

SINCRONIZAÇÃO DE ESTRO COM PROSTAGLANDINA F2α VERSUS PROGESTERONA ASSOCIADA À GONADOTROFINA CORIÔNICA EQÜINA (eCG) EM OVELHAS DESLANADAS NO DISTRITO FEDERAL

BIANCA DAMIANI MARQUES SILVA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS ANIMAIS

BRASÍLIA/DF FEVEREIRO/2008

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

SINCRONIZAÇÃO DE ESTRO COM PROSTAGLANDINA $F2\alpha$ VERSUS PROGESTERONA ASSOCIADA À GONADOTROFINA CORIÔNICA EQÜINA (eCG) EM OVELHAS DESLANADAS NO DISTRITO FEDERAL

BIANCA DAMIANI MARQUES SILVA

ORIENTADOR: PROF. DR. JAIRO PEREIRA NEVES CO-ORIENTADOR: PROF. DR. ROBERTO SARTORI

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS ANIMAIS

PUBLICAÇÃO: 001/2008

BRASÍLIA/DF FEVEREIRO/2008

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

SINCRONIZAÇÃO DE ESTRO COM PROSTAGLANDINA $F2\alpha$ VERSUS PROGESTERONA ASSOCIADA À GONADOTROFINA CORIÔNICA EQÜINA (eCG) EM OVELHAS DESLANADAS NO DISTRITO FEDERAL

BIANCA DAMIANI MARQUES SILVA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDA À FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA DA UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA, COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM CIÊNCIAS ANIMAIS NA ÁREA DE CONCENTRAÇÃO DE DISCIPLINAS DE REPRODUÇÃO ANIMAL.

APROVADA POR:
Prof. Dr. Jairo Pereira Neves (UnB) (ORIENTADOR) CPF: 065863509-30 E-mail: jpneves@unb.br
Profa. Dra. Carolina Madeira Lucci (UnB) (EXAMINADOR INTERNO) CPF: 490390241-20 E-mail: cmlucci@unb.br
Dr. Alexandre Floriani Ramos (EMBRAPA) (EXAMINADOR EXTERNO) CPF: 014334559-19 E-mail: aleframos@cenargen.embrapa.br

BRASÍLIA/DF, 28 de Fevereiro de 2008.

FICHA CATALOGRÁFICA

Silva, Bianca Damiani Marques

Sincronização de estro com prostaglandina F2α versus progesterona associada à gonadotrofina coriônica eqüina (eCG) em ovelhas deslanadas no Distrito Federal. / Bianca Damiani Marques Silva; orientação de Jairo Pereira Neves – Brasília, 2008.

50 p.: il.

Dissertação de Mestrado (M) — Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2008.

- 1. Ovino. 2. Taxa de sincronização. 3. Diâmetro folicular. 4. Progesterona sérica.
- I. Neves, J.P. II. Doutor.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

SILVA, B. D. M. Sincronização de estro com prostaglandina F2α versus progesterona associada à gonadotrofina coriônica eqüina (eCG) em ovelhas deslanadas no Distrito Federal. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2008, 50 p. Dissertação de Mestrado.

CESSÃO DE DIREITOS

NOME DO AUTOR: Bianca Damiani Marques Silva

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO: Sincronização de estro com prostaglandina F2α versus progesterona associada à gonadotrofina coriônica equina (eCG) ovelhas deslanadas no Distrito Federal.

GRAU: Mestre ANO: 2008

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta dissertação de mestrado e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva-se a outros direitos de publicação e nenhuma parte desta dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor.

Bianca Damiani Marques Silva 070423987-69 SMPW, quadra 4, conjunto 6, lote 4, casa G 71735-400 – Brasília/DF - Brasil 3386-4007/ biancadamiani@yahoo.com.br

DEDICATÓRIA

À minha família, que apesar de longe esteve do meu lado.

À minha segunda família, obrigada por terem me acolhido como membro.

Ao meu namorado, amigo, amor, companheiro Thiago Silva, amo você!

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Jairo Pereira Neves por ter me aceito neste desafio, obrigada pela orientação.

Ao Dr. Roberto Sartori por ter enfrentado este novo trabalho, obrigada pelo apoio.

Ao Dr. Maurício Machaim Franco, por ter auxiliado neste trabalho.

Ao Rogério Tokarski e ao Haras Rancho Tokarski por ter cedido os animais.

À Profa. Dra. Concepta McManus por ter cedido os animais.

Aos amigos de mestrado que me ajudaram a concluir este trabalho. Obrigada Déborah Máximo, Priscilla Moura.

Às bolsistas de PIBIC, que estavam comigo o tempo todo. Obrigada Karina Fiorillo, Hetielle Hashimoto.

Aos funcionários do CMO, quando precisei de uma força eles estavam lá, obrigada Antonio, Vilmar, Anderson e Carlos.

Aos amigos do CMO que tomaram conta das minhas ovelhas. Obrigada Denise, Bruno Dallago, Edgar, Ana.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPq, pelo auxílio financeiro.

ÍNDICE

INTRODUÇÃO	1
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
CARACTERÍSTICAS DA RAÇA SANTA INÊS	3
FISIOLOGIA REPRODUTIVA DA OVELHA	4
MONITORAMENTO DE ESTRUTURAS OVARIANAS	9
SINCRONIZAÇÃO/INDUÇÃO DE ESTRO	10
HORMÔNIOS UTILIZADOS EM PROTOCOLOS DE INDUÇÃO/SINC	RONIZAÇÃO
DE ESTRO	10
Prostaglandina F2α	10
Progestágenos	12
Gonadotrofina Coriônica Eqüina (eCG)	13
Associação progestágenos e gonadotrofina coriônica equina	13
OBJETIVO GERAL:	16
OBJETIVOS ESPECÍFICOS:	16
HIPÓTESE:	17
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:	18
CAPÍTULO ÚNICO: SINCRONIZAÇÃO DE ESTRO COM PROSTAGLA	ANDINA F2α
VERSUS PROGESTERONA ASSOCIADA À GONADOTROFINA	CORIÔNICA
EQÜINA (ECG) EM OVELHAS SANTA INÊS NO DISTRITO FEDERAL,	BRASIL 23
RESUMO GERAL	24
INTRODUÇÃO	26
MATERIAL E MÉTODOS:	27
ANÁLISE ESTATÍSTICA	30
RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
CONCLUSÃO	36
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:	37

ÍNDICE DE TABELAS

CAPÍTULO ÚNICO

Tabela 1. Manifestação de estro, período entre o final do protocolo ao estro
diâmetro do maior folículo e do segundo maior folículo, ovelhas com CL ao final do
protocolo, média de folículos ovulados e concentração sérica de P4 no dia sete do
ciclo estral nos protocolos de sincronização PGF2α (duas injeções de PGF2α com
nove dias de intervalo, n = 38) e P4+eCG (implante intravaginal de MAP mantido por
12 dias e 250 UI de eCG foram aplicadas no momento da remoção do implante, n =
38) em ovelhas da raça Santa Inês (porcentagem ou média ± EP) 31
Tabela 2: Incidência de ovelhas marcadas pelo rufião no tratamento com PGF2c
(duas injeções de PGF2α com nove dias de intervalo, n = 38) ou P4+eCG (implante
intravaginal de P4 foi mantido por 12 dias e 250 UI de eCG foram aplicadas no
momento da remoção do implante, n = 38), nos intervalos de observação de estro a
cada 12 horas a partir do final dos protocolos (porcentagem)33

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO ÚNICO

Figura 1: Dados acumulados de manifestação de estro nos intervalos de observaç	ãc
a cada 12 horas a partir do final dos protocolos PGF2α (duas injeções de PGF2	2c
com nove dias de intervalo, n = 38) e protocolo P4+eCG (implante intravaginal de F	> 4
foi mantido por 12 dias e 250 UI de eCG foram aplicadas no momento da remoç	ãc
do implante, n = 38), mostrando o agrupamento da manifestação de estro em ca	da
ntervalo até o fim da observação (porcentagem)	32

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIAÇÕES

- ° graus
- ≤ menor ou igual
- > maior
- < menor
- C Celsius
- % porcentagem
- CIDR controlled internal drug release
- D dia
- DF Distrito Federal
- eCG gonadotrofina coriônica equina
- EP erro padrão
- FGA acetato de fluorogesterona
- FSH hormônio folículo estimulante
- h horas
- IATF inseminação artificial em tempo fixo
- IGF Fator de crescimento semelhante a insulina
- im intramuscular
- LH hormônio luteinizante
- MAP acetato de medroxiprogesterona
- mg miligramas
- Mhz megahertz
- mL mililitros
- μg microgramas
- ng nanogramas
- P4 progesterona
- PGF2α prostaglandina F2α
- RS Rio Grande do Sul
- T tratamento
- UFSM Universidade Federal de Santa Maria
- UI unidades internacionais

SINCRONIZAÇÃO DE ESTRO COM PROSTAGLANDINA $F2\alpha$ VERSUS PROGESTERONA ASSOCIADA À GONADOTROFINA CORIÔNICA EQÜINA (ECG) EM OVELHAS DESLANADAS NO DISTRITO FEDERAL

RESUMO GERAL

Este estudo teve por objetivo comparar o uso de PGF2α à associação de progesterona (P4) com gonadotrofina coriônica equina (eCG) na sincronização do estro em ovelhas da raça Santa Inês. Foram utilizadas 38 fêmeas ovinas divididas em dois grupos aleatoriamente e submetidas a dois protocolos de sincronização de estro: protocolo PGF2α (duas doses de 0,530 mg de PGF2α com nove dias de protocolo P4+eCG (pessário intervalo) intravaginal de acetato medroxiprogesterona por 12 dias e no momento da remoção do dispositivo aplicação de 250 UI de eCG). As ovelhas foram submetidas ao "cross-over", com intervalo de dois ciclos estrais. Procedeu-se uma ultra-sonografia transretal no último dia do protocolo para avaliar diâmetro do maior e do segundo maior folículo e foi coletado sangue no dia sete do ciclo estral para avaliação da concentração sérica de P4. Exame laparoscópico foi realizado no dia 11 após o fim dos protocolos para contagem de corpos lúteos. Para os parâmetros taxa de sincronização, diâmetro do maior e do segundo maior folículo, período do final do protocolo ao estro e taxa de ovulação não foram observadas diferenças entre os protocolos. Foi observado que o protocolo P4+eCG produziu concentrações séricas de P4 maiores do que o protocolo PGF2α (3,9 e 2,8 ng/mL, respectivamente, P<0,05). Nas condições do presente estudo, embora o protocolo P4+eCG tenha apresentado superioridade em relação à concentração sérica de P4, o protocolo PGF2α foi tão eficiente em sincronizar o estro quanto o P4+eCG.

Palavras chaves: ovino, taxa de sincronização, diâmetro folicular, progesterona sérica.

ESTRUS SYNCHRONIZATION WITH PROSTAGLANDIN $F2\alpha$ COMPARED TO PROGESTERONE FOLLOWED BY EQUINE CHORIONIC GONADOTROPIN (ECG) IN SANTA INÊS EWES REARED IN THE FEDERAL DISTRICT.

ABSTRACT

The aim of this study was to compare two protocols of estrus synchronization in Santa Inês ewes. Thirty-eight ewes were randomly divided into two groups and treated with two protocols of estrus synchronization: protocol PGF2α (two doses of 0.530 mg of PGF2α, nine days apart) and protocol P4+eCG (intravaginal sponge impregnated with medroxyprogesterone acetate, for 12 days and then an injection of 250 IU of eCG). The experiment was in a cross-over design, two estrous cycles apart. On the final day of protocol a transrectal ultrasound examination was carried out to measure the size of the largest and second largest ovarian follicles and on day 7 of estrous cycle blood was collected to measure serum P4 concentration. Laparoscopy was carried out on day 11 after the end of protocols to count corpora lutea. Synchronization rate, size of largest and second largest ovarian follicles, hours between the end of the protocol to estrus and ovulation rate did not differ between protocols. Ewes synchronized with P4+eCG had greater serum P4 concentrations than ewes synchronized with PGF2α (3.9 and 2.8 ng/mL, respectively, P<0.05). Based on the results, it may be concluded that although the protocol P4+eCG was superior in inducing higher serum concentration of P4, the protocol PGF2α was equivalent regarding estrus synchronization.

Key words: sheep, synchronization rate, follicle size, serum progesterone.

INTRODUÇÃO

A ovinocultura é uma atividade em crescimento com um incremento no número de cabeças na região Centro-Oeste (8325 no ano de 2000 para 19000 no ano de 2006) segundo dados do IBGE (2006). A atividade pecuarista está com interesse nessa espécie para criação, produção e consumo, principalmente porque as carnes ovinas oferecidas têm sido de animais novos e através de cruzamentos industriais que proporcionam carne mais saborosa. Baseado no volume crescente de abates, na forte demanda do mercado doméstico e no volume das importações, há evidencias que a produção e o consumo brasileiros de carne ovina têm aumentado (Souza, 2008).

Com a diminuição do tamanho das propriedades em decorrência da reforma agrária e com a diminuição de áreas de pastagens pelo avanço da agricultura mecanizada, cada vez mais a produção de carne terá que se concentrar em animais que ocupem pouco espaço, comam menos e produzam mais. O despertar do interesse pela atividade ovino-caprinocultura, também se explica pela rapidez do ciclo produtivo, que é de quase 2,5 vezes menor que dos bovinos (Hindo, 2006).

Das raças criadas no país, destaca-se a Santa Inês, uma raça deslanada, de grande porte, proveniente do Nordeste brasileiro e que se adapta facilmente a qualquer sistema de criação e pastagem. Além disso, possui uma boa conformação de carcaça e se destaca por ser bastante fértil, prolífica, precoce, rústica e resistente a parasitas gastrointestinais. Essa raça vem adquirindo grande importância na ovinocultura moderna, sendo utilizada tanto pura quanto para cruzamentos industriais.

A adaptabilidade da raça Santa Inês é uma característica importante quando se trata de Brasil, pois se sabe que é um país de dimensões continentais e possui regiões com diversas características e climas diferentes, e essas podem alterar na ciclicidade dos animais. Sabe-se também que a estacionalidade reprodutiva tem muitas influências como fotoperíodo, nutrição, idade, raça entre outras. Destaca-se que a escolha de raças adequadas às condições ambientais locais é um dos fatores preponderantes para o sucesso de um sistema de criação economicamente viável. Portanto, é de fundamental importância o estudo da raça Santa Inês na região do Distrito Federal para se ter maior conhecimento do rendimento desta.

A sincronização de estro em ovinos é uma biotécnica reprodutiva que permite a concentração da inseminação e da parição em épocas desejáveis dentro dos sistemas de produção (Evans e Maxwell, 1987). Essa técnica tem sido utilizada em pequenos ruminantes pelo uso de esponjas intravaginais impregnadas com progestágenos, tais como acetato de fluorogestona (FGA) e acetato de medroxiprogesterona (MAP), prostaglandina F2α (PGF2α), gonadotrofina coriônica eqüina (eCG), implante intravaginal de progesterona (P4; CIDR), consorciados ou não (Dias et al., 2001).

O protocolo mais utilizado é a associação de P4 com eCG, pois pode ser utilizado tanto na estação reprodutiva quanto fora dela estimulando a ovulação (Evans e Robinson, 1980, Evans e Maxwell, 1987; Rubianes et al., 1998). Os protocolos desenvolvidos recomendam manter o dispositivo vaginal de P4 por períodos de 12 a 14 dias. Esses protocolos resultam em altas taxas de indução de cios nos animais tratados, porém com baixa fertilidade. Isso ocorre porque o tempo de manutenção do dispositivo gera um excessivo período de crescimento do folículo e envelhecimento do ovócito. Além disso, o uso excessivo de hormônios para sincronização de estro não tem sido muito recomendado pelo receio de resíduo desses na carne que será consumida.

Como alternativa para a sincronização de estro um protocolo à base de PGF2α pode ser utilizado por induzir a regressão prematura do corpo lúteo por meio da interrupção da fase progestacional do ciclo estral, iniciando, assim, um novo ciclo (Herrera et al., 1990). O protocolo utilizando duas doses de PGF2α é uma alternativa ao produtor que quer implementar a sincronização de estro na propriedade como uma forma de aumentar a eficiência reprodutiva e proporcionar a redução nos custos com outros manejos, ex: sanitários, por concentrar os lotes com as mesmas exigências em um mesmo período e por reduzir os custos com mão de obra.

O presente estudo objetivou comparar o protocolo de sincronização de estro à base de PGF2α ao protocolo com MAP associada à eCG.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

CARACTERÍSTICAS DA RAÇA SANTA INÊS

É uma raça desenvolvida no nordeste brasileiro, resultante do cruzamento intercorrente das raças Bergamácia, Morada Nova, Somalis e outros ovinos sem raça definida. Sendo as características atuais um produto da seleção natural e dos trabalhos de técnicos e criadores fixando-as através de seleção genealógica. A tese de sua origem é confirmada pelas suas características. O porte do Santa Inês, o tipo de orelhas, o formato da cabeça e os vestígios de lã evidenciam a participação do Bergamácia, bem como a condição de deslanado e as pelagens, correspondem ao Morada Nova. A participação do Somalis é evidenciada pela apresentação de alguma gordura em torno da implantação da cauda, quando o animal está muito gordo. São animais deslanados, com pêlos curtos e sedosos, de grande porte com média de peso para macho de 80 a 120 Kg e para as fêmeas de 60 a 90 Kg, com excelente qualidade de carne e baixo teor de gordura, pele de altíssima qualidade, rústicos e precoces, adaptáveis a qualquer sistema de criação e pastagem, e às mais diversas regiões do país. Fêmeas prolíferas e com boa habilidade materna, com frequentes partos duplos е excelente capacidade leiteira (www.arcoovinos.com.br, 2008).

Apesar dos poucos estudos envolvendo a raça Santa Inês, ela tem demonstrado ser uma excelente alternativa para incrementar a produção de carne ovina nas principais regiões do país, considerando sua capacidade reprodutiva, resistência a parasitas gastrointestinais, qualidade de pele e poder adaptativo, além de boa taxa de crescimento. No entanto, limitações em algumas características de carcaça, quando comparadas com as raças especializadas em carne, são atributos restritivos à raça, que, no entanto, não a compromete como opção viável à oferta de carne (Sousa et al., 2008).

A avaliação do potencial de ovulações múltiplas e da habilidade em responder às biotécnicas de reprodução assistida se torna imprescindível para que estas técnicas sejam aplicadas com o objetivo de maximizar a utilização de indivíduos geneticamente superiores por meio da disseminação de seu material genético Souza

et al., 2008). Silva et al. (1987) observaram existir influência da raça, do manejo alimentar e da época do ano sobre a taxa de ovulação total em ovinos deslanados. A taxa média de ovulação total na raça Santa Inês foi de 1,2. A média da freqüência e da taxa de ovulação nesta raça foi, respectivamente, de 76% e 1,3 em pastagem nativa e de 67% e 1,2 em confinamento. O número médio de folículos de 2 a 6 mm nos ovários foi de 2,7 no ovário esquerdo e 2,5 no ovário direito. Deve ser ressaltado que não houve diferença na freqüência de ovulações de um ovário em relação ao outro. No que se refere a ovulações múltiplas, 47,4 % apresentaram uma única ovulação e 34,4 % apresentaram ovulações duplas.

Assim a raça Santa Inês apresenta índices médios iguais a 302 dias de idade a puberdade; 496 dias de idade ao primeiro parto; 303 dias de intervalo de parto; 86,9% de fertilidade ao parto; 150 dias de período de gestação; 1,24 de prolificidade e 80% de sobrevivência das crias até o desmame (Sousa et al., 2008).

FISIOLOGIA REPRODUTIVA DA OVELHA

As ovelhas são poliéstricas estacionais de dias curtos. O estímulo para a manifestação e/ou intensificação dos fenômenos reprodutivos decorre do decréscimo no número de horas de luz por dia (fotoperíodo). 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). Assim o esplendor reprodutivo ocorre no outono. À medida que se aproxima da Linha do Equador, esta estacionalidade é menos acentuada ou muito restrita. Desta forma, em áreas subequatoriais, desde que haja aporte nutricional em quantidade e qualidade suficientes, ovelhas apresentam atividade cíclica durante todo o ano. A ciclicidade também é fortemente influenciada pelo fator raça. Por exemplo, ovinos de raças nativas brasileiras (Santa Inês, Morada Nova, SRD) apresentam atividade reprodutiva durante todo o ano, mesmo em áreas próximas aos trópicos, o que não acontece com ovinos lanados (Ile-de-France, Suffolk, Merino) (Fonseca, 2005a). Com relação às raças, existe uma diferença significativa no que diz respeito à estacionalidade reprodutiva. No Brasil esta diferença é evidente entre as raças lanadas e as deslanadas. A produção de cordeiros é maior nos rebanhos de raças deslanadas sendo que as ovelhas nos trópicos, além de serem poliéstricas anuais, apresentam uma maior taxa de ovulação e,

consequentemente, maiores índices de prolificidade, do que as ovelhas lanadas criadas na região de clima temperado. (Sá e Sá, 2008)

O anestro estacional da ovelha é resultado de uma mudança no mecanismo de feedback por estradiol, mediado pelo fotoperíodo, de uma maneira que somente o estradiol é capaz de suprimir a secreção de 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 estradiol controla amplitude dos pulsos de LH, mas tem pouco efeito na freqüência dos pulsos. Num ambiente de baixa melatonina (dias longos), o estradiol é um potente supressor da freqüência de pulsos de LH, uma ação exercida diretamente no hipotálamo (Moraes, et al., 2002).

A alimentação consiste no principal fator modulador do comportamento reprodutivo e da resposta aos tratamentos de sincronização em ovelhas e cabras tropicais que possuem normalmente uma limitada, descontínua e desequilibrada disponibilidade de alimentos. A variação estacional das chuvas e dos pastos determina o estado nutricional e de reservas de gordura e energia, as quais podem ser avaliadas pela condição corporal (Gonzalez-Stagnaro e Ramon, 1991). Baixa condição corporal em ovelhas tem sido associada ao atraso ou supressão do estro, com taxa de ovulação e fertilidade tendo sido dependentes da alimentação précobertura, assim como com condição corporal na cobertura (Gunn e Doney, 1979).

Salles (2001) estudou a relação entre a condição corporal de matrizes da raça Santa Inês, avaliadas com escore de 1 a 5, e a resposta ao tratamento superovulatório. O número médio de corpos lúteos foram, 9,0, 7,8, 7,7 e 7,3 para ovelhas em condição corporal igual a 2, 3, 4 e 5, respectivamente. Foi observada uma correlação negativa entre a condição corporal e o número de corpos lúteos, mostrando que as ovelhas gordas apresentam menor resposta superovulatória e que seria interessante se trabalhar com animais em condição corporal igual a 2.

O ciclo estral é o período compreendido entre dois estros, durante o qual ocorrem profundas modificações hormonais em todo o organismo, particularmente sobre o aparelho reprodutor e comportamento da fêmea. Nas ovelhas, esse período

tem duração de 17 ± 2 dias, sendo dividido em uma fase luteal com duração de 13 dias e uma fase folicular com 4 dias de duração (Rubianes, 2000).

A fase luteínica foi caracterizada pela presença de um ou mais corpos lúteos nos ovários, resultantes do rompimento dos folículos ovulatórios. 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 (Pant et al., 1977).

Concentrações de P4 declinam rapidamente no final da fase luteal induzida pela secreção de PGF2α. A queda na concentração de P4 durante a regressão luteal, permitiu uma elevação da secreção de estradiol pelo ovário estimulada pelo aumento na freqüência dos pulsos de GnRH e LH. Em contraste, a concentração de FSH declinou suprimida pela secreção crescente de estradiol e inibina do folículo pré-ovulatório (Baird e Mcneilly, 1981).

A P4 secretada durante o período luteal exerceu diversas funções durante o ciclo estral. Inibiu a pulsatilidade de GnRH e o subseqüente pico de LH, regulou o crescimento folicular de forma que o próximo pico de LH induziu a formação de um corpo lúteo normal e inibiu a secreção de PGF2α durante os primeiros dias da fase lútea (Rubianes, 2000).

A diminuição dos pulsos de GnRH foi muito importante para que ocorresse o aumento de FSH nas células hipofisárias, que foi necessário para desencadear o recrutamento de novos folículos (Karsch et al., 1988). A freqüência nos pulsos de GnRH aumentou e a amplitude diminui durante a metade da fase folicular quando a P4 declinou e o estradiol aumentou, coincidindo com o pico pré-ovulatório de LH (Karsch et al., 1997).

Os maiores folículos que crescem durante o fim da fase luteal não produziram altos níveis de estrógeno, provavelmente devido às altas concentrações de P4 a qual reduziu a pulsatilidade da secreção de LH, levando a baixos níveis de estimulação dos folículos em desenvolvimento. Mas o estrógeno foi produzido pelo maior folículo da onda ovulatória e fez um pico dois dias antes da ovulação (Rubianes e Menchaca, 2003). O aumento da secreção de estradiol é o primeiro sinal para o pico pré-ovulatório de GnRH e LH, e esse aumento foi responsável pelas manifestações do estro (Rawlings & Cook, 1992).

Após o pico de LH e ovulação, houve um aumento significativo na concentração de FSH um dia após a ovulação seguida por um aumento na secreção de estradiol proveniente de um pool de novos folículos (Duggavathi et al., 2005).

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. Nesta espécie, utiliza-se o efeito macho que consiste na introdução de um carneiro em um lote de ovelhas, e esse pode antecipar o início da estação de monta como também fazer uma sincronização do estro pelo rápido estímulo para liberação de GnRH/LH. No entanto, é necessário um período prévio de isolamento sexual para obter-se este efeito (Moraes et al., 2002).

O início da atividade sexual, tanto em machos como em fêmeas, é de grande importância na exploração animal, principalmente no que se refere ao retorno econômico da atividade que somente inicia-se quando os animais se reproduzem e entram na fase produtiva. A puberdade da fêmea, desencadeada pelos efeitos hormonais, é dada pelo crescimento dos folículos, pela exteriorização do cio e pela ovulação (Sousa et al., 2008). A puberdade, ou seja, a idade da primeira ovulação, ocorre de 6 a 9 meses, quando as ovelhas atingem de 50 a 70% do peso adulto (Moraes, et al., 2002).

O pico pré-ovulatório de LH, foi responsável pela ovulação e pela luteinização do folículo, e subsequente formação do corpo lúteo. Com o desenvolvimento do corpo lúteo a concentração de P4 secretada por ele aumentou (Rubianes, 2000).

Segundo Leyva et al. (1998), a concentração plasmática de P4 cíclica elevouse no dia seguinte da ovulação (0,8 ng/mL), mas só se tornou significativa a partir do segundo dia (2,4 ± 0,3 ng/mL). A concentração de P4 e o diâmetro do corpo lúteo aumentaram até o sexto ou sétimo dia do ciclo estral (7,6 ± 0,4 ng/mL e 11,4 ± 0,2 mm, respectivamente); a partir daí, as duas variáveis ficaram inconstantes até o dia 10. Depois do dia 11, as duas medidas começaram a decrescer, mas o declínio de P4 foi mais acentuado, quando comparado com o diâmetro do corpo lúteo. Por outro lado segundo Ravindra et al., (1994) a concentração de P4 atingiu o pico no 10º dia após a ovulação.

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 oócitos podem permanecer viáveis por 10 a 25 horas, estes fecundados entram no útero aproximadamente 72 horas após a ovulação. A gestação dura 150 dias; a ovelha é placenta dependente, ou seja, até o 50°-70° dia a fonte de P4 é o corpo lúteo, depois a placenta torna-se fonte primária de P4. O puerpério que inclui involução uterina e restabelecimento da atividade ovariana tem duração de 27 dias (Jainudeen et al., 2004).

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).

Uma onda folicular foi definida como a emergência de um grupo de pequenos folículos antrais, com um ou dois folículos atingindo um diâmetro de 5 mm ou mais; o crescimento folicular ocorreu em padrão de ondas nos ovinos na estação de acasalamento (Evans et al., 2000) e na estação de anestro (Barrett et al., 2004). Estas ondas emergem com intervalos de 4 a 6 dias, sendo que houve uma interação entre os esteróides ovarianos e as gonadotrofinas responsáveis pela regulação da dinâmica folicular (Rubianes, 2000).

Evans et al. (2000) identificaram predominantemente ovelhas que apresentam duas ou três ondas foliculares durante o ciclo estral em ovelhas Suffolk e Texel. A emergência da segunda onda, ao que parece, só acontece após a atresia dos folículos da onda antecedente. A emergência da segunda onda folicular coincidiu com o término da fase estática do maior folículo da primeira onda, a dominância pôde ser verificada onde em cada onda folicular observada um folículo apresentou um maior crescimento em relação ao próximo folículo de maior diâmetro.

As características mais freqüentes das ondas foliculares segundo Rubianes e Menchaca (2003) são as seguintes: pelo menos um folículo atingiu o diâmetro ≥ 5 mm por onda; o maior folículo de cada onda cresceu por 5-7 dias, com uma taxa de crescimento de 1mm/dia; o diâmetro máximo do maior folículo diferiu entre ondas; à medida que a fase luteal avançou, a concentração plasmática de P4 elevou-se, facilitando a renovação dos folículos; os maiores folículos presentes nos ovários no dia da luteólise, foram aqueles que ovularam; na maioria dos ciclos com duas

ovulações, os folículos ovulatórios emergiram como parte da mesma onda folicular. Segundo Barrett et al. (2004), em alguns casos os folículos ovulatórios podem ter emergido de ondas foliculares diferentes.

MONITORAMENTO DE ESTRUTURAS OVARIANAS

Os ovários de ovelhas têm sido examinados com sucesso utilizando-se transdutor linear de 7,5 MHz transretal desenvolvido para exame de próstata em humanos. Permitindo 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).

Na visão de Tenório Filho (2003) a impossibilidade de manipulação dos ovários por via retal dificulta o monitoramento da dinâmica folicular. O uso do transdutor transretal, além de provocar desconforto ao animal, não produz imagens detalhadas, por isso preconiza-se a utilização de probe transvaginal.

Um estudo de Souza et al. (2006) teve como objetivo avaliar a morfometria das estruturas ovarianas em cabras da raça Saanen através da ultra-sonografia. Quarenta e oito horas após o estro os animais foram submetidos ao exame ultra-sonográfico para verificação da presença de corpos hemorrágicos para posterior comparação pela laparotomia. Concluíram que a ultra-sonografia foi um método eficaz já que a correlação entre o número de corpos hemorrágicos verificados por ultra-som e os identificados na laparotomia foi de 0,86.

Em um estudo de Viñoles et al. (2004) avaliando a acurácia da avaliação de estruturas do ovário por ultra-sonografia transretal em ovelhas foi observado que a sensibilidade do ultra-som foi menor para a presença de dois do que para presença de um corpo lúteo. Nas avaliações das dimensões de corpos hemorrágicos e de corpos lúteos em regressão os autores tiveram dificuldades devido à pouca ecogenicidade o que confundia com o estroma ovariano.

SINCRONIZAÇÃO/INDUÇÃO DE ESTRO

A sincronização de estros em ovinos é uma biotécnica reprodutiva que permite a concentração da inseminação e da parição em épocas desejáveis dentro dos sistemas de produção (Evans e Maxwell, 1987).

Em ovinos o estro pode ser eficientemente sincronizado por várias técnicas. Normalmente sincronização refere-se à concentração de animais em estro em intervalo de tempo restrito, durante a estação de acasalamento; e pode ser induzido de forma sincronizada em qualquer época do ano (Fonseca, 2005a).

O desenvolvimento dos tratamentos de sincronização de estro nos anos de 1960 facilitou o uso de técnicas de inseminação artificial em ovelhas e permitiu a concentração dos partos (Menchaca et al.,2004).

O sucesso dos programas de inseminação artificial está condicionado a um maior número de fêmeas em estro e que ovulem em sincronia em um curto período, principalmente em programas de inseminação artificial em tempo fixo. Portanto, para uma boa taxa de fertilidade após IATF é necessário que o tratamento de sincronização de estro proporcione um elevado grau de sincronia no que diz respeito ao momento do aparecimento do estro/ovulação.

Existem vários métodos para sincronizar o estro que podem ser classificados em duas categorias principais, os farmacológicos e os naturais (efeito macho) (Evans e Maxwell, 1990).

Porque a PGF2α só é efetiva em ovelhas com corpo lúteo ativo, o tratamento com P4 por 10-14 dias e uma injeção de gonadotrofina, usualmente eCG, ao retirar a P4 se tornou o método mais usado e versátil para sincronização de estro em ovelhas (Cline et al., 2001).

HORMÔNIOS UTILIZADOS EM PROTOCOLOS DE INDUÇÃO/SINCRONIZAÇÃO DE ESTRO

Prostaglandina F2α

Sua eficácia depende da funcionalidade do corpo lúteo, sendo mais eficaz nos dias 5 a 14 do ciclo estral. Quando administrada uma única vez a porcentagem de animais que apresentaram manifestações de estro dentro de 3 a 4 dias foi de 60-70%. Já quando são realizadas duas aplicações com intervalo de 9 a 12 dias, há

expectativa de que 100% dos animais apresentem estro. O intervalo entre a administração da PGF $_{2\alpha}$ e o início do estro tem sido bastante variado, devido ao estádio de desenvolvimento folicular encontrada quando a luteólise foi induzida (Rubianes, 2000).

As PGF2α têm ação como fator luteolítico que induz a regressão prematura do corpo lúteo por meio da interrupção da fase progestacional do ciclo estral, iniciando assim, novo ciclo (Herrera et al., 1990). As PGF2α utilizadas também na forma de análogos sintéticos, como D-Cloprostenol, servem para lisar os corpos lúteos que possam interferir na sincronização, durante a estação de monta, em ovelhas que estejam ciclando e apresentem um corpo lúteo funcional nos ovários (Moraes et al., 2002).

Baird e Scaramuzzi (1976), após utilização de um análogo sintético da prostaglandina como injeção única intramuscular, observaram que a regressão luteal foi seguida de uma elevação na concentração basal de LH e aumento da secreção de estradiol. Em cinco das seis ovelhas tratadas foi verificada uma descarga de LH com pico ocorrendo de 36-78 horas depois da injeção de PGF2α; a secreção de estradiol declinou nas 24 horas seguintes ao pico de LH.

Hackett e Robertson (1980) verificaram menor resposta (20%) quando utilizaram PGF2 α nos dias 2-3 do ciclo estral, mas, quando as doses eram aumentadas nestes dias, a resposta atingiu 100%. Concluindo que, no início do ciclo estral, o tecido luteal em formação foi mais resistente à luteólise provocada pela PGF2 α e, devido à meia-vida curta da PGF2 α , pequenas doses repetidas deste hormônio podem ter o mesmo efeito de uma única dose elevada.

Menchaca et al. (2004) obtiveram uma taxa de prenhez em ovelhas tratadas com duas doses de PGF2α de 37%, considerada baixa levando em consideração a alta taxa de sincronização. A explicação para tal foi a baixa condição corporal das ovelhas utilizadas no experimento. Em um estudo de Godfrey et al. (1999) foi observada taxa de prenhez em dois protocolos de sincronização e foi obtido 52,9% e 10% respectivamente para CIDR e PGF2α, quando as ovelhas foram inseminadas pelo método trans-cervical, mas quando foi utilizado monta natural não houve diferença (100 e 86% respectivamente para CIDR e PGF2α). Hackett et al. (1981) observaram 60% de fertilidade em ovelhas tratadas com PGF2α para sincronização do estro e expostas ao carneiro na monta natural.

Godfrey et al., (1999) mostraram que ovelhas podem ser sincronizadas usando qualquer um dos três protocolos (esponja intravaginal, CIDR e PGF2α), sem diferenças significantes na resposta da sincronização ou função luteal subseqüente; afirmaram também que as PGF2α são atualmente disponíveis para a sincronização do estro, mas a baixa taxa de concepção poderá não ser aceita pelos produtores.

A variabilidade entre ovelhas em relação ao tempo do início do estro limita o uso mais intensivo da PGF2α, principalmente quando se utiliza a IATF (Menchaca e Rubianes, 2004). Esta variabilidade se deve possivelmente ao diferente estágio ovariano entre os animais quando do início do tratamento.

A fertilidade de ovelhas induzidas a ovular pelo tratamento com PGF2α pode sofrer a influência de fatores que afetam o desenvolvimento do folículo, oócito e do embrião. As alterações nestes processos podem estar relacionadas a algumas mudanças observadas durante o ciclo estral induzido pela PGF2α, que inclui um atraso na formação do corpo lúteo, desenvolvimento tardio de blastocistos do dia 13 e um aumento na duração do ciclo estral (Cárdenas et al., 1993).

Progestágenos

A P4 geralmente é aplicada sob a forma de pessários vaginais contendo análogos sintéticos (MAP ou FAP), ou um dispositivo intravaginal impregnado com 0,3 g de P4 natural (CIDR, Schering-Plough).

Quando se suprime o tratamento com progestágeno, o estro aparece 2 a 3 dias depois; ao suprimir o tratamento a hipófise incrementa a liberação de gonadotrofinas, o que estimula o crescimento e subseqüente ovulação. Para a sincronização efetiva a duração do tratamento deve ser igual ou superior à vida do corpo lúteo (12 a 14 dias) (Evans e Maxwell, 1990).

Segundo Souza et al. (1994) o pico de LH em ovelhas ocorreu dentro de 4 a 8 horas do início do estro. O pico de LH após o tratamento com P4 e eCG aconteceu em 45 ± 0.9 h e a ovulação 66.0 ± 0.7 h após a retirada da esponja.

Segundo Moraes et al. (2002) esta técnica, aplicada na estação reprodutiva, apresentou um excelente nível de sincronização com uma taxa média de fertilidade do primeiro estro (60-65%).

Em protocolos tradicionais, progestágenos são utilizados por longos períodos, estes similares ao tempo de vida de um corpo lúteo cíclico. Estes se mostram

eficientes na sincronização do estro, porém com resultados de fertilidade variáveis (Rubianes, 2000).

O tratamento com P4 pode afetar a dinâmica folicular; no início do tratamento é esperado um efeito supraluteal, que pode provocar um aumento da renovação da população folicular, e no final poderia ocorrer um efeito subluteal que reduziria a velocidade da renovação da população folicular (Hamra et al., 1986). Como conseqüência, um folículo dominante persistente pode estar presente no ovário no final do tratamento e ovular após a retirada da P4. Em vacas, tratamentos com progestágenos por vários dias promovem o desenvolvimento de folículos persistentes que liberam oócitos que sofreram maturação prematura provavelmente levando a baixa fertilidade (Savio et al., 1993).

O tratamento longo com P4 (12 a 14 dias) é amplamente usado em pequenos ruminantes para indução e sincronização do estro. O resultado do tratamento mostra alta percentagem de animais em estro, mas baixa fertilidade quando comparadas ao estro natural (Robinson et al., 1970). Entretanto, Evans et al., (2001) não observaram diferenças na qualidade dos embriões colhidos e nas taxas de prenhez, quando compararam ovelhas induzidas a formar folículos persistentes com as que apresentavam folículos recrutados recentemente.

Gonadotrofina Coriônica Equina (eCG)

A eCG é um hormônio fundamental para indução de atividade ovariana em ovelhas, atua simulando a atividade dos hormônios FSH e LH e consegue provocar um desenvolvimento de folículos mesmo durante os períodos de inatividade hipofisária nesses animais.

O aumento do diâmetro do folículo dominante nos animais que recebem eCG ocorre pelos efeitos desta gonadotrofina no eixo hipotálamo-hipófise-ovário e pelas alterações nos mecanismos regulatórios intra-ovarianos, devido, principalmente, à sua meia-vida prolongada e pela sua atividade semelhante ao LH e ao FSH (Uribe - Velásquez et al., 2002).

Associação progestágenos e gonadotrofina coriônica equina

O eCG deve estar associado aos progestágenos para estimular a ovulação, não só na estação reprodutiva, como fora dela, uma vez que, na ausência deste não há manifestação de estros (Rubianes et al., 1998). Assim, Evans e Robinson (1980) constataram que o uso isolado de eCG, em altas doses, produziu uma resposta menos eficiente que quando o hormônio foi combinado com os progestágenos exógenos, observando neste caso melhor resposta na fertilidade. Além disso, os dados obtidos por Cardwell et al. (1998), indicaram que o início de estro e a ovulação se manifestaram mais rápido e com menor variação, quando usado a P4 combinada com a eCG.

A administração de eCG no momento da retirada da esponja, possivelmente diminuiu os efeitos negativos da P4 na dinâmica de crescimento folicular e ovulação; o crescimento do folículo dominante nos animais tratados foi significativamente maior que no grupo controle no estudo de Uribe-Velásquez (1999), concluindo que a sincronização do estro e ovulação em fêmeas ovinas usando progestágeno seguido de 500 UI de eCG, incrementaram a quantidade de folículos recrutados, além de aumentarem o diâmetro máximo e a taxa de crescimento dos folículos grandes na primeira onda de desenvolvimento folicular.

Evans e Maxwell (1987) preconizaram doses de 600 a 750 UI de eCG, após a retirada dos pessários vaginais impregnados com 50 mg de MAP, aos 13 dias para inseminação de ovelhas fora da estação reprodutiva e doses de 400-500 UI de eCG para fêmeas em estação reprodutiva (Evans e Maxwell, 1990).

Luz et al. (1989) utilizaram 91 ovelhas corriedale com estro sincronizado através do pessário vaginal que permaneceu por 13 dias. Estas foram divididas em quatro grupos no qual três dos quatro grupos utilizaram 400 UI de eCG de diferentes fontes e o quarto grupo utilizou 4 mL de solução salina em substituição ao eCG. Observaram que o grupo de ovelhas no qual não foi usado o eCG não houve prenhez enquanto os outros proporcionaram 57,1%; 50,0% e 46,6%, respectivamente. Concluíram que sua utilização foi indispensável na inseminação artificial, fora da estação de monta, para induzir a ovulação em ovelhas com estro sincronizado.

Dias et al. (2001) obtiveram 76,7% e 96,7% de estro com ovelhas que receberam 200 e 400 UI de eCG, respectivamente, apresentando maior percentual de estro, contra 34,6% das que não receberam eCG. As fêmeas que receberam eCG mostraram intervalo mais curto além de concentrarem o estro entre 36 e 48 h após o fim do tratamento. O tratamento sem o uso de eCG mostrou-se ineficiente para sincronizar o estro e induzir a ovulação de ovelhas deslanadas. Bons

resultados de fertilidade foram obtidos após sincronização do estro quando se utilizou de 200 a 400 UI de eCG.

Fonseca et al. (2005b) usaram dois protocolos de sincronização de estro em cabras, sendo T1 esponja contendo 60 mg de MAP permanecendo por 6 dias e aplicação de 200 UI de eCG e 22,5 μg de cloprostenol, em T2 usou os mesmos hormônios usados em T1 só que a esponja permaneceu por 9 dias. Observaram que ambos os tratamentos foram efetivos em induzir o estro. O intervalo do final do tratamento ao inicio do estro foi de 49,7± 15,7 horas. Concluíram que a redução do tratamento com progestágeno pode ser utilizada sem redução da reposta do estro. Corroborando os resultados Fonseca et al. (2007) usando o protocolo semelhante ao T2, no qual o progestágeno permanece por 9 dias e aplicação de 200 UI de eCG e 22,5 μg de cloprostenol, mostraram que o intervalo do fim do protocolo ao início do estro foi de 22,9 ± 12,3 horas, mas com um total de 90,7% animais em estro e 60,7% de taxa de prenhez.

OBJETIVOS:

OBJETIVO GERAL:

 Comparar o uso de PGF2α à associação de progesterona com eCG na sincronização estral em ovelhas da raça Santa Inês.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Comparar o efeito dos protocolos sobre a manifestação de estro;
- Comparar o efeito dos dois protocolos quanto ao tamanho do folículo ovulatório;
- Comparar a concentração sérica de progesterona no dia sete do ciclo estral nos dois protocolos utilizados.

HIPÓTESE:

O protocolo de sincronização de estro associando progesterona com gonadotrofina coriônica equina tem uma maior taxa de manifestação de estro, maior tamanho do folículo ovulatório, maior número de folículos ovulados que o protocolo utilizando duas doses de prostaglandina F2α.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

BAIRD, D.T.; McNEILLY, A.S. Gonadotrophic control of follicular development and function during the oestrus cycle of the ewe. **Journal Reproduction and Fertility Suppl**, v. 30, p. 1013-1025, 1981.

BAIRD, D.T., SCARAMUZZI, R.J., Changes in the secretion of ovarian steroid and pituitary luteinizing hormone in the peri-ovulatory period in the ewe: the effect of progesterone, **Journal Endocrinology**, v. 70(2): p.237-45, 1976.

BARRETT, D.M.W; BARTLEWSKI, P.M; BATISTA-ARTEAGA, M; SYMINGTON, A.; RAWLINGS, N.C., Ultrasound and endocrine evaluation of the ovarian response to a single dose of 500 UI of eCG following a 12 day treatment with progestogen-releasing intravaginal sponges in the breeding and nonbreeding seasons in ewes, **Theriogenology**, v. 61, p. 311-327, 2004.

CÁRDENAS, H.; McCLURE, K.E.; POPE, W.F. Luteal function and blastocyst development in ewes following treatment with PGF2α and GnRH. **Theriogenology**, v. 40, p. 856-872, 1993.

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

CLINE, M.A.; RALSTON, J.N.; SEALS, R.C.; LEWIS, G.S., Intervals from norgestomet withdrawal and injection of equine chorionic gonadotropin or P.G. 600 to estrus and ovulation in ewes. **Journal of Animal Science**, v. 79, p. 589-594, 2001.

DIAS, F.E.F.; JUNIOR, E.S.L.; VILLAROEL, A.B.S.; RONDINA, D.; FREITAS, V.J.F. Sincronização do estro, indução da ovulação e fertilidade de ovelhas deslanadas após tratamento hormonal com gonadotrofina coriônica eqüina. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.53, 5, p.618-623, 2001

DUGGAVATHI, R. BARTLEWSKI, P.M. BARRETT, D.M.W.; 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(2), p. 393-407, 2005.

EVANS, G.; MAXWELL, W.M.C., Salamon's artificial insemination of sheep and goats, Sydney, Butterworths, 1987, 194p.

EVANS, G., MAXWELL, W. M. C. Inseminación artificial de ovejas y cabras. Zaragoza: Acribia, 1990. 191p.

EVANS, G.; ROBINSON, T.J., The control of fertility in sheep: endocrine and ovarian responses to progestagen-PMSG treatment in the breeding season and in anoestrus, **Journal of Agricultural Science**, v.94, p. 69-88, 1980.

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

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

FONSECA, J.F., Estratégias para o controle do ciclo estral e superovulação em ovinos e caprinos, Goiânia, GO, **Anais do Congresso Brasileiro de Reprodução Animal**, p.16, 2005a.

FONSECA, J.F.; BRUSCHI, J.H.; SANTOS, I.C.C.; VIANA, J.H.M.; MAGALHÃES, A.C.M., Induction of estrus in non-lactating dairy goats with different estrous synchrony protocols, **Animal Reproduction Science**, v. 85 (1-2), p. 117-14, 2005b.

FONSECA, J.F.; TORRES, C.A.A.; SANTOS, A.D.F.; MAFFILI, V.V.; AMORIM, L.S.; MORAES, E.A., Progesterone and behavioral features when estrous is induced in Alpine goats, **Animal Reproduction Science**, v. 103 (3-4), p.-366-373, 2007.

GONZALEZ-STAGNARO, C.; RAMON, J.P., Influencia de la condición corporal y del efecto macho sobre el comportamiento y eficiência reproductiva em ovejas y cabaras tropicales. XXIII Jornadas Producion Animal **Revista ITEA**, v. 87, p.84-89, 1991.

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

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.

HACKETT, A.J., ROBERTSON, H.A. Effect of dose and time of injection of prostaglandin F2α in cycling ewes. **Theriogenology**, v.13, p.347-351, 1980.

HACKETT, A.J.; ROBERTSON, H.A.; WOLYNETZ, M.S., Effects of prostaglandin F2α and pregnant mare's serum gonadotropin (PMSG) on the reproductive performance of fluorogestone acetate-PMSG-treated ewes., **Journal of Animal Science**, v.53 (1), 1981.

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

HERRERA, H.L.; FELDMAN, S. D.; ZARCO, Q. L. Evaluacion del efecto luteolítico de la prostaglandina $F_2\alpha$ em diferentes días del ciclo estral de la borrega. **Veterinaria México**, v.21, p.143-147, 1990.

HINDO, E., Os pequenos ruminantes são o futuro, O Berro, v 96, p. 70-74, 2006.

JAINUDEEN, M.R.; WAHID, H.; HAFEZ, E.S.E. Ovinos e caprinos In: **HAFEZ Reprodução Animal,** p. 173-182, 2004.

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

KARSCH, F.J.; BOWEN, J.M.; CARATY, A.; EVANS, N.P.; MOENTER, S.M. Gonadotropin- releasing hormone requirements for ovulation. **Biology Reproduction**, v. 56, p. 303-309, 1997

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

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 Animal Science**, v. 70, p. 3615-3626, 1992.

LUZ, S.L.N.; NEVES, J.P.; OLIVEIRA, J.F.C., Influência de várias preparações de PMSG na fecundidade de ovelhas Corriedale inseminadas, via intra-uterina, por laparoscopia, fora da estação reprodutiva. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 13(1), p. 15-20, 1989.

MENCHACA, A.; MILLER, V.; GIL, J.; LACA, M.; RUBIANES, E., Prostaglandin F2α treatment associated with timed artificial insemination in ewes, **Reproduction Domestic Animal**, v. 39, p. 352-355, 2004.

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

PANT, H.C.; HOPKINSON, C.R.N.; FITZPATRICK, R.J. Concentrations of oestradiol, progesterone, luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone in the jugular venous plasma of ewes during the oestrus cycle. **Journal Endocrinology**, v. 773, p. 247-255, 1977.

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

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.

ROBINSON, T. J. et al. Fertility following synchronization of oestrus in the sheep with intravaginal sponges. I. Effects of vaginal douche, supplementary steroids, time of insemination, and numbers and dilution of spermatozoa. **Australian Journal Agriculture Research**. v. 21, p. 767-781, 1970.

RUBIANES, E.; CASTRO, T.; KMAID, S., Estrus response after a short progesterone priming in seasonally anestrous goats, **Theriogenology**, v.49, p. 356-362, 1998.

RUBIANES, E. Nociones básicas de fisiologia reprodutiva em cabras y ovejas. In: **Simpósio sobre controle farmacológico do ciclo estral em ruminantes**, 2000. São Paulo - SP Anais. São Paulo - SP: FMVZ-USP. 2000.

RUBIANES, E.; MENCHACA, A., The pattern and manipulation of ovarian follicular growth in goats, **Animal Reproduction Science**, v. 78, p. 271-287, 2003.

SÁ, C.O.; SÁ, J.L., Estacionalidade reprodutiva em ovinos, <u>www.farmpoint</u>, acessado em 11/01/2008.

SALLES, H.O., Condição corporal e resposta superovulatória em ovelhas da raça Santa Inês. In: **Simpósio de recursos genéticos para a América** 3, Londrina, p.471, 2001.

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

SILVA, A.E.D. et al. Efeito do manejo nutricional sobre a taxa de ovulação e folículos no decorrer do ano, em ovinos deslanados no Nordeste do Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v 22 (6), p. 635-645, 1987.

SOUSA, W.H., LÔBO, R.N.B., MORAIS, O.R., **Ovinos Santa Inês: Estado da Arte e Perspectivas**, <u>www.emepa.org.br</u>, acessado em 11/01/2008.

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

SOUZA, F.C.; PINHEIRO, E.S.P.; RONDINA, D.; FREITAS, V.J.F; TEIXEIRA, D.I.A., Morfometria das estruturas ovarianas em cabras Saanen doadoras de embriões pelo uso da ultrasonografia em tempo real, **Acta Scientiae Veterinariae** v. 34 (supl 1), p. 291, 2006.

SOUZA, D.A.; Mercado doméstico da carne ovina: qual a situação e para onde estamos indo?, www.farmpoint.com.br, 1-6, acessado em 11/01/2008.

TENÓRIO FILHO, F, **Dinâmica folicular ovariana da cabra avaliada por vias trans-retal e trans-vaginal**, Dissertação de mestrado Universidade Federal Rural de Pernambuco, 114 p., 2003.

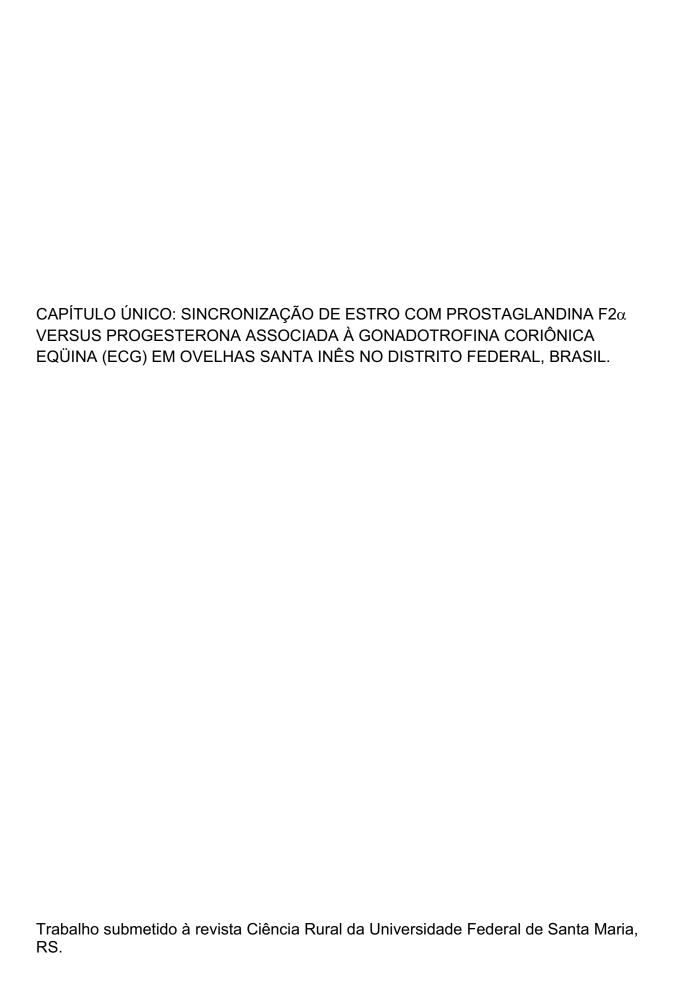
URIBE- VELÁSQUEZ, L.F., Avaliação ultra-sonográfica da dinâmica folicular e endocrinologia reprodutiva em ovelhas Bergamácia durante o ciclo estral. Tese de Doutorado, Botucatu, SP, 114p.,1999.

URIBE- VELÁSQUEZ, L.F.; OBA, E.; LARA-HERRERA, L.C.; SOUZA, M.I.L; VILLA-VELÁSQUEZ, H.; TRINCA, L.A.; FERNANDES, C.A.C. Respostas Endócrinas e Ovarianas Associadas com o Folículo Dominante da Primeira Onda Folicular em Ovelhas Sincronizadas com CIDR ou PGF2α. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31 (2), p. 944-953, 2002.

VIÑOLES, C.; MEIKLE, A.; FORSBERG, M., Accuracy of evaluation of ovarian structures by transrectal ultrasonography in ewes, **Animal Reproduction Science**, v. 80 (1-2), p. 69-79, 2004.

www.arcoovinos.com.br, acessado em 18/02/2008.

www.ibge.org.br, acessado em 08/02/2008.



SINCRONIZAÇÃO DE ESTRO COM PROSTAGLANDINA $F2\alpha$ VERSUS PROGESTERONA ASSOCIADA À GONADOTROFINA CORIÔNICA EQÜINA (ECG) EM OVELHAS SANTA INÊS NO DISTRITO FEDERAL, BRASIL.

Bianca Damiani Marques Silva¹, Roberto Sartori¹, Thiago Antonio de Souza Nascimento Silva¹, Déborah Mendes Máximo Cardozo¹, Karina Silva Fiorillo¹, Marcos Antonio Lemos de Oliveira³, Concepta McManus¹, Jairo Pereira Neves^{1.}

RESUMO GERAL

Este estudo teve por objetivo comparar o uso de PGF2a à associação de progesterona (P4) com gonadotrofina coriônica equina (eCG) na sincronização do estro em ovelhas da raça Santa Inês. Foram utilizadas 38 fêmeas ovinas divididas em dois grupos aleatoriamente e submetidas a dois protocolos de sincronização de estro: protocolo PGF2α (duas doses de 0,530 mg de PGF2α com nove dias de intervalo) protocolo P4+eCG (pessário intravaginal medroxiprogesterona por 12 dias e no momento da remoção do dispositivo aplicação de 250 UI de eCG). As ovelhas foram submetidas ao "cross-over", com intervalo de dois ciclos estrais. Procedeu-se uma ultra-sonografia transretal no último dia do protocolo para avaliar diâmetro do maior e do segundo maior folículo e foi coletado sangue no dia sete do ciclo estral para avaliação da concentração sérica de P4. Exame laparoscópico foi realizado no dia 11 após o fim dos protocolos para contagem de corpos lúteos. Para os parâmetros taxa de sincronização, diâmetro do maior e do segundo maior folículo, período do final do protocolo ao estro e taxa de ovulação não foram observadas diferenças entre os protocolos. Foi observado que o protocolo P4+eCG produziu concentrações séricas de P4 maiores do que o protocolo PGF2α (3,9 e 2,8 ng/mL, respectivamente, P<0,05). Nas condições do presente estudo, embora o protocolo P4+eCG tenha apresentado superioridade em relação à concentração sérica de P4, o protocolo PGF2α foi tão eficiente em sincronizar o estro quanto o P4+eCG.

¹ Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília;

² Cenargen – Embrapa, Brasília.

³ Universidade Federal Rural de Pernambuco-UFRPE, Recife, PE.

Palavras chaves: ovino, taxa de sincronização, diâmetro folicular, progesterona sérica.

ESTRUS SYNCHRONIZATION WITH PROSTAGLANDIN $F2\alpha$ COMPARED TO PROGESTERONE FOLLOWED BY EQUINE CHORIONIC GONADOTROPIN (ECG) IN SANTA INÊS EWES REARED IN THE FEDERAL DISTRICT.

ABSTRACT

The aim of this study was to compare two protocols of estrus synchronization in Santa Inês ewes. Thirty-eight ewes were randomly divided into two groups and treated with two protocols of estrus synchronization: protocol PGF2a (two doses of 0.530 mg of PGF2α, nine days apart) and protocol P4+eCG (intravaginal sponge impregnated with medroxyprogesterone acetate, for 12 days and then an injection of 250 IU of eCG). The experiment was in a cross-over design, two estrous cycles apart. On the final day of protocol a transrectal ultrasound examination was carried out to measure the size of the largest and second largest ovarian follicles and on day 7 of estrous cycle blood was collected to measure serum P4 concentration. Laparoscopy was carried out on day 11 after the end of protocols to count corpora lutea. Synchronization rate, size of largest and second largest ovarian follicles, hours between the end of the protocol to estrus and ovulation rate did not differ between protocols. Ewes synchronized with P4+eCG had greater serum P4 concentrations than ewes synchronized with PGF2α (3.9 and 2.8 ng/mL, respectively, P<0.05). Based on the results, it may be concluded that although the protocol P4+eCG was superior in inducing higher serum concentration of P4, the protocol PGF2α was equivalent regarding estrus synchronization.

Key words: sheep, synchronization rate, follicle size, serum progesterone.

INTRODUÇÃO

A ovinocultura é uma atividade em crescimento com um incremento no número de cabeças na região Centro-Oeste (8325 no ano de 2000 para 19000 no ano de 2006) segundo dados do IBGE (2006). A atividade pecuarista está com interesse nessa espécie para criação, produção e consumo, principalmente porque as carnes ovinas oferecidas têm sido de animais novos e através de cruzamentos industriais que proporcionam carne mais saborosa. Baseado no volume crescente de abates, na forte demanda do mercado doméstico e no volume das importações, há evidencias que a produção e o consumo brasileiros de carne ovina têm aumentado (SOUZA, 2008).

Com a diminuição do tamanho das propriedades em decorrência da reforma agrária e com a diminuição de áreas de pastagens pelo avanço da agricultura mecanizada, cada vez mais a produção de carne terá que se concentrar em animais que ocupem pouco espaço, comam menos e produzam mais. O despertar do interesse pela atividade ovino-caprinocultura, também se explica pela rapidez do ciclo produtivo, que é de quase 2,5 vezes menor que dos bovinos (HINDO, 2006).

Das raças criadas no país, destaca-se a Santa Inês, uma raça deslanada, de grande porte, proveniente do Nordeste brasileiro e que se adapta facilmente a qualquer sistema de criação e pastagem. Além disso, possui uma boa conformação de carcaça e se destaca por ser bastante fértil, prolífica, precoce, rústica e resistente a parasitas gastrointestinais. Essa raça vem adquirindo grande importância na ovinocultura moderna, sendo utilizada tanto pura quanto para cruzamentos industriais.

A adaptabilidade da raça Santa Inês é uma característica importante quando se trata de Brasil, pois se sabe que é um país de dimensões continentais e possui regiões com diversas características e climas diferentes, e essas podem alterar na ciclicidade dos animais. Sabe-se também que a estacionalidade reprodutiva tem muitas influências como fotoperíodo, nutrição, idade, raça entre outras. Destaca-se que a escolha de raças adequadas às condições ambientais locais é um dos fatores preponderantes para o sucesso de um sistema de criação economicamente viável. Portanto, é de fundamental importância o estudo da raça Santa Inês na região do Distrito Federal para se ter maior conhecimento do rendimento desta.

A sincronização de estro em ovinos é uma biotécnica reprodutiva que permite a concentração da inseminação e da parição em épocas desejáveis dentro dos sistemas de produção (EVANS & MAXWELL, 1987). Essa técnica tem sido utilizada em pequenos ruminantes pelo uso de esponjas intravaginais impregnadas com progestágenos, tais como acetato de fluorogestona (FGA) e acetato de medroxiprogesterona (MAP), prostaglandina F2α (PGF2α), gonadotrofina coriônica eqüina (eCG), implante intravaginal de progesterona (P4; CIDR), consorciados ou não (DIAS et al., 2001).

O protocolo mais utilizado é a associação de P4 com eCG, pois pode ser utilizado tanto na estação reprodutiva quanto fora dela estimulando a ovulação (EVANS & ROBINSON, 1980, EVANS & MAXWELL, 1987; RUBIANES et al., 1998). Os protocolos desenvolvidos recomendam manter o dispositivo vaginal de P4 por períodos de 12 a 14 dias. Esses protocolos resultam em altas taxas de indução de cios nos animais tratados, porém com baixa fertilidade. Isso ocorre porque o tempo de manutenção do dispositivo gera um excessivo período de crescimento do folículo e envelhecimento do ovócito. Além disso, o uso excessivo de hormônios para sincronização de estro não tem sido muito recomendado pelo receio de resíduo desses na carne que será consumida.

Como alternativa para a sincronização de estro um protocolo à base de PGF2α pode ser utilizado por induzir a regressão prematura do corpo lúteo por meio da interrupção da fase progestacional do ciclo estral, iniciando, assim, um novo ciclo (HERRERA et al., 1990). O protocolo utilizando duas doses de PGF2α é uma alternativa ao produtor que quer implementar a sincronização de estro na propriedade como uma forma de aumentar a eficiência reprodutiva e proporcionar a redução nos custos com outros manejos, ex: sanitários, por concentrar os lotes com as mesmas exigências em um mesmo período e por reduzir os custos com mão de obra.

O presente estudo objetivou comparar o protocolo de sincronização de estro à base de PGF2α ao protocolo com MAP associada à eCG.

MATERIAL E MÉTODOS:

O estudo foi realizado na Fazenda Água Limpa da UnB, situada em Brasília, DF, localizada a 15°46' de latitude Sul e a 47°55' de longitude Oeste a uma altitude

de 1171 m, de clima tropical, no período de Julho a Outubro de 2007, ou seja, na contra-estação reprodutiva.

Foram utilizadas 38 fêmeas ovinas não gestantes e não lactantes da raça Santa Inês, examinadas quanto ao estado clínico geral, sanitário e reprodutivo, com um padrão de escore corporal entre 3 e 4, na escala de 1 a 5 (WHITE & RUSSEL, 1984). As ovelhas foram inicialmente avaliadas quanto à ciclicidade estral e manifestação do estro mediante a utilização de um macho vasectomizado (rufião). Os animais foram mantidos em sistema intensivo, recebendo água e sal mineral à vontade e silagem de milho. Antes do início do experimento, os animais passaram por uma fase de adaptação, onde, todos foram mantidos juntos por 45 dias com o objetivo de proporcionar condições de adaptabilidade ambiental e o mesmo nível nutricional.

Em uma primeira etapa, os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos e submetidos a dois protocolos de sincronização (o primeiro dia do protocolo foi denominado D0). No protocolo PGF2α foram aplicadas duas doses de PGF2α IM (0,530 mg de cloprostenol, Ciosin; Schering-Plough, São Paulo) com intervalo de nove dias (D0 e D9) e no protocolo P4+eCG utilizaram-se pessários vaginais (BIOREP, UFSM, RS) (D0) contendo 50 mg de MAP inseridos na porção cranial da vagina através de um aplicador específico para fêmeas ovinas, permanecendo por 12 dias. No momento da retirada dos pessários (D12) as ovelhas receberam 250 UI de eCG im (Novormon; Schering-Plough, São Paulo). Ao fim do protocolo as ovelhas foram mantidas na presença de um macho vasectomizado, previamente testado, pintado com uma mistura de óleo e tinta em pó por todo o peito para marcação das fêmeas em estro. O macho vasectomizado permaneceu com as 38 fêmeas até a última manifestação de estro. As ovelhas foram observadas duas vezes ao dia (7:00 e 19:00 h) por um período de 60 min em cada observação e consideradas em estro quando se observava o rufião montando e a fêmea permanecendo parada e/ou quando havia tinta na região lombar da fêmea.

No D9 do protocolo PGF2α e no D12 do protocolo P4+eCG os ovários foram avaliados por ultra-sonografia trans-retal com auxílio da técnica de laparoscopia, na qual as ovelhas foram preparadas para laparoscopia ficando previamente em jejum alimentar de 24 h e hídrico de 12 h, e posteriormente posicionadas em uma cama cirúrgica em decúbito dorsal, ficando com a cabeça inclinada para baixo formando um ângulo de 45°. Foram feitas tricotomia e anti-sepsia do abdômen e nos locais

onde foram inseridos os trocáteres foram infiltrados 5,0 mL de lidocaína a 2,0%. A cavidade abdominal foi distendida com dióxido de carbono e com o laparoscópio (7,5 mm e 30° Storz) foi visualizado o útero e feita apreensão dos ovários com pinça atraumática. Ao mesmo tempo, foi injetado carboximeticelulose com auxílio de uma seringa de 20 mL no reto e introduzido um transdutor linear bifrequencial (6,0 e 8,0 MHz) do aparelho de ultra-som Falco 100 (Pie Medical, Nutricell, São Paulo). O transdutor foi acoplado a um cano de pvc para facilitar o seu manuseio no reto dos animais. As imagens foram obtidas na freqüência de 8,0 MHz. Ao serem visualizadas, as imagens ovarianas foram congeladas para a mensuração dos dois maiores folículos nos ovários.

Logo após o procedimento, o dióxido de carbono foi retirado por pressão abdominal assim como o transdutor e os trocáteres. Os locais de punção receberam oxitetraciclina em forma de aerossol e pomada cicatrizante. As ovelhas foram retiradas da cama cirúrgica e encaminhadas a um piquete provido de água e alimento.

Após 11 d (D20, protocolo PGF2α e D23, protocolo P4+eCG) do final do protocolo, os animais foram submetidos à técnica de laparoscopia, conforme descrito anteriormente, para avaliação e contagem dos corpos lúteos.

Coletas de sangue foram realizadas para determinação sorológica da concentração de P4 sete d após a observação do estro. O sangue foi coletado por punção da veia jugular, em tubos a vácuo que foram acondicionados a 5°C até a centrifugação, no dia seguinte a coleta. Logo após, o soro foi aspirado e estocado em tubos eppendorf a -20°C até a análise. As concentrações séricas de P4 foram determinadas pela técnica de radioimunoensaio (RIA) utilizando kits comerciais (Coat-a-count, DPC, Diagnostic Products Co, Los Angeles, CA, USA) e seguindo as recomendações do fabricante. O coeficiente de variação intra-ensaio foi de 4,6%. Este ensaio foi realizado no laboratório de Reprodução Animal da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

Na segunda etapa os dois protocolos de sincronização de estro foram alternados nas ovelhas caracterizando um modelo *"cross-over"*, com um descanso de dois ciclos estrais entre o fim de um protocolo e o início de outro.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

As variáveis analisadas foram testadas quanto à sua normalidade e homocedasticia, através do teste de Lilliefors e Cochran, respectivamente. As variáveis que apresentaram distribuição normal e homocedasticia (concentração sérica de P4) foram analisadas pelo teste t pareado. As demais não apresentaram distribuição normal e, portanto, foram analisadas pelo teste não paramétrico de Wilcoxon. As variáveis binomiais foram comparadas pelo teste Qui-quadrado. Para a discussão, utilizou-se o grau de significância de P ≤ 0,05.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as ovelhas utilizadas no experimento foram detectadas em estro após a utilização de ambos os protocolos de sincronização (Tabela 1). No trabalho de MENCHACA et al. (2004) foi observado comportamento de estro dentro de 72 horas após a segunda dose de PGF2α em 93,9% das fêmeas multíparas e em 82,4% das nulíparas. GODFREY et al. (1997) observaram que dentro de três dias 71,4% das fêmeas entraram em estro após a segunda aplicação de PGF2α. RODRIGUES et al. (2004) estudando diferentes doses de eCG após a retirada do pessário vaginal em ovelhas deslanadas observaram 100% de manifestação de estro nas ovelhas com dose de 200 UI de eCG. Resultado semelhante foi observado por AINSWORTH & WOLYNETZ (1982) no qual em 96% das ovelhas tratadas com P4+eCG, foi observado o estro. DIAS et al. (2001) obtiveram 76,7% de ovelhas em estro após aplicação de 200 UI de eCG. Essa maior taxa de detecção de estro do presente estudo, em relação a alguns dos trabalhos citados acima, pode ser devido à introdução de um macho no mesmo dia do final dos protocolos, além da excelente condição corporal dos animais. Segundo YILDIZ et al. (2003) o estado nutricional das ovelhas influencia a secreção de LH, inclusive aparentemente mais do que a introdução do macho ou seu tempo de introdução depois da segunda aplicação de PGF2a. As medidas de escore de condição corporal refletem o grau e armazenamento de energia do animal e estão relacionadas à eficiência reprodutiva, taxa de mortalidade das crias e aos melhores resultados em programas de sincronização de estro.

Quando se trata do período de tempo entre o fim dos protocolos ao estro não houve diferença (P>0,05) entre os tratamentos PGF2α e P4+eCG (Tabela 1), apesar de GREYLING & BRINK (1987) terem afirmado que o uso de eCG associado a progestágenos reduz o intervalo entre a remoção do implante ao estro. Além disso, EVANS & ROBINSON (1980) observaram correlação negativa entre a dose de eCG utilizada e o tempo para manifestação de estro após o tratamento, com um decréscimo de 14 h ao utilizar doses maiores (0-1600 UI de eCG). Quando utilizaram 200 UI observaram estro em ovelhas na contra-estação com 48 h do fim do tratamento. Pode-se ver nos estudos de GODFREY e colaboradores uma contradição em relação às horas até a manifestação do estro depois da segunda dose de PGF2a. Num primeiro trabalho os autores observaram 69,6 horas (GODFREY et al., 1997), similar aos resultados obtidos no presente estudo, e num segundo trabalho observaram 31,6 horas (GODFREY et al., 1999) apesar de terem utilizado o mesmo protocolo. Esse contraste pode ser devido ao diferente estágio de desenvolvimento folicular em que as ovelhas se encontravam no momento do tratamento (RUBIANES, 2000).

Tabela 1. Manifestação de estro, período entre o final do protocolo ao estro, diâmetro do maior folículo e do segundo maior folículo, ovelhas com CL ao final do protocolo, média de folículos ovulados e concentração sérica de P4 no dia sete do ciclo estral nos protocolos de sincronização PGF2 α (duas injeções de PGF2 α com nove dias de intervalo, n = 38) e P4+eCG (implante intravaginal de MAP mantido por 12 dias e 250 UI de eCG foram aplicadas no momento da remoção do implante, n = 38) em ovelhas da raça Santa Inês (porcentagem ou média \pm EP).

	PGF2α	P4+eCG
Ovelhas em estro; % (n/n)	100,0 (38/38)	100,0 (38/38)
Tempo entre final do protocolo ao estro; h	$66,0\pm2,5$	67,3 ±2,8
Diâmetro do maior folículo; mm	$\textbf{3,5} \pm \textbf{0,2}$	$3,1\pm0,2$
Diâmetro do segundo maior folículo; mm	$\textbf{2,4} \pm \textbf{0,2}$	$2,2\pm0,2$
Ovelhas com CL no final do protocolo, %	79,0 ^a	7,9 ^b
Média de folículos ovulados; n	$\textbf{1,5} \pm \textbf{0,1}$	$1,7\pm0,2$
Concentração sérica de P4, n	2.8 ± 0.1^a	3.9 ± 0.1^b

^{a,b}Diferença entre tratamentos (P < 0,05).

MENCHACA et al. (2004) com aplicações de duas doses de análogos da PGF2α dadas com sete d de intervalo observaram uma taxa de sincronização boa com 80% das ovelhas manifestando estro entre 25 e 48 horas do tratamento, mostrando uma manifestação de estro mais cedo do que se pôde observar no presente estudo no qual a maior manifestação de estro ocorreu entre 37 e 72 horas (Figura 1 e Tabela 2). Essa diferença de resultados entre os experimentos pode ter sido, pelo menos parcialmente, devido ao intervalo de 12 h entre as observações de estro em nosso estudo e não observação constante, ou seja, 24 h ao dia.

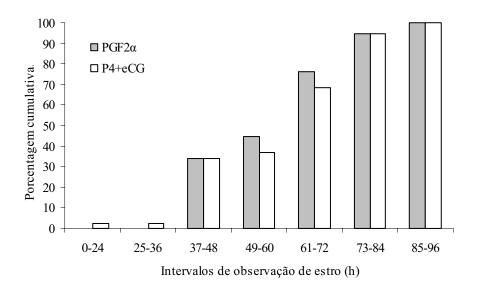


Figura 1: Dados acumulados de manifestação de estro nos intervalos de observação a cada 12 horas a partir do final dos protocolos PGF2α (duas injeções de PGF2α com nove dias de intervalo, n = 38) e protocolo P4+eCG (implante intravaginal de P4 foi mantido por 12 dias e 250 UI de eCG foram aplicadas no momento da remoção do implante, n = 38), mostrando o agrupamento da manifestação de estro em cada intervalo até o fim da observação (porcentagem).

Os resultados apresentados na tabela 2 também demonstram uma tendência de um número maior de fêmeas aceitando monta no período noturno (nos intervalos 37 a 48 h e 61 a 72 h). Observações desse tipo, ou seja, um possível efeito de ritmo circadiano no comportamento estral, foram pouco relatadas na literatura.

Tabela 2: Incidência de ovelhas marcadas pelo rufião no tratamento com PGF2α (duas injeções de PGF2α com nove dias de intervalo, n = 38) ou P4+eCG (implante intravaginal de P4 foi mantido por 12 dias e 250 UI de eCG foram aplicadas no momento da remoção do implante, n = 38), nos intervalos de observação de estro a cada 12 horas a partir do final dos protocolos (porcentagem).

		Intervalos de observação de estro (h)							
	-	0-24	25-36	37-48	49-60	61-72	73-84	85-96	
PGF2α;	%	0	0	34,2	10,5	31,6	18,4	5,3	
(n/n)		(0/38)	(0/38)	(13/38)	(4/38)	(12/38)	(7/38)	(2/38)	
P4+eCG;	%	2,6	0	31,6	2,6	31,6	26,3	5,3	
(n/n)		(1/38)	(0/38)	(12/38)	(1/38)	(12/38)	(10/38)	(2/38)	

A média do diâmetro do maior folículo e do segundo maior folículo observada ao exame ultra-sonográfico ao fim do tratamento não diferiu entre os protocolos (P > 0,05) (Tabela 1). CÁRDENAS et al. (2004) observaram folículos pré-ovulatórios de 7,6 mm após administração de PGF2α e GnRH. LOPEZ-SEBASTIAN et al. (1997) avaliando a dinâmica folicular em ovelhas Merino observaram os tamanhos dos dois maiores folículos nos ovários. O maior folículo permaneceu com tamanho constante nos últimos sete dias do ciclo estral (5,1 a 5,6 mm), mas aumentou para 6,6 mm no dia 0 (dia da manifestação de estro), enquanto o segundo maior folículo permaneceu com tamanho 3,9 mm. URIBE-VELÁSQUEZ et al. (2002) observaram diâmetro máximo de 4,3 mm do folículo, no dia da ovulação, para ovelhas tratadas com duas doses de PGF2a com intervalo de 9 dias e 5,4 mm para ovelhas tratadas com P4+eCG. Observaram também que o crescimento do folículo dominante nos animais tratados com P4+eCG foi maior que nos tratados com PGF2α, atribuindo este resultado ao uso da eCG associado a P4. Neste trabalho não foi observada diferença entre os protocolos, provavelmente porque as medições foram realizadas ao fim dos protocolos não havendo tempo de ação da eCG. O presente estudo mostrou diâmetros foliculares diferentes dos estudos citados anteriormente. Isso deve ter sido causado porque os folículos foram medidos pelo menos dois dias antes das ovelhas manifestarem estro, diferente dos outros estudos em que foi medido no dia da ovulação.

Ao exame ultra-sonográfico realizado no último dia de tratamento hormonal dos protocolos, foi observado que em 79,0% das ovelhas do grupo PGF2α e em apenas 7,9% daquelas do grupo P4+eCG havia corpo lúteo presente em pelo menos um dos ovários. Esse resultado já era esperado, pois ao avaliar a dinâmica do protocolo P4+eCG a P4 permanece tempo o suficiente para haver luteólise (12 dias). Já o próprio princípio do protocolo PGF2α baseia-se na presença de um corpo lúteo maduro no momento da segunda aplicação do medicamento, para que o programa de sincronização seja eficiente.

Independentemente do tratamento utilizado neste estudo obteve-se uma alta taxa de folículos ovulados, na qual 100% das ovelhas submetidas aos tratamentos com PGF2α e com P4+eCG ovularam pelo menos um folículo. Observando a média de folículos ovulados entre os protocolos não houve diferença entre o protocolo PGF2α e o protocolo P4+eCG (Tabela 1). Resultados semelhantes foram relatados por RODRIGUES et al. (2004) em ovelhas deslanadas, cuja taxa ovulatória foi de 1,4 ± 0,6 com a dose 200 UI de eCG. Esses autores afirmaram que ovelhas deslanadas de clima tropical necessitam de doses menores para os trabalhos de sincronização de estro. Já DIAS et al. (2001) obtiveram 73,3% de ovelhas com ovulação utilizando a mesma dose de 200 UI de eCG. Também não foi observada diferença entre a média de folículos ovulados no ovário direito (0,79) e no esquerdo (0,78) em ambos os protocolos.

Para a concentração sérica de P4 no dia sete do ciclo estral foi observada uma superioridade do protocolo P4+eCG em relação ao PGF2α (Tabela 1). Esse resultado foi semelhante ao apresentado por URIBE-VELÁSQUEZ et al.(2002) em ovelhas Bergamácia utilizando tratamentos com PGF2α (aproximadamente, 4,0 ng/mL) e P4+eCG (aproximadamente 6,0 ng/mL). Resultado semelhante também foi apresentado por EVANS & ROBINSON (1980) que obtiveram concentração de P4 no dia seis do ciclo estral de 3,3 ± 0,2 ng/mL após remoção do implante de P4 e aplicação de eCG, mas diferente de GODFREY et al. (1997) que mediram a concentração de P4 no dia 10 depois da sincronização de estro e não detectaram diferença entre CIDR (10,8 ng/mL) e PGF2α (10,4 ng/mL). Esse estudo entretanto, não utilizou eCG em associação ao implante intravaginal de P4.

EVANS & ROBINSON (1980) demonstraram que a eCG pode superestimular os folículos ovarianos resultando em corpos lúteos de maior diâmetro e conseqüentemente aumentando a concentração circulante de P4. Além disso, a eCG tem meia vida prolongada (Mapletoft et al., 2002) promovendo um efeito estimulatório no corpo lúteo recém formado. Concentração circulante elevada de P4 nos primeiros dias da fase luteal na ovelha é importante para a expressão de diversos fatores de crescimento, principalmente fator de crescimento semelhante à insulina (IGF), nas secreções uterinas e dos ovidutos (OSGERBY et al., 1999), crucial para o desenvolvimento embrionário. Apesar disso, no presente estudo, não é possível afirmar que esse aumento de P4 circulante induzido pelo protocolo P4+eCG estaria correlacionado com maiores taxas de concepção, pois o experimento não foi delineado para testar essa hipótese.

Pelo fato de ambos os protocolos terem sido eficientes em sincronizar o estro nas ovelhas do presente estudo, cria-se uma perspectiva atraente do uso em maior escala do protocolo PGF2α por ser um protocolo de menor custo (entre 30 e 60% do custo em relação ao protocolo P4+eCG). Apesar de estudos mostrarem que o protocolo com PGF2α pode afetar o transporte espermático interferindo na taxa de concepção (HAWK, 1973) outros estudos mostraram resultados satisfatórios e semelhantes comparando protocolos com P4 versus PGF2α, como o estudo de GODFREY et al. (1997) que não observaram diferença (100% e 86%, respectivamente) na taxa de prenhez entre os tratamentos.

Este estudo foi realizado na contra-estação reprodutiva (Julho a Outubro) e os meses em que as ovelhas foram estudadas foram meses de seca na qual não havia pastagem para os animais se alimentarem. Por isso foram mantidos em confinamento, o que pode ter contribuído com o fato do fotoperíodo não ter interferido nos resultados. Se isso fosse o caso, os animais não teriam respondido ao protocolo com PGF2α. Além disso, GODFREY et al. (1997) mostraram que o estro sincronizado com PGF2α ou com P4 pode ser feito com sucesso em ovelhas nos trópicos em diferentes épocas do ano. O fotoperíodo no local (Ilhas Virgens) flutua duas h no ano e não parece ser o suficiente para influenciar a ciclicidade estral nas ovelhas, apesar de que um estudo conduzido por MARTINS et al. (2003) observou que a qualidade seminal e, conseqüentemente, o diagnóstico de fertilidade foram afetados pelas variações estacionais, em carneiro da raça Santa Inês na região do Distrito Federal.

Apesar da eficácia, um fator negativo que deve ser considerado em relação ao protocolo P4+eCG é que diversos países não estão mais permitindo a utilização de alguns tratamentos hormonais em animais de interesse zootécnico. Por exemplo, nos Estados Unidos o "U.S. Food and Drug Administration" não aprova o uso do protocolo mencionado acima e isso limitou drasticamente o uso desta tecnologia (CLINE et al., 2001). Com o tempo, o uso de hormônios para sincronização de estro deverá ser desaprovado pela sociedade. Por isso ressalta-se a importância deste estudo avaliando o protocolo alternativo com PGF2α por proporcionar uma forma de sincronização mais próxima do natural.

CONCLUSÃO

Nas condições do presente estudo, embora o protocolo P4+eCG tenha apresentado superioridade por ter aumentado a concentração sérica de P4, o protocolo PGF2α foi tão eficiente em sincronizar o estro quanto o anterior.

Novos estudos são necessários para investigar os efeitos na taxa de concepção e na qualidade do embrião comparando os protocolos com PGF2α e com P4+eCG.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, pelo apoio financeiro e ao pesquisador Dr. Maurício Machaim Franco pelo auxílio na análise estatística.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

AINSWORTH, L.; WOLYNETZ, M.S. Synchronization of estrus and reproductive performance of ewes treated with synthetic progestagens administered by subcutaneous ear implant or by intravaginal sponge pessary. **Journal of Animal Science**, v.54, 6, p.1120-1127, 1982.

CÁRDENAS, H.; WILEY, T.M.; POPE, W.F. Prostaglandin F2α- induced estrus in ewes exhibiting estrous cycles of different duration. **Theriogenology**, v.62, p.123-129, 2004.

CLINE, M.A.; RALSTON, J.N.; SEALS, R.C.; LEWIS, G.S. Intervals from norgestomet withdrawal and injection of equine chorionic gonadotropin or P.G. 600 to estrus and ovulation in ewes, **Journal of Animal Science**, v.79: p.589-594, 2001.

DIAS, F.E.F.; JUNIOR, E.S.L.; VILLAROEL, A.B.S.; RONDINA, D.; FREITAS, V.J.F. Sincronização do estro, indução da ovulação e fertilidade de ovelhas deslanadas após tratamento hormonal com gonadotrofina coriônica equina. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia,** v.53, 5, p.618-623, 2001

EVANS, G.; MAXWELL, W.M.C. Salamon's artificial insemination of sheep and goats, Sydney, Butterworths, 1987, 194p.

EVANS, G.; ROBINSON, T.J. The control of fertility in sheep: endocrine and ovarian responses to progestagen-PMSG treatment in the breeding season and in anoestrus, **Journal of Agricultural Science**, v.94, p.69-88, 1980.

GODFREY, R.W., GRAY, M.L.; COLLINS, J.R. A comparison of two methods of oestrous synchronization of hair sheep in the tropics, **Animal Reproduction Science**, v.47, p.99-106, 1997.

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

GREYLING, J.P.C.; BRINK, W.C.J. Synchronization of oestrus in sheep: The use of controlled internal drug release (CIDR) dispensers. **South Afrikan Tydskr Veekderman**, v.17, p.128-132, 1987.

HAWK, H.W. Uterine motility and sperm transport in the estrous ewe after prostaglandin induced regression of corpora lutea, **Journal of Animal Science**, v.37, 6, p.1380-1385, 1973.

HERRERA, H.L.; FELDMAN, S. D.; ZARCO, Q. L. Evaluacion del efecto luteolítico de la prostaglandina $F_2\alpha$ em diferentes días del ciclo estral de la borrega. **Veterinaria México**, v.21, p.143-147, 1990.

HINDO, E. Os pequenos ruminantes são o futuro, **O Berro**, n.96, 70-74, 2006.

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

MAPLETOFT, R.J.; STEWARD, K.B.; ADAMS, G.P. Recent advances in the superovulation in cattle. **Reproduction, Nutrition, and Development**, v.42, p.601-611, 2002.

MARTINS, R.D.; McMANUS, C.; CARVALHÊDO, A.S.; BORGES, H.V.; SILVA, A.E.D.F.; SANTOS, N.R. Avaliação da sazonalidade reprodutiva de carneiros Santa Inês criados no Distrito Federal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, p.1594-1603, 2003.

MENCHACA, A.; MILLER, V.; GIL, J.; LACA, M.; RUBIANES, E. Prostaglandin F2α treatment associated with timed artificial insemination in ewes. **Reproduction Domestic Animal**, v.39, p.352-355, 2004.

OSGERBY, J.C.; GADD, T.S.; WATHES, D.C. Expression of insulin-like growth factor binding protein-1 (IGFBP-1) mRNA in the ovine uterus throughout the oestrous cycle and early pregnancy. **Journal of Endocrinology**, v.87, p.162-279, 1999. *In*: GONZALES-BULNES, A.; VEIGA-LOPEZ, A.; GARCIA, P.; GARCIA-GARCIA, R.M.; ARIZNAVARRETA, C.; SANCHEZ, M.A.; TRESGUERRES, J.A.F.; FLORES, J.M., Effects of progestagens and prostaglandin analogues on ovarian function and embryo viability in sheep, **Theriogenology**, v.63, p.2523-2534, 2005.

RODRIGUES, L.F.S.; ARAUJO, A.A.; NUNES, J.F.; MOURA, A.A.A.; MOREIRA, E.P. Sincronização do estro em ovelhas deslanadas: efeito de diferentes doses de gonadotrofina coriônica equina sobre a taxa de ovulação, **Revista Ciências Agrárias**, v.41, p.215-222, 2004.

RUBIANES, E.; CASTRO, T.; KMAID, S. Estrus response after a short progesterone priming in seasonally anestrous goats, **Theriogenology**, v.49, p. 356-362, 1998.

RUBIANES, E. Nociones básicas de fisiologia reprodutiva em cabras y ovejas. IN: **Simpósio sobre controle farmacológico do ciclo estral em ruminantes**, São Paulo - SP Anais. São Paulo - SP: FMVZ-USP. 2000.

SOUZA, D.A. Mercado doméstico da carne ovina: qual a situação e para onde estamos indo? www.farmpoint.com.br, 1-6, acessado em 11/01/2008.

URIBE- VELÁSQUEZ, L.F.; OBA, E.; LARA-HERRERA, L.C.; SOUZA, M.I.L; VILLA-VELÁSQUEZ, H.; TRINCA, L.A.; FERNANDES, C.A.C. Respostas endócrinas e ovarianas associadas com o folículo dominante da primeira onda folicular em ovelhas sincronizadas com CIDR ou PGF2α. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, 2, p. 944-953, 2002.

YILDIZ, S.; SAATCI, M.; UZUN, M.; GUVEN, B. Effects of ram introduction after the second prostaglandin F2α injection on day 11 on the LH surge characteristics in fattailed ewes, **Reproduction Domestic Animal**., v.38, p.54-57, 2003.

WHITE, I. R; RUSSEL, A.J.F; Body condition scoring in sheep. **In practice**, v.6, p.200, 1984.

www.ibge.org.br, acessado em 08/02/2008.