU FSH:LH, and G20/20FSH:LH received 40 IU FSH:LH administered in two divided doses, 12 hours before and at the time of P4 removal. The animals were maintained with teaser for estrus detection. The follicles were ultrasound evaluated with 4 hours interval and again seven days after ovulation for corpora lutea assessment. Radioimmunoassay was performed to access P4 from serum of collected blood samples. In Experiment 2 TAI was performed using laparoscopy at 64 and 74 hours after removal of MAP, in groups G300eCG G20FSH: LH respectively, in order to evaluate protocols efficiency. For statistical analysis was used ANOVA and means were compared by Duncan test, variables without normal distribution were analyzed using Kruskal-Wallis test, and binomial data by Chi-square. The time of oestrus and ovulation, largest follicle diameter, luteal volume and progesterone concentration were similar among protocols ($P > 0.05$). The time between removal of intravaginal device to estrus and ovulation

ranged from 46.3 ± 11.8 to 53.0 ± 7.2 and 80.4 ± 17.3 to 95.3 ± 6.1 , respectively. The high variation in the estrus and ovulation distribution in all treatments showed that none of protocols was effective in estrus and ovulation synchronization, suggesting the need for development of more efficient protocols. The number of ewes in estrus did not differ between groups G300eCG (72%) and G20FSH:LH (71%) ($P > 0.05$). Fertility rate was similar when using 300 IU eCG (38%) or 20 IU FSH: LH (26.9%) after removal of vaginal pessary ($P > 0.05$). During the dry season, both eCG as FSH:LH using at different doses protocol was not effective in estrus and ovulation synchronization, resulting in low fertility rate with TAI using frozen semen, however the similarity among treatments suggests that the eCG can be replaced by FSH:LH in oestrus synchronization programs.

Keywords: Follicle, ovulation, sheep, fertility, insemination

3 INTRODUÇÃO

O contínuo crescimento da população mundial faz dos ovinos animais de grande importância na produção de alimentos, principalmente para as economias de países em desenvolvimento, e em particular, para aqueles com condições climáticas adversas ou com terras subfértis. Segundo o IBGE (2011), o rebanho nacional de ovinos possui aproximadamente 17,6 milhões de cabeças. O maior efetivo do rebanho se encontra no Nordeste, que detém cerca de 57,23%, seguidos pelas regiões Sul (27,99%) e Centro-Oeste (6,84%). Ainda assim, o rebanho ovino das regiões tradicionais de criação é insuficiente para suprir o mercado interno brasileiro. Desta forma, o espaço para a carne importada vem aumentando - de 1997 a 2008 a importação de carne ovina passou de um valor de US\$ 6 milhões para mais de US\$ 23 milhões (ASPACO, 2010).

Ao longo dos anos, a domesticação, a pressão adaptativa e a distribuição cosmopolita das raças fizeram com que muitos grupos raciais ampliassem o período de atividade reprodutiva, havendo casos em que a estacionalidade praticamente inexistente (Bicudo et al., 2009). A raça deslanada Santa Inês, vem demonstrando ter um alto potencial de adaptação à região nordestina, sendo consideradas como poliéstricas contínuas por apresentarem atividades reprodutivas durante todo o ano nesta região. Possuem bons índices produtivos e reprodutivos, com boa conformação de carcaça, fertilidade, prolificidade, precocidade, rusticidade e resistência a parasitas gastrointestinais. Essa raça vem adquirindo grande importância a nível nacional, sendo considerada uma excelente alternativa na produção de carne para quase todas as regiões tropicais do Brasil, em especial nas zonas semiáridas nordestinas (Silva et al., 2010).

No Brasil a expansão da criação de ovinos tem sido percebida em todas as regiões geográficas, entretanto, a velocidade de crescimento e a organização da cadeia produtiva ainda são insatisfatórias e têm representado o principal obstáculo à popularização da adoção da Reprodução Assistida e consolidação do emprego das Biotécnicas, importantes por permitir a maximização de material genético, controle e concentração dos períodos de parição e desmama, obtendo uma maior uniformidade no lote de abate (Abecia et al., 2012). Diversos são os entraves ainda existentes, alguns deles inerentes as peculiaridades fisiológicas da espécie ovina, outros decorrentes das conjunturas regionais e circunstâncias econômicas (Bicudo et al., 2009).

A sincronização do estro é uma das importantes biotecnologias que deve ser empregada a fim de aumentar a eficiência reprodutiva. O protocolo mais utilizado para a sincronização é a associação da progesterona ou progestágeno (Iida et al., 2004; Zeleke et al., 2005) à gonadotrofina coriônica equina (eCG) (Maurel et al., 2003; Barrett et al., 2004), gerando uma sincronia que permite o emprego da inseminação artificial em tempo fixo (IATF) (Oliveira et al., 2009). Embora, muitas vezes, sejam obtidos altos índices de fertilidade, existe uma inconsistência nos resultados, entre rebanhos ou mesmo dentro do mesmo rebanho, que podem estar relacionadas a diferenças de manejo (Silva & Araújo, 2000) ou a formação de anticorpos anti-eCG após sucessivos usos, do eCG, no mesmo animal (Bodin et al., 1997; Roy et al., 1999).

A fim de evitar os efeitos indesejáveis da utilização sucessiva do eCG, a utilização dos hormônios folículo estimulante (FSH) associado ao hormônio luteinizante (LH) pode ser uma alternativa viável na substituição do eCG, evitando o seu uso contínuo em consecutivos programas de sincronização do estro. Além disso, também existe uma crescente preocupação por alimentos mais saudáveis com a mínima quantidade de resíduos hormonais e eliminação de metabólitos no meio ambiente (MAPA, 2010), sendo assim, a substituição poderia ser benéfica uma vez que o eCG possui meia-vida longa (Christakos & Bahl, 1979; Dieleman et al., 1993) enquanto que o FSH possui eliminação rápida do organismo (Ammoun et al., 2006).

O objetivo foi avaliar o efeito de diferentes fontes de promotores do crescimento folicular (FSH:LH e eCG) na sincronização do estro, ovulação e fertilidade de ovelhas da raça Santa Inês.

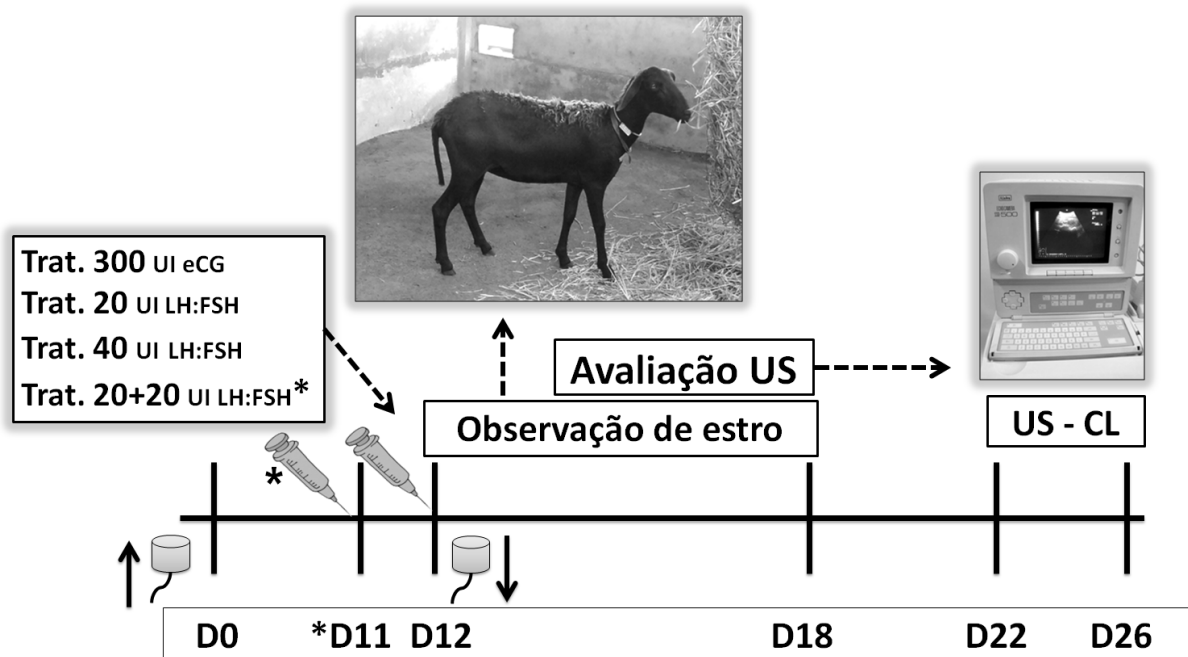
4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Local do Experimento e animais experimentais

Este Experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso Animal (CEUA) do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília sob protocolo UnBDOC nº. 116278/2011. O experimento foi realizado nos meses de Julho a Agosto em 2011 e 2012, no Setor de Campo Experimental Fazenda Sucupira da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, situado em Brasília, DF, localizado a 15°47' de latitude sul e 47°55' de longitude oeste, 1080m de altitude, de clima tropical, com temperaturas máximas e mínimas variando de 29,1°C a 14,5°C (INMET, 2012). A duração total do dia foi de 11:12 e 13:04 horas no solstício de inverno e verão, respectivamente (Anuário do Observatório Nacional, 2012). Foram utilizadas 146 fêmeas ovinas Santa Inês, não lactantes e solteiras, com aproximadamente 2 a 3,5 anos, examinadas quanto ao estado clínico geral, sanitário e reprodutivo, consideradas cíclicas após avaliação ultrassonográfica, com peso médio de 43,2 kg e com condição de escore corporal entre 2,5 e 3,5, na escala de 1 a 5 (Suiter, 1994). Os animais foram mantidos em sistema semi-extensivo em pastagem de *Panicum maximum* com água e sal mineral à vontade e suplementados com silagem de milho.

4.2 Experimento 1

No ano de 2011, um total de 44 ovelhas Santa Inês tiveram o estro sincronizado através da inserção de pessários intravaginais (D0) impregnadas com 60 mg de Acetato de Medroxiprogesterona (MAP) (Progespon®, Intervet Schering-Plough do Brasil S.A.) permanecendo por 12 dias. Os animais foram divididos aleatoriamente em quatro grupos experimentais (n=11) e no momento da retirada do pessário (D12) as ovelhas receberam os seguintes tratamentos: G300eCG recebeu 300 UI eCG (Novormon®, Intervet Schering-Plough do Brasil S.A.); G20FSH:LH recebeu 20 UI de FSH:LH (Pluset®, Hertape Calier Saúde Animal S.A.); G40FSH:LH recebeu 40 UI de FSH:LH; e G20/20FSH:LH recebeu 40 UI de FSH:LH divididos em duas doses, sendo administradas 12 horas antes da remoção e no momento da remoção do pessário vaginal, aplicados por via intramuscular (Figura 2.1).



*Duas aplicações de 20 UI de FSH, 12 horas antes e no momento da remoção do pessário.

Figura 2.1 Representação esquemática dos tratamentos para sincronização do estro em ovelhas Santa Inês.

Ao final do protocolo as ovelhas foram colocadas em uma baia coletiva com a presença de um rufião. Este teve a região externa pintada com uma mistura de óleo de soja e tinta xadrez, para a marcação das fêmeas em estro. A identificação das fêmeas marcadas foi

realizada em intervalos de quatro horas, durante 30 minutos, detectando assim, o momento inicial do estro e a sincronia. Todas as ovelhas marcadas na região da garupa foram consideradas em estro e retiradas da presença do rufião.

Foram verificados o tempo entre a remoção do pessário e a ovulação, o número de folículos ovulados e o tamanho dos folículos pré-ovulatórios por meio de ultrassonografia transretal, com transdutor de 7,5 MHz (Aloka SSD-500), tendo o início das avaliações após 20 horas da manifestação de estro. Todas as ovelhas foram avaliadas no período de quatro em quatro horas até a última manifestar estro e ovular, sendo consideradas responsivas ao tratamento somente as ovelhas que ovularam até às 108 horas após a remoção do progestágeno. As ovelhas que não manifestaram estro foram avaliadas a partir de 56 horas após a remoção do pessário. As avaliações foliculares foram feitas até o desaparecimento do (s) maior (es) folículo (s), sendo este determinado como o momento da ovulação. Sete dias após a ovulação, foi realizado exame ultrassonográfico para mensuração do diâmetro luteal e do número de corpos lúteos. O volume do tecido luteal foi calculado pela fórmula matemática:

$$V = \frac{4}{3} \times \pi \times R^3, \text{ onde } R = \left(\frac{D_a}{2} + \frac{D_b}{2} \right) \div 2,$$

Onde,

D_a = diâmetro longitudinal

D_b = diâmetro transversal.

O tecido luteal de corpos lúteos cavitários foi calculado pela subtração do volume do corpo lúteo pelo volume da cavidade.

No dia da avaliação do CL, também foram realizadas coletas de sangue para a mensuração da concentração sérica de progesterona. O sangue foi coletado por venopunção da jugular, em tubos a vácuo, sendo posteriormente centrifugados. Logo após, o soro foi aspirado e estocado em microtubos de 2,0 mL e armazenado a -20°C até a análise. As concentrações séricas de progesterona (P4) foram mensuradas por radioimunoensaio (RIA), utilizando kits comerciais (Coat-a-count, DPC, Diagnostic Products Co, Los Angeles, CA, USA) e seguindo as recomendações do fabricante. O coeficiente de variação intraensaio foi de 4,6%.

Os seguintes parâmetros foram registrados: Incidência de estro: relação entre o número de ovelhas que mostraram estro e o total de ovelhas tratadas em cada grupo; Tempo para o estro: tempo entre a remoção do pessário até o início da manifestação estral; Tempo para a ovulação: tempo entre a remoção do pessário vaginal até a ovulação; Volume da massa luteal: soma da massa luteal de todos os corpos lúteos presentes nos dois ovários; Taxa de Fertilidade: relação entre o número de ovelhas prenhes e o número de ovelhas inseminadas.

4.3 Experimento 2

A avaliação de fertilidade foi realizada em 2012, com um total de 102 ovelhas, usando os protocolos 300 UI de eCG e 20 UI de FSH:LH, conforme descritos no Experimento 1. Este foi escolhido devido a maior quantidade de ovelhas que manifestaram sinais de estro. O total de ovelhas que manifestaram estro foi avaliado com auxílio de rufiões, no qual, as ovelhas marcadas na garupa no dia da inseminação artificial foram registradas. As inseminações foram realizadas por laparoscopia às 64 horas após a remoção do pessário vaginal no G300eCG e às 74 horas no G20FSH:LH. A hora da inseminação foi ajustada no G20FSH:LH com o intuito de depositar o sêmen no útero no momento mais próximo da ovulação, de acordo com os resultados obtidos no Experimento 1. Previamente o sêmen foi congelado em palhetas francesas de 0,25 mL e avaliado de acordo com os parâmetros mínimos estabelecidos pelo Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA, 1998), sendo utilizada dose inseminante de 100×10^6 espermatozoides.

Previamente a laparoscopia, as ovelhas foram submetidas a um jejum alimentar e hídrico de 24 e 12 horas, respectivamente. No momento da inseminação as fêmeas foram colocadas em uma maca cirúrgica apropriada, em posição de Trendelenburg. No campo cirúrgico, região abdominal cranial ao úbere, foi realizado tricotomia e antissepsia com tintura de iodo a 2% e álcool 70%, e em seguida anestesia local infiltrativa na dose de 0,04 mg de cloridrato de lidocaína (Lidovet™, Bravet, Brasil) por botão anestésico, no local em que foram introduzidos os trocartes. O sêmen foi depositado na porção médio-distal de cada corno uterino, utilizando metade da dose inseminante em cada corno uterino.

O diagnóstico de gestação foi realizado após 30 dias da inseminação artificial por meio de ultrassonografia (SSD-500; Aloka Co. Ltda, Japão), com transdutor linear de 7,5 MHz (Modelo UST-660-7,5; Aloka Co. Ltda, Japão) adaptado para avaliação transretal.

4.4 Análise estatística

As variáveis foram testadas quanto à normalidade e homocedasticidade pelos testes de Lilliefors e Bartlett, respectivamente. Os dados com distribuição normal foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Duncan. O número de corpos lúteos e a concentração de progesterona não apresentaram distribuição normal e foram analisados pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. Os dados de incidência de estro e de fertilidade do Experimento 2 foram avaliados pelo teste do Qui-quadrado. Os resultados estão apresentados como Média \pm Desvio Padrão ou porcentagem, e as diferenças foram consideradas significativas quando $P \leq 0,05$. Toda a análise estatística foi realizada com auxílio do programa estatístico SAEG.

5 RESULTADOS

No Experimento 1, onde foram avaliadas 11 ovelhas em cada grupo, a incidência do estro ocorreu em dez ovelhas no G300eCG, oito ovelhas no G20FSH:LH, seis ovelhas no G40FSH:LH e cinco ovelhas no G20/20FSH:LH. O tempo de início do estro e momento da ovulação foi semelhante entre os tratamentos ($P>0,05$) (Tabela 2.1). Todas as ovelhas que manifestaram estro em 108 horas foram consideradas responsivas aos tratamentos de sincronização e ovularam.

Tabela 2.1 Incidência de estro, período entre o final do protocolo ao estro e à ovulação em ovelhas Santa Inês submetidas a protocolos de sincronização usando 300 UI de ECG, 20 UI de FSH:LH; 40 UI de FSH:LH; ou 40 UI de FSH:LH dividido em duas doses administradas com intervalo de 12 horas

	G300eCG	G20FSH:LH	G40FSH:LH	G20/20 FSH:LH
Incidência de estro (%)	90,90 (10/11)	72,72 (8/11)	54,54 (6/11)	45,45 (5/11)
Tempo para o estro (horas)	46,3 ± 11,8	52,4 ± 10,7	53,0 ± 7,2	51,8 ± 7,1
Tempo para a ovulação (horas)	80,4 ± 17,3	86,9 ± 11,0	95,3 ± 6,1	85,0 ± 5,7

($P >0,05$).

Os animais manifestaram sinais clínicos de estro entre 27 e 70 horas. No G300eCG, 81,8% dos animais foram identificados em estro entre 25 e 60 horas após a remoção do pessário vaginal, enquanto nos grupos utilizando FSH:LH aproximadamente 54,5% dos animais manifestaram estro entre 37 e 70 horas (Figura 2.2).

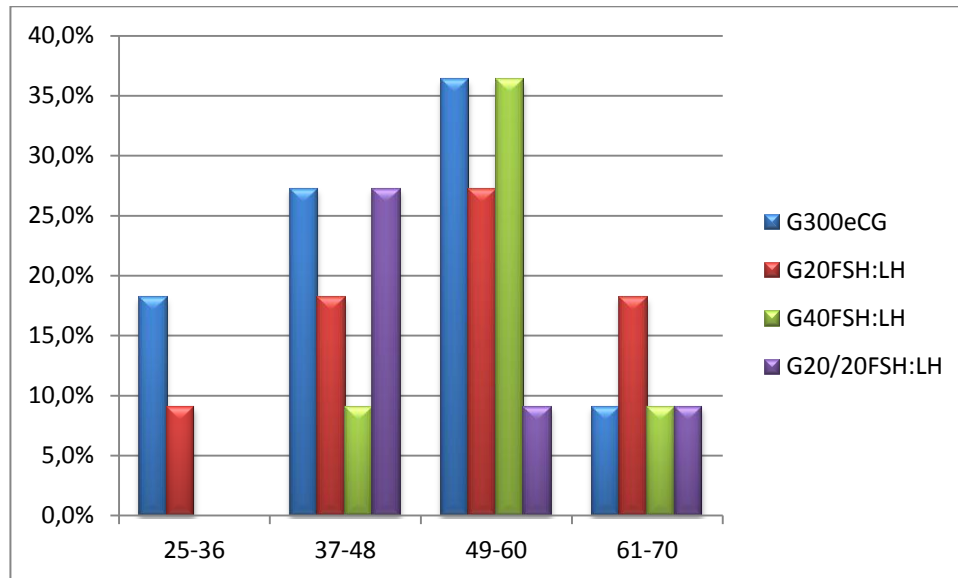


Figura 2.2 Distribuição do estro de ovelhas Santa Inês submetidas a protocolos de sincronização usando 300 UI de eCG, 20 UI de FSH:LH; 40 UI de FSH:LH; ou 40 UI de FSH:LH dividido em duas doses administradas com intervalo de 12 horas..

As ovulações ocorreram entre 53 a 105 horas. O G300eCG apresentou 20% de animais ovulando a cada 12 horas, ao longo de todo o período de observação, enquanto que os grupos com FSH:LH os animais apresentaram variação das ovulações entre 74 e 105 horas (Figura 2.3).

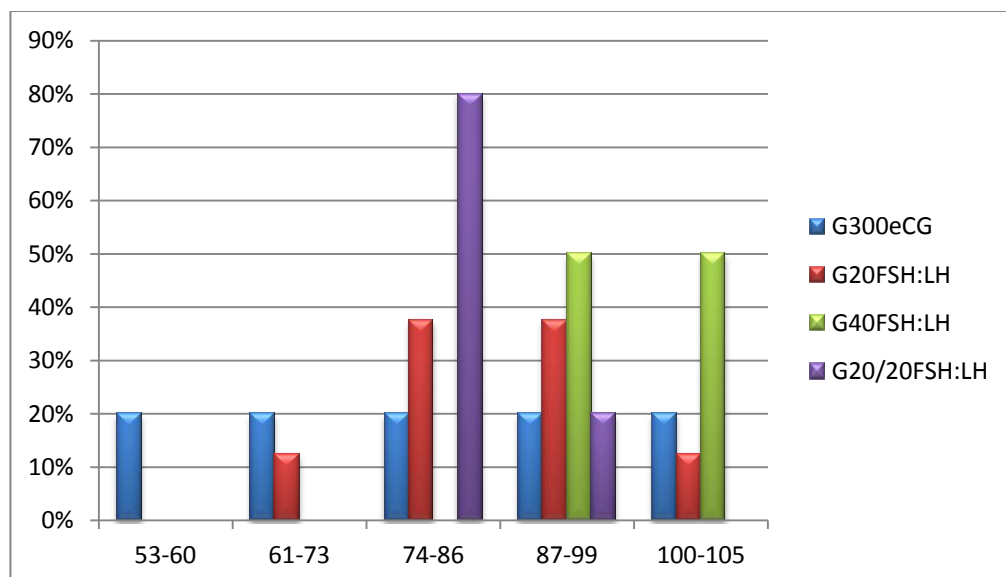


Figura 2.3 Distribuição da ovulação de ovelhas Santa Inês submetidas a protocolos de sincronização usando 300 UI de eCG, 20 UI de FSH:LH; 40 UI de FSH:LH; ou 40 UI de FSH:LH dividido em duas doses administradas com intervalo de 12 horas.

O diâmetro do maior folículo ovulatório, o número de folículos ovulados, o volume do maior CL e a concentração sérica de progesterona foram semelhantes entre os tratamentos ($P>0,05$) (Tabela 2.2).

Tabela 2.2 Diâmetro do maior folículo pré-ovulatório, número de folículos ovulados, volume da massa luteal e concentração sérica de progesterona em ovelhas Santa Inês submetidas a protocolos de sincronização usando 300 UI de ECG, 20 UI de FSH:LH; 40 UI de FSH:LH; ou 40 UI de FSH:LH dividido em duas doses administradas com intervalo de 12 horas

	G300eCG	G20FSH:LH	G40FSH:LH	G20/20 FSH:LH
Diâmetro do maior folículo pré-ovulatório (mm)	6,0 ± 0,8	6,3 ± 0,6	6,1 ± 0,4	6,1 ± 0,4
Número de folículos ovulados (n)	1,6 ± 0,7	1,4 ± 0,5	1,3 ± 0,5	1,0 ± 0,0
Volume da massa luteal (mm ³)	708,9 ± 439,6	657,6 ± 247,3	616,3 ± 128,6	546,8 ± 161,8
Concentração sérica de P ₄ (ng/mL)	5,6 ± 2,8	4,4 ± 0,9	4,7 ± 0,9	4,4 ± 1,1

($P>0,05$)

No Experimento 2, a proporção de ovelhas que manifestaram estro foi semelhante entre os tratamentos ($P>0,05$). A taxa de fertilidade não apresentou diferença significativa. (Tabela 2.3).

Tabela 2.3 Incidência de estro e taxa de fertilidade em ovelhas Santa Inês submetidas a protocolos de sincronização usando 300 UI de ECG ou 20 UI de FSH:LH

	G300eCG	G20FSH:LH
Incidência de estro (%)	72,0% (36/50)	71,1% (37/52)
Taxa de fertilidade (%)	38,0% (19/50)	26,9% (14/52)

($P>0,05$)

6 DISCUSSÃO

Os dispositivos de progesterona ou análogos são rotineiramente complementados com tratamentos estimulatórios para o desenvolvimento folicular, tanto na estação reprodutiva quanto no anestro estacional. A gonadotrofina coriônica equina (eCG) é amplamente utilizada (Gonzalez-Bulnes et al. 2005), devido a sua ação como LH, porém sobretudo como FSH (Siris et al., 1978). Alguns trabalhos usaram o próprio FSH com o mesmo objetivo e alcançaram bons resultados de manifestação do estro e ovulação (Lopez-Sebastian et al., 1999; Bosco et al., 2002).

A avaliação da manifestação do estro é uma forma de verificar a responsividade dos animais aos tratamentos empregados. No Experimento 1, aproximadamente 90% das ovelhas submetidas ao protocolo utilizando 300 UI de eCG e 72% das ovelhas tratadas com 20 UI de FSH:LH manifestaram estro (Tabela 1.1), enquanto 72% e 71% das ovelhas submetidas aqueles tratamentos manifestaram estro no Experimento 2 (Tabela 2.3). Estes resultados sugerem que ambos os protocolos tiveram eficiência semelhante quanto à resposta das ovelhas em manifestarem estro.

O tempo médio para início do estro após a retirada do pessário vaginal no G300eCG foi de 46 horas e nos grupos FSH:LH variou de 52 a 53 horas. Ovelhas Santa Inês sincronizadas utilizando 400 ou 200 UI de eCG após tratamento com progestágeno, obtiveram resultados de 40 e 46 horas, respectivamente (Dias et al., 2001). Barrett et al. (2004), sincronizando ovelhas da raça Western cíclicas ou em anestro estacional, usando 500 UI de eCG, obtiveram médias de 62h e 53h, respectivamente. Os resultados do presente estudo e dos estudos citados sugerem uma variação do tempo de manifestação do estro de

aproximadamente 40 até 60 horas após a retirada do pessário vaginal, o que pode interferir nas taxas de fertilidade alcançadas.

Embora o tempo médio do início do estro tenha sido semelhante entre os tratamentos, a forma da distribuição foi bastante variada ao longo de 27 a 70 horas. A concentração de ovelhas manifestando estro no G300eCG foi de 81,8% entre 25 e 60 horas após a remoção do pessário vaginal, enquanto nos grupos utilizando FSH:LH aproximadamente 54,5% dos animais manifestaram estro entre 37 e 70 horas (Figura 2.2). Essa resposta foi inesperada, em vista que as duas gonadotrofinas deveriam agir de forma semelhante no desenvolvimento folicular. Contudo, segundo Barrett et al. (2004) ovelhas cíclicas, ao serem submetidas a protocolos com eCG possuem um pequeno aumento na estrogenicidade dos folículos ovulatórios, enquanto que, nas ovelhas em anestro esse aumento se torna muito significativo, resultando em uma melhor resposta estral no último. Portanto, a resposta estral no presente estudo provavelmente é mais dependente da condição folicular no momento da remoção do progestágeno do que da estimulação folicular com eCG ou FSH.

Segundo Barrett et al. (2004), ovelhas cíclicas ou em anestro estacional sincronizadas com progestágenos e eCG apresentam comportamento ovulatório distinto, onde ovelhas cíclicas apresentaram maior tempo médio da remoção do progestágeno até a ovulação e menor sincronia das ovulações. Esses autores relataram que a função do eCG em promover o desenvolvimento folicular em ovelhas cíclicas parece não ter grande influência na sincronização. Isso pode ser reforçado pelo fato de ovelhas cíclicas tratadas apenas com progestágenos apresentarem resultado de taxa de crescimento folicular, duração das fases de crescimento folicular e da fase estática, diâmetro do folículo ovulatório, taxa de ovulação, média do tempo de ovulação após a remoção do progestágeno, semelhantes às respostas obtidas em animais tratados com progestágeno associado a eCG, além de uma baixa sincronia da ovulação nos dois tratamentos (Barrett et al., 2004). Possivelmente nos tratamentos empregados no presente trabalho, as gonadotrofinas utilizadas para promover o crescimento folicular tiveram influências insignificantes no crescimento folicular e conseqüentemente no momento e intervalo para ocorrer a ovulação, o que elevou o tempo de início das ovulações (Tabela 2.1). Outros fatores também podem ser apontados como fontes de variação para a resposta ao protocolo hormonal como: a raça, a categoria da ovelha, o tipo do protocolo e questões ambientais (Cline et al., 2001).

O tempo para a ovulação após a remoção do pessário vaginal teve uma ampla variação assim como na manifestação do estro, fato esperado, em vista que o primeiro acontecimento depende do segundo. A maior variação observada no G300eCG quando comparada com os tratamentos contendo 40 UI de FSH:LH pode ter ocorrido em consequência do pequeno número de animais que responderam ao protocolo de sincronização com FSH:LH e que foram avaliados. Isto pode ser confirmado considerando que no grupo onde foi utilizado 20 UI de FSH:LH houve maior incidência de manifestação de estro que nos outros grupos com FSH:LH, sendo que neste grupo a distribuição das ovulações foi menos concentrada (entre 61 e 105 horas). Essa variação parece ser mais dependente de fatores endógenos como a genética, condição folicular no momento e na remoção do pessário, condição fisiológica da fêmea e categoria em que se encontra e por fatores exógenos como o ambiente, a alimentação e o manejo (Gonzalez-Bulnes et al., 2003; Ammoun et al., 2006) do que do uso de promotores do crescimento folicular, como eCG e FSH.

Em ovinos, a fase do ciclo estral em que o progestágeno é inserido, fase folicular (Robinson, 1951) ou luteal (Cahill & Dufor, 1979), pode ter elevada influência na eficiência da sincronização do estro e da ovulação. Talvez a somatória da progesterona endógena com a exógena cause uma alteração na dinâmica folicular, gerando variações entre as ovelhas, no momento do estro após a retirada da progesterona (Leyva et al., 1998). Em bovinos (*Bos indicus*), altas concentrações de progesterona em vacas tratadas com implante de progesterona e que apresentam um CL funcional está relacionado com menores taxas de crescimento folicular e ovulação, devido à menor frequência de pulsos de hormônio luteinizante (LH) (Carvalho et al., 2008). Em ovelhas em anestro estacional, o tempo da fase de crescimento folicular é significativamente reduzido quando comparado com ovelhas cíclicas tratadas com progesterona e eCG (Barrett et al., 2004). Todos esses fatores podem sugerir que a falta de resposta ao tratamento de sincronização do estro e ovulação, com a utilização das gonadotrofinas para o crescimento folicular esteja relacionada possivelmente com um efeito inibitório de elevadas quantidades de progesteronas, em ovelhas cíclicas, durante esses tratamentos com progestágeno.

Variações no tamanho do folículo (Bartlewski et al., 1999) e no número de folículos ovulados (Henderson et al., 1988) estão relacionados a quantidade de massa luteal após a ovulação, que por sua vez influenciam nas concentrações de progesterona (Bartlewski et al., 2011). Protocolos que aumentem as concentrações de progesterona após a ovulação podem aumentar as taxas de fertilidade em ovelhas (Nephew et al., 1994). Neste estudo,

possivelmente todos os protocolos utilizados teriam a mesma capacidade de levar uma gestação a termo, uma vez que o tamanho do folículo pré-ovulatório, o volume da massa luteal e a concentração de progesterona (Tabela 2.2) foram semelhantes.

As baixas taxas de fertilidade alcançadas no Experimento 2 (Tabela 2.3) provavelmente ocorreram devido a falta de sincronia do estro e das ovulações que foram verificados no Experimento 1, independente do tratamento empregado. Embora a inseminação artificial intrauterina utilizando sêmen congelado tenha melhores resultados em relação aos outros tipos de inseminação, ainda existe uma variação observada na literatura que pode estar relacionada à falta de sincronia das ovulações com os protocolos comumente empregados. Em alguns trabalhos são relatados altas taxas de prenhez (70 a 90%) (Hill et al., 1998; Zonturlu et al., 2011) enquanto outros relatam baixos índices de fertilidade (33,3% e 20%) mesmo apresentando uma alta manifestação de estro (Dias et al., 2001). Além do estado fisiológico da fêmea, da raça, do tipo de protocolo, do momento e do tipo da inseminação, da época do ano e do sêmen (Menchaca & Rubianes 2004; Anel et al., 2005), a falta de sincronia das ovulações obtidos com os protocolos comumente utilizados pode ser responsável pela inconsistência dos resultados alcançados em programas de inseminação artificial em tempo fixo.

Os resultados mostram que todos os tratamentos foram capazes de induzir o estro e a ovulação, apresentando semelhança na taxa de ovulação, no tamanho do folículo pré-ovulatório, no volume da massa luteal e na produção de progesterona. Porém, foram ineficientes em sincronizar o momento do estro e da ovulação, o que pode ser comprovado pela baixa taxa de fertilidade encontrada tanto para o protocolo com 300 UI de eCG quanto com 20 UI de FSH:LH.

Portanto, protocolos com maior controle do momento da ovulação são indispensáveis para melhorar a eficiência reprodutiva em programas de inseminação artificial, principalmente quando é utilizado sêmen congelado, que possui menor viabilidade no trato reprodutivo, sendo necessária sua deposição no útero o mais próximo possível do momento da ovulação. Assim, protocolos que atendam esse requisito são necessários para aumentar a eficiência do uso de material estocado em bancos de germoplasma animal e difundir material genético de reprodutores selecionados.

7 CONCLUSÃO

Nas condições deste Experimento, tanto o protocolo contendo 300 UI de eCG quanto os protocolos contendo 20 ou 40 UI de FSH:LH não foram eficientes em sincronizar o estro e a ovulação em ovelhas Santa Inês cíclicas. Entretanto, o protocolo contendo 20 UI de FSH:LH alcançou resultados semelhantes ao contendo 300 UI de eCG, o que sugere uma possível utilização do FSH:LH em substituição ao eCG.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABECIA, J. A.; FORCADA, F.; GONZÁLEZ-BULNES, A. Hormonal control of reproduction in small ruminants. **Animal Reproduction Science**. v. 130, p. 173-179. 2012
- ALI, A.; DERAR, R.; HUSSEIN, H. Seasonal variation of the ovarian follicular dynamics and luteal functions of sheep in the subtropics. **Theriogenology**. v. 66, p. 463-469. 2006.
- AMMOUN, I.; ENCINAS, T.; VEIGA-LOPEZ, A.; ROS, J. M.; CONTRERAS, I.; GONZALEZ-AÑOVER, P.; COCERO, M. J.; MCNEILLY, A. S.; GONZALEZ-BULNES, A. Effects of breed on kinetics of ovine FSH and ovarian response in superovulated sheep. **Theriogenology**. v. 66, n. 4, p. 896-905. 2006.
- ANEL, M. K.; ABROUG, B.; ALVAREZ, M.; ANEL, E.; BOIXO, J. C.; DE LA FUENTE, L. F.; DE PAZ, P. Factors influencing the success of vaginal and laparoscopic artificial insemination in churra ewes: a field assay. **Theriogenology**. v. 63, p. 1235-1247. 2005.
- ANUÁRIO DO OBSERVATÓRIO NACIONAL, 2012 – Rio de Janeiro: **Observatório Nacional**. [2000]. Disponível em: < http://www.on.br/conteúdo/coaa/servicos/anuario_on/downloads_2012_pag.html>. Acesso em 17/01/2013.
- ASPACO – Associação Paulista de Criadores de Ovinos. [2010]. **Carne ovina: produção e consumo no Brasil e nas Américas**. Disponível em: <<http://www.aspaco.org.br/ovinoicias.php?id=848>>. Acesso em: 02/12/2012.
- BARRETT, D. M. W.; BARTLEWSKI, P. M.; BATISTA-ARTEAGA, M.; SYMINGTON, A.; RAWLINGS, N. C. Ultrasound and endocrine evaluation of the ovarian response to a single dose of 500 IU of eCG following a 12-day treatment with progestogen-releasing intravaginal sponges in the breeding and nonbreeding seasons in ewes. **Theriogenology**. v.61, p.311–327, 2004.
- BARTLEWSKI, P. M.; BABY, T. E.; GIFFIN, J. L. Reproductive cycles in sheep. Review. **Animal Reproduction Science**. v. 124, p. 259-268. 2011.

- BARTLEWSKI, P. M.; BEARD, A. P.; COOK, S. J.; CHANDOLIA, R. K.; HONARAMOOZ, A.; RAWLINGS, N. C. Ovarian antral follicular dynamics and their relationships with endocrine variables throughout the oestrous cycle in breeds of sheep differing in prolificacy. **Journal of Reproduction and Fertility**. v. 115, p. 111-124, 1999.
- BICUDO, S. D.; RODELLO, L.; BITTENCOURT, R. F.; MONTEIRO, C. D.; CROCOMO, L. F.; FALLEIROS, M. B.; BISCARDE, C. E. A.; OLIVEIRA, T. M. Gargalos tecnológicos na reprodução assistida em ovinos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v. 33, Suppl. 6, p. 167-181. 2009.
- BODIN, L.; DRION, P. V.; REMY, B.; BRICE, G.; COGNIE, Y.; BECKERS, J. F. AntiPMSG antibody levels in sheep subjected annually to oestrus synchronisation. **Reproduction Nutrition Development**. v. 37, p. 651-660. 1997.
- BOSCOS, C. M.; SAMARTZI, F. C.; DELLIS, S.; ROGGE, A.; STEFANAKIS, A.; KRAMBOVITIS, E. Use of progestagen-gonadotrophin treatments in estrus synchronization of sheep. **Theriogenology**. v. 58, p. 1261-1272. 2002.
- CAHILL, L. P., DUFOUR, J. Follicular populations in the ewe under different gonadotrophin levels. **Annales de Biologie animale Biochimie Biophysique** 19, 1475–1481. 1979.
- CARVALHO, J. B.; CARVALHO, N. A.; REIS, E. L.; NICHI, M.; SOUZA, A. H.; BARUSELLI, P. S.; Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus*, and *Bos taurus* heifers. **Theriogenology**. v. 69 n. 2, p. 167-75. 2008.
- CHRISTAKOS, S.; BAHL, O. P. Pregnant mare serum gonadotropin: purification and physicochemical, biological, and immunological characterization. **Journal of Biological Chemistry**. v. 254, p. 4253-4261. 1979.
- COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. Belo Horizonte: CBRA, 1998. p.65.
- CLINE, M. A.; RALSTON, J. N.; SEALS, R. C. et al. Intervals from norgestomet withdrawal and injection of equine chorionic gonadotropin or P.G. 600 to estrus and ovulation in ewes. **Journal of Animal Science**. v. 79, p. 589-594. 2001.
- DIAS, F. E. F.; LOPES JÚNIOR, E. S.; VILLAROEL, A. B. S.; RONDINA, D.; LIMA-VERDE, J. B.; PAULA, N. R. O.; FREITAS, V. J. F. Sincronização do estro, indução da ovulação e fertilidade de ovelhas deslanadas após tratamento hormonal com gonadotrofina coriônica equina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.53, p.618-623. 2001.
- DIELEMAN, S. J.; BEVERS, M. M.; VOS, P. L. A. M.; DE LOOS, F. A. M. PMSG/anti-PMSG in cattle: a simple and efficient superovulatory treatment. **Theriogenology**. v. 39, p. 25-41. 1993.

- DRIANCOURT, M. A.; GAULD, I. K.; TERQUI, M.; WEBB, R. Variations in patterns of follicle development in prolific breeds of sheep. **Journal of Reproduction and Fertility**. v. 78, p.565-575.1986.
- EVANS, A. C. O. Ovarian follicle growth and consequences for fertility in sheep. **Animal Reproduction Science**. v. 78, p. 289-306. 2003.
- 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. **Theriogenology**. v. 43, p. 689-703. 1995.
- GONZALEZ-BULNES, A.; VEIGA-LOPEZ, A.; GARCIA, P.; 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. **Theriogenology**. v. 63, p. 2523-2534. 2005.
- GONZALEZ-BULNES, A.; GARCIA-GARCIA, R. M.; SANTIAGO-MORENO, J.; DOMÍNGUEZ, V.; LOPEZ-SEBASTIAN, A.; COCERO, M. J. Reproductive season affects inhibitory effects from large follicles on response to superovulatory FSH treatment in ewes. **Theriogenology**. v. 60, p. 281-288. 2003.
- HENDERSON, K. M.; SAVAGE, L. C.; ELLEN, R. L.; BALL, K.; MCNATTY, K. P. Consequences of increasing or decreasing plasma FSH concentrations during the preovulatory period in Romney ewes. **Journal of Reproduction and Fertility**. v. 84, p. 187-196. 1988.
- HILL, J. R.; THOMPSON, J. A.; PERKINS, N. R. Factors affecting pregnancy rates following laparoscopic insemination of 28,447 Merino ewes under commercial conditions: a survey. **Theriogenology**. v. 49, p. 697-709. 1998.
- IBGE. **Pesquisa Pecuária Municipal**. [2011]. Disponível em: < <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/protabl.asp?c=73&z=t&o=24&i=P>>. Acesso em: 17/01/2013.
- IIDA, K.; KOBAYASHI, N.; KOHNO, H.; MIYAMOTO; FUKUI, Y. A. comparative study of induction estrus and ovulation by three different intravaginal devices in ewes during the non-breeding season. **Journal of Reproduction and Development**. v.50, p.63-69. 2004.
- INMET. **Instituto Nacional de Meteorologia**. [2013] Disponível em: < <http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=tempo/previsaoPorTipo&type=regional>>. Acesso em: 17/01/2013.
- KNIGHTS, M.; HOEHN, T.; LEWIS, P. E.; INSKEEP, E. K. Effectiveness of intravaginal progesterone inserts and FSH for inducing synchronized estrus and increasing lambing rate in anestrus ewes. **Journal of Animal Science**. v. 79, n. 5, p. 1120-1131. 2001.
- LEYVA, V.; BUCKRELL, B. C.; WALTON, J. S. Regulation of follicular activity and ovulation in ewes by exogenous progestagen. **Theriogenology**. v. 50, p. 395-416. 1998.

- LOPEZ-SEBASTIAN, A.; GOMEZ-BRUNET, A.; LISHMAN, A. W.; JOHNSON, S. K.; INSKIP, E. K. Modification by propylene glycol of ovulation rate in ewes in response to a single injection of FSH. **Journal of Reproduction and Fertility**. v. 99, p. 437-442. 1993.
- MAUREL, M. C.; ROY, F.; HERVE, V.; BERTIN, J.; VAIMAN, D.; CRIBIU, E.; MANFREDI, E.; BOUVIER, F.; LANTIER, I.; BOUE, P.; GUILLOU, F. Immune response to Equine Chorionic Gonadotropin used for the induction of ovulation in goats and ewes. **Gynecologie, Obstetrique & Fertilité**. v.31, p.766-769, 2003.
- MENCHACA, A.; RUBIANES, E. New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. **Reproduction, Fertility and Development**. v. 16, p. 403-414. 2004.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO – MAPA. **Biotechnologia Agropecuária**. Boletim Técnico. Brasília, DF. [2010]. p. 72. Disponível em: < http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Aniamal/Qualidade%20dos%20alimentos/biotechnologia_F.pdf >. Acesso em: 21/01/2013.
- NEPHEW, K. P.; CARDENAS, H.; MCCLURE, K. E.; OTT, T. L.; BAZER, F. W.; POPE, W. F. Effects of administration of human chorionic gonadotropin or progesterone before maternal recognition of pregnancy on blastocyst development and pregnancy in sheep. **Journal of Animal Science**. v. 72, p. 453-458. 1994.
- OLIVEIRA, V. S.; MATOS, J. E.; FERREIRA, A. D.; AZEVEDO, H. C.; ALMEIDA, T. S. Utilização da técnica de inseminação artificial com sêmen congelado por via transcervical em tempo fixo em ovelhas da raça Santa Inês no Estado de Sergipe. In: 47ª REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, **Anais...** Salvador: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2010.
- ROBINSON, T. J. The augmentation of fertility by gonadotrophin treatment of the ewe in the normal breeding season. **The Journal of Agricultural Science**. Cambridge. v. 41, p.6-38. 1951.
- ROY, F.; COMBES, B.; VAIMAN, D.; CRIBIU, E. P.; POBEL, T.; DELÉTANG, F.; COMBARNOUS, Y.; GUILLOU, F.; MAUREL, M. C. Humoral immune response to equine chorionic gonadotropin in ewes: association with major histocompatibility complex and interference with subsequent fertility. **Biology of Reproduction**. v. 61, n. 1, p. 209-218. 1999.
- SILVA, B. D. M.; SARTORI, R.; SILVA, T. A. S. N.; CARDOZO, D. M. M.; OLIVEIRA, M. A. L. O.; NEVES, J. P. Sincronização de estro com prostaglandina f2 α versus progestágeno associado à gonadotrofina coriônica equina (eCG) em ovelhas Santa Inês no Distrito Federal, Brasil. **Ciências Animais**. v. 11, n. 2, p. 417-424. 2010.
- SILVA, F. L. R.; ARAÚJO, A. M. Características de reprodução e de crescimento de ovinos mestiços Santa Inês, no Ceará. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 29, n. 6, p.1712-1700. 2000.

- SIRIS, E. S.; NISULA, B. C.; CATT, K. J.; HORNER, K.; BIRKEN, S.; CANFIELD R. E.; ROSS, G. T. New evidence for intrinsic follicle-stimulating hormone-like activity in human chorionic gonadotropin and luteinizing hormone. **Endocrinology**. v. 102, n. 5, p. 1356-1361. 1978.
- SUITER, J. **Body condition scoring for sheep and goats**. Farmnote 69/1994. Disponível em: < http://www.agric.wa.gov.au/PC_91909.html>. Acesso em: 17/01/2013.
- 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 Ruminant Research**. v. 56, n. 1-3, p. 47-53. 2005.
- ZONTURLU, A. K.; ÖZYURTLU, N.; KAÇAR, C. Effect of Different Doses PMSG on Estrus Synchronization and Fertility in Awassi Ewes Synchronized with Progesterone During the Transition Period. **Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**. v. 17, n. 1, p. 125-129. 2011.

CAPÍTULO 3

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As biotécnicas de sincronização do estro e inseminação artificial em tempo fixo são instrumentos valiosos em sistemas reprodutivos visando o aumento da produtividade de rebanhos e também na conservação de recursos genéticos.

Fatores como a estação do ano, o ambiente, a fisiologia, a raça, o manejo, a nutrição, o tratamento hormonal, entre outros, podem causar uma grande variação na sincronização do estro de forma individual ou conjunta, o que possivelmente seja a causa da grande diferença nas respostas aos protocolos hormonais, nos diferentes estudos.

Novos estudos devem ser realizados tanto para avaliar o uso do FSH ou eCG em ovelhas Santa Inês, em diferentes períodos do ano, nas condições do Centro-Oeste do Brasil, testando o progestágeno com ou sem o estimulador do crescimento folicular (FSH ou eCG). Avaliar se animais apenas expostos a progestágenos exógenos com aplicação de prostaglandina são capazes de sincronizar melhor a ovulação nesta raça. Desenvolver novos protocolos com maior controle do crescimento folicular após a inserção e remoção do progestágeno.

A taxa de fertilidade não foi satisfatória para a inseminação artificial em tempo fixo usando sêmen congelado, portanto, esses protocolos ainda devem ser testados associados a novas metodologias de abordagem da condição folicular ovariana, a fim de obter uma ovulação mais sincronizada e conseqüentemente alcançar taxas de fertilidade melhores.