

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MATO GROSSO DO SUL
UNIDADE UNIVERSITÁRIA DE AQUIDAUANA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

USO DO HORMÔNIO FOLÍCULO ESTIMULANTE EM
SUBSTITUIÇÃO A GONADOTROFINA CORIÔNICA
EQUINA EM PROTOCOLO DE INDUÇÃO DE ESTRO
COM PROGESTÁGENOS EM FÊMEAS OVINAS

Acadêmico: Alberto Carlos Pereira Junior

Aquidauana - MS
Fevereiro / 2013

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MATO GROSSO DO SUL
UNIDADE UNIVERSITÁRIA DE AQUIDAUANA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

USO DO HORMÔNIO FOLÍCULO ESTIMULANTE EM
SUBSTITUIÇÃO A GONADOTROFINA CORIÔNICA
EQUINA EM PROTOCOLO DE INDUÇÃO DE ESTRO
COM PROGESTÁGENOS EM FÊMEAS OVINAS

Acadêmico: Alberto Carlos Pereira Junior
Orientadora: Profa. Dra. Aya Sasa

“Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção Animal no Cerrado-Pantanal, da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Zootecnia”.

Aquidauana - MS
Fevereiro / 2013

P489u Pereira Junior, Alberto Carlos

Uso do hormônio folículo estimulante em substituição a gonadotrofina coriônica equina em protocolo de indução de estro com progestágenos em fêmeas ovinas/Alberto Carlos Pereira Junior. Aquidauana: UEMS, 2013.

40 p.

Dissertação (Mestrado) – Zootecnia – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, 2013.

Orientador: Profª Dra. Aya Sasa.

1. Indução de estro 2. Ovinos 3. Progestágenos I. Título

CDD 23.ed. - 636.3



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MATO GROSSO DO SUL
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA
PRODUÇÃO ANIMAL NO CERRADO-PANTANAL



ALBERTO CARLOS PEREIRA JUNIOR

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção Animal no Cerrado-Pantanal, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Zootecnia.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 1º/02/2013.

Dra. Aya Sasa (UEMS),
Orientadora.

Dra. Fabiana de Andrade Melo Sterza (UEMS).

Dra. Maria Inês Lenz Souza (UFMS).

“De tudo, ficaram três coisas:
A certeza de que estamos sempre começando...
A certeza de que é preciso continuar...
A certeza de que seremos interrompidos antes de terminar.
PORTANTO, DEVEMOS
Fazer da interrupção um caminho novo...
Da queda, um passo de dança...
Do medo, uma escada...
Do sonho, uma ponte...
Da procura, um encontro.”
FERNANDO SABINO

A Deus, por mais uma conquista.

Aos meus pais Alberto Carlos e Leda Maria, por serem o alicerce da minha vida, fortalecendo-me durante mais uma luta e conquista.

Aos meus irmãos Alexandre, Leidiane e Luana que compartilharam comigo muitos momentos e apoiaram-me nesta jornada.

AGRADECIMENTOS

Durante dois anos de dedicação ao mestrado em zootecnia, muitos foram os momentos em que pensei ser impossível chegar vitorioso ao final. Porém, Deus se mostrou fiel e me permitiu conquistar não só esta, mas tantas outras conquistas em minha vida. Por isso, serei eternamente grato.

Ressalto meus agradecimentos a minha abençoada família, principalmente aos meus pais Alberto Carlos Pereira e Leda Maria Silva Pereira, que mesmo estando distante nunca deixaram de apoiar minhas decisões, ofereceram-me a oportunidade de estudar e vibraram com cada uma das minhas conquistas; também aos meus irmãos, Alexandre, Leidiane e Luana por todo o carinho e apoio.

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, em especial a todos os docentes que ministraram aulas à primeira turma do programa, pelos momentos de realização profissional.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, pela concessão de bolsa no período de realização do curso.

À Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita - UNESP, em especial à Profa. Dra. Maria Inês Lenz Souza pela grande contribuição na realização das dosagens hormonais.

À Profa. Dra. Aya Sasa pela oportunidade de orientação, ensinamentos, apoio, confiança e exemplo de dedicação e profissionalismo.

À Profa. Dra. Fabiana de Andrade Melo Sterza pelo apoio na realização deste trabalho.

À grande amiga, Rosana Moreira da Silva pela força, pela compreensão, companheirismo, momentos de conversas jogadas fora e por ajudar a superar todo o cansaço durante o mestrado.

Não poderia deixar de lembrar dos colegas e amigos: Dona Lurdes, Sr. Antonio, Mirian e Maurílio, pelo companheirismo; e aos colegas: Andrei, Julia, Patrícia, Ritiele e Emily pela grandiosa ajuda neste trabalho.

A todos aqueles que participaram direta ou indiretamente contribuindo para realização deste sonho.

SUMÁRIO

1	CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	12
1.1	OBJETIVOS	13
1.1.1	Objetivo geral	13
1.1.2	Objetivos específicos.....	13
1.2	REVISÃO DE LITERATURA	14
1.2.1	Fisiologia reprodutiva da ovelha.....	14
1.2.2	Progestágenos.....	17
1.2.3	Prostaglandina.....	18
1.2.4	Gonadotrofina Coriônica Equina	20
1.2.5	Hormônio Folículo Estimulante.....	22
1.3	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	24
2	ARTIGO CIENTÍFICO.....	32
3	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	40

RESUMO

Objetivou-se avaliar a utilização do hormônio folículo estimulante (FSH) em substituição à gonadotrofina coriônica equina (eCG) em protocolos de indução de estro com progestágenos em ovelhas mestiças Santa Inês. Foram utilizadas 29 fêmeas (G1, n=10; G2, n=10; G3, n=9), dois machos vasectomizados e um reprodutor. Todas as fêmeas receberam esponjas intravaginais impregnadas com 60 mg de acetato de medroxiprogesterona, durante 10 dias. No momento da retirada das esponjas os animais receberam 0,5 mL de PGF_{2α} e diferentes tratamentos hormonais via intramuscular, sendo G1 aplicação de 500 UI de eCG, G2 aplicação de 10 mg de FSH e G3 aplicação de 15 mg de FSH. Não houve diferença ($P>0,05$) na manifestação de estro (10/10, 9/10 e 9/9, respectivamente), tempo para a manifestação do estro ($47,80 \pm 5,95$, $61,44 \pm 7,39$ e $64,33 \pm 4,01$ horas, respectivamente) e fertilidade ao parto entre os tratamentos (90,0, 60,0 e 44,4%, respectivamente). O estro e a ovulação foram eficientemente induzidos em ovelhas mestiças Santa Inês, utilizando progestágenos associados a 10 e 15 mg de FSH, juntamente com PGF_{2α} no momento da retirada da esponja, substituindo assim a utilização da eCG.

Palavras-chave: estro, ovinos, progestágeno, progesterona

ABSTRACT

The objective was to evaluate the use of follicle stimulating hormone (FSH) in lieu of equine chorionic gonadotropin (eCG) in induction protocols of estrus in ewes crossbred Santa Ines. A total of 29 females (G1, n = 10; G2, n = 10; G3, n = 9) crossbred Santa Ines, two males and a vasectomized player. All sheep received intravaginal sponges impregnated with 60 mg of medroxyprogesterone acetate for 10 days. At the time of sponge withdrawal of the animals received 0,5 mL of PGF_{2α} and different hormonal treatments intramuscular, and G1 application of 500 IU eCG, G2 application of 10 mg of FSH and G3 application of 15 mg of FSH. There was no difference ($P>0,05$) in expression of estrus (10/10, 9/10 and 9/9, respectively), while for the manifestation of estrus ($47,80 \pm 5,95$, $61,44 \pm 7,39$ and $64,33 \pm 4,01$ hours, respectively) between childbirth and fertility treatments (90,0, 60,0 and 44,4%, respectively). The estrus and ovulation were effectively induced in Santa Inês crossbred sheep using progestins associated with 10 and 15 mg of FSH along with PGF_{2α} the withdrawal of wallows, thereby replacing the use of eCG.

Keywords: estrus, progestagen, progesterone, sheep

1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

A atividade cíclica reprodutiva das ovelhas é caracterizada por uma estacionalidade influenciada principalmente pelo fotoperíodo. Essa estacionalidade afeta diretamente a viabilidade da ovinocultura de corte por restringir a produção de cordeiros para abate a um ciclo anual.

A quebra da estacionalidade pode ser obtida através do efeito macho, tratamentos farmacológicos, programação de luz ou combinação destes. Pode-se fazer uso destes tratamentos que permitem induzir e/ou sincronizar o estro e ovulação, proporcionando benefícios como melhorar a eficiência reprodutiva, reduzir a mão de obra, concentrar as parições e obter lotes mais homogêneos ao abate.

Os hormônios sintéticos têm sido muito utilizados, por apresentarem características químicas e atividades semelhantes aos hormônios naturais, desta forma, promovendo a indução e/ou sincronização do estro e controle da ovulação. Entretanto, a administração exógena de hormônios naturais tem pouco valor na maior parte das situações em decorrência da sua meia-vida relativamente curta.

O uso da gonadotrofina coriônica equina (eCG) é indispensável em muitos tratamentos hormonais utilizados para a indução e/ou sincronização do estro em ovinos, pois atua induzindo o desenvolvimento de folículos durante os períodos de inatividade hipofisária, aumentando a ocorrência e velocidade de ovulação. Contudo, o eCG é uma molécula de alto peso molecular e quando usado repetidamente pode induzir a formação de anticorpos anti-eCG, além de em alguns casos aumentar a taxa de gemelaridade e provocar efeitos deletérios nas taxas de fertilidade ao longo do tempo. A partir disto, o hormônio folículo estimulante (FSH) torna-se uma alternativa ao uso do eCG, por apresentar uma menor reação imunológica, ter maior disponibilidade comercial e ampla aceitação em vários países. Devido a esta ampla característica do FSH, sua utilização pode contribuir para o aperfeiçoamento dos protocolos de indução de estro e ovulação em fêmeas ovinas.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Avaliar a eficiência da utilização do hormônio folículo estimulante em substituição à gonadotrofina coriônica equina em protocolos de indução de estro em fêmeas ovinas.

1.1.2 Objetivos específicos

Avaliar a resposta estral e o intervalo entre a retirada da esponja e o início do estro com a utilização de eCG e FSH, associados aos progestágenos.

Verificar a influência da aplicação do eCG e FSH na fertilidade ao parto das ovelhas tratadas com progestágenos.

1.2 REVISÃO DE LITERATURA

1.2.1 Fisiologia reprodutiva da ovelha

A atividade reprodutiva dos ovinos é caracterizada por uma estacionalidade que é definida, pela latitude, raça e com menor influência, pela altitude, linhagem, idade e nutrição. Essa estacionalidade é um obstáculo para o aumento na produtividade ovina.

As ovelhas são poliétricas estacionais de dias curtos. À medida que se aproxima da linha do Equador essa estacionalidade reprodutiva vai diminuindo, onde, em áreas subequatoriais desde que haja uma nutrição adequada, ovelhas ciclam o ano todo. O estímulo para manifestação e/ou intensificação dos fenômenos reprodutivos é o decréscimo no número de horas de luz por dia (fotoperíodo) (FONSECA, 2005).

No Brasil observa-se uma grande diferença na sazonalidade reprodutiva entre ovelhas das raças lanadas e deslanadas, criadas na região sul do país. As ovelhas deslanadas comportam-se como poliétricas anuais, possibilitando um aumento na produção de cordeiros. Além disto, as ovelhas deslanadas apresentam maior taxa de ovulação e, conseqüentemente, maiores índices de prolificidade, do que as ovelhas lanadas usualmente criadas na região de clima temperado (VILLARROEL, 1991).

Benatti et al. (2007) demonstraram que, na região Centro-Oeste, em Aquidauana-MS, ovelhas sem raça definida apresentaram estacionalidade reprodutiva em época de fotoperíodo crescente (julho a dezembro).

Essa estacionalidade afeta indiretamente a economicidade da ovinocultura de corte por restringir a produção de cordeiros para abate a um ciclo anual. A manipulação do ciclo reprodutivo dos ovinos pode alterar essa estacionalidade, fazendo com que o intervalo de parto das ovelhas seja reduzido de doze para oito meses, possibilitando um aumento no número de cordeiros (HAFEZ, 1995).

O ciclo estral é definido como um conjunto de alterações endócrinas, comportamentais e morfológicas que se repetem sucessivamente. Todas essas mudanças durante o ciclo estral estão reguladas por uma interação entre hormônios sintetizados e secretados no hipotálamo, na hipófise, nas gônadas e no útero. Na ovelha, tem uma duração de 17 ± 2 dias, e divide-se em uma fase luteal, que estende-se desde o dia dois do ciclo (estro = dia zero) até aproximadamente o dia 13, e uma fase folicular desde o dia 14 até o dia um (RUBIANES, 2000). Moraes et al. (2002) citam o estro como um complexo de sinais fisiológicos e comportamentais que ocorre antes da ovulação com duração de 24 a 48 horas na ovelha.

Segundo Rubianes (2000) a fase folicular é o período em que os folículos crescem, sendo caracterizada pelo comportamento de estro, pico de LH pré-ovulatório e o surgimento da ovulação. A fase lútea é caracterizada pela presença de um ou mais corpos lúteos. O comprimento da fase lútea determina o fim do ciclo.

Depois do crescimento folicular, é estabelecida a dominância, se a concentração de progesterona (P4) estiver alta, inibindo assim a pulsatilidade do LH, o folículo dominante não irá ovular e entrará em atresia, começando uma nova onda folicular. Entretanto, quando a concentração de progesterona está baixa, pela regressão luteal, o folículo dominante tem seu crescimento terminal, liberando maiores quantidades de estradiol para a circulação. O estradiol, através do feedback positivo, estimula os picos de GnRH e, conseqüentemente, de LH, levando o folículo à ovulação (GINTHER et al., 2001).

Para Rubianes (2000), durante o anestro estacional, a inter-relação entre o eixo hipotalâmico-hipofisário e os estrógenos secretados por um folículo em crescimento será predominantemente negativa, não produzindo a cascata desencadeante da ovulação. O fenômeno é controlado pelas variações na relação entre luz e escuridão diária, sendo conhecido como fotoperíodo.

Segundo Ali (2007), para a correta manipulação do ciclo estral é necessário conhecer a fisiologia reprodutiva, pois a sincronização do estro e da ovulação é conseguida através da redução do comprimento da fase luteal do

ciclo estral com o uso da $\text{PGF}_{2\alpha}$ e seus análogos ou estendendo o ciclo artificialmente com progesterona exógena e/ou progestágenos.

Souza et al. (2002) trabalhando com ovelhas Ideal no período de anestro sazonal (agosto) observaram que a progesterona apresentou-se em níveis basais, independentemente do momento da colheita ou da variação do animal e sem comportamento linear, como era esperado para animais em anestro estacional, ou seja, na ausência de corpo lúteo funcional, corroborando os achados de Minton et al. (1991). Outros pesquisadores consideram o período de atividade ovulatória quando duas ou mais amostras consecutivas mostram valores plasmáticos entre 0,4 e 1,0 ng/mL (ZARAZAGA et al., 2003).

De acordo com Minton et al. (1991), valores plasmáticos de progesterona abaixo de 1,0 ng/mL caracterizam a fase de anestro. A fase de anestro diferencia-se da fase de estro quando a concentração de progesterona permanece baixa por um período maior que 10 dias.

Para Leyva et al. (1998) a concentração plasmática de progesterona (P_4) é elevada no dia seguinte da ovulação (0,8 ng/mL), mas de forma significativa a partir do segundo dia ($2,4 \pm 0,3$ ng/mL). Nesse mesmo dia os autores identificaram o corpo lúteo com um diâmetro de $7,5 \pm 0,2$ mm na maioria das ovelhas Suffolk adultas. As concentrações de P_4 e o diâmetro do corpo lúteo aumentaram até o sexto ou sétimo dia do ciclo estral ($7,6 \pm 0,4$ ng/mL e $11,4 \pm 0,2$ mm, respectivamente); a partir daí, as duas variáveis foram inconstantes até o dia 10. Depois do dia 11, as duas medidas começaram a decrescer, mas o declínio de P_4 foi mais acentuado, quando comparado com o diâmetro do corpo lúteo. Já no dia 14 do ciclo, último dia de observação do corpo lúteo pela ultra-sonografia, as concentrações plasmáticas de P_4 apresentaram valores iguais ao dia zero, apresentando uma correlação positiva ($r = 0,85$) entre o diâmetro do corpo lúteo e as concentrações plasmáticas de P_4 .

Uma pesquisa desenvolvida por Uribe-Velásquez et al. (2008b) em ovelhas Bergamácia durante o início da fase luteal, mostram que a administração do CIDR® + 500 UI eCG no momento da remoção do dispositivo provocou aumentos significativos nas concentrações plasmáticas de P_4 desde o dia sexto até o décimo dia. Já, trabalhando em cabras Alpinas submetidas à

aplicação de diferentes doses de eCG, Uribe-Velásquez et al. (2009) observaram que a administração de eCG provocou aumentos no número médio de corpos lúteos (CL) nas fêmeas submetidas à aplicação de 400 UI ($4,27 \pm 0,23$ CL) quando comparadas com uma dose de 200 UI ($1,95 \pm 0,19$ CL). Da mesma forma, as fêmeas tratadas com as maiores doses mostraram concentrações superiores de P_4 no plasma.

1.2.2 Progestágenos

Diversos tratamentos hormonais têm sido utilizados para indução ou sincronização do estro e indução da ovulação em ovelhas, com resultados variáveis. Dentre os produtos utilizados está a progesterona ou progestágenos, que podem ser utilizados de forma eficiente, incluindo injeções intramusculares ou subcutâneas, via oral, implantes subcutâneos, dispositivos ou pessários intravaginais. Pessários ou esponjas impregnadas com medroxiprogesterona utilizados para sincronização do estro em pequenos ruminantes são comercialmente disponíveis na dose de 60 mg do hormônio (RUBIANES et al., 2000).

Segundo Moraes et al. (2008), os progestágenos mais utilizados na impregnação das esponjas para sincronização são o acetato de fluorogestona (FGA) e o acetato de medroxiprogesterona (MAP), os quais permitem controlar o momento do aparecimento do estro e da ovulação por meio de um mecanismo de “bloqueio” sobre as gonadotrofinas, seguido por “desbloqueio”, com resposta hipofisária após o fim do tratamento. Tais progestágenos foram adotados como veículo responsável pelo “priming” de progesterona que precederia o tratamento hormonal de indução e/ou sincronização do estro de pequenos ruminantes (TRALDI et al., 2007).

A taxa de fertilidade em ovelhas é variável, atingindo de 22 a 70%, sendo atribuída a diversos fatores incluindo regime de tratamento, início do tratamento no estágio de anestro, manejo da ovelha, nutrição, lactação, mudanças estacionais da fertilidade do carneiro, tempo de inseminações e a

combinação entre eles (MARTEMUCCI e D'ALESSANDRO, 2011). A combinação de progestágenos com eCG também é utilizada durante a estação reprodutiva, principalmente quando procura-se aumentar a taxa ovulatória (RUBIANES, 2000).

Atualmente está sendo utilizado o CIDR (Dispositivo de Liberação Controlada de Droga), dispositivo intravaginal siliconizado impregnado com P_4 natural, através do qual ocorre a liberação, absorvida pela mucosa vaginal e lançada na corrente sanguínea (URIBE-VELÁSQUEZ et al., 2009) ou impregnados com progestágenos sintéticos (FREITAS e RUBIANES, 2008).

Da mesma forma que as esponjas intravaginais, as concentrações sanguíneas obtidas com o CIDR, são suficientes para inibir a liberação das gonadotrofinas hipofisárias (WHEATON et al., 1993).

Takada et al. (2003) estudaram o momento ovulatório através de ultrassonografia durante a pré-estação reprodutiva em 12 ovelhas Suffolk utilizando MAP + eCG, onde observaram que 100% das ovelhas ovularam entre 50 e 67 h, com concentrações das ovulações entre 60-67 h (9/12). Uma menor fertilidade tem sido observada quando se utilizam protocolos tradicionais longos com progestágenos. Uma das prováveis causas seria baixos níveis hormonais no final do tratamento, prolongando a vida do folículo pré-ovulatório, provocando alterações no ovócito ovulado.

Segundo Uribe-Velásquez et al. (2008b), a utilização do CIDR, seguido por aplicações de 500 UI eCG em ovelhas Bergamácia, produziu eficaz sincronização do estro, reduzindo significativamente o intervalo do estro à ovulação, proporcionando aumentos significativos nas concentrações plasmáticas de P_4 e E_2 no início do fase luteal.

1.2.3 Prostaglandina

As prostaglandinas são uma alternativa para sincronização do estro, importantes na formulação de sistemas simples e de curta duração. A $PGF_{2\alpha}$ é o fator luteolítico em ruminantes (GORAVANAHALLY et al., 2007; GINTHER et

al., 2009), que provoca completa e rápida luteólise, determinando a diminuição nas concentrações de progesterona, por meio da interrupção da fase progestacional do ciclo estral, iniciando, assim, um novo ciclo (URIBE-VELÁSQUEZ et al., 2002; SHRESTHA et al., 2010).

A eficácia depende da funcionalidade do corpo lúteo, ou seja, no período de atividade cíclica reprodutiva ou período de transição, sendo mais eficaz nos dias 5 a 14 do ciclo estral. Quando administra-se a $\text{PGF}_2\alpha$ a porcentagem de animais que apresentam manifestações de estro dentro de 3 a 4 dias é de 60-70%. Já quando são realizadas duas aplicações com intervalos de 9 a 12 dias, 100% dos animais apresentam estro. O intervalo entre a administração de $\text{PGF}_2\alpha$ e o início do estro tem sido bastante variado, devido ao estágio de desenvolvimento folicular e quando a luteólise é induzida (RUBIANES et al., 2000).

Ovelhas tratadas com prostaglandina durante a fase luteal tem o intervalo do tratamento ao estro de 1,5 a 2,5 dias. Em contraste, ovelhas ciclando naturalmente iniciam a luteólise 3 a 4 dias antes do estro (RUBIANES et al., 2000). A $\text{PGF}_2\alpha$ exógena provoca uma diminuição na concentração de progesterona ($<0,25 \text{ ng/mL}$) dentro de 8-12 h. A taxa média de progesterona cai aproximadamente 1 ng/mL por dia na luteólise de ovelha não tratadas (URIBE-VELÁSQUEZ et al., 2002).

Segundo Uribe-Velásques et al. (2009), a aplicação de $\text{PGF}_2\alpha$ ou seus análogos induz uma queda de pelo menos 50% na secreção de P_4 seis horas após a sua administração e, decorridas 24 horas, a secreção cai pelo menos a $0,5 \text{ } \mu\text{g/minuto}$, declínio marcante que indica a regressão do corpo lúteo. Esta diminuição induz a um aumento significativo na frequência dos pulsos de LH (DRIANCOURT et al., 1985).

Herrera et al. (1990) relataram que em ovelhas com o estro induzido com $\text{PGF}_2\alpha$, a duração do ciclo estral subsequente tem um dia a mais e a formação do CL é mais lenta do que aquelas que entram em estro sem $\text{PGF}_2\alpha$ exógena.

A variabilidade entre ovelhas em relação ao tempo do início do estro limita o uso mais intensivo da $\text{PGF}_2\alpha$. Esta variabilidade deve-se

possivelmente, ao diferente estágio ovariano entre os animais no início do tratamento (MENCHACA e RUBIANES, 2004).

A associação de $\text{PGF}_2\alpha$ e dispositivo intravaginal contendo progestágeno ou P_4 é outra possibilidade (ALI, 2007). Godfrey et al. (1995), avaliando o uso do CIDR e da $\text{PGF}_2\alpha$ em ovelhas, concluíram que as fêmeas tratadas com o CIDR apresentaram o estro bem mais cedo do que os animais tratados com $\text{PGF}_2\alpha$ ($1,4 \pm 0,4$ e $2,9 \pm 0,4$ dias, respectivamente). Em protocolos de curta duração é indispensável o uso da $\text{PGF}_2\alpha$ uma vez que o CL ainda funcional pode estar presente ao final do tratamento, na maioria das ovelhas (VINÖLES et al., 2001).

Uribe-Velásquez et al. (2009), citou que, quando administrada a P_4 exógena ou seus análogos, por 12 ou 14 dias, ocorre a regressão do corpo lúteo, mas o estro e a ovulação só vão se apresentar quando a P_4 exógena for removida. De fato, durante a sincronização de estro com implantes de P_4 exógena em um grupo de fêmeas ovinas, em diferentes dias do ciclo estral, foram desencadeadas variações na duração da secreção de P_4 endógena, entre os animais, devido à presença de corpo lúteo, portanto, combinações resultantes de P_4 endógena e exógena podem provocar diversas alterações na dinâmica folicular (LEYVA et al., 1998) e, conseqüentemente, efeitos diretos na eficiência da sincronização de estro e ovulação, com isso justificando a utilização de $\text{PGF}_2\alpha$, para proporcionar a lise do corpo lúteo.

1.2.4 Gonadotrofina Coriônica Equina

Os métodos mais utilizados para a sincronização do estro e da ovulação em pequenos ruminantes envolvem progesterona e/ou progestágenos e a administração intramuscular de eCG (URIBE-VELÁSQUEZ et al., 2008a). A eCG é produzida pelo endométrio das fêmeas equinas entre os dias 40 e 130 da gestação; apresenta atividade semelhante à do hormônio folículo estimulante (80%), mas também alguma atividade de hormônio luteizante (20%) (BARRET et al., 2004).

Doses baixas de eCG (350-500 UI) são comumente usadas em ovelhas cíclicas após o tratamento com progestágenos visando sincronizar e diminuir o intervalo estro-ovulação (CLINE et al., 2001). Tratamentos com doses baixas de eCG limitam a taxa de ovulação (BARRET et al., 2004) e a fertilidade (ALI, 2007) em ovelhas. O tratamento com 500 UI de eCG pode alterar o número de folículos antrais, a capacidade esteroidogênica e o crescimento folicular (BARRET et al., 2004).

A eCG interfere no eixo hipotalâmico-hipofisário-ovariano e nos mecanismos regulatórios intraovarianos, devido à sua vida média longa e à sua atividade de FSH e LH (DONROV et al., 1998). Essa característica faz com que a eCG associada ao CIDR, estimule a ovulação não só na estação reprodutiva, como fora dela, mas quando a eCG está ausente não há manifestação de estros (RUBIANES et al., 1998). Em ovelhas, este tratamento hormonal é utilizado também em associação com esponjas vaginais que liberam progestágenos seguido por uma injeção de eCG de 100 a 600 UI (DIAS et al., 2001).

Donrov et al. (1998) citou que a atividade de FSH e LH do eCG não é somente benéfica, mas também, tem seus efeitos negativos na sequência normal dos eventos fisiológicos do desenvolvimento folicular e maturação oocitária.

O uso de eCG em conjunto com progestágenos, aumenta o índice de resposta das fêmeas ovinas à sincronização de estro, reduzindo o intervalo entre a remoção do implante e a ovulação (CARDWELL et al., 1998).

Uma aplicação de eCG no final do tratamento com progestágenos tem apresentado um resultado mais preciso e seguro para sincronização do estro (CROSBY et al., 1991; BOSCOS et al., 2002).

Dias et al. (2001) utilizando ovelhas deslanadas na região Nordeste relataram que, o tratamento sem o uso de eCG, mostrou-se ineficiente para sincronizar o estro e induzir a ovulação, e que o aumento da fertilidade é obtido após sincronização do estro associada a 200 ou 400 UI de eCG.

Zaiem et al. (1996) compararam a utilização de três doses distintas de eCG (300, 450 e 600 UI) associadas com esponjas impregnadas com 40 mg de FGA durante 14 dias em ovelhas que se encontravam em anestro. As três

doses de eCG atingiram taxas de fertilidade semelhantes (81,2 a 84,3%), sendo mais altas ($P < 0,05$) que as observadas nas ovelhas do grupo controle, apenas tratadas com FGA sem receber gonadotrofinas. A prolificidade foi superior ($P < 0,05$) nas ovelhas controle (134,4%), nas doses de 450 UI (155,5%) e de 600 UI de eCG (176,9%), mas não com a dose de 300 UI (133,3%), sugerindo que doses entre 450 e 600 UI desta gonadotrofina são ideais nesta condição.

Dias et al. (2001) ao sincronizarem o estro de ovelhas deslanadas, com diferentes doses de eCG, obtiveram 55%, 81% e 95% de ovelhas em estro quando tratadas com 0, 200 e 400 UI de eCG, respectivamente. Cruz, (1994) também trabalhando com ovelhas deslanadas obteve 93,8% de fêmeas em estro, decorridas 48 horas do final do tratamento. Nesse trabalho observou-se o aumento da ocorrência de estros tardios relacionados com o surgimento de anticorpos eCG. Esse resultado é causado pela repetição do tratamentos com eCG, gerando a produção de anticorpos anti-eCG, após vários tratamentos no mesmo animal (MORAES et al., 2008).

Contudo, algumas pesquisas recentes estudam a possibilidade da substituição do eCG por uma única aplicação de FSHp (KNIGHTS et al., 2003; NASCIMENTO et al., 2007b; SANTOS et al., 2007b; VALENTIN et al., 2008)

1.2.5 Hormônio Folículo Estimulante

Com a função de promover o crescimento folicular o FSH tem se mostrado uma nova alternativa para a indução da ovulação, principalmente para substituir a eCG, driblando dessa forma o efeito imunológico causado pela utilização repetida dessa substância.

O FSH é crucial para a manutenção da função ovariana. Sua atuação é mais direcionada às células da granulosa e resulta em uma variedade de reações, tais como a estimulação da proliferação celular, a síntese de esteróides e a expressão de receptores para Fator de Crescimento Epidermal e LH. Sabe-se que as gonadotrofinas são necessárias para o desenvolvimento

de folículos antrais, entretanto, ainda não está claro se o FSH afeta a proliferação de pequenos folículos pré-antrais (MARTINS et al., 2008). Geralmente extraído da hipófise de suínos, equinos, ovinos ou caprinos, ele vem sendo utilizado amplamente na superovulação de caprinos e ovinos para obtenção de embriões (PAULA et al., 2008).

O FSH pode ser utilizado como uma alternativa ao uso de eCG em protocolos de IATF (OLIVEIRA et al., 2007), não produzindo reação imunológica em grande intensidade, apresentando bons resultados na viabilidade do oócito, com uma taxa de prenhez regular (BARUSELLI et al., 2004).

Associado ao efeito estimulador folicular, experimentos demonstram que a curta meia vida do FSH exógeno não oportuniza a sua exposição ao sistema imunológico, por um longo período, diminuindo a chance de formação de anti-corpos anti-FSH. Esses fatos estimulam as pesquisas voltadas para a utilização do FSH como alternativa na sincronização de ovulação (HULSHOF et al., 1995; WANDJI et al., 1996; GUTIERREZ et al., 2000).

O papel do FSH no aumento da taxa de ovulação foi verificado na espécie ovina quando utilizado em ovelhas em anestro, 12 horas antes da retirada do progestágeno (KNIGHTS et al., 2003).

Com relação à taxa de prenhez também não foi encontrada diferença entre a utilização do FSHp ou eCG (NASCIMENTO et al., 2007a; VALENTIM et al., 2008), estando dentro dos resultados encontrados na literatura (COLOZO et al., 2004; MIALOT et al., 2003; MARTINEZ et al., 2005).

Carvalho (2009) utilizando o eCG ou FSHp em ovelhas Santa Inês, mostrou que ambo são eficientes para sincronizar o estro e induzir a ovulação. No entanto, o FSHp antecipou a manifestação de estro. Cardoso Neto et al. (2012) trabalhando com ovelhas Santa Inês, observaram que o intervalo do início do estro à ovulação foi semelhante entre os grupos ($P>0,05$), sendo de 21,07 h e de 25,23 h para ovelhas tratadas com eCG e FSH, respectivamente.

Para Cardoso Neto et al. (2012), estro e a ovulação são eficientemente induzidos e sincronizados em ovelhas Santa Inês por meio de exposição aos progestágenos, associados à administração de eCG ou FSH junto com $\text{PGF}_2\alpha$, no momento da retirada da esponja.

1.3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALI, A. Effect of time of eCG administration on follicular response and reproductive performance of FGA-treated Ossimi ewes. **Small Ruminant Research**, v.72, p. 33-37. 2007.

ARMSTRONG, D.T.; PFITZNER, A.P.; WARNES, G.M. et al. Endocrine responses of goats after induction of superovulation with PMSG and FSH. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.64, p. 345-347. 1983.

BARRET, D.M.W.; BARTLEWSKI, P.M.; BATISTA-ARTEAGA, M. et al. 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 season in ewes. **Theriogenology**, v.61, p. 311-327, 2004

BARUSELLI, P. S.; REIS, E. L.; MARQUES, M. O., et al. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. **Animal Reproduction Science**, v.82-83, p. 479-486, 2004.

BENATTI, J.M.B.; SASA, A.; OLIVEIRA, A.A. et al. , H.O. Atividade reprodutiva de ovelhas sem raça definida (SRD) na região de transição Cerrado-Pantanal em época de fotoperíodo crescente. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA, 17., 2007, Londrina. **Anais...** Londrina: UEL, 2007. CD-ROM.

BOSCOS, C.M.; SAMARTZI, F.C.; DELLIS, S., et al. Use of progestagen-gonadotrophin treatments in estrus synchronization of sheep. **Theriogenology**, v.58, p. 1261-1272, 2002.

CARDOSO NETO, B.M.; BARBOSA, L.P.; AGUIAR, C.S. et al. Follicle-stimulating hormone to substitute equine chotionica gonadotropin in the synchronization of ovulation in Santa Inês ewes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.41, n.3, p.603-606, 2012.

CARDWELL, B.E.; FITCH, G.Q.; GEISERT, R.D. Ultrasonic evaluation for the time of ovulation in ewes treated with norgestomet and norgestomet followed by

pregnant mare's serum gonadotropin. **Journal of Animal Science**, v.76, p. 35-38, 1998.

CARVALHO, J.A. **Sincronização do estro e da ovulação em ovelhas da raça santa Inês após tratamento com progestágeno novo e reutilizado associado a eCG ou FSHp**. 2009. 56 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, 2009.

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

COLOZO, M.G.; KASTELIC, J.P.; WHITTAKER, P.R. et al. Fertility in beef cattle given a new or previously used CIDR insert and estradiol, with or without progesterone. **Animal Reproduction Science**, v.81, p. 25-34, 2004.

CROSBY, T.F.; BOLAND, M.P.; GORDON, I. Effect of progestagen treatments on the incidence of oestrus pregnancy rates in ewe. **Animal Reproduction Science**. v.24, p. 109-118, 1991

CRUZ, J.F. **Conservação e fertilidade do sêmen ovino mantido à temperatura de 4°C por um período de 48 horas diluído em frações ativas da água de coco**. 1994. 78 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 1994.

DIAS, F.E.F.; LOPES-JUNIOR, E.S.; VILLAROEL, A.B.S. et al. Sincronização do estro, indução da ovulação e fertilidade de ovelhas deslançadas após tratamento hormonal com gonadotrofina coriônica eqüina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.53 p. 618-623, 2001.

DONROV, T.S.; BATSAIHAN, D.; LEY, W.B. Gonadotrophin extraction from pregnant mare's serum and effect of PMSG preparation on the fertility of Mongolian native ewes. **Small Ruminant Research**, v. 28, p. 61-66, 1998.

DRIANCOURT, M.A.; GIBSON, W.R.; CAHILL, L.P. Follicular dynamics through the oestrus cycle in sheep. A review. **Reproduction Nutrition Development**, v.25, p. 1-15, 1985.

FONSECA, J.F. Estratégias para o controle do ciclo estral e superovulação em ovinos e caprinos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 16, 2005, Goiânia. **Anais...** Palestras.

FREITAS, V.J.F; RUBIANES, E. **Deteção e Controle do Estro e da Ovulação**. In: AISEN, 2008. EG. Reprodução Ovina e Caprina. 1^a. ed. – Medicina Veterinária, São Paulo.

GINTHER, O.J.; ARAUJO, R.R.; PALHÃO, M.P. et al. Necessity of sequential pulses of prostaglandin for complete physiologic luteolysis in cattle. **Biology of Reproduction**, 80: p. 641-648, 2009.

GINTHER, O.J.; BERGFELT, D.R.; BEG, M.A. et al. Follicle selection in cattle: role of luteinizing hormone. **Biology of Reproduction**, v.64, p.197-205, 2001

GODFREY, R.W.; GRAY, L.; COLLINS, J.R. Estrus synchronization of sheep in the tropics using either controlled internal drug release (CIDR) dispensers or prostaglandin F_{2α} (PGF). **Journal of Animal Science**, v.73, p. 232, 1995.

GORAVANAHALLY, M.P.; SEN, A.; INSKEEP, E.K. et al. PKCepsilon and an increase in intracellular calcium concentration are necessary for PGF_{2α} to inhibit LH-stimulated progesterone secretion in cultured bovine steroidogenic luteal cells. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v.5, p. 1-13, 2007.

GUTIERREZ, C. G.; RALPH, J. H.; TELFER, E. E., et al. Growth and antrum formation of bovine preantral follicles in long-term culture in vitro. **Biology of Reproduction**, v.62, p. 1322-1328, 2000.

HAFEZ, E.S.E. **Reprodução animal**. 6.ed. São Paulo: Manole, 1995. 345 p.

HAFEZ, B. **Reprodução Animal**. 7 ed. Ed. Manole. Barueri, 2004. 513 p.

HERRERA, H.L.; FELDMAN, S.D.; ZARCO, Q.L. et al. Evaluacion del efecto luteolitico de la PGF_{2α} em diferentes dias del ciclo estral de la borrega. **Veterinária México**, v.21, p. 143-147, 1990.

HULSHOF, S.C.J.; FIGUEREDO, J.R.; BEKERS, J.F. et al. Effects of fetal bovine serum, FSH and 17β-estradiol on the culture of bovine preantral follicles. **Theriogenology**, v.44, p. 217-226, 1995.

KNIGHTS, M.; BAPTISTE, Q.S.; DIXON, A.B. et al. Effects of dosagens of FSH, vehicle and time of treatment on ovulation rate and prolificacy in ewe during tro anestrus season. **Small Ruminant Research**, v. 50, p.1-9, 2003.

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

MARTEMUCCI, G. E D'ALESSANDRO, A. G. Induction/synchronization of oestrus and ovulation in dairy goats with different short term treatments and fixed time intrauterine or exocervical insemination system. **Animal Reproduction Science**. v.126, p.187– 194, 2011.

MARTINEZ, M.F.; KASTELIC, J.P.; BO, G.A. et al. Effects of oestradiol and some of its esters on gonadotrophin release and ovarian follicular dynamics in CIDR-treated beef cattle. **Animal Reproduction Science**, v.86, p.37-52, 2005.

MARTINS, F.S.; SILVA, J.R.V.; RODRIGUES, A.P.R.; et al. Fatores reguladores da foliculogênese em mamíferos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.32, p.36-49, 2008.

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

MIALOT, J.P.; CONSTANT, F.; DEZAUX, P. et al. Estrus synchronization in beef cows: comparison between GnRH + PGF2 α + GnRH and PRID + PGF2 α + eCG. **Theriogenology**, v.60, p.319-330, 2003.

MINTON, J.E.; COPPINGER, T.R.; SPAETH, C.W. et al. Poor reproductive response of anestrus Suffolk ewes to ram exposure is not due to failure to secrete luteinizing hormone acutely. **Journal of Animal Science**., v.69, p.3314-3320, 1991.

MORAES J.C.F.; SOUZA C.J.H.; GONÇALVES P.B.D. et al. **Controle do estro e da ovulação em ruminantes**. 2008. In: Gonçalves P.B.D., Figueiredo J.R. e Freitas V.J.F. Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal. 2ª ed. Roca, São Paulo.

MORAES, J.C.F.; SOUZA, C.J.H.; GONÇALVES, P.B.D. **Controle do estro e da ovulação em bovinos e ovinos**. Cap. 3. In: GONÇALVES, P.B.D.; FIGUEIREDO, J.R.; FREITAS, V.J.F. Biotécnicas aplicadas à Reprodução Animal. Ed. Varela, São Paulo, 2002, 340 p.

NASCIMENTO, V.A.; TORRES, C.A.A.; DIAS, M. et al. Taxa de prenhez com uso do FSH-p na sincronização da ovulação em vacas da raça Nelore. In: XXI REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, 25., 2007, Salvador. **Anais...** Salvador. 2007. p.1135.

OLIVEIRA, A. F.; NASCIMENTO, A. V.; TORRES, A. A. C., et al. Dinâmica folicular na sincronização de ovulação associado à administração de FSH-p em vacas da raça Nelore. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 35, p. 45-56, 2007.

PAULA, N. R. O.; CARDOSO, J. F. S.; OLIVEIRA, M. A. L.; et al. Embriões caprinos produzidos in vivo ou in vitro: técnicas, problemas e perspectivas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 32, p. 21-35, 2008.

RATHBONE, M.J.; KINDER, J.E.; FIKE, K. et al. Recent advances in bovine reproductive endocrinology and physiology and their impact on drug delivery system design for the control of the estrous cycle in cattle. **Advance Drug Delivery Reviews**, v. 50, p. 277-320, 2001.

RUBIANES E. Nociones básicas de fisiología reproductiva 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.; CASTRO, T.; KMAID, S. Estrus response after a short progesterone priming in seasonally anestrous goats. **Theriogenology**, v. 49, p. 356-362. 2000.

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

SANTOS, I.C.C.; MARTINS, C.M.; BARUSELLI, P.S. et al. Estudo da dinâmica folicular de vacas Nelore (*Bos indicus*) em anestro sincronizadas com protocolo IATF, utilizando Folltropin (FSH-p) como indutor de crescimento folicular. In:

XXI REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, 35(3), 2007a, Salvador. **Anais...** Salvador, 2007 p. 1152.

SHRESTHA, H.K.; BEG, M.A.; SIDDQUI, M.A.R. et al. Dynamic progesterone responses to stimulation of a natural pulse of a metabolite of prostaglandin F2 α in heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 118, p. 118-123, 2010.

SOUZA, M.I.L.; OBA, E.;URIBE-VELÁSQUEZ, L.F.; RAMOS, A.A. Secreção diária de estradiol, progesterona e hormônios folículo estimulante (FSH) em ovelhas durante o anestro estacional. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, 5: p. 015-020, 2002.

TAKADA, L.; BICUDO, S.D.; RODRIGUES, C.F.C. et al. Avaliação dos momentos do início do estro e da ovulação em ovelhas Suffolk submetidas a protocolos de curta duração para a sincronização do estro na pré-estação reprodutiva . In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 15, 2003, Porto Seguro-BA. **Anais...** Belo Horizonte.

TRALDI, A. S.; LOUREIRO, M. F. P.; CAPEZZUTO, A. et al. Métodos de controle da atividade reprodutiva em caprinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 31, p. 254-260, 2007.

URIBE-VELÁSQUEZ, L.F.; CADAVID, R.R.; OSORIO, J.H. Respostas foliculares e endócrinas em ovelhas após sincronização do estro usando progesterona, prostaglandinas (PGF2 α) e gonadotrofinas. **Veterinária e Zootecnia**, v. 3, p. 14-27, 2009.

URIBE-VELÁSQUEZ, L.F.; OBA, E.; HERRERA,L.C. et al. Respostas endócrinas associadas com o folículo dominante da primeira onda folicular em ovelhas Santa Inês sincronizadas com CIDR ou PGF2a. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 3, p. 944-953, 2002.

URIBE-VELÁSQUEZ, L.F.; OBA, E.; SOUZA, M.I.L. Población folicular y concentraciones plasmáticas de progesterona (P4) en ovejas sometidas a diferentes protocolos de sincronización. **Archivos de Medicina Veterinaria**, v.40, p. 83-88, 2008.

URIBE-VELÁSQUEZ, L.F.; SOUZA, M.I.L.; LOAIZA, A.M. Efecto de la sincronización del estro con prostaglandina-F2 α vs CIDR + 500 UI de eCG en ovejas Bergamacia durante el inicio de la fase luteal. *Revista Científica*, v.XVIII, n.4, p.368-373, 2008.

URIBE-VELÁSQUEZ, L.F.; SOUZA, M.I.L.; LOAIZA, A.M.E. Efecto de la sincronización del estro con prostaglandina-f2 α vs CIDR + 500 UI de eCG en ovejas Bergamacia durante el inicio de la fase luteal. **Revista Científica**, v. 18, p. 368-373, 2008a.

VALENTIM, R.; MARQUES, M.O.; CREPALDI, G.A. et al. 2008. Efeito do tratamento com FSH na retirada do dispositivo intravaginal de progesterona sobre a taxa de prenhez de primíparas Nelore inseminadas em tempo fixo. In: XXII REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, v. 36, p. 597. **Anais...** Guarujá, São Paulo.

VILLARROEL, A.B.S. Perdas reprodutivas dos ovinos no Brasil. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, p. 252-257. 1991.

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

WANDJI, S.A.; EPPIG, J.J.; FORTUNE, J.E. FSH and growth factor affect the growth and endocrine function in vitro of granulosa cells of bovine preantral follicles. **Theriogenology**. v. 45, p. 817-832, 1996.

WHEATON, J.E.; CARLSON, K.M.; WINDELS, H.F. et al. CIDR: A new progesteronereleasing intravaginal device for induction of estrus and cycle control in sheep and goats. **Animal Reproduction Science**, v. 33, p. 127, 1993.

ZAIEEM, I., TAINTURIER, D., CHEMLI, J., SOLTANI, M. Vaginal sponges and different PMSG doses to improve breeding performances of Black thiban ewes. **Medicine Veterinary**, v. 147, p. 305-310, 1996.

ZARAZAGA, L.A.; MALPAUX, B.; CHEMINEAU, P. Amplitude of the plasma melatonin nycthemeral rhythms is not associated with the dates of onset and

offset of the seasonal ovulatory activity in the Ile de France ewe. **Reproduction Nutrition Development**, v.43, p.167-177, 2003.

2 ARTIGO CIENTÍFICO

O artigo descrito abaixo foi elaborado de acordo com as normas do Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.

Indução de estro utilizando hormônio folículo estimulante em substituição à gonadotrofina coriônica equina em fêmeas mestiças Santa Inês

Induction of estrus using follicle stimulating hormone in lieu of equine chorionic gonadotropin in female crossbred Santa Inês

Alberto Carlos Pereira Junior*¹, Aya Sasa²

¹Aluno de Pós-Graduação – UEMS – Aquidauana, MS

²Programa de Pós-Graduação em Zootecnia - UEMS – Aquidauana, MS

RESUMO

Objetivou-se avaliar a utilização do hormônio folículo estimulante (FSH) em substituição à gonadotrofina coriônica equina (eCG) em protocolos de indução de estro em ovelhas mestiças Santa Inês. Foram utilizadas 29 fêmeas, as quais submetidas à inserção de esponjas intravaginais contendo 60 mg de acetato de medroxiprogesterona por 10 dias, após este período as esponjas foram retiradas e os animais foram divididos aleatoriamente. Grupo 1 (n=10): 500 UI de eCG, Grupo 2 (n=10): 10 mg de FSH e Grupo 3 (n=9) 15 mg de FSH. Foram utilizados em ambos os grupos injeção intramuscular de 0,5 mL de d-cloprostenol no momento da retirada da esponja. Não houve diferença ($P>0,05$) para a manifestação de estro entre os grupos G1, G2 e G3 (10/10, 9/10 e 9/9, respectivamente) e para o tempo de manifestação ($47,80\pm5,95$, $61,44\pm7,39$ e $64,33\pm4,01$ horas, respectivamente). Para a fertilidade ao parto não houve diferença ($P>0,05$) entre os tratamentos (90,0, 60,0 e 44,4%, respectivamente). O estro e a ovulação foram eficientemente induzidos em ovelhas mestiças Santa Inês, utilizando progestágeno associado à administração de eCG ou FSH, juntamente com $\text{PGF}_{2\alpha}$, no momento da retirada da esponja, substituindo assim a utilização da eCG.

Palavras-chave: estro, ovelhas, sazonalidade reprodutiva

ABSTRACT

The objective was to evaluate the use of follicle stimulating hormone (FSH) in lieu of equine chorionic gonadotropin (eCG) in induction protocols of estrus in ewes crossbred Santa Ines. 29 females were used, which referred to the insertion of intravaginal sponges containing 60 mg of medroxyprogesterone acetate for 10 days, after which the sponges were removed and the animals were divided randomly. Group 1 (n=10): 500 IU eCG, Group 2 (n=10): 10 mg of FSH and Group 3 (n=9) 15 mg of FSH. Were used in both groups intramuscular injection of 0,5 mL of d-cloprostenol at the time of sponge withdrawal. There was no difference ($P>0,05$) for the expression of estrus between groups G1, G2 and G3 (10/10, 9/10 and 9/9, respectively) and the time of onset ($47,80\pm5,95$, $61,44\pm7,39$ and $64,33\pm4,01$ hours, respectively). For fertility childbirth did not differ ($P>0,05$) among treatments (90,0, 60,0 and 44,4%, respectively). The estrus and ovulation were efficiently induced in crossbred ewes Santa Ines, using progestin associated with administration of eCG or FSH, along with $\text{PGF2}\alpha$, the withdrawal of wallows, thus replacing the use of eCG.

Keywords: estrus, ewes, reproductive seasonality

Introdução

A atividade reprodutiva das ovelhas é caracterizada pela apresentação de ciclos regulares e a estação de anestro sazonal pela irregularidade destes ciclos. A latitude, altitude, alimentação, estado nutricional, condições climáticas, genéticas e idade desempenham papel importante na regulação da atividade reprodutiva e no anestro sazonal.

Neste contexto, visando o aumento da produtividade, a indução e/ou sincronização do estro e ovulação através de tratamentos hormonais proporciona a maximização do uso dos reprodutores e a concentração dos nascimentos em um determinado período do ano. Isso melhora o manejo nutricional e sanitário das matrizes, favorecendo a obtenção de lotes homogêneos de crias (Simplicio et al., 2007).

Os métodos mais utilizados para indução de estro e ovulação de ovelhas envolvem progesterona e/ou progestágenos utilizados na forma de implantes intravaginais que promovem liberação lenta (Dixon et al., 2006) e associados com administração intramuscular de eCG para estimular o crescimento folicular e sincronização e/ou indução da ovulação (Ali, 2007). A prostaglandina ($\text{PGF}_{2\alpha}$) e seus análogos também podem ser utilizados, devido aos seus efeitos luteolíticos (Dixon et al., 2006). Entretanto, observa-se que a utilização de injeções repetidas de eCG ocasiona a formação de anticorpos anti-eCG, interferindo na sincronização e/ou indução do estro e a ovulação, com diminuição da taxa de fertilidade (Noel et al., 1994). Uma alternativa para o tratamento de eCG é o uso de FSH, o qual apresenta reação imunológica menor (Nascimento et al., 2007).

Desta forma, objetivou-se avaliar a utilização do FSH em substituição à eCG em protocolos de indução de estro e ovulação com progestágenos em ovelhas mestiças Santa Inês.

Material e Métodos

O experimento foi realizado durante o período de anestro sazonal (novembro) no setor de ovinocultura da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS), em Aquidauana-MS, área de transição entre os biomas Cerrado e Pantanal, situada a 20°28' de latitude Sul, 55°48' de longitude Oeste e 149 metros de altitude. O clima é classificado como Tropical Úmido (AW), segundo classificação Koppen. A precipitação média anual está em torno de 1350 mm. A média térmica da região é de 25°C. A média mensal do mês mais quente (janeiro) chega a 27,5°C e a do mês mais frio (junho) chega a 22,5°C.

Foram utilizadas 29 ovelhas mestiças Santa Inês, múltíparas, não lactantes, apresentando escore de condição corporal (ECC) entre 2 e 3, um reprodutor e dois machos vasectomizados para detecção de estro. Os animais foram mantidos em piquetes com *Panicum maximum* cv. Massai e *Brachiaria decumbens*, das 7:00h às 17:00h, com água e suplemento mineral *ad libitum*.

Todas as ovelhas receberam esponjas intravaginais contendo 60 mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP; Progespon[®], Syntex, Argentina) que permaneceram por 10 dias. Após este período as esponjas foram retiradas e os animais divididos

aleatoriamente em três grupos. O Grupo 1 (n = 10) recebeu 500 UI de eCG (Novormon[®], Syntex, Argentina), o Grupo 2 (n = 10) 10 mg de FSHp (Folltropin[®], Bioniche, Canadá) e o Grupo 3 (n = 9) 15 mg de FSH. Foram utilizados, em todos os grupos, injeção intramuscular de 0,5 mL de d-cloprostenol (Prolise[®], Arsa SRL, Argentina) no momento da retirada da esponja.

Após a remoção da esponja, as ovelhas foram monitoradas duas vezes ao dia, às sete e às dezessete, para detecção do estro, com o auxílio de dois machos vasectomizados e um reprodutor, marcados com tinta na região do esterno. Os parâmetros de comportamento reprodutivo avaliados foram: manifestação do estro e tempo para manifestação do estro, ou seja, intervalo entre a retirada da esponja e o início do estro, mensurados em horas. Os partos foram acompanhados para determinação da fertilidade ao parto.

O monitoramento da atividade ovariana foi realizado utilizando a dosagem das concentrações de progesterona circulante, refletindo diretamente a função do corpo lúteo, sendo, portanto, um indicador da função ovariana. Para dosar a concentração plasmática de progesterona, em todas as ovelhas, pela manhã (8h), colheram-se amostras de sangue por venopunção jugular. As colheitas iniciaram minutos antes da retirada das esponjas. Posteriormente, as colheitas continuaram diariamente, finalizando cinco dias após a aplicação hormonal para confirmar a ocorrência de estro. Todas as amostras de sangue foram colhidas em tubos heparinizados e imediatamente centrifugadas, e o plasma obtido, estocado, para posterior determinação hormonal por radioimunoensaio (RIA) em fase sólida. A concentração plasmática de progesterona foi analisada em um único ensaio, utilizando-se kits comerciais (P4 - Coat-A-Count Progesterone, solid phase, Diagnostic Products Corporation, 5700 West 96th Street, Los Angeles, CA 90045-5597, USA), sem qualquer extração ou pré-diluição, com sensibilidade do ensaio de 0,02 ng/mL e coeficiente de variação intraensaio de 0,62%, no Laboratório de Endocrinologia do Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, FMVZ, UNESP.

Os dados do tempo para manifestação de estro foram submetidos à análise de variância ao nível de significância de 5%. Para a ocorrência do estro os dados foram analisados por meio da metodologia de modelos lineares generalizados, considerando-se a distribuição como binomial em função da ligação logística, com nível de significância

de 5%. A fertilidade ao parto foi avaliada pelo teste não paramétrico do Qui-quadrado com significância de 5%.

Resultados e Discussão

Na Tab. 1 são apresentados os resultados referentes à manifestação e tempo para manifestação do estro dos animais dos grupos 1, 2 e 3. Após a retirada das esponjas 96,5%, ou seja, 28 ovelhas manifestaram estro, demonstrando a eficiência dos três protocolos de indução de estro. Não houve diferença entre os tratamentos ($P>0,05$). Estes resultados aproximam-se dos encontrados por Souza et al. (2011), trabalhando com cabras leiteiras e variando também a utilização de eCG e FSH em protocolos de sincronização de indução, que obtiveram 100% de exibição de comportamento estral para ambos os tratamentos. Da mesma forma, Cardoso Neto et al. (2012), trabalhando com ovelhas da raça Santa Inês, alcançaram 100% de animais em estro utilizando eCG e FSH.

Tabela 1 – Médias e desvio padrão do comportamento estral de ovelhas mestiças Santa Inês submetidas a protocolos de indução de estro com progestágenos utilizando a gonadotrofina coriônica equina (eCG) e diferentes doses do hormônio folículo estimulante (FSH).

Tratamento	N	Nº animais em estro (n)	Tempo para manifestação do estro (h)
eCG 500 UI (G1)	10	10 ^a	47,80±5,95 ^a
FSH 10 mg (G2)	10	9 ^a	61,44±7,39 ^a
FSH 15 mg (G3)	9	9 ^a	64,33±4,01 ^a

Letras diferentes na mesma coluna diferem entre si ($P<0,05$).

O tempo para manifestação de estro não demonstrou diferenças ($P>0,05$) entre os tratamentos hormonais. Os valores encontrados nos animais do tratamento eCG, corroboram os resultados encontrados por Ungerfeld et al. (2002), 45,5h, utilizando MAP por 6 ou 14 dias, seguidos de 350 UI de eCG em ovelhas em período de anestro sazonal.

Os valores encontrados nos animais tratados com 10 e 15 mg de FSH, mesmo não apresentando diferença estatística em relação à eCG, apresentaram médias de tempo de manifestação de estro mais tardiamente. Biologicamente, a diferença numérica

encontrada entre os tratamentos com a eCG e diferentes doses de FSH, pode gerar efeitos diretos na viabilidade do oócito produzido. O maior tempo para manifestação de estro nos tratamentos com FSH provavelmente tenha ocorrido tardiamente devido à pureza da molécula, fazendo com que não exista LH exógeno.

Souza et al. (2011) e Cardoso Neto et al. (2012) observaram intervalos entre a retirada da esponja e início estro de 38 e 35h, respectivamente para o grupo que utilizou FSH, e 45 e 27h, respectivamente para o grupo que utilizou eCG. Em contrapartida, o intervalo entre a retirada da esponja e final do estro (69 e 55h, para o FSH e 70 e 55h para eCG) encontrados nos trabalhos ficam mais próximos aos encontrados neste estudo.

Durante a sincronização de estro em um grupo de ovelhas, o fato das mesmas estarem em diferentes dias do ciclo estral, induz a uma variação entre as ovelhas quanto à secreção endógena de P_4 , sendo que a combinação de P_4 endógena e exógena podem refletir em alterações na dinâmica folicular das ovelhas, levando a uma variação no tempo de manifestação de estro após a retirada da P_4 exógena (Leyva et al., 1998).

A fertilidade ao parto do grupo tratado com eCG (G1) apresentou-se numericamente maior em relação aos grupos tratados com FSH (G2 e G3), contudo, estatisticamente, não houve diferenças ($P>0,05$) (Tab. 2). Entretanto, observa-se que os grupos (Tab. 1) G2 e G3 que manifestaram o estro tardiamente, e segundo Rubianes et al. (1996), ocorre redução da fertilidade quando o intervalo entre a retirada da esponja e início do estro é superior a 30h.

Tabela 2 – Fertilidade ao parto de ovelhas mestiças Santa Inês submetidas a protocolos de indução de estro com progestágenos utilizando a gonadotrofina coriônica equina (eCG) e diferentes doses do hormônio folículo estimulante (FSH).

Tratamento	N	Fertilidade ao parto %
eCG 500 UI (G1)	9/10	90,0 ^a
FSH 10 mg (G2)	6/10	60,0 ^a
FSH 15 mg (G3)	4/9	44,4 ^a

Letras diferentes na mesma coluna diferem entre si ($P<0,05$).

As concentrações plasmáticas de progesterona das fêmeas dos grupos G1, G2 e G3, confirmaram as observações obtidas mediante a detecção do estro pelos machos

vasectomizados e reprodutor. Minton et al. (1990) mencionaram que valores de progesterona plasmática inferiores a 1 ng/mL demonstram estro ou anestro e os valores superiores a 3 ng/mL classificam como diestro ou gestação. Neste trabalho, os valores de progesterona plasmática no quinto dia, demonstraram que o progestágeno determinou a sincronização dos grupos G1, G2 e G3, sendo as dosagens médias de progesterona endógenas baixas (0,45, 0,22, 0,15 ng/mL, respectivamente). Isso demonstra que a eCG pode superestimular os folículos ovarianos resultando em corpos lúteos de maior diâmetro e, conseqüentemente, aumentando a concentração de P_4 . Além disso, a eCG tem meia vida prolongada, promovendo um efeito estimulatório no corpo lúteo recém formado. Os maiores níveis de P_4 encontrado no protocolo utilizando eCG, confirmam as maiores porcentagem de concepção encontradas neste estudo.

Pelo fato de ambos os protocolos terem sido eficientes em induzir o estro e a ovulação nas ovelhas do presente estudo, criou-se um perspectiva atraente do uso em maior escala do FSH.

Conclusões

O estro e a ovulação foram eficientemente induzidos em ovelhas Santa Inês, com uso de progestágenos, associado à administração de eCG ou FSH, juntamente com $PGF_{2\alpha}$, no momento da retirada da esponja, o que possibilita a indicação do FSH como substituto à eCG.

Referências Bibliograficas

ALI, A. Effect of time of eCG administration on follicular response and reproductive performance of FGA-treated Ossimi ewes. *Small Ruminant Research*, v.72, p.33- 37, 2007.

CARDOSO NETO, B.M.; BARBOSA, L.P.; AGUIAR, C.S. et al. Follicle-stimulating hormone to substitute equine chorionic gonadotropin in the synchronization of ovulation in Santa Inês ewes. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.41, n.3, p.603-606, 2012.

DIXON, A.B.; KNIGHTS, M.; PATE, J.L. et al. Reproductive performance of ewes after 5-days treatment with intravaginal inserts containing progesterone in combination with injection of Prostaglandin F2 α . *Reproduction in Domestic Animals*, v.41, p.142-148, 2006.

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

MINTON, J.E.; COPPINGER, T.R.; SPAETH, C.W. et al. Poor reproductive response of anestrus Suffolk ewes to ram exposure is not due to failure to secrete luteinizing hormone acutely. *Journal of Animal Science*, v.69, p.33114-3320, 1990.

NASCIMENTO, A.A.C.; TORRES, C.A.A.; DIAS, M. et al. Dinâmica folicular na sincronização de ovulação associado à administração de FSH-p em vacas da raça Nelore. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.35, Supl.3, p.1320, 2007.

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

RUBIANES, E.; DE CASTRO, T.; CARBAJAL, B. Effect of high progesterone levels during the growing phase of the dominant follicle of wave 1 in ultrasonically monitored ewes. *Canadian Journal Animal Science*, v. 76, p. 473-475, 1996.

SIMPLÍCIO, A.A.; FREITAS, V.J.F.; FONSECA, J.F. Biotécnicas da reprodução como técnicas de manejo reprodutivo em ovinos. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*. v.31, n.2, p.234-246, 2007.

SOUZA, R. S.; BARBOSA, R.S.; AGUIAR, C.S. Sincronização da ovulação utilizando FSH em substituição à eCG em cabras. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. v.63, n.3, p.753-756, 2011.

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

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base no número de animais em estro, tempo para manifestação do estro e fertilidade ao parto, a gonadotrofina coriônica equina pode ser substituída pelo FSH. No entanto, recomenda-se a realização de novos estudos com um número maior de unidades experimentais, para verificar possíveis significâncias das diferenças numéricas encontradas nas variáveis estudadas, entre os protocolos experimentais.