



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

**INFLUÊNCIA DO GENÓTIPO NO GENE GDF-9 E DO PERÍODO DO ANO SOBRE
A DINÂMICA FOLICULAR EM OVELHAS SANTA INÊS**

CAROLLE VIEIRA MUTERLLE

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS ANIMAIS

BRASÍLIA/DF
MARÇO DE 2014



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

**INFLUÊNCIA DO GENÓTIPO NO GENE GDF-9 E DO PERÍODO DO ANO SOBRE
A DINÂMICA FOLICULAR EM OVELHAS SANTA INÊS**

Carolle Vieira Muterlle

Orientador: Prof. Dr. Jairo Pereira Neves

Coorientador: Dra. Bianca Damiani Marques Silva

Dissertação de Mestrado em Ciências Animais

BRASÍLIA/DF
MARÇO DE 2014

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA E CATALOGAÇÃO

MUTERLLE, C. V. **Influência do genótipo no gene GDF-9 e do período do ano sobre a dinâmica folicular em ovelhas Santa Inês.** Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2014, p. 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

MUTERLLE, Carolle Vieira. **Influência do genótipo no gene GDF-9 e do período do ano sobre a dinâmica folicular em ovelhas Santa Inês.** Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2014, p. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Ciências Animais) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, 2014.

1. Dinâmica Folicular. 2. Ovelha Santa Inês. 3. Prolificidade. 4. Ultrassonografia. 5. Ovulação.

Aos meus pais Erineu e Zilda, os quais sempre me ensinaram ter um objetivo e acima de tudo estudar, estudar e estudar. As melhores irmãs e amigas que poderia ter Palloma e Carmella, por todo apoio, dedicação e companheirismo. E não poderia deixar de falar do meu namorado mais que perfeito e companheiro de todas as horas José Felipe. A vocês dedico.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Dr. Jairo Pereira Neves e a minha coorientadora Dra. Bianca Damiani, pela oportunidade, confiança, dedicação, paciência e ensinamentos.

Ao meu namorado José Felipe Sprícigo, por todo amor, carinho, companheirismo e amizade. Além dos conselhos, discussões acadêmicas e ajuda no trabalho.

Aos amigos pelas discussões acadêmicas, ajuda no trabalho, pela amizade, apoio, companheirismo, conselhos, comemorações e por me ajudarem a crescer profissionalmente.

Aos funcionários da EMBRAPA Campo Experimental Sucupira, “Japão”, “Zequinha”, Euripedes, Manoel, Urias, Expedito, “Pelé” 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 e Capes, pela bolsa concedida e financiamento do projeto de pesquisa.

À Universidade de Brasília (UnB) e ao 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	xv
CAPITULO 1	1
1 INTRODUÇÃO	2
1.1 Objetivo geral	5
1.2 Objetivos específicos	5
2 REVISÃO DE LITERATURA	6
2.1 Fisiologia reprodutiva da ovelha	6
2.2 Ciclo estral	9
3 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	16
CAPÍTULO 2	24
1 RESUMO	25
2 ABSTRACT	27
3 INTRODUÇÃO	29
4 MATERIAL E MÉTODOS	32
4.1 Local e condições experimentais	32
4.2 Animais	32
4.3 Delineamento experimental	33

4.4 Avaliação ultrassonográfica	34
4.5 Dinâmica Folicular	35
4.6 Análises Estatísticas	37
5 RESULTADOS	38
6 DISCUSSÃO	51
7 CONCLUSÃO	57
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58

RESUMO

INFLUÊNCIA DO GENÓTIPO NO GENE GDF-9 E DO PERÍODO DO ANO SOBRE A DINÂMICA FOLICULAR EM OVELHAS SANTA INÊS

Carolle Vieira Muterlle¹, Jairo Pereira Neves¹, Bianca Damiani Marques Silva^{1,2}

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

Este estudo teve como objetivo caracterizar a dinâmica folicular em ovelhas da raça Santa Inês sob a influência de diferentes genótipos do gene GDF-9, homozigotas mutantes (EE), heterozigotas (EW) e homozigotas selvagens (WW) para a mutação FecG^E no desenvolvimento folicular e luteal do ciclo estral. Além, de avaliar dois diferentes períodos no ano no Distrito Federal. Ovelhas Santa Inês (n=26), sendo 10 ovelhas WW, 11 EW e 5 EE foram sincronizadas com duas doses de PGF2 α (Veteglan Luteolítico, 0,5 mL via intramuscular, 37,5 μ g de D+cloprostenol) com intervalos de 7 dias entre as doses. Após 48 horas a segunda dose foi iniciado o acompanhamento diário com ultrassom (US-MyLabTM30Gold, Esaote 6 e 8 MHz) e observadas desde a primeira ovulação, até a ovulação seguinte (aproximadamente 17 dias entre as ovulações), segunda ovulação confirmada posteriormente pela detecção do corpo lúteo (CL) sete dias depois do desaparecimento do maior foliculo. Foram avaliados 30 e 40 ciclos completos nos períodos de seca e chuva,

respectivamente. Os experimentos foram analisados por meio de Modelos Lineares Generalizados, de modo que se aplicou um modelo de Análise de Deviance. A duração do ciclo estral foi maior ($P < 0,05$) no período de seca, com média de $17,27 \pm 0,79$ contra $16,78 \pm 0,98$ dias no período de chuva. A fase lútea foi maior no período de seca ($P < 0,05$). As ovelhas apresentaram um padrão de 3 e 4 ondas foliculares. A frequência de ovulação foi maior na época de chuva ($P < 0,05$), comparada à seca. Também foi observado que ovelhas do genótipo recessivo EE apresentavam maior frequência de ovulação comparada aos outros genótipos ($P < 0,05$). As observações revelaram que houve uma maior frequência de ovulação ($P < 0,5$) no ovário esquerdo ($P < 0,05$). As médias dos diâmetros dos folículos ovulatórios na seca foram maiores ($P < 0,05$). Também foram maiores ($P < 0,05$) as médias do diâmetro dos folículos ovulatórios em ovelhas de genótipo WW. A média da população folicular de folículos pequenos foi maior ($P < 0,05$) durante a seca. Em ovelhas de 3 ondas foi observado na segunda e terceira ondas uma fase de crescimento maior ($P < 0,05$) durante a seca. Com relação ao genótipo, o mesmo aconteceu na terceira onda em ovelhas WW ($P < 0,05$). O diâmetro máximo folicular, em ovelhas de 3 ondas, foi maior ($P < 0,05$) na primeira e terceira ondas, nas ovelhas WW. Em ovelhas de 4 ondas, foi observado um maior diâmetro ($p < 0,05$) na quarta onda, em ovelhas de genótipo WW. Esta observação ocorreu somente no período de chuva. O volume total dos CLs provenientes de ovulação simples foi maior ($P < 0,05$), comparados aos CLs de múltiplas ovulações. O diâmetro folicular foi maior ($P < 0,05$) em ovulações simples. Conclui-se que os animais homozigotas mutantes (EE) são mais prolífico que os demais (EW e WW), e na época de chuva o efeito de ovulações múltiplas é mais frequente.

Palavras chave: dinâmica folicular, ovulação, ovelha Santa Inês, prolificidade, ultrassonografia.

ABSTRACT

GDF-9 GENE AND THE SEASON INFLUENCE ON THE FOLLICULAR DYNAMICS IN SANTA INES SHEEP

Carolle Vieira Muterlle¹, Jairo Pereira Neves¹, Bianca Damiani Marques Silva^{1,2}

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

This study aimed to characterize follicular dynamics in Santa Ines sheep under the influence of different genotypes of the GDF-9 gene, homozygous mutant (EE), heterozygous (EW) and wild homozygous (WW) for FecG^E mutation in follicular development and luteal phase of the estrous cycle. In addition, to evaluate two different periods of the year in the Federal District. Santa Inês ewes (n = 26), WW (n=10), EW (n=11) and EE (n=5) were synchronized with two PGF2a with 7 days intervals between doses. At 48 hours after the second dose ultrasound (US-MyLab™30Gold, Esaote 6-8 MHz) was observed daily from the first ovulation until the next ovulation (approximately 17 days between ovulations). The second ovulation was confirmed later by detection of corpora lutea (CL), seven days after the disappearance of the largest follicle. A total of 30 and 40 complete cycles were

evaluated in periods of drought and rainfall, respectively. The experiments were analyzed by Generalized Linear Models. The duration of the estrous cycle was greater ($P<0.05$) in the dry season, averaging 17.27 ± 0.79 versus 16.78 ± 0.98 days in the rain. The luteal phase was higher in the dry season ($P<0.05$). The sheep had a pattern of 3 and 4 follicular waves. The ovulation rate was higher in the rainy season ($P<0.05$) compared to dry. It was also observed that recessive genotype sheep (EE) had a higher ovulation frequency compared to other genotypes ($P<0.05$). The observations revealed that there was an increased in the ovulation rate ($P<0.05$) in the left ovary ($P<0.05$). The average diameters of the dry ovulatory follicles and the mean diameter of the follicles in ovulatory sheep genotype WW were higher ($P<0.05$) when compared to rainy season or to the other genotypes. The mean follicular population of small follicles was higher ($P<0.05$) during drought. In the 3 follicular waves sheep it was observed in the second and third waves a higher growth phase ($P<0.05$) during the drought. The same happened in the third wave in WW sheep ($P<0.05$) compared to the others genotypes. The maximum follicular diameter of 3 waves sheep was higher ($P<0.05$) in the first and third waves in sheep WW. In 4 waves sheep, there was a greater diameter ($p<0.05$) in the fourth wave in WW genotype. This observation occurred only during the rainy season. The total CLs volume from a single ovulation was higher ($P<0.05$) compared to CL from multiple ovulations. Follicular diameter was greater ($P<0.05$) in single ovulations. We conclude that the homozygous mutant animals (EE) are more prolific than others (EW and WW), and in the rainy season the occurrence of multiple ovulations is more frequent.

Keywords: Follicular dynamics, ovulation, Santa Ines sheep, prolificacy, ultrasonography.

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
Capítulo 2		
Figura 2.1	Ovelhas Santa Inês em duas épocas do ano diferentes: (A) época chuva (B) e época de seca.	33
Figura 2.2	Imagens ultrassonográficas de ovários em ovelhas Santa Inês, destacando-se: (A) folículos pequenos (2 - 3,4 mm); (B) folículos médios (3,5 - 4,9mm) e (C) folículos grandes / pré-ovulatório (> 5 mm); (D) corpos lúteos e (E) corpo lúteo cavitário.	35
Figura 2.3	Fase lútea e folicular de ovelhas na época de seca e chuva.	39
Figura 2.4	Representação gráfica do ciclo luteal dos diferentes genótipos avaliados.	48
Figura 2.5	Representação gráfica do diâmetro de folículos ovulatórios (a) e corpos lúteos (b) provenientes de ovulação simples ou múltiplas.	50

LISTA DE TABELAS

Tabela		Página
Capítulo 2		
Tabela 2.1	Valores médios \pm DP do número de ondas foliculares por ciclo estral, frequência ovulatória, diâmetro do folículo ovulatório, dias da fase lútea, dias da fase folicular e duração do ciclo estral de acordo com os grupos (EE, WW, EW) e épocas (seca e chuva), em ovelhas da raça Santa Inês.	40
Tabela 2.2	Número de folículos de acordo com seus diâmetros, pequeno, médio e grande ($>3,5\text{mm}$, $3,5 - 4,9\text{mm}$ e $\geq 5\text{mm}$ respectivamente) em cada onda folicular de 1 a 5 ondas em ovelhas da raça Santa Inês. Nas épocas de seca e chuva, e os genótipos (EE, EW e WW) com relação às épocas de (seca e chuva).	41
Tabela 2.3	Valores médios \pm DP das variáveis relacionadas ao desenvolvimento dos folículos em ovelhas da raça Santa Inês com 3 ondas foliculares, de acordo com os genótipos EE, EW e WW.	43
Tabela 2.4	Valores médios \pm DP das variáveis relacionadas ao desenvolvimento dos folículos em ovelhas da raça Santa Inês com 3 ondas foliculares, de acordo com as épocas de seca e chuva	44
Tabela 2.5	Valores médios \pm DP das variáveis relacionadas ao desenvolvimento dos folículos em ovelhas da raça Santa Inês com 4 ondas foliculares, de acordo com os genótipos EE, EW e WW.	45
Tabela 2.6	Valores médios \pm DP das variáveis relacionadas ao desenvolvimento dos folículos em ovelhas da raça Santa Inês	47

com 4 ondas foliculares, de acordo com as épocas de seca e chuva.

Tabela 2.7	Valores médios \pm DP das variáveis relacionadas ao desenvolvimento do corpo lúteo e suas observações ultrassonográficas. Volume máximo, dia da observação do volume máximo, dia do início das observações ultrassonográficas, dia do final das observações e o número de corpos lúteos. Relacionados com as épocas de seca e chuva, época de seca em relação aos genótipos EE, EW e WW e época de chuva em relação aos genótipos EE, EW e WW.	49
-------------------	--	----

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIACÕES

> – maior

< – menor

± – mais ou menos

≥ – maior ou igual

≤ – menor ou igual

~ – aproximadamente

' – minutos

° – graus

% – porcentagem

°C – graus Celsius

µg – micrograma

BMP-15 – *Bone Morphogenetic Protein 15*

CEFS – Campo Experimental Fazenda Sucupira

CEUA - Comitê de Ética no Uso Animal

cm - centímetros

CL – corpo lúteo

D – dia

DNA - deoxyribonucleic acid

Da – diâmetro longitudinal

Db – diâmetro transversal

DF – Distrito Federal

DP – desvio padrão

E2 – estradiol

EE – homozigotos mutantes

ECC – escore de condição corporal

EW – heterozigotos

Fec – fecundidade

FecB – Loci gênicos para Booroola

FecG – Loci gênicos para GDF-9

FecX – Loci gênicos para BMP-15

FecG^E – Loci gênicos para GDF-9 Embrapa

FSH – Hormônio Folículo Estimulante

GnRH – Hormônio Liberador de Gonadotrofinas

GDF-9 – *Growth Differentiation Factor 9*

g – gramas

h – horas

IBGE– Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IGF-GH – Insuline-like Growth Factor-Growth Hormone

INMET – Instituto Nacional de Meteorologia do Brasil

kg – quilograma

LH – Hormônio Luteinizante

m - metros

mg – miligramas

MHz – Mega Hertz

min – minutos

mL – mililitros

mm – milímetro

MOTE – superestimulação ovariana e transferências de embriões

n – número de amostras

P4 – Progesterona

PGF2 α – Prostaglandina-F2alfa

PVC – Policloreto de vinila

r – raio

SI – Santa Inês

SNPs – *Single Nucleotide Polymorphisms*

US – Ultrassom

V – volume

WW – homozigotas selvagens

CAPITULO 1

1 INTRODUÇÃO

A ovinocultura está presente em praticamente todos os continentes e a ampla difusão da espécie se deve principalmente ao seu poder de adaptação a diferentes climas, relevos e vegetações. A criação ovina pode ser destinada tanto à exploração econômica como à subsistência de famílias em zonas rurais (Viana, 2008). Com o passar dos anos, a adaptação e a distribuição das raças fizeram com que grupos raciais aumentassem o período de atividade reprodutiva, ficando a estacionalidade praticamente inexistente (Bicudo *et al.*, 2009).

O rebanho ovino brasileiro foi estimado em 16.789 milhões de cabeças em 2012 (PPM 2012, IBGE). No Brasil, o consumo per capita anual de carne de ovinos é considerado baixo, cerca de 400 g/habitante/ano. No entanto, apesar do baixo consumo médio per capita de carne ovina no Brasil, quando comparado às outras carnes (cerca de 37 kg/habitante/ano) ou ao consumo de carne ovina em países desenvolvidos como na Nova Zelândia (39,7 kg/habitante/ano), a produção brasileira não chega a suprir metade da demanda interna, exigindo continuamente a importação deste produto (Agrobases 2012). Para atender a demanda do mercado interno, além de melhorias nos sistemas de manejo, comercialização e abate é essencial a melhora nos índices reprodutivos. O melhoramento genético, com a identificação de genótipos auxiliam no maior conhecimento dos fenômenos biológicos ligados à fisiologia da reprodução, podendo proporcionar um incremento na eficiência reprodutiva e produtiva.

A observação de rebanhos com alta prolificidade tem sido constatada ao redor do mundo por algum tempo. Muitos destes rebanhos foram identificados com genes de principal efeito na taxa de ovulação e o número de nascidos/parto. Algumas raças de ovelhas, incluindo a Santa Inês (SI), são naturalmente prolíficas. A genética aliada à reprodução tem contribuído na busca de um melhor entendimento de alguns eventos fisiológicos ainda não muito claros, alguns deles próprios das peculiaridades fisiológicas da espécie ovina, outros de conjunturas regionais e circunstâncias econômicas (Bicudo *et al.*, 2009). Os genes GDF-9 (*Growth Differentiation Factor 9*) e BMP-15 (*Bone Morphogenetic Protein 15*) são responsáveis por determinar a taxa de ovulação em mamíferos, e conseqüentemente estão envolvidos em muitas fases da foliculogênese. Acredita-se que estes genes são os fatores chave no controle local do crescimento folicular e da determinação da taxa de ovulação e fertilidade (Souza *et al.*, 2009; Paulini *et al.*, 2011). Por esse motivo os loci gênicos para o BMP-15 e GDF9 foram denominados de Fec (Fecundidade), sendo FecX para o BMP-15 (devido a sua localização no cromossomo X) e FecG para o GDF-9 (Davis *et al.*, 1991; Hanrahan *et al.*, 2004).

Portanto, o estudo da foliculogênese e de genes candidatos envolvidos no processo de ovulação podem ser ferramentas valiosas para o aumento da fertilidade de rebanhos, além de incrementar a eficiência das biotécnicas de multiplicação animal e para a melhor compreensão da dinâmica folicular em ovinos. O estudo de marcadores moleculares relacionados com a fertilidade de ovinos com histórico de elevada incidência de partos duplos e triplos já identificou genes específicos, a exemplo do Gene Booroola (FecB). Há relatos de que ovelhas com este genoma podem apresentar múltipla ovulação, de até mais de 5 folículos (Cummins *et al.*, 1983). O DNA dos animais com identificações zootécnicas e múltiplos bezerros nascidos/parto foram submetido à análise das sequências dos genes GDF-9 e BMP-15 na busca de SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms*), em sua sequência codificadora, que explicassem esse comportamento prolífico (Galloway *et al.*, 2000; Hanrahan *et al.*, 2004; Silva *et al.*, 2011). Foi identificado um novo polimorfismo no GDF-9, descrito em ovelhas prolíficas da raça naturalizada SI, o FecG^E (E – Embrapa) (Silva *et al.*, 2011). Esse novo polimorfismo (ou mutação) apresenta um fenótipo inédito e distinto dos demais SNPs já descritos para os genes BMP-15 e GDF-9, pois quando em homozigose as

ovelhas não apresentavam infertilidade e possuem taxa de ovulação aumentada em relação aos animais heterozigotos e homozigotos selvagens, sem a mutação. Os animais heterozigotos apresentam uma taxa de ovulação intermediária entre os genótipos homozigotos. O aumento de um corpo lúteo (CL) representa um incremento de 58% no número de cordeiros nascidos, dados que são observados nas ovelhas homozigotas mutantes quando comparadas as homozigotas selvagens (Silva et al, 2011).

A caracterização da dinâmica folicular em ovelhas com mutação $FecG^E$ pode ajudar a explicar as características do padrão de crescimento folicular e secreção de progesterona entre ovelhas com diferentes taxas de ovulação e ampliar o conhecimento, auxiliando em protocolos bases, incluindo sincronização de estro, superestimulação ovariana e transferências de embriões (MOTE). Além disso, contribuir para o melhoramento genético da raça Santa Inês, que por sua vez representa parcela significativa do rebanho brasileiro e, portanto, tem relevância econômica para a ovinocultura nacional.

1.1 Objetivo geral

Caracterizar a dinâmica folicular em ovelhas cíclicas da raça Santa Inês sob influência da mutação $FecG^E$ do gene GDF-9.

1.2 Objetivos específicos

- a) Comparar a dinâmica folicular em ovelhas homozigotas mutantes, heterozigotas e homozigotas selvagens para a mutação $FecG^E$;
- b) Avaliar o efeito de diferentes épocas do ano, seca e chuva, na região do Distrito Federal, sobre a dinâmica folicular em ovelhas homozigotas mutantes, heterozigotas, homozigotas selvagens para a mutação $FecG^E$.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Fisiologia reprodutiva da ovelha

A raça Santa Inês (SI), com provável origem no estado da Bahia, está presente em quase todas as regiões tropicais do Brasil, principalmente nas zonas semiáridas do nordeste. A SI encontra-se em fase de expansão, visto ser um dos grupos de ovinos com maior importância econômica, em função do seu bom porte e adaptação ao ambiente (Paiva, 2005). Estudos envolvendo a raça tem demonstrado ser uma excelente alternativa para incrementar a produção ovina no país, considerando sua capacidade reprodutiva, além de boa conformação de carcaça, fertilidade, prolificidade, precocidade, rusticidade, resistência a parasitas gastrointestinais e qualidade de pele, além de uma acentuada habilidade materna e boa capacidade leiteira (Bueno *et al.*, 2006).

Os ovinos são animais poliéstricos sazonais. Em ovelhas, principalmente as localizadas em latitudes elevadas, o estímulo para a manifestação e/ou intensificação dos fenômenos reprodutivos decorre a medida que a luminosidade diminui, este fenômeno é denominado de fotoperíodo (horas luz/dia). Desta forma, a atividade reprodutiva é dividida em estações de anestro (início do inverno ao início do verão), de transição (verão) e de acasalamento (final do verão, ao início do inverno). À medida que se aproxima da Linha do Equador, com latitudes superiores a 35°, tanto no hemisfério norte como sul, esta estacionalidade é menos acentuada ou muito restrita (Chamineau *et al.*, 1991). Há pouca variação na luminosidade diária ao longo

do ano, assim a estacionalidade da atividade reprodutiva está condicionada a outros fatores, como temperatura e nutrição (Rocha; Amarante; Bricarello, 2004).

O anestro estacional da ovelha é resultado de uma mudança no mecanismo de *feedback* por estradiol (E2), mediado pelo fotoperíodo, sendo este capaz de suprimir a secreção do hormônio luteinizante (LH). As mudanças de fotoperíodo são percebidas pela retina, traduzidas em sinais nervosos e transmitidas à glândula pineal. A pineal responde com a secreção de melatonina que inicia imediatamente após o início do período de escuridão e se mantém até o começo do período de luz, criando um ritmo circadiano de secreção hormonal. Durante os dias curtos (alta melatonina), o E2 controla amplitude dos pulsos de LH, mas tem pouco efeito na frequência dos pulsos. Num ambiente de baixa melatonina (dias longos), o E2 é um potente supressor da frequência de pulsos de LH, uma ação exercida diretamente no hipotálamo (Moraes, *et al.*, 2002).

A origem geográfica dos animais e a latitude na qual se encontram são importantes fatores que condicionam o efeito da luz sobre a atividade reprodutiva dos ovinos (Hafez & Hafez, 2004), uma vez que a disponibilidade da luz natural nas regiões tropicais é grande e seus valores de iluminâncias são muito altos. Contudo, a temperatura média anual de Brasília é 21,6°C, a qual está dentro da zona de conforto recomendada por Baeta & Souza (1997) entre 20 e 30°C. Segundo Filho *et al.* (2011) as temperaturas de 10, 15, 20 e 25 °C são adequadas para a criação de borregas da raça Santa Inês, mostrando uma zona de conforto de 25 °C, caracterizando, desta forma, um predomínio de temperaturas amenas na cidade. O tempo de insolação durante o ano tem poucas variações. Brasília é classificada como clima Tropical de Altitude, caracteriza-se por um período quente e úmido, de outubro a abril, com predominância de céu parcialmente encoberto e um período seco, de maio a setembro, com céu claro. Exibe o equinócio de outono (data 22/03) com 12 horas de insolação, seguido do solstício de inverno (data 22/06) com 11 horas de luz, equinócio de primavera (data 23/09) com 12 horas de luz e solstício de verão (data 22/12) com 13 horas de luz (Adaptado de Castanheira, 2002). À vista disso, a estacionalidade reprodutiva não é tão evidente.

A ciclicidade é influenciada pelo fator raça, por exemplo, ovinos de raças nativas brasileiras (Santa Inês e Morada Nova) apresentam atividade reprodutiva

durante todo o ano (Fonseca, 2005), conseqüentemente, a produção de cordeiros é maior nos rebanhos de raças deslanadas por serem poliéstricas anuais e apresentarem maiores índices de prolificidade do que as ovelhas lanadas criadas na região de clima temperado (Sá e Sá, 2008).

A reprodução é uma das principais funções afetadas em situações de desequilíbrio nutricional. Provavelmente é resultado de falhas no ajuste do balanço entre a exigência nutricional e disponibilidade de alimentos. Os animais se encontram por muitas vezes em uma condição limitada, descontínua e desequilibrada de disponibilidade de alimentos. As variações estacionais das chuvas e das pastagens determinam o estado nutricional, o qual pode ser avaliado pela condição corporal (Gonzalez-Stagnaro e Ramon, 1991). Jeffeires (1961) avaliou a distribuição de tecido adiposo ao longo da região lombar e demonstrou a importância da condição corporal das ovelhas para o desempenho reprodutivo, onde a baixa condição corporal foi associada ao atraso ou supressão do estro, com baixas taxas de ovulações e diminuição dos parâmetros de fertilidade (Gunn e Doney, 1979).

Nos ruminantes, o fornecimento de nutrientes influencia a fertilidade, os quais são essenciais para os processos de desenvolvimento folicular, maturação ovocitária, ovulação, fertilização, sobrevivência embrionária e o estabelecimento da gestação. Além de atuar indiretamente nas concentrações circulantes dos hormônios e metabólitos sensíveis aos nutrientes que são requeridos para estes processos (Robinson *et al.*, 2006).

Efeitos adversos sobre os ovócitos provavelmente envolvem a inibição do crescimento e metabolismo das células da granulosa (Rooke *et al.*, 2004). Outro fator importante é a fase e o tamanho específico do folículo, frisando que os folículos pré-antrais e de tamanho médio são os mais afetados. Assim, a subnutrição pode reduzir o número de folículos que emergem e que estarão disponíveis para a ovulação (Almeida, 2010).

Uma nutrição adequada é essencial para um bom desempenho reprodutivo e produtivo, sendo necessário levar em consideração o valor nutricional do alimento fornecido, as peculiaridades do animal, determinando o nível de aproveitamento nutricional. Em ruminantes é importante ter a forragem como principal alimento da dieta, pois evitam distúrbios fisiológicos, além de reduzir os custos com manejo e

alimento (Van Soest, 1994). Algumas estratégias de manejo são propostas para adequar a nutrição aos períodos críticos, uma delas é a silagem. A silagem basicamente é um produto originado do processo fermentativo anaeróbico do material ensilado (Gomes *et al.*, 2007). Uma tentativa de suprir as necessidades alimentares dos animais nos meses de escassez, sendo fundamental para a manutenção das necessidades fisiológicas dos animais (Rodrigues *et al.*, 2004).

2.2 Ciclo Estral

O início da atividade reprodutiva é de grande importância para a produção animal, principalmente no que se refere ao retorno econômico. A puberdade da fêmea é estimulada pelos efeitos hormonais, definida pelo crescimento dos folículos, pela exteriorização do estro e finalmente a ovulação (Sousa *et al.*, 2008). A puberdade em ovinos ocorre de 6 a 9 meses de idade, quando as ovelhas atingem de 50 a 70% do peso adulto (Moraes, *et al.*, 2002).

Durante o desenvolvimento folicular em mamíferos existe um intervalo de tempo entre a ativação do crescimento dos folículos primordiais e o seu desenvolvimento até a ovulação. Entretanto, o controle exercido pelas gonadotrofinas (LH e FSH) ocorre apenas nas últimas etapas do desenvolvimento folicular, representando menos de 30% do processo de foliculogênese. A fase inicial da foliculogênese, que representa mais de 70% de todo o processo é independente das gonadotrofinas e controlada por fatores de crescimento como o GDF-9, BMP-15, sistema IGF-GH (Insuline-like Growth Factor-Growth Hormone), entre outros (Erickson *et al.*, 2001). O desenvolvimento folicular é um processo dinâmico e durante a foliculogênese estes fatores parácrinos são essenciais para a expansão das células do cumulus e granulosa, maturação oocitária e ovulação (Elvin *et al.*, 1999a; Elvin *et al.*, 1999b; Yoshino *et al.*, 2006), influenciando no crescimento folicular (Dong *et al.*, 1996), prevenção da apoptose (Hussein *et al.*, 2005) e agem como moduladores de outros fatores de crescimento e hormônios endócrinos (Juengel *et al.*, 2004). Por esse motivo os *loci* gênicos para o BMP-15 e GDF9 foram denominados

de *Fec* (Fecundidade), sendo *FecX* para o BMP-15 (devido a sua localização no cromossoma X) e *FecG* para o GDF-9 (Hanrahan *et al.*, 2004).

Desde o início desta década, fatores de crescimento da família das BMPs e GDFs, estão sendo apontados como agentes importantes no controle local do crescimento folicular e da determinação da taxa de ovulação e fertilidade (Souza *et al.*, 2009; Paulini *et al.*, 2011). Para dar início ao crescimento folicular, as células da granulosa precisam ter receptores de hormônio folículo estimulantes (FSH) até que os folículos atinjam 3 mm de diâmetro e com seu desenvolvimento se torna essencial, o aumento de receptores de LH (Scaramuzzi *et al.*, 1995). Todo esse mecanismo de regulação depende de alguns fatores externos e internos. Aos fatores externos inclui-se o fotoperíodo, os ferormônios, a nutrição e o estresse. Entre os fatores internos estão a 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 (Bartlewski *et al.*, 2011).

A atividade reprodutiva da ovelha é caracterizada com o ciclo estral, o período é compreendido entre dois estros, durante o qual ocorrem modificações hormonais, um conjunto de eventos que se repetem sucessivamente. Esse período tem duração de 17 ± 2 dias, podendo ter variações de 14 a 19 dias (Traldi, 1990). Divide-se em fase luteal com duração de 13 dias e fase folicular com 4 dias (Rubianes *et al.*, 2003). Os ciclos estrais são regulados por mecanismos neuroendócrinos e dependem da interação coordenada do sistema nervoso central por ação do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH), que irá estimular a adenohipófise a secretar LH e FSH. A esteroidogênese inicia-se pela estimulação ovariana, produzindo, progesterona e estrógenos que promovem o desenvolvimento dos folículos e posterior ovulação (Chemineau *et al.*, 2008).

O estro nas ovelhas dura de 24 a 48 horas e os seus sinais são pouco evidentes, principalmente na ausência dos carneiros. A vulva pode ficar edemaciada, ocorre procura e aproximação do macho, o sinal mais característico é deixar-se montar pelo carneiro (Moraes *et al.*, 2002). A ovulação é espontânea e ocorre próxima ao fim do estro, aproximadamente 24 a 27 horas após o início do estro e pode ocorrer uma ou mais ovulações durante o estro, variando conforme a raça, a idade, o peso, a condição corporal e o genótipo. Os ovócitos podem permanecer viáveis por 10 a 25 horas, estes

fecundados entram no útero aproximadamente 72 horas após a ovulação. O período de gestação dura 150 dias, sendo estas fêmeas dependentes da placenta após o 50º-70º dia, tornando-se a mesma a principal fonte de progesterona (P4). O puerpério, que inclui involução uterina e restabelecimento da atividade ovariana, tem duração de 27 dias (Jainudeen *et al.*, 2004).

Os ovinos que apresentavam histórico de elevada incidência de partos duplos e triplos, foram promovidos a estudos de marcadores moleculares relacionados com a prolificidade. O deoxyribonucleic acid (DNA) desses animais foi submetido à análise das sequências dos genes GDF9 e BMP15 na busca de SNPs em sua sequência codificadora, já que em populações europeias (Inverdale, Belclare, Hanna e Cambridge) haviam sido encontrados quatro polimorfismos no gene BMP15 e um no gene GDF9 relacionados com aumento na taxa de ovulação (Galloway *et al.*, 2000; Hanrahan *et al.*, 2004). Portanto, pesquisadores recentemente identificaram um novo polimorfismo no gene GDF-9, denominado de FecG^E (Silva *et al.*, 2011).

A avaliação do potencial de ovulações múltiplas se torna imprescindível para a viabilização da melhoria na produção e no melhoramento animal dos rebanhos. Pesquisas avaliaram o fenótipo sobre características de reprodução em ovinos deslanados SI no DF e observaram um índice de prolificidade de 1,27 (Quesada *et al.*, 2002). Pesquisadores avaliando o efeito do FecGE na prolificidade de ovelhas SI observaram que 47,4 % dos animais apresentaram uma única ovulação e 34,4 % apresentaram ovulações duplas, assim também como uma diferença na média de crias nascidas/parto para as ovelhas homozigoto mutante, heterozigoto e homozigoto selvagem. Concluindo que as ovelhas que apresentavam esse polimorfismo (ou mutação) em homozigose possuíam taxa de ovulação aumentada (Silva *et al.*, 2011).

A dinâmica folicular é um processo contínuo de crescimento e regressão dos folículos antrais que permitem o desenvolvimento do folículo pré-ovulatório (Lucy *et al.*, 1992). A onda folicular é definida como a emergência de um grupo de pequenos folículos antrais que 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). Os ovinos apresentam um padrão de 3 a 4 ondas foliculares, estas ondas emergem com intervalos de 4 a 6 dias, sendo que a interação entre os esteroides ovarianos e as gonadotrofinas são responsáveis pela regulação da dinâmica folicular

(Rubianes *et al.*, 1997).

Segundo Menchaca *et al.*, (2004) no mínimo um folículo por onda deve ter um diâmetro ≥ 5 mm. O maior folículo de cada onda cresce por 5 a 7 dias, com uma taxa de crescimento próxima de 1 mm por dia. O diâmetro máximo do maior folículo de uma onda difere entre as mesmas e o intervalo entre ondas é menor durante o final da fase lútea devido ao aumento da produção de progesterona. Os mesmos autores citam que o maior folículo no dia da luteólise é o que será ovulado. Quando há a ovulação dupla os folículos ovulatórios emergem da mesma onda, podendo ter algumas exceções em que ocorrem ovulações de ondas distintas.

Após o pico de LH e ovulação há um aumento significativo na concentração de FSH, um dia após a ovulação, seguido por um aumento na secreção de estradiol proveniente de um grupo de novos folículos (Duggavathi *et al.*, 2005a; Duggavathi *et al.*, 2005b). O padrão de desenvolvimento folicular está intimamente associado ao aumento dos pulsos das concentrações séricas de FSH (Bartlewski *et al.*, 1999a; Bartlewski *et al.*, 2000; Duggavathi *et al.*, 2003). A emergência da onda folicular está relacionada com o início do aumento da secreção de estradiol e o pico do mesmo equivale ao final da fase de crescimento dos maiores folículos de cada onda folicular (Bartlewski *et al.*, 1999a; Bartlewski *et al.*, 2000; Duggavathi *et al.*, 2003).

Na maioria das raças de ovinos, no final de cada ciclo apenas um folículo ovula, porém, a taxa de ovulação entre raças pode variar de 1 a 5 folículos ovulados (Notter, 2012). Nas ovulações múltiplas, os folículos pré-ovulatórios podem ser oriundos da última e/ou penúltima onda do ciclo estral, preconizando que a dominância folicular é fraca ou ausente na ovelha (Bartlewski *et al.*, 2011). Como é o caso da raça Santa Inês considerada prolífica, pois apresenta uma taxa de ovulação variando entre 1,18 a 1,94 (Silva e Araújo, 2000; Figueiredo *et al.*, 2007).

A população folicular ovariana das ovelhas cíclicas é estimada em 40.000 a 300.000 folículos primordiais e em torno de 100 a 400 folículos em crescimento, destes são visíveis na superfície do ovário cerca de 10 a 40 folículos (Driancourt *et al.*, 1991). O folículo primordial tem seu crescimento em torno de 130 dias até a fase pré antral precoce ($\sim 0,2$ mm de diâmetro) (Cahill *et al.*, 1980). No passar de mais 24 a 35 dias os folículos atingem 0,5 mm, com aproximadamente mais 5 dias irão atingir 2,2 mm (Turnbull *et al.*, 1977).

O desenvolvimento folicular pode ser observado através da ultrassonografia a partir de 1 a 2 mm de diâmetro, até a atresia ou ovulação, e subsequente exposição do corpo lúteo (Schrick *et al.*, 1993; Vinales *et al.*, 2004; Vinales *et al.*, 2010). Anteriormente à ultrassonografia a observação do crescimento folicular era realizado mediante laparotomia, laparoscopia ou com materiais coletados em matadouros (Driancourt *et al.*, 1985). Apesar destas mostrarem o crescimento e regressão folicular, eram técnicas bastante invasivas. Além disso, nestas avaliações se obtinha apenas uma “fotografia” estática de determinados momentos do ciclo estral e não uma avaliação contínua em tempo real dos processos. A partir dos anos 1980 (Ginther *et al.*, 1989; Ginther *et al.*, 1996), com a utilização da ultrassonografia em estudos da fisiologia ovariana de ruminantes domésticos, pode-se acompanhar de modo contínuo e não invasivo o comportamento das estruturas ovarianas ao longo do ciclo estral. Deste modo, houve um grande avanço no entendimento da fisiologia reprodutiva destes animais. Os ovários das ovelhas podem ser examinados com sucesso utilizando-se transdutor linear transretal de 5,0 a 7,5 MHz, permitindo-se o estudo de estruturas ovarianas, diferenciação de folículos, acompanhamento do mesmo folículo em observações diferentes e a formação do corpo lúteo (Ravindra *et al.*, 1994).

Foi observado em ovelhas Western White-face, com ultrassom (US) e transdutor de 7,5 MHz, o desenvolvimento e regressão de folículos pequenos, médios e grandes, e o crescimento em ondas durante o anestro estacional (Bartlewski *et al.*, 1998). A acurácia da observação de estruturas ovárianas por ultrassonografia transretal em ovelhas, CL e folículos ≥ 4 mm de diâmetro, por US transretal em ovelhas, foi demonstrado por Vinales *et al.*, (2004). Ao medir no mínimo 4 mm de diâmetro já é considerado um folículo pré ovulatório, o qual levará 4 dias para o seu crescimento completo (Turnbull *et al.*, 1977). Atualmente vários estudos têm utilizado o ultrassom para o acompanhamento da dinâmica folicular (Contreras-Solis *et al.*, 2008), momento da ovulação em protocolos de sincronização de estro (Rubianes *et al.*, 2003) e indução da ovulação (Reyna *et al.*, 2007). Além da resposta superovulatória em protocolos de transferência de embriões (Rubianes *et al.*, 1997).

Durante todos os estágios reprodutivos da ovelha, ocorrem pulsos rítmicos de LH gerados pela secreção de GnRH (Karsch *et al.*, 1997). O pico pré-ovulatório de LH leva a ovulação do folículo pré-ovulatório e a luteinização da(s) estrutura(s)

folicular(es) restante. A descarga pré-ovulatória de GnRH e subsequentemente de LH e FSH, atinge um pico em aproximadamente 14 horas antes da ovulação. Isso só ocorre devido à diminuição da progesterona e aumento da secreção de estradiol durante a fase final do ciclo estral, na fase folicular as concentrações circulantes de estradiol aumentam 3 a 4 vezes (Bartlewski *et al.*, 1999a). O aumento contínuo da secreção de estradiol proporciona uma quantidade maior de receptores para o LH nos folículos pré-ovulatórios (Rawlings & Cook, 1992).

À medida que a fase lútea progride, os corpos lúteos produzem um volume crescente de P4 até um platô que se inicia por volta do dia 6 e se mantém até a luteólise, induzida pela prostaglandina (PGF2 α) (Pant *et al.*, 1977). A luteólise tem duração de 2 a 3 dias e ocorre entre os dias 12 e 15 após a ovulação (Bartlewski *et al.*, 2011). Segundo Gordon, (1997) a concentração de P4 segue o crescimento e o desenvolvimento do corpo lúteo, estando relacionada ao volume total do tecido luteal, podendo variar devido a fatores como raça e taxa de ovulação. O CL é formado pela ação do LH que proporciona uma cascata de alterações funcionais e fenotípicas das células da granulosa e da teca dos folículos rompidos (Niswender *et al.*, 2000). Próximo ao quinto dia após a ovulação, o CL mede 6 a 8 mm e atinge seu máximo diâmetro (11 a 14 mm) perto do décimo dia pós-ovulação (Bartlewski *et al.*, 1999b). Neste mesmo trabalho, foi constatado que um menor tamanho de CL está relacionado a um maior número de ovulações e a um menor tamanho dos folículos ovulatórios.

O CL presente no ovários pode suprimir o crescimento de folículos com 3 mm, mas esse efeito não acontece com diâmetros maiores e também não tem interferência sobre a próxima ovulação (Bartlewski *et al.*, 2011). Concluindo assim, que os efeitos da progesterona sobre o crescimento dos grandes folículos antrais são sistêmicas e não locais. A diminuição dos pulsos de GnRH é importante para que permita o aumento de FSH nas células hipofisárias, visto que é necessário para desencadear o recrutamento de novos folículos (Karsch *et al.*, 1988). De maneira que, as altas concentrações de progesterona favorecem a secreção de isoformas de FSH com maior meia-vida, já as com menor meia-vida são secretadas em baixas concentrações de P4 (Bartlewski *et al.*, 2011).

A partir do dia 12 do ciclo estral ocorre um mecanismo de retroalimentação positiva, da ocitocina luteal e PGF2 α endometrial que irão determinar a luteólise do

CL e conseqüentemente a queda de progesterona. Com a baixa da P4 os pulsos de GnRH e LH aumentam e estimulam a secreção de estradiol pelos folículos. Em contraste, a concentração de FSH declina suprimida pela secreção crescente de E2 e inibina do folículo pré-ovulatório, em um processo de *feedback* negativo (Baird *et al.*, 1981). Assim, o E2 produzido pelo maior folículo da onda ovulatória é o primeiro sinal para o pico pré-ovulatório de GnRH e LH e esse aumento é responsável pelas manifestações do estro (Rubianes *et al.*, 2003). O pico de LH provoca a ovulação, subsequente luteinização e diminuição da secreção de estradiol e um novo ciclo estral será iniciado novamente (Baird *et al.*, 1981).

3 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, A. P., SOUZA, A.L., MENEZES E.S.B., ARRUDA I.J., RONDINA D.;
Recentes Avanços na Relação entre Nutrição e Reprodução em Ruminantes. Disponível em:<
<http://www.nutricaoanimal.ufc.br/1snaa/images/Palestra08h.pdf>> Acesso em 23 dez 2013.
- AGROBASE** - <http://www.agrodebate.com.br/_conteudo/2012/06/noticias/2949-consumo-per-capita-de-carne-ovina-no-brasil-e-de- apenas-400-gramas-por-ano.html> Acesso em: 02 dez. 2013.
- BAÊTA, F.C.; SOUZA, C.F.; *Ambiência em edificações rurais - conforto animal.* Viçosa: UFV, 246p., 1997.
- BAIRD, D. T.; MCNEILLY, A. S. Gonadotrophic control of follicular development and function during the oestrous cycle of the ewe. **Journal of reproduction and fertility. Supplement**, v. 30, p. 119-33, 1981.
- BARTLEWSKI, P. M.; BABY, T. E.; GIFFIN, J. L. Reproductive cycles in sheep. **Animal reproduction science**, v. 124, n. 3-4, p. 259-68, Apr 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, n. 1, p. 111-24, Jan 1999a.
- BARTLEWSKI, P. M.; BEARD, A. P.; COOK, S. J.; RAWLINGS, N. C. Ovarian follicular dynamics during anoestrus in ewes. **Journal of reproduction and fertility**, v. 113, n. 2, p. 275-85, Jul 1998.

- 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, n. 1, p. 115-30, Jul 1 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.
- BUENO, M. S.; CUNHA, E. A.; SANTOS, L. E. dos; VERÍSSIMO, C. J.. **Santa Inês: uma boa alternativa para a produção intensiva de carne de cordeiros na região Sudeste**, 2006 Disponível em: http://www.infobibos.com/Artigos/2006_2/SantaInes/index.htm>. Acesso em: 16/6/2012.
- _____. 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, n. 2, p. 229-45, Jul 15 2000.
- CAHILL, L. P.; MAULEON, P. Influences of season, cycle and breed on follicular growth rates in sheep. **Journal of reproduction and fertility**, v. 58, n. 2, p. 321-8, Mar 1980.
- CASTANHEIRA, R.G. Radiação Solar em superfícies inclinadas. Versão 4.1. Rio de Janeiro, 2002.
- CHEMINEAU, P.; GUILLAUME, D.; MIGAUD, M.; THIERY, J. C.; PELLICER-RUBIO, M. T.; MALPAUX, B. Seasonality of reproduction in mammals: intimate regulatory mechanisms and practical implications. **Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene**, v. 43 Suppl 2, p. 40-7, Jul 2008.
- 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.
- CONTRERAS-SOLIS, I.; DIAZ, T.; LOPEZ, G.; CAIGUA, A.; LOPEZ-SEBASTIAN, A.; GONZALEZ-BULNES, A. Systemic and intraovarian effects of corpus luteum on follicular dynamics during estrous cycle in hair breed sheep. **Animal reproduction science**, v. 104, n. 1, p. 47-55, Feb 1 2008.
- CUMMINS, L. J.; O'SHEA, T.; BINDON, B. M.; LEE, V. W.; FINDLAY, J. K. Ovarian inhibin content and sensitivity to inhibin in Booroola and control strain Merino ewes. **Journal of reproduction and fertility**, v. 67, n. 1, p. 1-7, Jan 1983.
- DAVIS, G. H.; MCEWAN, J. C.; FENNESSY, P. F.; DODDS, K. G.; FARQUHAR, P. A. Evidence for the presence of a major gene influencing ovulation rate on the X chromosome of sheep. **Biology of reproduction**, v. 44, n. 4, p. 620-4, Apr 1991.

- DONG, J.; ALBERTINI, D. F.; NISHIMORI, K.; KUMAR, T. R.; LU, N.; MATZUK, M. M. Growth differentiation factor-9 is required during early ovarian folliculogenesis. **Nature**, v. 383, n. 6600, p. 531-5, Oct 10 1996.
- DRIANCOURT, M. A.; GIBSON, W. R.; CAHILL, L. P. Follicular dynamics throughout the oestrous cycle in sheep. A review. **Reproduction, nutrition, development**, v. 25, n. 1A, p. 1-15, 1985.
- DRIANCOURT, M. A.; WEBB, R.; FRY, R. C. Does follicular dominance occur in ewes? **Journal of reproduction and fertility**, v. 93, n. 1, p. 63-70, Sep 1991.
- DUGGAVATHI, R.; BARTLEWSKI, P. M.; AGG, E.; FLINT, S.; BARRETT, D. M.; RAWLINGS, N. C. The effect of the manipulation of follicle-stimulating hormone (FSH)-peak characteristics on follicular wave dynamics in sheep: does an ovarian-independent endogenous rhythm in FSH secretion exist? **Biology of reproduction**, v. 72, n. 6, p. 1466-74, Jun 2005a.
- 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, Aug 2003.
- DUGGAVATHI, R.; BARTLEWSKI, P. M.; AGG, E.; FLINT, S.; 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, Jul 15 2005b.
- ELVIN, J. A.; CLARK, A. T.; WANG, P.; WOLFMAN, N. M.; MATZUK, M. M. Paracrine actions of growth differentiation factor-9 in the mammalian ovary. **Molecular endocrinology**, v. 13, n. 6, p. 1035-48, Jun 1999a.
- ELVIN, J. A.; YAN, C.; WANG, P.; NISHIMORI, K.; MATZUK, M. M. Molecular characterization of the follicle defects in the growth differentiation factor 9-deficient ovary. **Molecular endocrinology**, v. 13, n. 6, p. 1018-34, Jun 1999b.
- ERICKSON, G. F.; SHIMASAKI, S. The physiology of folliculogenesis: the role of novel growth factors. **Fertility and sterility**, v. 76, n. 5, p. 943-9, Nov 2001.
- EVANS, A. C.; MARTIN, F. Kinase pathways in dominant and subordinate ovarian follicles during the first wave of follicular development in sheep. **Animal reproduction science**, v. 64, n. 3-4, p. 221-31, Dec 29 2000.
- 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: 44^a REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE

- BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, **Anais**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Zootecnia, p. 1-3, 2007.
- FILHO A. E.; TEODORO S. M. CHAVES M. A. ET AL.; Zona de conforto térmico de ovinos da raça Santa Inês com base nas respostas fisiológicas. **Revista Brasileira Zootecnia**. v.40, n.8, p.1807-1814, 2011.
- FONSECA, J.F., Estratégias para o controle do ciclo estral e superovulação em ovinos e caprinos, **Anais do Congresso Brasileiro de Reprodução Animal**, 16, 2005.
- GALLOWAY, S. M.; MCNATTY, K. P.; CAMBRIDGE, L. M.; LAITINEN, M. P.; JUENGEL, J. L.; JOKIRANTA, T. S.; MCLAREN, R. J.; LUIRO, K.; DODDS, K. G.; MONTGOMERY, G. W.; BEATTIE, A. E.; DAVIS, G. H.; RITVOS, O. Mutations in an oocyte-derived growth factor gene (BMP15) cause increased ovulation rate and infertility in a dosage-sensitive manner. **Nature genetics**, v. 25, n. 3, p. 279-83, Jul 2000.
- GOMES, J. A. F.; LEITE, E. R.; RIBEIRO, T. P.; Alimentos e alimentação de ovinos e caprinos do semi arido brasileiro; Sobral: Embrapa Caprinos. (Documentos / Embrapa Caprinos, ISSN 1676-7659 ; 67), 40p., 2007.
- GINTHER, O. J.; KNOFF, L.; KASTELIC, J. P. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrous cycles with two and three follicular waves. **Journal of reproduction and fertility**, v. 87, n. 1, p. 223-30, Sep 1989.
- GINTHER, O. J.; WILTBANK, M. C.; FRICKE, P. M.; GIBBONS, J. R.; KOT, K. Selection of the dominant follicle in cattle. **Biology of reproduction**, v. 55, n. 6, p. 1187-94, Dec 1996.
- GORDON, I. Controlled Reproduction in Sheep and Goats. **New York CAB International**, 450p., 1997.
- GONÇALVES, P. B. D.; FIGUEIREDO, J. R.; FREITAS, V. J. F.; **Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal**. São Paulo, Varela, 340p, 2001.
- GONZALEZ-STAGNARO, C.; RAMON, J.P., Influencia de la condición corporal y del efecto macho sobre el comportamiento y eficiencia reproductiva em ovejas y cabaras tropicales. XXIII Jornadas Produccion Animal **Revista ITEA** v. 87, p.84-89, 1991.
- GUNN, R.G.; DONEY, J.M., Fertility in Cheviot ewes. The effect of body condition and mating on ovulation rate and early embryo mortality in North and Sud Country Cheviot ewes., **Animal Production**, v.29, p 11-16, 1979.
- HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. Reprodução Animal. São Paulo, **Brasil Manole**, 7ed, 2004.
- HANRAHAN, J. P.; GREGAN, S. M.; MULSANT, P.; MULLEN, M.; DAVIS, G. H.; POWELL, R.; GALLOWAY, S. M. Mutations in the genes for oocyte-derived growth factors GDF9 and BMP15 are associated with both increased

- ovulation rate and sterility in Cambridge and Belclare sheep (*Ovis aries*). **Biology of reproduction**, v. 70, n. 4, p. 900-9, Apr 2004.
- HUSSEIN, T. S.; FROILAND, D. A.; AMATO, F.; THOMPSON, J. G.; GILCHRIST, R. B. Oocytes prevent cumulus cell apoptosis by maintaining a morphogenic paracrine gradient of bone morphogenetic proteins. **Journal of cell science**, v. 118, n. Pt 22, p. 5257-68, Nov 15 2005.
- IBGE. **Pesquisa Pecuária Municipal**, 2012. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2012/default.shtm>> Acesso em: 17 dez. 2012.
- IBGE. **Pesquisa Pecuária Municipal**, 2012. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2012/default.shtm>> Acesso em: 17 dez. 2013.
- JAINUDEEN, M.R.; WAHID, H.; HAFEZ, E.S.E. Ovinos e caprinos In: **HAFEZ Reprodução Animal**, p. 173-182, 2004.
- JEFFERIES, B. C. Body conditions scoring and its use in management. **Tasm. J. Agricultural**, [S. l.], v. 2, p. 19-21, 1961.
- JUENGEL, J. L.; BODENSTEINER, K. J.; HEATH, D. A.; HUDSON, N. L.; MOELLER, C. L.; SMITH, P.; GALLOWAY, S. M.; DAVIS, G. H.; SAWYER, H. R.; MCNATTY, K. P. Physiology of GDF9 and BMP15 signalling molecules. **Animal reproduction science**, v. 82-83, p. 447-60, Jul 2004.
- KARSCH, F. J.; BOWEN, J. M.; CARATY, A.; EVANS, N. P.; MOENTER, S. M. Gonadotropin-releasing hormone requirements for ovulation. **Biology of reproduction**, v. 56, n. 2, p. 303-9, Feb 1997.
- LEESE, H.J. Quiet please, do not disturb: a hypothesis of embryo metabolism and viability. **Bioessays** v.24, p.845–849, 2002.
- LUCY, M. C.; SAVIO, J. D.; BADINGA, L.; DE LA SOTA, R. L.; THATCHER, W. W. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. **Journal of animal science**, v. 70, n. 11, p. 3615-26, Nov 1992.
- MENCHACA, A.; RUBIANES, E. New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. **Reproduction, fertility, and development**, v. 16, n. 4, p. 403-13, 2004.
- MORAES, J.C.F.; SOUZA, C.J.H.; GONÇALVES, P.B.D., Controle do estro e da ovulação em bovinos e ovinos, in GONSALVES, P.B.D.; FIGUIREDO, J.R.; FREITAS, V.J.F **Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal**. São Paulo, Varela, p. 25-56, 2002, 340 p.
- 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. **Physiological reviews**, v. 80, n. 1, p. 1-29, Jan 2000.

- NOTTER, D. R. Genetic improvement of reproductive efficiency of sheep and goats. **Animal reproduction science**, v. 130, n. 3-4, p. 147-51, Feb 2012.
- OLIVEIRA, Maria Emília Franco. Dinâmica folicular no uso em protocolos de sincronização de estro e superovulação em ovelhas Santa Inês. Jabotical: Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2011. 131p. **Tese (doutorado)** - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2011.
- PAIVA, S.R.; **Caracterização da diversidade genética de ovinos no Brasil com quatro técnicas moleculares**, Tese de Doutorado, Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 118p., 2005.
- PANT, H. C.; HOPKINSON, C. R.; FITZPATRICK, R. J. Concentration of oestradiol, progesterone, luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone in the jugular venous plasma of ewes during the oestrous cycle. **The Journal of endocrinology**, v. 73, n. 2, p. 247-55, May 1977.
- PAULINI, F.; MELO, E. O. The role of oocyte-secreted factors GDF9 and BMP15 in follicular development and oogenesis. **Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene**, v. 46, n. 2, p. 354-61, Apr 2011.
- QUESADA, A.; ETGEN, A. M. Functional interactions between estrogen and insulin-like growth factor-I in the regulation of alpha 1B-adrenoceptors and female reproductive function. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 22, n. 6, p. 2401-8, Mar 15 2002.
- RAWLINGS, N.C.; COOK, S.J. LH secretion around the time of the preovulatory gonadotropin surge in the ewe. **Animal Reproduction Science**, v. 30, p. 289-299, 1992.
- RAVINDRA, J. P.; RAWLINGS, N. C.; EVANS, A. C.; ADAMS, G. P. Ultrasonographic study of ovarian follicular dynamics in ewes during the oestrous cycle. **Journal of reproduction and fertility**, v. 101, n. 2, p. 501-9, Jul 1994.
- REYNA, J.; THOMSON, P. C.; EVANS, G.; MAXWELL, W. M. Synchrony of ovulation and follicular dynamics in merino ewes treated with GnRH in the breeding and non-breeding seasons. **Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene**, v. 42, n. 4, p. 410-7, Aug 2007.
- ROCHA, R. A.; AMARANTE, A. F. T.; BRICARELLO, P. A. Influence of reproduction status on susceptibility of Santa Inês and Ile de France ewes to nematode parasitism. **Small Rumin. Res.**, v. 55, p. 65-75, 2004.
- RODRIGUES, P. H. M.; RUZANTE, J. M.; SENATORE, A. L.; LIMA, F. R.; MELOTTI, L.; MEYER, P. M. Avaliação do Uso de Inoculantes Microbianos sobre a Qualidade Fermentativa e Nutricional da Silagem de Milho. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 33, n. 3, p. 538-545, 2004.

- ROOKE, J. A.; EWEN, M.; MACKIE, K.; STAINES, M. E.; MCEVOY, T. G.; SINCLAIR, K. D. Effect of ammonium chloride on the growth and metabolism of bovine ovarian granulosa cells and the development of ovine oocytes matured in the presence of bovine granulosa cells previously exposed to ammonium chloride. **Animal reproduction science**, v. 84, n. 1-2, p. 53-71, Aug 2004.
- ROBINSON, J.J.; ASHWORTH, C.J.; ROOKE, J.A.; MITCHELL, L.M.; MCEVOY, T.G. Nutrition and fertility in ruminant livestock. **Animal Feed Science and Technology**, v.126, p,259–276, 2006.
- RUBIANES, E.; MENCHACA, A.; CARBAJAL, B. Response of the 1-5 day-aged ovine corpus luteum to prostaglandin F2alpha. **Animal reproduction science**, v. 78, n. 1-2, p. 47-55, Sep 15 2003.
- RUBIANES, E.; UNGERFELD, R.; VINOLES, C.; RIVERO, A.; ADAMS, G. P. Ovarian response to gonadotropin treatment initiated relative to wave emergence in ultrasonographically monitored ewes. **Theriogenology**, v. 47, n. 8, p. 1479-88, Jun 1997.
- SÁ, C.O.; SÁ, J.L., **Estacionalidade reprodutiva em ovinos, Disponível em:** <www.farmpoint.com.br> Acesso em 11/01/2014.
- SCARAMUZZI, R. J.; DOWNING, J. A. The in vivo effects of fibroblast growth factor and epidermal growth factor on the secretion of oestradiol, androstenedione and progesterone by the autotransplanted ovary in the ewe. **The Journal of endocrinology**, v. 146, n. 2, p. 301-11, Aug 1995.
- 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, n. 5, p. 1133-40, Nov 1993.
- SILVA, B. D.; CASTRO, E. A.; SOUZA, C. J.; PAIVA, S. R.; SARTORI, R.; FRANCO, M. M.; AZEVEDO, H. C.; SILVA, T. A.; VIEIRA, A. M.; NEVES, J. P.; MELO, E. O. A new polymorphism in the Growth and Differentiation Factor 9 (GDF9) gene is associated with increased ovulation rate and prolificacy in homozygous sheep. **Animal genetics**, v. 42, n. 1, p. 89-92, Feb 2011.
- 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.
- SOUZA, A. H.; CUNHA, A. P.; SILVA, E. P.; GUMEN, A.; AYRES, H.; GUENTHER, J. N.; WILTBANK, M. C. Comparison of gonadorelin products in lactating dairy cows: efficacy based on induction of ovulation of an accessory follicle and circulating luteinizing hormone profiles. **Theriogenology**, v. 72, n. 2, p. 271-9, Jul 15 2009.

- SOUSA, W.H., LÔBO, R.N.B., MORAIS, O.R., **Ovinos Santa Inês: Estado da Arte e Perspectivas. Disponível em:** <www.emepa.org.br> Acesso em 11/01/2014.
- TRALDI, A.S. Biotecnologia da Reprodução de Pequenos Ruminantes. LBOC-VRA - FMVZ - USP, 85p., 2002.
- 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, Jun 1977.
- VAN SOEST , P.J. Nutritional ecology of the ruminant. 2. ed. Ithaca: Comstock, 1994. 476p.
- VIANA, J. G. A., Panorama Geral da Ovinocultura no Mundo e no Brasil, **Revista Ovinos**, Ano 4, Nº 12, Porto Alegre, Março de 2008.
- VINOLES, C.; MEIKLE, A.; FORSBERG, M. Accuracy of evaluation of ovarian structures by transrectal ultrasonography in ewes. **Animal reproduction science**, v. 80, n. 1-2, p. 69-79, Jan 2004.
- VINOLES, C.; PAGANONI, B.; GLOVER, K. M.; MILTON, J. T.; BLACHE, D.; BLACKBERRY, M. A.; MARTIN, G. B. The use of a 'first-wave' model to study the effect of nutrition on ovarian follicular dynamics and ovulation rate in the sheep. **Reproduction**, v. 140, n. 6, p. 865-74, Dec 2010.
- YOSHINO, O.; MCMAHON, H. E.; SHARMA, S.; SHIMASAKI, S. A unique preovulatory expression pattern plays a key role in the physiological functions of BMP-15 in the mouse. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 103, n. 28, p. 10678-83, Jul 11 2006.
- ZIEBA, D. A.; MURAWSKI, M.; SCHWARZ, T.; WIERZCHOS, E. Pattern of follicular development in high fecundity Olkuska ewes during the estrous cycle. **Reproductive biology**, v. 2, n. 1, p. 39-58, Mar 2002.

CAPÍTULO 2

INFLUÊNCIA DO GENÓTIPO NO GENE GDF-9 E DO PERÍODO DO ANO SOBRE A DINÂMICA FOLICULAR EM OVELHAS SANTA INÊS

1 RESUMO

INFLUÊNCIA DO GENÓTIPO NO GENE GDF-9 E DO PERÍODO DO ANO SOBRE A DINÂMICA FOLICULAR EM OVELHAS SANTA INÊS

Carolle Vieira Muterlle¹, Jairo Pereira Neves¹, Bianca Damiani Marques Silva^{1,2}

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

Este estudo teve como objetivo caracterizar a dinâmica folicular em ovelhas da raça Santa Inês sob a influência de diferentes genótipos do gene GDF-9, homozigotas mutantes (EE), heterozigotas (EW) e homozigotas selvagens (WW) para a mutação FecG^E no desenvolvimento folicular e luteal do ciclo estral. Além, de avaliar dois diferentes períodos no ano no Distrito Federal. Ovelhas Santa Inês (n=26), sendo 10 ovelhas WW, 11 EW e 5 EE foram sincronizadas com duas doses de PGF2 α (Veteglan Luteolítico, 0,5 mL via intramuscular, 37,5 μ g de D+cloprostenol) com intervalos de 7 dias entre as doses. Após 48 horas a segunda dose foi iniciado o acompanhamento diário com ultrassom (US-MyLabTM30Gold, Esaote 6 e 8 MHz) e observadas desde a primeira ovulação, até a ovulação seguinte (aproximadamente 17 dias entre as ovulações), segunda ovulação confirmada posteriormente pela detecção do corpo lúteo (CL) sete dias depois do desaparecimento do maior folículo. Foram avaliados 30 e 40 ciclos completos nos períodos de seca e chuva, respectivamente. Os experimentos foram analisados por meio de Modelos Lineares Generalizados, de

modo que se aplicou um modelo de Análise de Deviance. A duração do ciclo estral foi maior ($P<0,05$) no período de seca, com média de $17,27 \pm 0,79$ contra $16,78 \pm 0,98$ dias no período de chuva. A fase lútea foi maior no período de seca ($P<0,05$). As ovelhas apresentaram um padrão de 3 e 4 ondas foliculares. A frequência de ovulação foi maior na época de chuva ($P<0,05$), comparada à seca. Também foi observado que ovelhas do genótipo recessivo EE apresentavam maior frequência de ovulação comparada aos outros genótipos ($P<0,05$). As observações revelaram que houve uma maior frequência de ovulação ($P<0,5$) no ovário esquerdo ($P<0,05$). As médias dos diâmetros dos folículos ovulatórios na seca foram maiores ($P<0,05$). Também foram maiores ($P<0,05$) as médias do diâmetro dos folículos ovulatórios em ovelhas de genótipo WW. A média da população folicular de folículos pequenos foi maior ($P<0,05$) durante a seca. Em ovelhas de 3 ondas foi observado na segunda e terceira ondas uma fase de crescimento maior ($P<0,05$) durante a seca. Com relação ao genótipo, o mesmo aconteceu na terceira onda em ovelhas WW ($P<0,05$). O diâmetro máximo folicular, em ovelhas de 3 ondas, foi maior ($P<0,05$) na primeira e terceira ondas, nas ovelhas WW. Em ovelhas de 4 ondas, foi observado um maior diâmetro ($p<0,05$) na quarta onda, em ovelhas de genótipo WW. Esta observação ocorreu somente no período de chuva. O volume total dos CLs provenientes de ovulação simples foi maior ($P<0,05$), comparados aos CLs de múltiplas ovulações. O diâmetro folicular foi maior ($P<0,05$) em ovulações simples. Conclui-se que os animais homozigotas mutantes (EE) são mais prolífico que os demais (EW e WW), e na época de chuva o efeito de ovulações múltiplas é mais frequente.

Palavras chave: dinâmica folicular, ovulação, ovelha Santa Inês, prolificidade, ultrassonografia.

2 ABSTRACT

GDF-9 GENE AND THE SEASON INFLUENCE ON THE FOLLICULAR DYNAMICS IN SANTA INES SHEEP

Carolle Vieira Muterlle¹, Jairo Pereira Neves¹, Bianca Damiani Marques Silva^{1,2}

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

This study aimed to characterize follicular dynamics in Santa Ines sheep under the influence of different genotypes of the GDF-9 gene, homozygous mutant (EE), heterozygous (EW) and wild homozygous (WW) for FecG^E mutation in follicular development and luteal phase of the estrous cycle. In addition, to evaluate two different periods of the year in the Federal District. Santa Inês ewes (n = 26), WW (n=10), EW (n=11) and EE (n=5) were synchronized with two PGF2a with 7 days intervals between doses. At 48 hours after the second dose ultrasound (US-MyLab™30Gold, Esaote 6-8 MHz) was observed daily from the first ovulation until the next ovulation (approximately 17 days between ovulations). The second ovulation was confirmed later by detection of corpora lutea (CL), seven days after the disappearance of the largest follicle. A total of 30 and 40 complete cycles were

evaluated in periods of drought and rainfall, respectively. The experiments were analyzed by Generalized Linear Models. The duration of the estrous cycle was greater ($P<0.05$) in the dry season, averaging 17.27 ± 0.79 versus 16.78 ± 0.98 days in the rain. The luteal phase was higher in the dry season ($P<0.05$). The sheep had a pattern of 3 and 4 follicular waves. The ovulation rate was higher in the rainy season ($P<0.05$) compared to dry. It was also observed that recessive genotype sheep (EE) had a higher ovulation frequency compared to other genotypes ($P<0.05$). The observations revealed that there was an increased in the ovulation rate ($P<0.05$) in the left ovary ($P<0.05$). The average diameters of the dry ovulatory follicles and the mean diameter of the follicles in ovulatory sheep genotype WW were higher ($P<0.05$) when compared to rainy season or to the other genotypes. The mean follicular population of small follicles was higher ($P<0.05$) during drought. In the 3 follicular waves sheep it was observed in the second and third waves a higher growth phase ($P<0.05$) during the drought. The same happened in the third wave in WW sheep ($P<0.05$) compared to the others genotypes. The maximum follicular diameter of 3 waves sheep was higher ($P<0.05$) in the first and third waves in sheep WW. In 4 waves sheep, there was a greater diameter ($p<0.05$) in the fourth wave in WW genotype. This observation occurred only during the rainy season. The total CLs volume from a single ovulation was higher ($P<0.05$) compared to CL from multiple ovulations. Follicular diameter was greater ($P<0.05$) in single ovulations. We conclude that the homozygous mutant animals (EE) are more prolific than others (EW and WW), and in the rainy season the occurrence of multiple ovulations is more frequent.

Keywords: Follicular dynamics, ovulation, Santa Ines sheep, prolificacy, ultrasonography.

3. INTRODUÇÃO

A ovinocultura está presente em praticamente todos os continentes e a ampla difusão da espécie se deve principalmente ao seu poder de adaptação a diferentes climas, relevos e vegetações. A criação ovina pode ser destinada tanto à exploração econômica como à subsistência de famílias em zonas rurais (Viana, 2008). Com o passar dos anos, a adaptação e a distribuição das raças fizeram com que grupos raciais aumentassem o período de atividade reprodutiva, ficando a estacionalidade praticamente inexistente (Bicudo *et al.*, 2009).

O rebanho ovino brasileiro foi estimado em 16.789 milhões de cabeças em 2012 (PPM 2012, IBGE). No Brasil, o consumo per capita anual de carne de ovinos é considerado baixo, cerca de 400 g/habitante/ano. No entanto, apesar do baixo consumo médio per capita de carne ovina no Brasil, quando comparado às outras carnes (cerca de 37 kg/habitante/ano) ou ao consumo de carne ovina em países desenvolvidos como na Nova Zelândia (39,7 kg/habitante/ano), a produção brasileira não chega a suprir metade da demanda interna, exigindo continuamente a importação deste produto (Agrobases 2012). Para atender a demanda do mercado interno, além de melhorias nos sistemas de manejo, comercialização e abate é essencial a melhora nos índices reprodutivos. O melhoramento genético, com a identificação de genótipos auxiliam no maior conhecimento dos fenômenos biológicos ligados à fisiologia da reprodução, podendo proporcionar um incremento na eficiência reprodutiva e produtiva.

A observação de rebanhos com alta prolificidade tem sido constatada ao redor

do mundo por algum tempo. Muitos destes rebanhos foram identificados com genes de principal efeito na taxa de ovulação e o número de nascidos/parto. Algumas raças de ovelhas, incluindo a Santa Inês (SI), são naturalmente prolíficas. A genética aliada à reprodução tem contribuído na busca de um melhor entendimento de alguns eventos fisiológicos ainda não muito claros, alguns deles próprios das peculiaridades fisiológicas da espécie ovina, outros de conjunturas regionais e circunstâncias econômicas (Bicudo *et al.*, 2009). Os genes GDF-9 (*Growth Differentiation Factor 9*) e BMP-15 (*Bone Morphogenetic Protein 15*) são responsáveis por determinar a taxa de ovulação em mamíferos, e conseqüentemente estão envolvidos em muitas fases da foliculogênese. Acredita-se que estes genes são os fatores chave no controle local do crescimento folicular e da determinação da taxa de ovulação e fertilidade (Souza *et al.*, 2009; Paulini *et al.*, 2011). Por esse motivo os loci gênicos para o BMP-15 e GDF9 foram denominados de Fec (Fecundidade), sendo FecX para o BMP-15 (devido a sua localização no cromossomo X) e FecG para o GDF-9 (Davis *et al.*, 1991; Hanrahan *et al.*, 2004).

Portanto, o estudo da foliculogênese e de genes candidatos envolvidos no processo de ovulação podem ser ferramentas valiosas para o aumento da fertilidade de rebanhos, além de incrementar a eficiência das biotécnicas de multiplicação animal e para a melhor compreensão da dinâmica folicular em ovinos. O estudo de marcadores moleculares relacionados com a fertilidade de ovinos com histórico de elevada incidência de partos duplos e triplos já identificou genes específicos, a exemplo do Gene Booroola (FecB). Há relatos de que ovelhas com este genoma podem apresentar múltipla ovulação, de até mais de 5 folículos (Cummins *et al.*, 1983). O DNA dos animais com identificações zootécnicas e múltiplos bezerros nascidos/parto foram submetido à análise das sequências dos genes GDF-9 e BMP-15 na busca de SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms*), em sua sequência codificadora, que explicassem esse comportamento prolífico (Galloway *et al.*, 2000; Hanrahan *et al.*, 2004; Silva *et al.*, 2011). Foi identificado um novo polimorfismo no GDF-9, descrito em ovelhas prolíficas da raça naturalizada SI, o FecG^E (E – Embrapa) (Silva *et al.*, 2011). Esse novo polimorfismo (ou mutação) apresenta um fenótipo inédito e distinto dos demais SNPs já descritos para os genes BMP-15 e GDF-9, pois quando em homozigose as ovelhas não apresentavam infertilidade e possuem taxa de ovulação aumentada em

relação aos animais heterozigotos e homozigotos selvagens, sem a mutação. Os animais heterozigotos apresentam uma taxa de ovulação intermediária entre os genótipos homozigotos. O aumento de um corpo lúteo (CL) representa um incremento de 58% no número de cordeiros nascidos, dados que são observados nas ovelhas homozigotas mutantes quando comparadas as homozigotas selvagens (Silva et al, 2011).

A caracterização da dinâmica folicular em ovelhas com mutação $FecG^E$ pode ajudar a explicar as características do padrão de crescimento folicular e secreção de progesterona entre ovelhas com diferentes taxas de ovulação e ampliar o conhecimento, auxiliando em protocolos bases, incluindo sincronização de estro, superestimulação ovariana e transferências de embriões (MOTE). Além disso, contribuir para o melhoramento genético da raça Santa Inês, que por sua vez representa parcela significativa do rebanho brasileiro e, portanto, tem relevância econômica para a ovinocultura nacional.

O objetivo do trabalho foi caracterizar a dinâmica folicular em ovelhas da raça Santa Inês sob a influência de diferentes genótipos do gene GDF-9. Comparando-os: homozigotas mutantes, heterozigotas e homozigotas selvagens para a mutação $FecG^E$ no desenvolvimento folicular e luteal do ciclo estral. Além, de avaliar o efeito de diferentes épocas do ano seca e chuva, no Distrito Federal.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Local e condições experimentais

O estudo foi realizado no Campo Experimental Fazenda Sucupira (CEFS) da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia - Cenargen, situada em Brasília, DF. Localizado a 15°47' de latitude sul e 47°55' de longitude oeste, 1080 m de altitude, de clima tropical. 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. 132157/2012. O experimento foi realizado nos meses de agosto e setembro de 2012, janeiro, março, abril e agosto de 2013. A duração total de insolação no período de experimento foi em média de 8,66 horas diárias nos meses de seca e 5,02 horas diárias nos meses de chuva, contabilizando insolação mensal de 238 horas e 153,73 respectivamente. Com temperaturas máximas e mínimas variando de 35,1°C a 14,5°C (Inmet, 2012; 2013).

4.2 Animais

Foram utilizadas 26 fêmeas ovinas Santa Inês, não lactantes e solteiras, com aproximadamente 3 a 4,5 anos. Os animais foram examinados quanto ao estado clínico geral, sanitário e reprodutivo. Durante a época de seca apresentaram um peso

médio de 45,93 kg, com escore de condição corporal (ECC) médio de 3,1. No período de chuva, o peso médio foi de 45,45 kg e 2,9 de ECC, de acordo com a escala de 1 a 5 (Suiter, 1994). Os animais foram mantidos em sistema semi-extensivo em pastagem de *Panicum maximum*, no período de chuva e durante o período de seca foram suplementados com silagem de milho. Animais representados na Figura 2.1, em diferentes épocas do ano, chuva e seca. Água e sal mineral foram oferecidos à vontade.



Figura 2.1 - Ovelhas Santa Inês em diferentes épocas do ano: (A) época chuva (B) e época de seca.

4.3 Delineamento experimental

Para a realização do experimento foram acompanhados 70 ciclos estrais completos distribuídos em seis repetições. Foram avaliados 30 e 40 ciclos completos nos períodos de seca e chuva, respectivamente, divididos em 3 repetições em cada.

Foram utilizadas ovelhas com 3 genótipos distintos, destas, 10 homozigotas selvagens (WW), 11 heterozigotas (EW) e 5 homozigotas mutantes (EE). Desta forma pretendeu-se avaliar durante o ciclo estral e observação da dinâmica folicular, as interações resultantes entre os fatores climáticas, nutricionais em ovelhas com diferentes genótipos.

4.4 Avaliação ultrassonográfica

O ciclo estral foi sincronizado com duas doses de PGF2 α (Veteglan Luteolítico, 0,5 mL via intramuscular, 37,5 μ g de D+cloprostenol) com intervalos de 7 dias o acompanhamento diário com US. Foi iniciado 48 horas após a segunda dose de PGF2 α até o final do ciclo estral. Utilizou-se equipamento de ultrassom, MyLab™30Gold, Esaote, em modo-B tempo real, contendo transdutor linear multifrequencial (6 e 8 MHz). Todas as informações coletadas no monitoramento ultrassonográfico diário foram avaliadas conforme estudo de Olivera-Muzante *et al.*, (2011). Com o passar dos dias e de acordo com as avaliações por US, ao final do ciclo estral, foi introduzido um rufião ao rebanho, o mesmo foi pintado na região do externo com uma mistura de óleo de soja e tinta xadrez, para a marcação das fêmeas em estro. Após a confirmação da aceitação de monta do rufião pelas fêmeas, a avaliação com US passou a ser realizada de 8 em 8 horas até a provável ovulação. A ovulação foi definida pela ausência do folículo dominante que foi detectado nos exames ultrassonográficos anteriores, e confirmada posteriormente pela detecção do CL ao passar de sete dias, para mensuração do diâmetro luteal e da quantidade de CL. O volume do tecido luteal foi calculado pela fórmula matemática (Grygar *et al.*, 1997):

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

Onde,

Da = diâmetro longitudinal

Db = diâmetro transversal.

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

As observações foram realizadas com a fêmea em posição quadrupedal. Um tubo de PVC (policloreto de vinila) ligeiramente curvado (aproximadamente 30 cm) foi fixado e encaixado ao transdutor permitindo sua manipulação externamente. Após remoção das fezes do reto e deposição da mucilagem (carboximetilcelulose) dentro do

reto com auxílio de uma seringa (10 mL), o transdutor foi introduzido no reto com a superfície de contato posicionada paralelamente à lateral da parede abdominal. Ao localizar a bexiga urinária, cranialmente a esta os cornos uterinos podem ser localizados, assim rotacionando o transdutor lentamente para esquerda e direita com finalidade de observar os ovários e suas estruturas. Quando necessário, a parede abdominal era comprimida, para facilitar a visualização dos mesmos. Todos os folículos de diâmetro maior ou igual 2 mm e corpos lúteos detectados pela ultrassonografia (Figura 2.2) foram quantificados e seus diâmetros mensurados. O monitoramento foi realizado diariamente, por esquemas em planilha, de acordo com a localização e tamanho em cada ovário (direito ou esquerdo). O diâmetro de cada estrutura foi calculado pela equação: $D=(A+B)/2$; (A - representa a máxima altura e B - o diâmetro transversal máximo).

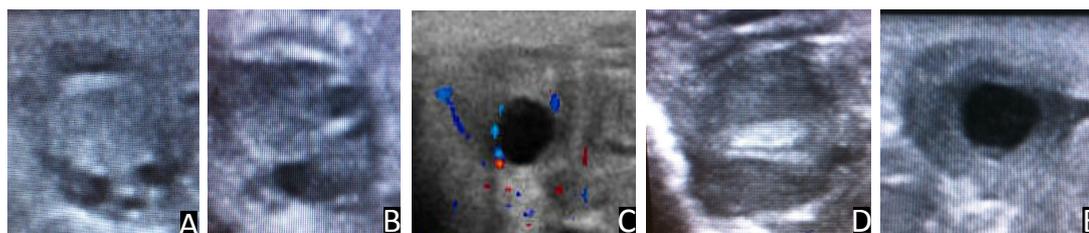


Figura 2.2 - Imagens ultrassonográficas de ovários em ovelhas Santa Inês, destacando-se: (A) folículos pequenos (2-3,4 mm); (B) folículos médios (3,5-4,9mm) e (C) folículos grandes / pré-ovulatório (> 5 mm); (D) corpos lúteos e (E) corpo lúteo cavitário.

4.5 Dinâmica Folicular

As observações da dinâmica folicular foram tabuladas e analisadas seguindo a cronologia das observações. As estruturas visualizadas no D0 (considerado D0 o dia da ovulação do ciclo estral anterior) durante as avaliações ultrassonográficas foram identificadas por números sequenciais até a próxima ovulação e subsequente D7 (sétimo dia após a segunda ovulação). Estruturas ovarianas como folículos pequenos, médios e grandes e/ou pré-ovulatórios, corpos lúteos, bem como seus posicionamentos, serviram de referência para a nova identificação. Novas estruturas

visualizadas foram numeradas em sequência. Assim, foi possível o acompanhamento do desenvolvimento diário das estruturas individualizadas no ciclo estral.

Foram adotados critérios para a tabulação e análise dos dados.

4.5.1 Das variáveis caracterizando cada onda folicular do ciclo estral, foram identificadas e calculadas:

- a. A onda folicular foi identificada como um grupo de folículos que cresceram a partir de 2 ou 3 mm, sendo que um ou mais atingiram seu diâmetro máximo, com diferenças máximas de 48hs de uma emergência da outra.
- b. O dia da emergência foi considerado quando o maior folículo, ainda com 2 ou 3 mm, foi identificado pela primeira vez.
- c. O diâmetro máximo folicular foi aquele folículo que excedeu o tamanho dos demais folículos da mesma onda. Se mais de um alcançaram o mesmo diâmetro máximo, aquele que atingiu primeiro foi considerado o maior folículo da onda.
- d. O dia do diâmetro máximo foi o primeiro dia em que o folículo atingiu seu maior diâmetro.
- e. A fase de crescimento folicular foi o tempo em que o folículo de diâmetro máximo levou do menor diâmetro ao diâmetro máximo.
- f. A fase de regressão foi o tempo em que o folículo de maior diâmetro levou do diâmetro máximo ao mínimo.
- g. A fase estática foi considerada o tempo em que o folículo de maior tamanho levou do final da fase de crescimento até o início da fase de regressão.
- h. A taxa de crescimento (mm/dia) foi considerada como a diferença entre o diâmetro máximo e mínimo, do maior folículo, dividido pela duração do seu crescimento.
- i. A taxa de regressão (mm/dia) foi tomada pela diferença entre o diâmetro máximo e mínimo, do maior folículo, dividido pela duração de sua regressão.

4.5.2 Para a onda ovulatória, além das variáveis descritas, outras foram computadas:

- a. O diâmetro ovulatório foi a medida da última mensuração do folículo que ovulou, antes do seu desaparecimento.
 - b. O número de ovulações de ovulações (1, 2 e/ou 3) por ciclo.
 - c. O número de ovulações nos ovários direito e/ou esquerdo.
- 4.5.2 Com relação ao ciclo estral foram tabulados os parâmetros referentes:
- a. Intervalo entre as ondas foliculares e o número de ondas.
 - b. A duração do ciclo estral.
 - c. A avaliação de população folicular foi analisada pela quantidade de folículos pequenos (2 – 3,4 mm), médios (3,5 – 4,9 mm) e grandes (≥ 5 mm), tanto nas ondas foliculares, como no ciclo estral.
 - d. A fase folicular foi definida a partir do momento em que o CL desapareceu até o aparecimento do próximo CL.
- 4.5.3 Com relação aos corpos lúteos foram computados:
- a. O dia do volume máximo.
 - b. O dia do início da possível observação por US e o último dia de observação.
 - c. Compararam-se os volumes dos CLs provenientes de múltiplas ovulações (2 e 3) com o volume do CL de ovulação simples (1).
 - d. Fase lúteal foi definida com o aparecimento do CL até o dia do seu desaparecimento.

Todas as variáveis foram comparadas entre os diferentes genótipos, EE, EW e WW, na época de seca e na época de chuva, além de uma comparação entre ambos utilizando fatorial 3x2. E a comparação entre as épocas do ano, seca e chuva, desconsiderando os genótipos.

4.6 Análises Estatísticas

Para realizar a análise dos experimentos e fazer uma comparação dos efeitos de clima e genótipo em cada onda, definiu-se para esse experimento um esquema fatorial, ou seja, consideraram-se dois fatores, clima e genótipo, os quais poderiam exercer alguma influência nas respostas investigadas.

Os experimentos foram analisados por análise de variância e médias comparadas por ANOVA, e por meio de Modelos Lineares Generalizados onde se atribuiu distribuição Normal para as variáveis respostas contínuas e distribuição Binomial para respostas com proporção, de modo que se aplicou um modelo de Análise de Deviance para avaliar os efeitos de clima e genótipo nessas respostas, assim como o efeito de interação entre esses dois fatores.

Para os experimentos onde os efeitos de clima ou de genótipo foram significativos, aplicaram-se testes de comparações múltiplas para avaliar entre quais climas ou entre quais genótipos houve essa diferença.

5 RESULTADOS

As ovelhas apresentaram de duas a cinco emergências de ondas foliculares durante as avaliações, 2 ondas: 2,8% (2/70); 3 ondas: 50% (35/70); 4 ondas: 37,14% (26/70); e 5 ondas: 10% (7/70). Os ciclos estrais com 2 e 5 ondas foliculares não entraram nas análises estatísticas por serem uma representação mínima entre as variáveis analisadas. O número médio de ondas foliculares no período de chuva foi $3,86 \pm 0,58$ e na seca $3,44 \pm 0,56$ ($P > 0,05$). A duração do ciclo estral foi maior ($P < 0,05$) no período de seca, com média de $17,27 \pm 0,79$ contra $16,78 \pm 0,98$ dias no período de chuva. O ciclo estral foi dividido em fase folicular e lútea, em que a fase lútea foi maior ($P < 0,05$) no período de seca (Figura 2.3). Com relação aos genótipos, não foi observada diferenças significativas no período do ciclo estral, com $17,28 \pm 0,81$, $16,80 \pm 0,96$ e $16,96 \pm 0,90$ dias, EE, EW e WW respectivamente.

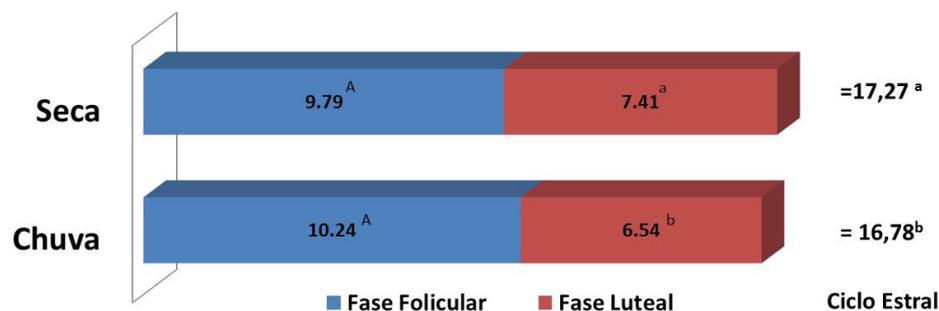


Figura 2.3 Fase lútea e folicular de ovelhas nas épocas de seca e chuva.

A frequência de ovulação foi maior na época de chuva ($P < 0,05$), comparada à seca. Também foi observado que ovelhas do genótipo recessivo EE apresentavam maior frequência de ovulação comparada aos outros genótipos ($P < 0,05$). Porém não foi possível estabelecer se dentro de cada genótipo havia uma variação em função da época da observação (Tabela 2.1). As observações revelaram que houve uma maior frequência de ovulação ($P < 0,5$) no ovário esquerdo ($P < 0,05$). As médias dos diâmetros dos folículos ovulatórios na seca foram maiores ($P < 0,05$). Também foram maiores ($P < 0,05$) as médias dos folículos ovulatórios em ovelhas de genótipo WW. A distribuição das variáveis de acordo com os grupos e períodos estão apresentadas na Tabela 2.1.

Com relação a população folicular, as variáveis quando observadas individualmente, pode-se constatar que na média, durante a seca havia uma maior quantidade ($P < 0,05$) total de folículos nos ovários, além de uma maior quantidade ($P < 0,05$) de folículos pequenos. Quanto ao número de ondas, ovelhas com 5 ondas apresentavam uma maior quantidade ($P < 0,05$) de folículos com tamanho médio. Com relação ao genótipo em ovelhas WW, a quantidade de folículos grandes presente nos ovários foi maior ($P < 0,05$) frente aos demais. Porém a única interação entre as variáveis observada foi em ovelhas de 4 ondas na qual havia uma maior quantidade de folículos grandes na seca ($P < 0,05$) comparado as observações feitas na época de chuva (Tabela 2.2).

Tabela 2.1- Valores médios \pm D.P. para número de ondas foliculares por ciclo estral, frequência ovulatória, diâmetro do folículo ovulatório, duração da fase lútea, duração da fase folicular e duração do ciclo estral de acordo com os grupos (EE, WW, EW) e épocas do ano (seca e chuva), em ovelhas da raça Santa Inês.

Agrupamentos		Ondas por ciclo n \pm D.P.	Número de ovulações n \pm D.P.		Folículo ovulatório Ø (mm) \pm D.P.		Fase lútea dias \pm D.P.	Fase folicular dias \pm D.P.		Ciclo estral dias \pm D.P.	
Chuva		3,86 \pm 0,58 ^a	1,83	\pm 0,36 ^a	5,19	\pm 0,54 ^b	10,24 \pm 0,98	6,54	\pm 1,03 ^b	16,78	\pm 0,98 ^b
Seca		3,44 \pm 0,56 ^b	1,43	\pm 0,52 ^b	5,63	\pm 0,48 ^a	9,79 \pm 1,66	7,41	\pm 1,35 ^a	17,27	\pm 0,79 ^a
EE		3,74 \pm 0,61	2,00	\pm 0,22 ^a	5,18	\pm 0,52 ^b	10,11 \pm 1,25	7,17	\pm 0,96	17,28	\pm 0,81
EW		3,57 \pm 0,55	1,64	\pm 0,46 ^b	5,25	\pm 0,48 ^b	9,84 \pm 1,19	6,96	\pm 1,09	16,80	\pm 0,96
WW		3,77 \pm 0,66	1,46	\pm 0,53 ^b	5,61	\pm 0,60 ^a	10,22 \pm 1,34	6,67	\pm 1,31	16,96	\pm 0,90
Chuva	EE	4,02 \pm 0,42	2,00	\pm 0,33 ^a	5,12	\pm 0,55	10,25 \pm 1,13	6,83	\pm 0,89	17,67	\pm 0,79
Chuva	EW	3,65 \pm 0,60	1,85	\pm 0,26 ^b	5,03	\pm 0,37	10,15 \pm 0,70	6,46	\pm 0,96	17,00	\pm 1,18
Chuva	WW	3,90 \pm 0,63	1,69	\pm 0,43 ^b	5,43	\pm 0,60	10,31 \pm 1,06	6,38	\pm 1,13	17,33	\pm 0,94
Seca	EE	3,00 \pm 0,00	2,00	\pm 0,00 ^a	5,29	\pm 0,51	9,83 \pm 1,50	7,83	\pm 0,89	17,67	\pm 0,67
Seca	EW	3,49 \pm 0,50	1,42	\pm 0,50 ^c	5,60	\pm 0,42	9,50 \pm 1,79	7,50	\pm 1,32	17,00	\pm 0,66
Seca	WW	3,59 \pm 0,67	1,17	\pm 0,31 ^d	5,97	\pm 0,39	10,09 \pm 1,74	7,09	\pm 1,57	17,33	\pm 0,89

^{abcd} Letras diferentes na mesma coluna, e mesmo agrupamento indicam diferenças (P<0,05).

Tabela 2.2 - Número de folículos \pm D.P. de acordo com seus diâmetros, pequeno, médio e grande ($<3,5\text{mm}$, $3,5-4,9\text{mm}$ e $\geq 5\text{mm}$ respectivamente) em cada onda folicular, de 1 a 5, em ovelhas da raça Santa Inês. Nas épocas de seca e chuva, e os genótipos (EE, EW e WW) com relação as épocas do ano (seca e chuva).

Categoria de folículo por onda	Seca		Chuva		Seca						Chuva								
					EE		EW		WW		EE		EW		WW				
	n	\pm D.P.	n	\pm D.P.	n	\pm D.P.	n	\pm D.P.	n	\pm D.P.	n	\pm D.P.	n	\pm D.P.	n	\pm D.P.			
1	$< 3,5 \text{ mm}$	23,13	$\pm 8,56$	^a	16,49	$\pm 5,57$	^b	24,83	$\pm 6,11$	26,67	$\pm 11,94$	20,00	$\pm 5,33$	14,08	$\pm 7,08$	18,23	$\pm 5,21$	16,88	$\pm 4,53$
	$3,5 - 4,9 \text{ mm}$	3,22	$\pm 1,71$		3,58	$\pm 1,96$		3,00	$\pm 1,20$	3,75	$\pm 2,00$	2,70	$\pm 1,64$	2,08	$\pm 0,94$	3,67	$\pm 2,52$	4,73	$\pm 1,62$
	$\geq 5\text{mm}$	1,92	$\pm 1,07$		2,00	$\pm 0,80$		1,50	$\pm 0,50$	1,00	$\pm 0,00$	2,43	$\pm 1,35$	1,60	$\pm 0,48$	1,25	$\pm 0,38$	2,83	$\pm 1,44$
2	$< 3,5 \text{ mm}$	25,53	$\pm 10,11$		16,17	$\pm 6,44$		38,00	$\pm 9,00$	22,83	$\pm 7,50$	22,00	$\pm 9,67$	16,58	$\pm 6,85$	18,54	$\pm 4,12$	13,94	$\pm 6,92$
	$3,5 - 4,9 \text{ mm}$	4,82	$\pm 2,68$		3,67	$\pm 1,87$		4,83	$\pm 2,50$	3,73	$\pm 2,20$	5,91	$\pm 2,99$	3,80	$\pm 2,40$	3,55	$\pm 1,97$	3,67	$\pm 1,42$
	$\geq 5\text{mm}$	2,14	$\pm 1,02$		1,78	$\pm 0,69$		1,40	$\pm 0,48$	1,00	$\pm 0,00$	3,33	$\pm 0,44$	-	-	3,00	$\pm 1,00$	1,43	$\pm 0,49$
3	$< 3,5 \text{ mm}$	23,38	$\pm 10,75$		16,29	$\pm 6,52$		20,17	$\pm 10,44$	24,25	$\pm 11,67$	24,18	$\pm 10,78$	15,67	$\pm 6,17$	18,38	$\pm 7,28$	15,06	$\pm 5,82$
	$3,5 - 4,9 \text{ mm}$	5,03	$\pm 2,70$		4,46	$\pm 1,77$		4,83	$\pm 1,83$	5,08	$\pm 3,28$	5,18	$\pm 2,60$	4,00	$\pm 1,20$	4,36	$\pm 1,44$	4,64	$\pm 2,36$
	$\geq 5\text{mm}$	2,48	$\pm 1,06$		2,71	$\pm 1,03$		3,00	$\pm 0,80$	2,00	$\pm 0,50$	2,60	$\pm 1,32$	2,67	$\pm 0,44$	2,20	$\pm 0,72$	3,22	$\pm 1,09$
4	$< 3,5 \text{ mm}$	16,20	$\pm 5,04$		16,75	$\pm 7,63$		-	-	13,00	$\pm 4,80$	19,40	$\pm 4,24$	17,22	$\pm 6,30$	15,83	$\pm 7,44$	16,89	$\pm 8,96$
	$3,5 - 4,9 \text{ mm}$	3,60	$\pm 1,72$		5,28	$\pm 2,85$		-	-	4,00	$\pm 1,60$	3,20	$\pm 1,84$	6,00	$\pm 3,11$	4,67	$\pm 1,56$	5,33	$\pm 3,33$
	$\geq 5\text{mm}$	-	-		2,72	$\pm 1,47$		-	-	4,20	$\pm 1,52$	3,20	$\pm 1,78$	2,50	$\pm 1,00$	1,20	$\pm 0,32$	3,71	$\pm 2,00$
5	$< 3,5 \text{ mm}$	6,00	$\pm 0,00$		13,00	$\pm 3,67$		-	-	-	-	6,00	$\pm 0,00$	12,50	$\pm 3,50$	13,00	$\pm 0,00$	13,33	$\pm 5,11$
	$3,5 - 4,9 \text{ mm}$	2,00	$\pm 0,00$	^b	5,83	$\pm 2,17$	^a	-	-	-	-	2,00	$\pm 0,00$	7,00	$\pm 1,00$	$\pm 0,00$		6,00	$\pm 2,67$
	$\geq 5\text{mm}$	-	-		2,75	$\pm 0,75$		-	-	-	-	2,00	$\pm 0,00$	3,00	$\pm 0,00$	2,00	$\pm 0,00$	3,00	$\pm 1,00$

^{ab} Letras diferentes indicam diferenças, quando comparadas entre linhas de colunas de mesmo agrupamento ($P < 0,05$).

Nas ovelhas com 3 ondas não foi observada diferença ($P>0,05$) no intervalo entre as emergências foliculares do folículo de maior diâmetro nos diferentes genótipos, não importando se a observação foi feita no período de seca ou chuva. Porém quando avaliado o intervalo entre a emergência em ovelhas com 4 ondas, ovelhas heterozigóticas (EW), apresentavam um intervalo maior ($P<0,05$), comparado aos intervalos observados nos genótipos homozigóticos (EE, WW) (Tabelas 2.3, 2.4, 2.5 e 2.6).

A fase de crescimento folicular variou em função do número de ondas por ciclo estral. Em ovelhas de 3 ondas foi observado na segunda e terceira ondas uma fase de crescimento maior ($P<0,05$) durante a seca. Com relação ao genótipo, também para ovelhas de 3 ondas, a terceira onda em ovelhas WW apresentou uma maior fase de crescimento folicular ($P<0,05$). Já para ovelhas de 4 ondas, durante a primeira onda no período de chuva, que se observaram as maiores taxas de crescimento ($P<0,05$).

De acordo com os resultados (Tabelas 2.3, 2.4, 2.5 e 2.6), a fase de regressão folicular foi semelhante em todos os animais ($P>0,05$). Porém em ovelhas de 3 ondas, foi observado que o tempo de regressão da segunda onda foi menor na seca ($P<0,05$) comparado ao tempo de regressão observado na chuva, independente do genótipo. Foi observado que a primeira das 4 ondas foliculares, em ovelhas de genótipo recessivo EE apresentava uma menor taxa de regressão folicular ($P<0,05$), quando comparada aos outros genótipos, independente da época da observação (Tabelas 2.3 e 2.5).

Tabela 2.3 - Valores médios \pm D.P. das variáveis relacionadas ao desenvolvimento dos folículos em ovelhas da raça Santa Inês com 3 ondas foliculares, de acordo com os genótipos EE, EW e WW.

Variáveis	Genótipo								
	Onda 1			Onda 2			Onda 3		
	EE	EW	WW	EE	EW	WW	EE	EW	WW
Dia da emergência do folículo de maior diâmetro (dia)	0,44 (\pm 0,38)	0,79 (\pm 0,90)	0,54 (\pm 0,66)	6,22 (\pm 1,58)	6,43 (\pm 2,49)	6,31 (\pm 1,56)	13,22 (\pm 0,74)	12,29 (\pm 1,57)	11,85 (\pm 1,11)
Intervalo emergência do folículo de maior diâmetro (dia)	5,78 (\pm 1,44)	5,64 (\pm 1,93)	5,77 (\pm 1,02)	6,89 (\pm 1,46)	5,79 (\pm 1,39)	5,54 (\pm 0,83)	-	-	-
Diâmetro máximo do folículo de maior diâmetro (mm)	4,66 ^b (\pm 0,80)	4,41 ^b (\pm 0,46)	5,46 ^a (\pm 0,73)	4,57 (\pm 0,52)	4,24 (\pm 0,59)	4,75 (\pm 0,44)	5,67 ^b (\pm 0,41)	5,59 ^b (\pm 0,42)	6,16 ^a (\pm 0,39)
Dia que o maior folículo atingiu diâmetro máximo (dia)	3,56 (\pm 0,88)	3,86 (\pm 1,45)	3,77 (\pm 1,05)	10,22 (\pm 2,02)	9,43 (\pm 2,43)	9,38 (\pm 1,79)	17,00 (\pm 0,67)	16,71 (\pm 0,86)	16,85 (\pm 0,93)
Fase estática (dia)	1,00 (\pm 0,00)	1,14 (\pm 0,24)	1,31 (\pm 0,43)	1,11 (\pm 0,20)	1,07 (\pm 0,13)	1,08 (\pm 0,15)	1,11 (\pm 0,20)	1,14 (\pm 0,30)	1,08 (\pm 0,14)
Fase de Crescimento (dia)	3,11 (\pm 0,69)	3,07 (\pm 1,08)	3,23 (\pm 0,71)	4,00 (\pm 1,33)	3,00 (\pm 0,43)	3,00 (\pm 1,17)	3,78 ^b (\pm 0,74)	4,36 ^b (\pm 1,24)	4,92 ^a (\pm 1,02)
Fase de regressão (dia)	2,22 (\pm 1,06)	2,64 (\pm 1,12)	3,38 (\pm 0,97)	2,56 (\pm 1,19)	2,64 (\pm 0,88)	2,46 (\pm 0,83)	-	-	-
Taxa de Crescimento (mm/dia)	0,82 (\pm 0,21)	0,74 (\pm 0,20)	0,96 (\pm 0,29)	0,70 (\pm 0,23)	0,65 (\pm 0,19)	0,90 (\pm 0,33)	0,78 (\pm 0,16)	0,79 (\pm 0,18)	0,74 (\pm 0,17)
Taxa de Regressão (mm/dia)	1,15 (\pm 0,56)	0,90 (\pm 0,33)	0,93 (\pm 0,31)	0,86 (\pm 0,35)	0,75 (\pm 0,25)	1,05 (\pm 0,22)	-	-	-
Emergência de onda (dia)	0,33 (\pm 0,22)	0,50 (\pm 0,64)	0,46 (\pm 0,57)	5,78 (\pm 1,53)	6,36 (\pm 2,41)	6,08 (\pm 1,60)	12,56 (\pm 1,16)	12,29 (\pm 1,57)	11,23 (\pm 1,21)
Intervalo entre ondas (dia)	5,00 (\pm 1,47)	5,86 (\pm 2,14)	5,62 (\pm 1,18)	6,67 (\pm 1,11)	5,71 (\pm 1,57)	5,15 (\pm 1,28)	4,78 (\pm 1,36)	4,57 (\pm 1,26)	5,77 (\pm 1,17)

^{ab} Letras indicam diferenças, quando comparadas entre linhas de colunas de mesmo agrupamento ($P < 0,05$).

Tabela 2.4- Valores médios \pm D.P. das variáveis relacionadas ao desenvolvimento dos folículos em ovelhas da raça Santa Inês com 3 ondas foliculares, de acordo com as épocas do ano seca e chuva.

Variáveis	Épocas do Ano					
	Onda 1		Onda 2		Onda 3	
	Chuva	Seca	Chuva	Seca	Chuva	Seca
Dia da emergência folículo de maior diâmetro (dia)	0,71 \pm 0,75	0,53 \pm 0,72	6,65 \pm 2,10	6,05 \pm 1,65	12,47 \pm 1,09	12,26 \pm 1,48
Intervalo emergência folículo de maior diâmetro (dia)	5,94 \pm 1,60	5,53 \pm 1,24	5,71 \pm 1,29	6,21 \pm 1,24	- -	- -
Diâmetro máximo do folículo de maior diâmetro (mm)	4,76 \pm 0,65	4,93 \pm 0,79	4,34 \pm 0,44	4,65 \pm 0,67	5,79 \pm 0,49	5,84 \pm 0,36
Dia do máximo diâmetro folículo de maior diâmetro (dia)	3,65 \pm 1,43	3,84 \pm 0,94	9,24 \pm 2,13	9,95 \pm 2,06	16,53 \pm 0,91	17,11 \pm 0,68
Fase estática (dia)	1,12 \pm 0,21	1,21 \pm 0,33	1,12 \pm 0,21	1,05 \pm 0,10	1,18 \pm 0,29	1,05 \pm 0,10
Fase de Crescimento (dia)	2,94 \pm 1,01	3,32 \pm 0,68	2,53 ^b \pm 0,80	3,89 ^a \pm 1,15	3,94 ^b \pm 0,66	4,84 ^a \pm 1,22
Fase de regressão (dia)	2,82 \pm 1,05	2,79 \pm 1,19	2,18 ^b \pm 0,74	2,89 ^a \pm 0,86	- -	- -
Taxa de Crescimento (mm/dia)	0,88 \pm 0,24	0,80 \pm 0,25	0,86 \pm 0,31	0,66 \pm 0,18	0,79 \pm 0,16	0,75 \pm 0,19
Taxa de Regressão (mm/dia)	0,89 \pm 0,29	1,05 \pm 0,43	0,90 \pm 0,29	0,87 \pm 0,30	- -	- -
Emergência de onda (dia)	0,53 \pm 0,62	0,37 \pm 0,54	6,41 \pm 2,08	5,84 \pm 1,64	12,06 \pm 1,36	11,89 \pm 1,49
Intervalo entre ondas (dia)	5,88 \pm 1,79	5,26 \pm 1,49	5,59 \pm 1,49	5,89 \pm 1,48	4,71 \pm 1,10	5,37 \pm 1,44

^{ab} Letras indicam diferenças, quando comparadas entre linhas de colunas de mesmo agrupamento ($P < 0,05$).

Tabela 2.5- Valores médios \pm D.P. das variáveis relacionadas ao desenvolvimento dos folículos em ovelhas da raça Santa Inês com 4 ondas foliculares, de acordo com os genótipos EE, EW e WW.

Variáveis	Genótipo											
	Onda 1			Onda 2			Onda 3			Onda 4		
	EE	EW	WW	EE	EW	WW	EE	EW	WW	EE	EW	WW
Dia da emergência do folículo de diâmetro máximo (dia)	0,43 \pm 0,49	0,80 \pm 0,96	0,40 \pm 0,56	4,71 \pm 0,82	4,80 \pm 1,40	5,40 \pm 1,36	9,29 \pm 0,82	9,22 \pm 2,00	9,80 \pm 0,68	12,86 \pm 1,06	12,90 \pm 1,12	12,40 \pm 1,00
Intervalo emergência do folículo de diâmetro máximo (dia)	4,29 \pm 0,98	4,00 \pm 1,20	5,00 \pm 1,60	4,57 \pm 0,94	4,20 \pm 1,32	4,40 \pm 1,00	3,57 ^a \pm 1,22	3,78 ^b \pm 1,00	2,60 ^a \pm 0,60	-	-	-
Diâmetro máximo do folículo de maior diâmetro (mm)	4,39 \pm 0,44	4,42 \pm 0,44	4,46 \pm 0,95	4,13 \pm 0,40	4,32 \pm 0,36	4,80 \pm 0,80	4,70 \pm 0,77	4,63 \pm 0,60	5,27 \pm 0,90	5,14 \pm 0,22	5,43 \pm 0,47	5,44 \pm 0,57
Dia do máximo do diâmetro folículo de diâmetro máximo (dia)	3,00 \pm 0,86	3,30 \pm 1,36	3,60 \pm 1,08	7,86 \pm 1,31	7,50 \pm 1,30	8,50 \pm 2,50	14,14 \pm 2,73	13,11 \pm 2,20	14,00 \pm 2,40	17,00 \pm 1,14	17,00 \pm 1,20	15,90 \pm 1,54
Fase estática (dia)	1,14 \pm 0,24	1,00 \pm 0,00	1,40 \pm 0,56	1,00 \pm 0,00	1,00 \pm 0,00	1,20 \pm 0,36	1,00 \pm 0,00	1,11 \pm 0,18	1,10 \pm 0,18	1,14 \pm 0,24	1,20 \pm 0,32	1,00 \pm 0,00
Fase de Crescimento (dia)	2,57 \pm 0,61	2,50 \pm 0,80	3,20 \pm 1,24	3,14 \pm 1,27	2,60 \pm 0,72	3,10 \pm 1,72	4,71 \pm 2,33	3,67 \pm 1,04	4,10 \pm 2,30	4,00 \pm 1,14	3,90 \pm 0,92	3,40 \pm 1,20
Fase de regressão (dia)	3,57	2,40	2,40	2,14	2,30	2,70	3,00	2,14	2,60	-	-	-

	± 0,94	± 0,96	± 1,28	± 0,49	± 0,62	± 1,30	± 0,67	± 1,13	± 1,28	-	-	-
Taxa de Crescimento (mm/dia)	0,70	0,94	0,71	0,54	0,90	0,83	0,63	0,67	0,81	0,69	0,79	0,95
	± 0,13	± 0,16	± 0,29	± 0,15	± 0,22	± 0,37	± 0,22	± 0,19	± 0,27	± 0,16	± 0,12	± 0,22
Taxa de Regressão (mm/dia)	0,53 ^b	0,96 ^a	0,88 ^a	0,70	0,95	0,95	0,57	0,86	0,55	-	-	-
	± 0,09	± 0,31	± 0,35	± 0,30	± 0,37	± 0,24	± 0,29	± 0,21	± 0,27	-	-	-
Emergência de onda (dia)	0,29	0,20	0,40	4,57	4,50	5,00	9,00	8,33	9,10	12,86	12,70	12,40
	± 0,41	± 0,32	± 0,56	± 0,65	± 1,40	± 0,80	± 0,86	± 1,60	± 1,12	± 1,06	± 1,36	± 1,00
Intervalo entre ondas (dia)	4,29	4,30	4,60	4,43	3,70	4,10	3,86	4,33	3,30	4,14	4,40	4,40
	± 0,69	± 1,22	± 1,20	± 0,94	± 0,76	± 0,56	± 0,98	± 1,00	± 0,90	± 1,02	± 1,28	± 1,00

^{ab} Letras indicam diferenças, quando comparadas entre linhas de colunas de mesmo agrupamento (P<0,05).

Tabela 2.6- Valores médios \pm D.P. das variáveis relacionadas ao desenvolvimento dos folículos em ovelhas da raça Santa Inês com 4 ondas foliculares, de acordo com as épocas do ano seca e chuva.

Variáveis	1		2		3		4	
	Chuva	Seca	Chuva	Seca	Chuva	Seca	Chuva	Seca
Dia da emergência do folículo de maior diâmetro (dia)	0,44 \pm 0,59	0,78 \pm 0,86	4,94 \pm 1,11	5,11 \pm 1,48	9,11 \pm 1,18	9,89 \pm 1,28	12,59 \pm 1,10	12,89 \pm 1,04
Intervalo emergência folículo de maior diâmetro (dia)	4,50 \pm 1,39	4,33 \pm 1,33	4,17 \pm 1,13	4,78 \pm 1,09	3,50 \pm 1,14	3,11 \pm 0,64	- -	- -
Diâmetro máximo do folículo de maior diâmetro (mm)	4,45 \pm 0,49	4,38 \pm 0,91	4,41 \pm 0,41	4,52 \pm 0,85	4,77 \pm 0,82	5,16 \pm 0,67	5,18 \pm 0,31	5,60 \pm 0,58
Dia do máximo diâmetro folículo de maior diâmetro (dia)	3,50 \pm 1,17	3,00 \pm 1,11	8,17 \pm 1,71	7,56 \pm 1,85	13,72 \pm 2,71	13,33 \pm 1,93	16,65 \pm 1,32	16,56 \pm 1,38
Fase estática (dia)	1,22 \pm 0,37	1,11 \pm 0,20	1,00 \pm 0,00	1,22 \pm 0,40	1,11 \pm 0,21	1,00 \pm 0,00	1,06 \pm 0,10	1,22 \pm 0,35
Fase de Crescimento (dia)	3,06 ^a \pm 0,86	2,22 ^b \pm 0,69	3,17 \pm 1,41	2,44 \pm 0,81	4,39 \pm 2,15	3,44 \pm 1,14	3,82 \pm 1,02	3,67 \pm 1,26
Fase de regressão (dia)	2,67 \pm 1,11	2,78 \pm 1,31	2,28 \pm 0,75	2,67 \pm 1,04	2,44 \pm 0,97	2,86 \pm 1,31	- -	- -
Taxa de Crescimento (mm/dia)	0,74 \pm 0,21	0,91 \pm 0,24	0,70 \pm 0,26	0,94 \pm 0,30	0,67 \pm 0,23	0,83 \pm 0,15	0,78 \pm 0,21	0,86 \pm 0,13
Taxa de Regressão (mm/dia)	0,83 \pm 0,34	0,80 \pm 0,25	0,85 \pm 0,29	0,96 \pm 0,34	0,62 \pm 0,21	0,78 \pm 0,31	- -	- -
Emergência de onda (dia)	0,17 \pm 0,28	0,56 \pm 0,62	4,67 \pm 0,95	4,78 \pm 1,14	8,78 \pm 1,10	8,67 \pm 1,63	12,47 \pm 1,22	12,89 \pm 1,04
Intervalo entre ondas (dia)	4,50 \pm 1,06	4,22 \pm 1,19	4,11 \pm 0,67	3,89 \pm 0,81	3,72 \pm 1,10	4,22 \pm 0,74	4,35 \pm 1,23	4,44 \pm 0,84

^{ab} Letras indicam diferenças, quando comparadas entre linhas de colunas de mesmo agrupamento (P<0,05).

Conforme descrito na tabela 2.3, o diâmetro máximo folicular, em ovelhas de 3 ondas, foi maior ($P < 0,05$) na primeira e terceira ondas, nas ovelhas WW. A segunda onda não diferiu entre os genótipos ($P > 0,05$). Já em ovelhas de 4 ondas, foi observado um maior diâmetro ($p < 0,05$) na quarta onda, em ovelhas de genótipo WW, Porém esta observação ocorreu somente no período de chuva, não se repetindo na seca ($P > 0,05$).

Como demonstrado nas tabelas 2.3, 2.4, 2.5 e 2.6 não foram observadas diferenças significativas ($P > 0,05$) quanto ao dia de emergência folicular, dia do diâmetro máximo, taxa de crescimento e fase estática respectivamente, independente da época, genótipo ou onda folicular, nos ciclos estrais com 3 e 4 ondas foliculares.

Durante a época de chuva o volume máximo do CL aconteceu mais precocemente ($P < 0,05$) comparado à época de seca (Tabela 2,7). Entretanto os CLs foram observados por mais tempo ($P < 0,05$) na época de seca. Porém não houve diferenças entre os grupos, com relação ao dia do começo da observação dos CL ($P > 0,05$). O maior volume do CL foi observado em ovelhas de genótipo WW, independente da época do ano. A Figura 2.4 ilustra a cinética do CL dos diferentes genótipos durante o ciclo estral.

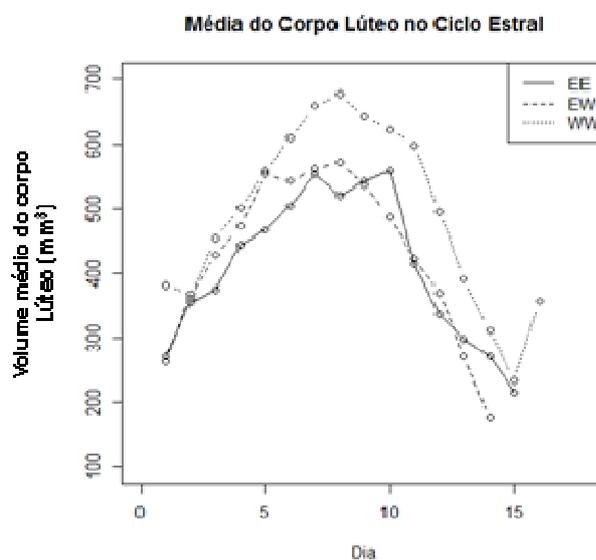


Figura 2.4. - Representação gráfica do ciclo luteal dos diferentes genótipos avaliados.

Tabela 2.7 – Valores médios \pm D.P. das variáveis relacionadas ao desenvolvimento do corpo lúteo (volume máximo, dia da observação do volume máximo, dia do início das observações ultrassonográficas, dia do final das observações e o número de corpos lúteos). De acordo com as épocas do ano (seca e chuva), e com os genótipos EE, EW e WW em cada época do ano (seca e chuva).

Agrupamento	Volume Máximo	Dia do volume máximo	Dia início observações	Dia final das observações	Número de CL
	mm ³ \pm D. P.	Dia \pm D.P.	Dia \pm D.P.	Dia \pm D.P.	n \pm D.P.
Seca	812,83 \pm 229,52	10,30 \pm 1,75 ^a	5,25 \pm 1,18	14,98 \pm 0,93 ^b	1,38 \pm 0,50
Chuva	722,48 \pm 119,54	9,32 \pm 1,73 ^b	4,74 \pm 1,00	14,35 \pm 0,93 ^a	1,88 \pm 0,43
EE seca	839,45 \pm 271,86	10,90 \pm 1,41	5,30 \pm 0,91	15,50 \pm 0,81	1,67 \pm 1,00
EW seca	731,57 \pm 153,23	9,81 \pm 1,73	5,21 \pm 1,19	14,69 \pm 0,95	1,33 \pm 0,44
WW seca	878,80 \pm 234,34	10,43 \pm 1,86	5,07 \pm 1,45	15,07 \pm 0,94	1,27 \pm 0,46
EE chuva	692,42 \pm 116,36	9,44 \pm 1,94	4,88 \pm 1,32	14,24 \pm 0,83	2,08 \pm 0,47
EW chuva	713,55 \pm 119,42	9,27 \pm 1,60	4,96 \pm 0,89	14,31 \pm 0,92	2,00 \pm 0,31
WW chuva	760,30 \pm 104,94	9,27 \pm 1,65	4,38 \pm 0,67	14,58 \pm 0,86	1,63 \pm 0,47
EE	725,46 \pm 167,10	9,88 \pm 1,90	5,03 \pm 1,16	14,62 \pm 0,92	2,21 \pm 0,56
EW	730,40 \pm 147,13	9,47 \pm 1,66	5,05 \pm 1,07	14,40 \pm 0,89	1,91 \pm 0,46
WW	801,78 \pm 157,59	9,68 \pm 1,77	4,68 \pm 0,96	14,70 \pm 0,94	1,70 \pm 0,53

^{ab} Letras indicam diferenças, quando comparadas entre linhas de colunas de mesmo agrupamento (P<0,05).

O volume médio total dos CLs provenientes de ovulação simples, 884,74 mm³, foi maior (P<0,05) comparados a CL de múltiplas ovulações, 710,06 mm³. O mesmo ocorreu com o tamanho do folículo ovulatório em ovulações simples ou múltiplas, onde o diâmetro folicular foi maior (P<0,05) em ovulações simples (Figura 2.5). Com relação ao volume luteal total por indivíduo o valor médio do volume luteal dos CLs com múltiplas ovulação foi maior que o volume luteal que as ovelhas com ovulações simples (P<0,05), 1534,2 mm³ e 884,7 mm³ respectivamente.

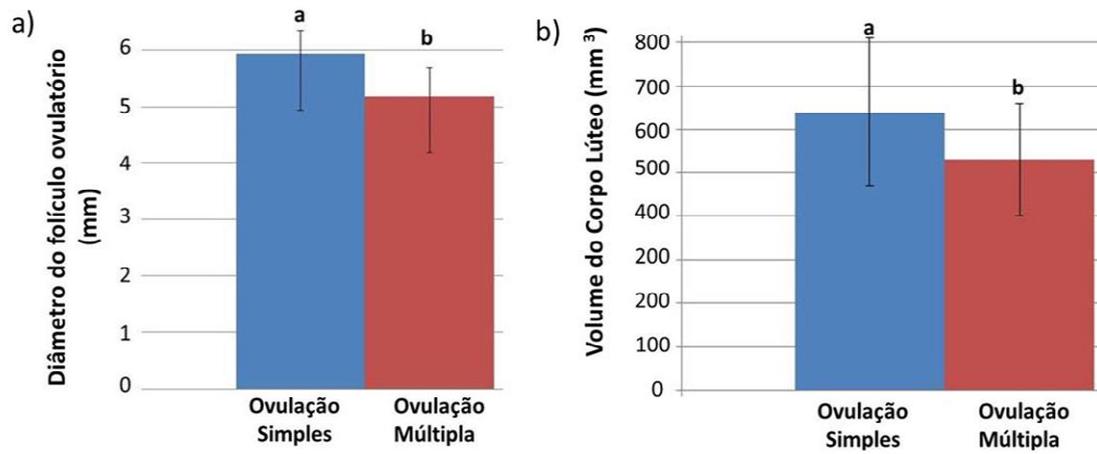


Figura 2.5 Representação gráfica do diâmetro de folículos ovulatórios (a) e corpos lúteos (b) provenientes de ovulações simples ou múltiplas.

6 DISCUSSÃO

De acordo com conhecimento prévio, esse é o primeiro estudo completo da dinâmica folicular ovariana durante o ciclo estral em ovelhas Santa Inês com diferentes genótipos FecG^E e com a realização em diferentes épocas do ano. Usando uma abordagem estatística para dados ultrassonográficos, mostra-se que os ciclos estrais observados tiveram uma duração média que corrobora com a descrita por Goodman, (1994) para outras raças de ovinos, apresentando uma média de 17 ± 1 dia. Esta característica sofre pouca influência da raça e da idade (Hafez, 1952), porém observa-se que houve um efeito significativo nas diferentes épocas avaliadas, pois durante a época de chuva os animais apresentaram um comprimento de ciclo estral menor em relação à época de seca, o mesmo ocorreu com o tamanho da fase folicular. O que contradiz o número de ondas foliculares em que na época de seca a maioria das ovelhas tiveram 3 ondas foliculares, e na época de chuva foi igual o número de ciclos com 3 e 4 ondas foliculares.

Durante o ciclo estral, foi observado com maior frequência um padrão de 3 e 4 ondas de desenvolvimento folicular, em ovelhas Santa Inês, corroborando com o trabalho de Oliveira (2011). Estes também foram resultados demonstrados por Ginther *et al.*, (1995) que observaram um padrão de 4 ondas em ovelhas Polypay. Trabalhos também relataram como 3 o padrão do número de ondas para ovelhas Whitefaced (Ravindra *et al.*, 1997) e Suffolk (Noel *et al.*, 1993). Considerando também a dificuldade da avaliação por ultrassonografia, devido principalmente aos pequenos tamanhos dos folículos, alguns

estudos não conseguiram demonstrar um padrão ondulatório em ovinos (Schrick *et al.*, 1993).

Um dos objetivos principais deste trabalho foi a caracterização das particularidades da dinâmica folicular de ovelhas Santa Inês com a mutações no polimorfismo no gene GDF-9, denominado de FecG^E (Silva *et al.*, 2011), e compara-las com os genótipos homocigose recessiva (EE), dominante (WW) e heterocigose (EW). De acordo com os resultados observados o genótipo EE foi mais prolífico que os demais, independente da época do ano. Também foi demonstrada uma escala decrescente de prolificidade: EE>EW≅WW. Além disso, uma frequência ovulatória maior no período de chuva comparado à seca, provavelmente devido a oferta alimentar nesse período, ou até mesmo, uma evidência de um possível efeito do fotoperíodo e/ou estacionalidade reprodutiva. Ademais, sabe-se que a raça e a estação podem influenciar a incidência de ovulação em ovelhas (Lamberson e Thomas, 1982).

Os ciclos estrais naturais apresentam em torno de 3 a 7 dias de intervalo entre a emergência de ondas foliculares (Menchaca *et al.*, 2010). Os resultados variaram entre 3,30 a 6,67 dias de média, não tendo diferenças significativas independentemente do genótipo animal e/ou o período em que foram executadas as avaliações. Oliveira (2011) afirma que o número de ondas foliculares pode interferir nos dias de emergências dessas ondas, fato este relatado no presente trabalho em que ovelhas com 4 ondas apresentaram intervalos entre emergência de ondas menores que as com 3 ondas.

Aspectos endócrinos motivam a emergência folicular, a qual é controlada pelo incremento das concentrações de FSH (Oliveira, 2011). Foliculos que iram desenvolver-se e um grupo, entre 1 a 4 foliculos, a serem selecionados até um diâmetro pré ovulatório (<5 mm) antes de iniciar o processo de regressão ou ovulação (Evans, 2003). Intervalos maiores do grupo de foliculos próximo ao diâmetro pré ovulatório, entre 1 a 7 foliculos obteve-se no trabalho em Santa Inês.

Com relação ao processo de dominância folicular, não foi possível estabelecer com precisão o momento da dominância no estudo. Pois, o desenvolvimento de foliculos maiores que 3 mm, aparentemente não sofreram com a dominância dos foliculos de maiores diâmetros. Já grande parte dos foliculos com diâmetros menores que 3 mm, sofreram atresia. Porém, devido ao pequeno diâmetro dos foliculos, essa observação pode ter sido mascarada. Adams *et al.*, (1999), Gonzalez-Bulnes *et al.*, (2005) e Ravindra *et*

al., (1994) sugerem que, durante o início da fase lútea e da fase folicular do ciclo estral, o maior folículo pode suprimir parcialmente o crescimento de folículos menores. Porém a emergência de uma nova onda começa antes do início da fase estática da onda anterior. Essa situação de codominância pode ocorrer em ovelhas de múltipla ovulação (Evans, 2003).

O diâmetro máximo dos folículos de maior tamanho de cada onda foi maior na onda ovulatória dos ciclos com 3 ondas. Fato que também foi observado em animais do genótipo WW frente a animais de outros genótipos. O mesmo foi observado por Seekallu *et al.* (2009) que apontam a variação nas concentrações séricas de FSH existente entre animais prolíficos e não prolíficos como responsável pela diferença no diâmetro máximo do folículo de maior tamanho. Driancourt *et al.* (1986), também observaram folículos pré ovulatórios maiores em ovelhas não prolíficas.

Os folículos pré-ovulatórios apresentaram um menor diâmetro durante a época de chuva. Também foi nesta época que se observou uma maior frequência de ovulações duplas, uma provável consequência dos folículos pré ovulatórios menores. Animais do genótipo EE também apresentaram significativamente um maior número de ovulações, comparados a EW e WW. Assim, como para a observação entre as épocas do ano, quanto maior o número de ovulações menor o diâmetro dos folículos ovulatórios. De acordo com Driancourt *et al.* (1986) e Scaramuzzi *et al.* (1993), diâmetros menores de folículos pré ovulatório parecem ser uma característica comum às raças prolíficas. As causas conhecidas de uma maior taxa de ovulação em animais mutantes e prolíficos está no desenvolvimento dos folículos, devido ao aumento da capacidade de resposta ao FSH e a aquisição precoce de receptores de LH pelas células da granulosa (Henderson *et al.*, 1987; Shackell *et al.*, 1993).

Os folículos pré ovulatórios podem atingir diâmetros entre 5 e 7 mm (De Souza *et al.*, 1998; Evans *et al.*, 2000; Duggavathi *et al.*, 2003), antes da ovulação. Há cada vez mais evidências de que o tamanho do folículo pré ovulatório, determina o tamanho do subsequente CL. Entretanto, os CLs também podem exercer efeitos inibitórios locais sobre o crescimento do CL coexistente (Bartlewski *et al.*, 1999a). Durante o trabalho foi observado que em alguns ciclos estrais, a penúltima onda folicular mantém folículos antrais até o final do ciclo e são associados aos folículos ovulatórios emergentes da próxima onda, independente da época do ano e/ou genótipo das ovelhas. Relatos de

(Bartlewski *et al.*, 1999b) relatam essa permanência da penúltima onda folicular apenas para ovelhas prolíficas, sendo provável que a regressão desses folículos em ovelhas prolíficas é impedido pelo próximo aumento das concentrações séricas de FSH (Bartlewski *et al.*, 1999a). No entanto, não se sabe ao certo se o aumento da taxa de ovulação em ovelhas é causado pelo aumento da secreção de FSH (Scaramuzzi *et al.*, 1993; Campbell *et al.*, 1995; Driancourt *et al.*, 1996; Fry *et al.*, 1996).

A frequência de ovulações no presente estudo foi maior no ovário esquerdo, semelhante ao estudo de Munoz-Gutierrez *et al.*, (1998) e contraria a relatos de que o ovário direito é mais responsável pela ovulação simples e dupla do que o esquerdo em ovelhas (Alosta *et al.*, 1998; Dickie *et al.*, 1999; Shabankareh *et al.*, 2009). Outros pesquisadores não encontraram nenhuma diferença no número de ovulações entre os ovários esquerdos e direitos (Ali *et al.*, 2006). A provável razão para isto é a assimetria de ovário, é possível que os fatores parácrinos/autócrinos e diferenças na vascularização dos ovários contribuam para essa variação (Alosta *et al.*, 1998).

A taxa de ovulação e o número e/ou o tamanho dos folículos antrais disponíveis é muito baixa, sendo assim a quantidade de folículos não interfere na taxa de ovulação. Observações semelhantes em outros trabalhos com ovelhas prolíficas, como Booroola e Merino (Driancourt *et al.*, 1985; McNatty *et al.*, 1986) corroboram com os achados. Além disso, pesquisas comparando ovelhas parcialmente ovariectomizadas (1 ovário) e não ovariectomizadas (2 ovários), não foi observado alteração na taxa de ovulação independente da ovelhas, ou seja, com mais ou menos folículos presente no ovário (Findlay *et al.*, 1977). Outro resultado importante foi a quantidade de folículos pequenos encontrados na seca, que foi maior do que no período chuvoso. Entretanto, dados em ovelhas Booroola indicam uma baixa população folicular de folículos com diâmetros pequenos (Driancourt *et al.*, 1985). Estudos de dinâmica folicular afirmam que a seleção de folículos ovulatórios pode ocorrer tanto antes como depois da luteólise (Findlay *et al.*, 1977) e que os mesmos podem ser recrutados a partir de uma vasta gama de tamanhos (Tsonis *et al.*, 1984).

O número total de folículos pequenos não sofreu alterações ao longo do ciclo estral, exceto no período pré ovulatório que houve uma diminuição. As observações foram semelhantes com os resultados em ovelhas Ossimi (Ali *et al.*, 2006). Porém contrários a alguns resultados em que o número médio de folículos não variou

significativamente entre as épocas do ano (Noel *et al.*, 1993). Conclui-se, que a emergência das ondas foliculares em ovelhas, envolve um estável recrutamento do “pool” de folículos (Duggavathi *et al.*, 2004).

Em ovelhas com 3 ondas foliculares, os animais com genótipos EE e EW, tiveram a fase de crescimento folicular menor em relação ao genótipo WW, isso ocorreu nos folículos que surgiram durante o período final (última onda) do ciclo estral. Quando comparadas as diferentes estações, a época de chuva mostrou que a fase de crescimento e regressão foi menor em meados da fase lútea (segunda e terceira onda), do que na época de seca. Estes resultados podem ter relação com a maior presença de estruturas lúteas, devido a dominância da progesterona produzida, que pode ser levada em consideração pela diminuição do apoio gonadotrófico, pois o número de CLs no período chuvoso foi significativamente maior que na seca, e ainda maior no genótipo EE. Os efeitos da progesterona sobre o apoio gonadotrófico também refletiu no intervalo entre ondas, que durante a fase lútea teve intervalos mais curtos (Bartlewski *et al.*, 1999a). Também que concentrações séricas de progesterona menores que as normais (<1 ng/ml) resultou em folículos maiores do que o normal em ovelhas. Influenciados também pelo estradiol ovariano e a inibina, que são os principais reguladores negativos de *feedback* de secreção de FSH (Clarke *et al.*, 1986; Campbell *et al.*, 1991; Mann *et al.*, 1992; Campbell *et al.*, 1995).

O mecanismo pelo qual a progesterona afeta o desenvolvimento folicular é através da diminuição da frequência de pulsos de LH, que é fundamental para o crescimento contínuo de folículos grandes (Savio *et al.*, 1993). A progesterona pode exercer efeitos locais sobre o crescimento de grandes folículos antrais, independente de mudanças na secreção de gonadotrofinas (Scaramuzzi *et al.*, 1999; Bartlewski *et al.*, 2001).

Em ovelhas com 4 ondas a taxa de regressão foi menor para o genótipo EE em relação aos demais na primeira onda do ciclo estral. Já nas diferentes estações a fase de crescimento da primeira onda foi maior no período chuvoso. O motivo destas diferenças parecem não ter uma clara explicação. Na fase estática não foram observadas diferenças entre os genótipos, diferente do observado em ovelhas Finn e Western “white-faced” (Bartlewski *et al.*, 1999a).

Durante o ciclo estral foi observado uma fase lútea média de 10 dias, iniciando-se aproximadamente no quarto dia após a ovulação. Após o início da observação dos CL a

precisão das imagens foi aumentando com o passar dos dias, onde um CL com bordas mais evidentes pode ser observado. O diâmetro máximo foi observado por volta do dia 10. Os resultados foram semelhantes ao trabalho descrito por Dickie *et al.*, (1998). Nas diferentes estações em que o experimento foi realizado observou-se que no período chuvoso, a fase luteal foi mais curta que durante a seca, pois o dia do volume máximo foi 9,32 contra 10,30 na seca. Este fato pode ser resultado do maior número de ovulações na chuva, e conseqüentemente um volume menor de CLs comparados aos observados na seca. Sugerindo que há diferenças no desenvolvimento luteal em ovelhas com ovulações simples e múltiplas. Estas diferenças no desenvolvimento luteal também foram encontradas por Shabankareh *et al.*, (2009).

Foram observadas diferenças no volume de CL com ovulações simples e duplas, o volume total por indivíduo de corpo lúteo foi maior em animais com ovulações duplas. Já o volume médio total foi menor em ovulações múltiplas. No entanto, não observou-se diferenças significativas do volume médio de CLs em relação aos genótipos e/ou estações, mas em todas as situações ovelhas WW e o período de seca, tem o volume de CL maior que ovelhas EE e o período de chuva. Resultados parcialmente semelhantes aos de Shabankareh *et al.*, (2009) que avaliaram também os volumes individuais dos CLs simples ou múltiplos. O volume médio de corpos lúteos individuais em ovinos diminuiu com o aumento da taxa de ovulação.

A incidência relativamente alta de dupla ovulação em ovelhas é associada ao aumento do volume lúteo total e altas concentrações circulantes de progesterona. Ovelhas com ovulações múltiplas tendem a ter concentrações de progesterona maiores que as ovelhas com ovulações simples (Quirke *et al.*, 1979). Ademais, estudo mostra que o volume do CL é um fator determinante da concentração de progesterona durante a fase inicial e final do crescimento CL. No entanto, o volume lúteo não determina a concentração máxima de progesterona durante o ciclo estral (Shabankareh *et al.*, 2009).

7 CONCLUSÃO

Conclui-se que há uma grande semelhança na dinâmica de desenvolvimento folicular e luteal dos diferentes genótipos da raça Santa Inês, criadas em diferentes condições climáticas. As diferenças encontradas não afetam a atividade ovariana intrínseca durante o ciclo estral, apenas potencializam sua atividade. De forma que podemos afirmar que o genótipo EE (mutante) é mais prolífico comparado aos demais genótipos (EW e WW). Também que durante a época de chuva, caracterizada por uma maior oferta forrageira, a frequência de observações de ovulações múltiplas é maior do que na época de seca. Além disso, observa-se que o diâmetro do folículo ovulatório e o volume total dos CLs são inversamente proporcionais aos números de ovulações por ciclo estral. Os resultados deste trabalho descrevem um padrão de dinâmica ovariana para ovelhas Santa Inês, além de caracterizar diferenças pontuais entre os diferentes genótipos estudados.

8 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- AGROBASE** - <http://www.agrodebate.com.br/_conteudo/2012/06/noticias/2949-consumo-per-capita-de-carne-ovina-no-brasil-e-de- apenas-400-gramas-por-ano.html>. Acesso em: 02 dez. 2013.
- ADAMS, T. E.; SAKURAI, H.; ADAMS, B. M. Effect of stress-like concentrations of cortisol on estradiol-dependent expression of gonadotropin-releasing hormone receptor in orchidectomized sheep. **Biology of reproduction**, v. 60, n. 1, p. 164-8, Jan 1999.
- ALI, A.; DERAR, R.; HUSSEIN, H. Seasonal variation of the ovarian follicular dynamics and luteal functions of sheep in the subtropics. **Theriogenology**, v. 66, n. 2, p. 463-9, Jul 15 2006.
- ALOSTA, R. A.; VAUGHAN, L.; COLLINS, J. D. An abattoir survey of ovine reproductive tracts in Ireland. **Theriogenology**, v. 50, n. 3, p. 457-64, Aug 1998.
- BARTLEWSKI, P. M.; BEARD, A. P.; CHAPMAN, C. L.; NELSON, M. L.; PALMER, B.; ARAVINDAKSHAN, J.; COOK, S. J.; RAWLINGS, N. C. Ovarian responses in gonadotrophin-releasing hormone-treated anoestrous ewes: follicular and endocrine correlates with luteal outcome. **Reproduction, fertility, and development**, v. 13, n. 2-3, p. 133-42, 2001.
- 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, Jan 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, n. 1, p. 115-30, Jul 1 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.
- CAMPBELL, B. K.; MCNEILLY, A. S.; MANN, G. E.; BAIRD, D. T. The effect of stage of estrous cycle and follicular maturation on ovarian inhibin production in sheep. **Biology of reproduction**, v. 44, n. 3, p. 483-90, Mar 1991.
- CAMPBELL, B. K.; SCARAMUZZI, R. J.; WEBB, R. Control of antral follicle development and selection in sheep and cattle. **Journal of reproduction and fertility. Supplement**, v. 49, p. 335-50, 1995.
- CLARKE, I. J.; CLEMENTS, J. A.; CUMMINS, J. T.; DENCH, F.; SMITH, A. I.; ROBINSON, P. M.; FUNDER, J. W. Elevated plasma levels of pro-opiomelanocortin-derived peptides in sheep following hypothalamo-pituitary disconnection. **Neuroendocrinology**, v. 44, n. 4, p. 508-14, 1986.
- DE SOUZA, C. J.; CAMPBELL, B. K.; BAIRD, D. T. Incipient ovarian failure associated with raised levels of follicle stimulating hormone and reduced levels of inhibin A in older sheep. **Human reproduction**, v. 13, n. 11, p. 3016-22, Nov 1998.
- DICKIE, A. M.; PATERSON, C.; ANDERSON, J. L.; BOYD, J. S. Determination of corpora lutea numbers in Booroola--Texel ewes using transrectal ultrasound. **Theriogenology**, v. 51, n. 7, p. 1209-24, May 1999.
- DICKIE, A. M.; PATERSON, C.; ANDERSON, J. L. M.; BOYD, J. S.; Determination of corpora lutea numbers in Booroola - Texel ewes using transrectal ultrasound. **Theriogenology** 51, 1209-1224, 1998.
- DRIANCOURT, M. A.; CAHILL, L. P.; BINDON, B. M. Ovarian follicular populations and preovulatory enlargement in Booroola and control Merino ewes. **Journal of reproduction and fertility**, v. 73, n. 1, p. 93-107, Jan 1985.
- 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, n. 2, p. 565-75, Nov 1986.
- DRIANCOURT, M. A.; GORMON, T.; PHAN THANH, L.; BOOMAROV, O. Analysis by two-dimensional electrophoresis of proteins secreted by sheep ovarian follicles: effects of the FecB gene, follicle size and atresia. **Journal of reproduction and fertility**, v. 107, n. 1, p. 69-77, May 1996.
- DUGGAVATHI, R.; BARTLEWSKI, P. M.; BARRETT, D. M.; GRATTON, C.; BAGU, E. T.; RAWLINGS, N. C. Patterns of antral follicular wave dynamics and accompanying endocrine changes in cyclic and seasonally anestrous ewes treated with exogenous ovine follicle-stimulating hormone during the inter-wave interval. **Biology of reproduction**, v. 70, n. 3, p. 821-7, Mar 2004.

- 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, Aug 2003.
- EVANS, A. C. Ovarian follicle growth and consequences for fertility in sheep. **Animal reproduction science**, v. 78, n. 3-4, p. 289-306, Oct 15 2003.
- EVANS, A. C.; DUFFY, P.; HYNES, N.; BOLAND, M. P. Waves of follicle development during the estrous cycle in sheep. **Theriogenology**, v. 53, n. 3, p. 699-715, Feb 2000.
- FINDLAY, J. K.; CUMMING, I. A. The effect of unilateral ovariectomy on plasma gonadotropin levels, estrus and ovulation rate in sheep. **Biology of reproduction**, v. 17, n. 2, p. 178-83, Sep 1977.
- FRY, R. C.; DRIANCOURT, M. A. Relationships between follicle-stimulating hormone, follicle growth and ovulation rate in sheep. **Reproduction, fertility, and development**, v. 8, n. 2, p. 279-86, 1996.
- GALLOWAY, S. M.; MCNATTY, K. P.; CAMBRIDGE, L. M.; LAITINEN, M. P.; JUENGEL, J. L.; JOKIRANTA, T. S.; MCLAREN, R. J.; LUIRO, K.; DODDS, K. G.; MONTGOMERY, G. W.; BEATTIE, A. E.; DAVIS, G. H.; RITVOS, O. Mutations in an oocyte-derived growth factor gene (BMP15) cause increased ovulation rate and infertility in a dosage-sensitive manner. **Nature genetics**, v. 25, n. 3, p. 279-83, Jul 2000.
- GONZALEZ-BULNES, A.; DIAZ-DELFA, C.; GARCIA-GARCIA, R. M.; URRUTIA, B.; CARRIZOSA, J. A.; LOPEZ-SEBASTIAN, A. Origin and fate of preovulatory follicles after induced luteolysis at different stages of the luteal phase of the oestrous cycle in goats. **Animal reproduction science**, v. 86, n. 3-4, p. 237-45, Apr 2005.
- GOODMAN, R.L. (1994) Neuroendocrine control of the ovine estrous cycle. In: KNOBIL, E.;
- NEILL, J.D.; The physiology of reproduction. **New York: Raven Press Ltd.**, p. 659-709.
- GRYGAR, I.; KUDLAC, E.; DOLEZEL, R.; NEDBALKOVA, J. Volume of luteal tissue and concentration of serum progesterone in cows bearing homogeneous corpus luteum or corpus luteum with cavity. **Animal reproduction science**, v. 49, n. 2-3, p. 77-82, Dec 5 1997.
- GINTHER, O.J., KOT, K., WILTBANK, M.C. Associations between emergence of follicular waves and fluctuations in FSH concentrations during the oestrous cycle in ewes. **Theriogenology** 43:689-703, 1995.
- HAFEZ, E.S.E. (1952). Studies on the breeding season and reproduction of the ewe. **J. Agric. Sci.**, 42: 189-265.

- HENDERSON, K.M., MCNATTY, K.P., O'KEEFFE, L.E., LUN, S., HEATH, D.A., PRISK, M. Differences in gonadotrophin-stimulated cyclic AMP production by granulosa cells from Booroola X Merino ewes which were homozygous, heterozygous or non-carriers of a fecundity gene influencing their ovulation rate. **J. Reprod. Fertil.** 81, 395–402, 1987.
- IBGE. **Pesquisa Pecuária Municipal**, 2012. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2012/default.shtm>> Acesso em: 17 dez. 2012.
- IBGE. **Pesquisa Pecuária Municipal**, 2012. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2012/default.shtm>> Acesso em: 17 dez. 2013.
- INMET. **Instituto Nacional de Meteorologia**. Disponível em: < <http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=tempo/previsaoPorTipo&type=regional>>. Acesso em: 17 jan. 2013.
- LAMBERSON, W. R.; THOMAS, D. L. Effects of season and breed of sire on incidence of estrus and ovulation rate in sheep. **Journal of animal science**, v. 54, n. 3, p. 533-9, Mar 1982.
- MANN, G. E.; MCNEILLY, A. S.; BAIRD, D. T. Hormone production in vivo and in vitro from follicles at different stages of the oestrous cycle in the sheep. **The Journal of endocrinology**, v. 132, n. 2, p. 225-34, Feb 1992.
- MCNATTY, K. P.; LUN, S.; HEATH, D. A.; BALL, K.; SMITH, P.; HUDSON, N. L.; MCDIARMID, J.; GIBB, M.; HENDERSON, K. M. Differences in ovarian activity between booroola X merino ewes which were homozygous, heterozygous and non-carriers of a major gene influencing their ovulation rate. **Journal of reproduction and fertility**, v. 77, n. 1, p. 193-205, May 1986.
- MENCHACA, A.; VILARINO, M.; CRISPO, M.; DE CASTRO, T.; RUBIANES, E. New approaches to superovulation and embryo transfer in small ruminants. **Reproduction, fertility, and development**, v. 22, n. 1, p. 113-8, 2010.
- MUNOZ-GUTIERREZ, M.; MIRANDA-JIMENEZ, L.; ROJAS-MAYA, S.; GARCIA-WINDER, M. Ovulation and luteal characteristics following removal of the ovine corpus luteum (lutectomy) at four times during the oestrous cycle. **Animal reproduction science**, v. 54, n. 2, p. 87-94, Dec 31 1998.
- NOEL, B.; BISTER, J. L.; PAQUAY, R. Ovarian follicular dynamics in Suffolk ewes at different periods of the year. **Journal of reproduction and fertility**, v. 99, n. 2, p. 695-700, Nov 1993.
- OLIVERA-MUZANTE, J.; FIERRO, S.; LOPEZ, V.; GIL, J. Comparison of prostaglandin- and progesterone-based protocols for timed artificial insemination in sheep. **Theriogenology**, v. 75, n. 7, p. 1232-8, Apr 15 2011.
- OLIVEIRA, Maria Emília Franco. Dinâmica folicular no uso em protocolos de sincronização de estro e superovulação em ovelhas Santa Inês.

Jabotical: Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2011. 131p. **Tese (doutorado)** - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2011.

- QUIRKE JF, HANRAHAN JP, GOSLIN JP. Plasma progesterone levels throughout the oestrous cycle and release of LH at oestrus in sheep with different ovulation rates. **J Reprod Fertil**; 55: 37-44, 1979.
- RAVINDRA, J. P.; RAWLINGS, N. C. Ovarian follicular dynamics in ewes during the transition from anoestrus to the breeding season. **Journal of reproduction and fertility**, v. 110, n. 2, p. 279-89, Jul 1997.
- RAVINDRA, J. P.; RAWLINGS, N. C.; EVANS, A. C.; ADAMS, G. P. Ultrasonographic study of ovarian follicular dynamics in ewes during the oestrous cycle. **Journal of reproduction and fertility**, v. 101, n. 2, p. 501-9, Jul 1994.
- SAVIO, J. D.; THATCHER, W. W.; BADINGA, L.; DE LA SOTA, R. L.; WOLFENSON, D. Regulation of dominant follicle turnover during the oestrous cycle in cows. **Journal of reproduction and fertility**, v. 97, n. 1, p. 197-203, Jan 1993.
- 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. **Reproduction, fertility, and development**, v. 5, n. 5, p. 459-78, 1993.
- SCARAMUZZI, R. J.; MURRAY, J. F.; DOWNING, J. A.; CAMPBELL, B. K. The effects of exogenous growth hormone on follicular steroid secretion and ovulation rate in sheep. **Domestic animal endocrinology**, v. 17, n. 2-3, p. 269-77, Oct 1999.
- 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, n. 5, p. 1133-40, Nov 1993.
- SEEKALLU, S. V.; TOOSI, B. M.; RAWLINGS, N. C. LH pulse frequency and the emergence and growth of ovarian antral follicular waves in the ewe during the luteal phase of the estrous cycle. **Reproductive biology and endocrinology : RB&E**, v. 7, p. 78, 2009.
- SHABANKAREH, H. K.; HABIBIZAD, J.; TORKI, M. Corpus luteum function following single and double ovulation during estrous cycle in Sanjabi ewes. **Animal reproduction science**, v. 114, n. 4, p. 362-9, Sep 2009.
- SHACKELL, G.H., HUDSON, N.L., HEATH, D.A., LUN, S., SHAW, L., CONDELL, L., BLAY, L.R., MCNATTY, K.P. Plasma gonadotropin concentrations and ovarian characteristics in Inverdale ewes that are heterozygous for a major gene (FecXI) on the x chromosome that influences ovulation rate. **Biol. Reprod.** 48,

1150–1156, 1993.

SILVA, B. D.; CASTRO, E. A.; SOUZA, C. J.; PAIVA, S. R.; SARTORI, R.; FRANCO, M. M.; AZEVEDO, H. C.; SILVA, T. A.; VIEIRA, A. M.; NEVES, J. P.; MELO, E. O. A new polymorphism in the Growth and Differentiation Factor 9 (GDF9) gene is associated with increased ovulation rate and prolificacy in homozygous sheep. **Animal genetics**, v. 42, n. 1, p. 89-92, Feb 2011.

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 jan.2013.

TSONIS, C. G.; CARSON, R. S.; FINDLAY, J. K. Relationships between aromatase activity, follicular fluid oestradiol-17 beta and testosterone concentrations, and diameter and atresia of individual ovine follicles. **Journal of reproduction and fertility**, v. 72, n. 1, p. 153-63, Sep 1984.

VIANA, J. G. A., Panorama Geral da Ovinocultura no Mundo e no Brasil, **Revista Ovinos**, Ano 4, Nº 12, Porto Alegre, Março de 2008.

VINOLES, C.; MEIKLE, A.; FORSBERG, M.; RUBIANES, E. The effect of subluteal levels of exogenous progesterone on follicular dynamics and endocrine patterns during early luteal phase of the ewe. **Theriogenology**, v. 51, n. 7, p. 1351-61, May 1999.