

**AVALIAÇÃO DO FOTOPERÍODO E DURAÇÃO DO PROTOCOLO COM
PROGESTÁGENO SOBRE A CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE
PROGESTERONA EM OVELHAS INSEMINADAS EM TEMPO FIXO**

JOÃO LAWRENCE ORTIGOSA

**AVALIAÇÃO DO FOTOPERÍODO E DURAÇÃO DO PROTOCOLO COM
PROGESTÁGENO SOBRE A CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE
PROGESTERONA EM OVELHAS INSEMINADAS EM TEMPO FIXO**

JOÃO LAWRENCE ORTIGOSA

Dissertação apresentada a Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre.- Área de Concentração: Ciência Animal

Orientador: Prof^a Dr^a. Caliê Castilho

636.082 4 Ortigosa, João Lawrence.
O77a Avaliação do fotoperíodo e duração do protocolo
com progestágeno sobre a concentração plasmática
de progesterona em ovelhas inseminadas em tempo
fixo / João Lawrence Ortigosa -- Presidente
Prudente, 2013.
40 f.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) --
Universidade do Oeste Paulista -- Unoeste,
Presidente Prudente, SP, 2013.
Bibliografia.
Orientador: Caliê Castilho.

1. Ovinos. 2. Ciclo estral. 3. Santa Inês. 4. IATF.
5. Laparoscopia. I. Título

JOÃO LAWRENCE ORTIGOSA

**AVALIAÇÃO DO FOTOPERÍODO E DURAÇÃO DO PROTOCOLO COM
PROGESTÁGENO SOBRE A CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE
PROGESTERONA EM OVELHAS INSEMINADAS EM TEMPO FIXO**

Dissertação apresentada a Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre- Área de Concentração: Ciência Animal

Presidente Prudente, 28 de Junho.de 2013

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Caliê Castilho
Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE
Presidente Prudente-SP

Prof^a Dr^a Lisiane Dorneles de Lima
Universidade Norte do Paraná - UNOPAR
LocalLondrina-PR

Prof^a Dr^a Marilice Zundt
Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE
Presidente Prudente-SP

“Não devemos chamar o povo à escola para receber instruções, postulados, receitas, ameaças, repreensões e punições, mas para participar coletivamente da construção de um saber, que vai além do saber de pura experiência feita, que leve em conta as suas necessidades e o torne instrumento de luta, possibilitando-lhe ser sujeito de sua própria história”. (Paulo Freire)

RESUMO

Avaliação do fotoperíodo e duração do protocolo com progestágeno sobre a concentração plasmática de progesterona em ovelhas inseminadas em tempo fixo

Os objetivos do presente trabalho foram: avaliar, na primavera e verão (novembro a março), a concentração plasmática de progesterona em ovelhas lanadas e deslanadas criadas no oeste paulista; avaliar a concentração plasmática de progesterona em função do tempo de permanência do progestágeno (6, 9 ou 12 dias) em protocolo de IATF (inseminação artificial em tempo fixo). Experimento 1: Foram utilizadas 12 ovelhas mestiças (6 lanadas e 6 deslanadas), nas quais foram feitas, entre novembro e março, oito colheitas de sangue (C1 a C8), por venopunção da jugular., para posterior dosagem de progesterona por radioimunoensaio (RIA). Experimento 2: Foram utilizadas 38 ovelhas mestiças divididas aleatoriamente em três grupos: G-6 (n=13); G-9 (n=13); e G-12 (n=12). Inicialmente cada ovelha recebeu uma esponja intravaginal de progestágeno (D0) que permaneceu por 6 (G-6), 9 (G-9) ou 12 dias (G-12). Na retirada da esponja foram administrados, por via IM, 0,1315mg de PGF2 α e 300UI de eCG. A IATF, por via laparoscópica, foi feita a partir de 50 horas após a retirada do progestágeno. Trinta dias após foi realizado diagnóstico de gestação através de ultrassonografia transabdominal. Exp. 1. Com exceção das colheitas 4 (C4) e 8 (C8), em todas as outras o grupo deslanadas apresentou concentração de P₄ estatisticamente superior (p<0,05) ao grupo das lanadas. Exp. 2. No momento da retirada do progestágeno o G-12 apresentou concentração de P₄ significativamente (p<0,05) menor (0,342 ng/mL) que o G-6 (1,684 ng/mL) e G-9 (1,762 ng/mL). No entanto não houve diferença na taxa de prenhez entre os grupos G-6 (76,9%), G-9 (61,5%) e G-12 (91,6%). As ovelhas DES apresentaram concentração plasmática de P₄ maior que as ovelhas L nos períodos avaliados. A duração da permanência do progestágeno não afeta a taxa de prenhez em ovelhas, mas as ovelhas do G-12 exibiram P₄ menor quando comparada aos G-6 e G-9.

Palavras-chave: ovinos, ciclo estral, Santa Inês, IATF, laparoscopia.

ABSTRACT

Evaluation of photoperiod and duration of the protocol with progestin on plasma progesterone concentration in ewes inseminated at fixed time

The aims of this study were to evaluate, in spring and summer (November to March), the plasma progesterone concentration in woolly and hairless ewe sheep created in western São Paulo; evaluate the plasma progesterone concentration as a function of residence time of progestogen (6, 9 or 12 days) in TAI protocol (fixed-time artificial insemination). Experiment 1: We used 12 sheep cross breeds (6 hairless hair and 6 woolly ewe), in which were made between November and March, eight blood samples (C1 to C8), by jugular venipuncture for later determination of progesterone by radioimmunoassay (RIE). Experiment 2: We used 38 sheep cross breeds randomly divided into three groups: G-6 (n = 13), G-9 (n = 13), and G-12 (n = 12). Initially each sheep received an intravaginal sponge progestogen (D0) that has remained for 6 (G-6), 9 (G-9) or 12 days (G-12). At sponge removal were administered intramuscularly, 0.1315 mg of PGF2a and 300UI eCG. The IATF, laparoscopic, was made from 50 hours after withdrawal of progestin. Thirty days after pregnancy diagnosis was performed by transabdominal ultrasound Exp 1. With the exception of crops 4 (C4) and 8 (C8), all other woolless group P4 concentration showed statistically superior ($p < 0.05$) than the group of lanadas. Exp 2. Upon withdrawal of the progestogen G-12 P4 concentration showed significantly ($p < 0.05$) lower (0.342 ng / mL) to G-6 (1,684 ng / ml) and G-9 (1.762 ng / mL). However there was no difference in pregnancy rates between groups G-6 (76.9%), G-9 (61.5%) and G-12 (91.6%). The hairless ewes showed plasma P4 greater than the woolly sheep in periods. The duration of stay of progestin does not affect the pregnancy rate in ewes. The duration of stay of progestin does not affect the pregnancy rate in sheep, but the sheep in G-12 P4 exhibited lower when compared to G-6 and G-9.

Keywords: sheep, estrous cycle, Santa Ines, FTAI, laparoscopy.

LISTA DE SIGLAS

CE – Ciclo estral
CL – Corpo lúteo
DES – Deslanadas
eCG – Gonadotrofina coriônica equina
E₂ – Estradiol
FSH – Hormônio folículo estimulante
GnRH – Hormônio liberador de gonadotrofinas
L – Lanadas

LH – Hormônio luteinizante

MAP – Acetato de medroxiprogesterona

P₄ – Progesterona

PGF – Prostaglandina F_{2α}

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	9
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	11
2.1 Controle Neuroendócrino do Ciclo Estral e Folículogênese.....	11
2.2 Dinâmica Folicular na Ovelha.....	13
2.3 Influência da Raça e Fotoperíodo no Ciclo Estral.....	14
2.3.1 Progesterona.....	15
2.3.2 Prostaglandina F ₂ α	16
2.3.3 Gonadotrofina coriônica eqüina (eCG).....	17
REFERÊNCIAS.....	18
TRABALHO CIENTÍFICO.....	23

1 INTRODUÇÃO

A produção animal no oeste paulista vem enfrentando nesta última década talvez o período de maior desafio na história do país, haja vista ter cedido espaço à introdução maciça da monocultura canavieira. É certo, portanto, que muitos produtores, principalmente os de animais de grande porte, migrem para essa cultura. No entanto, a ovinocultura tem despontado como opção viável ao produtor pecuarista, tanto pela sua expansão, aceitação no mercado, como otimização do espaço físico, proporcionando taxas de lotação mais atraentes em pequenos espaços. Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2011) o efetivo de ovinos foi de 17,6 milhões de cabeças e o estado de São Paulo, décimo produtor brasileiro, possui quase 500 mil cabeças.

No entanto, para uma expansão segura da ovinocultura no Brasil, é necessário que se enfrente novos desafios na busca de tecnologias que permitam ao produtor obter melhores resultados. O melhoramento genético, uma das bases deste processo, encontra na técnica de inseminação artificial (IA) uma das principais ferramentas, e sua adoção deve estar amparada pelas técnicas de sincronização de estro e de ovulação visando à inseminação artificial em tempo fixo (IATF) resultando em parições sincronizadas de produtos melhorados. Além disso, permite o manejo do rebanho em blocos, propiciando a concepção fora da estação reprodutiva, aumentando a prolificidade natural, antecipando a puberdade e reduzindo o número de serviços por concepção (MACHADO; SIMPLÍCIO, 2001).

Um desafio que se apresenta também de expressiva importância é o de oferecer custos viáveis ao produtor para o alcance às tecnologias reprodutivas. Além da IA, outras biotécnicas podem auxiliar o melhoramento, como por exemplo: sincronização de estro, diagnóstico precoce de prenhez, transferência de embriões, colheita de oócitos, produção *in vitro* de embriões (SIMPLÍCIO; SALLES; SANTOS, 2002).

As fêmeas ovinas são poliéstricas estacionais e essa estacionalidade reprodutiva é governada pelo fotoperíodo, com a atividade estral começando durante o período em que diminui a duração de horas luz dia. Desta forma, a atividade reprodutiva sazonal se concentra após o solstício de verão época na qual ocorre aumento na secreção de melatonina pela glândula pineal (BOLAND; CROSBY; CALLACHAN, 1990), sendo a sazonalidade reprodutiva uma característica

importante na limitação da produtividade dos pequenos ruminantes (ZARAZAGA; MALPAUX; CHEMINEAU, 2003). No entanto a sazonalidade reprodutiva dessa espécie pode ser influenciada por diversos fatores tais como: climáticos, nutricionais e raciais (ROSA; BRYANT, 2003; SASA *et al.*, 2011). Portanto, se faz necessário conhecer o comportamento reprodutivo da raça a ser explorada, quer pela distinção de sua origem ou da região geográfica em que é criada, podendo assim requerer distintas formas de manejo reprodutivo.

Existem vários meios de manipular a estação reprodutiva em ovelhas, dentre eles pode-se citar a alteração no fotoperíodo, administração de hormônios e efeito macho (BOLAND; CROSBY; CALLACHAN, 1990). Já os métodos hormonais podem ser realizados na estação reprodutiva ou mesmo fora, quando os animais estão em anestro, variando apenas quanto ao protocolo a ser usado (MORAES *et al.*, 2008). A associação de esponjas intravaginais com progestágeno e aplicação de gonadotrofina coriônica equina (eCG) em tratamentos de sincronização do estro é extensivamente utilizada no manejo reprodutivo de ovelhas durante a estação reprodutiva ou na contraestação (VASQUES *et al.*, 2006).

O objetivo do presente trabalho é abordar os aspectos endócrinos da reprodução de ovinos com suas particularidades, bem como o uso dos protocolos de sincronização do estro e ovulação visando a IATF (inseminação artificial em tempo fixo).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Controle Neuroendócrino do Ciclo Estral

A maioria dos mamíferos de regiões temperadas que experimentam flutuações sazonais no suprimento de alimentos evoluiu em padrões de reprodução que restringem sua atividade reprodutiva em determinados períodos do ano. Este fenômeno adaptativo, muitas vezes referido como sazonalidade reprodutiva, garante que os nascimentos ocorram em épocas mais apropriada do ano, isto é, quando a qualidade da alimentação naturalmente disponível é suficiente para suportar as exigências nutritivas da mãe e de sua prole (MALPAUX, 2006).

Ovelhas são animais domésticos que, principalmente em latitudes temperadas, são reprodutores sazonais. O fotoperíodo impulsiona o seu ciclo reprodutivo, que compreende um período de atividade sexual durante os dias curtos e uma estação de anestro, que ocorre durante dias longos. Informações sobre as alterações no fotoperíodo são fornecidas ao organismo através da secreção de melatonina pela glândula pineal em períodos com ausência de luz (BITTMAN *et al.*, 1985; MISZTAL; ROMANOWICZ; BARCIKOWSKI, 2002), gerando um ritmo circanual na liberação desse hormônio.

Portanto, a secreção da melatonina tem relevante atuação no eixo hipotálamo-hipófise-gônada. O local alvo dos efeitos da melatonina é o hipotálamo e atua modificando a liberação pulsátil do hormônio luteinizante (LH) (MALPAUX *et al.*, 2007). A sua ação é produzida por dois mecanismos complementares: efeito direto na liberação do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) e na sensibilidade do eixo hipotalâmico-hipofisário frente à retroalimentação negativa exercida pelos esteróides gonadais.

As fêmeas ovinas apresentam ciclos estrais, com intervalos regulares de aproximadamente 17 dias, ou seja, uma cadeia de eventos na qual crescimento de folículos, estro, ovulação, formação e lise do corpo lúteo ocorrem nesse período, até que essa sequência seja interrompida por uma gestação ou anestro sazonal.

Fisiologicamente, o ciclo estral pode ser dividido em duas fases distintas, diferenciadas pelas estruturas predominantes no ovário e pelos hormônios por elas produzidos: a fase folicular (proestro e estro), que dura de 3 a 4 dias, caracterizada pelo crescimento de um folículo contendo um oócito que na sequência

irá ovular; e a fase luteínica (metaestro e diestro), com duração de 13 a 14 dias, na qual um corpo lúteo (CL) se desenvolve no local do folículo recém-ovulado. O folículo é o produtor primário de estradiol (E_2), e o CL, de progesterona (P_4) (MORAES *et al.*, 2008).

A regulação do ciclo estral da ovelha ocorre por modulação endócrina e neuroendócrina, em uma balanceada interação entre hormônios hipotalâmicos, gonadotrofinas hipofisárias e esteróides gonadais. Hipotálamo e hipófise, ligados por conexões neurais e vasculares, produzem e armazenam importantes hormônios relacionados à reprodução: GnRH, um decapeptídeo, é produzido no hipotálamo, por estímulo nervoso é liberado no sistema porta hipotálamo-hipofisário em pulsos e age na hipófise anterior liberando o hormônio folículo estimulante (FSH) e o LH. Estes hormônios atuam nos ovários, induzindo recrutamento, desenvolvimento folicular e maturação folicular (FSH, LH), ovulação ou luteinização do folículo recém-ovulado (LH) (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

As concentrações plasmáticas de P_4 estão muito baixas imediatamente após a ovulação (dia 0) e durante o período de formação do CL, que são seguidos por aumento nas concentrações entre os dias 3 e 7 do ciclo estral, mantém um platô dia aproximadamente dia 12 e, posteriormente, demonstram rápida diminuição alcançando os menores níveis antes do próximo estro e ovulação (BARTLEWSKI *et al.*, 1999).

Os esteróides gonadais, progesterona e estradiol, agem em conjunto para modular a frequência e amplitude dos pulsos de LH e a pulsatilidade é inversamente relacionada com os níveis de progesterona lútea (BARTLEWSKI *et al.*, 1999; DUGGAVATHI *et al.*, 2004). Segundo Uribe-Velásquez, Oba e Souza (2008), o índice de secreção dos pulsos de LH depende também da época, pois os efeitos inibitórios de uma dose de E_2 são mais baixos durante a estação reprodutiva que na época do anestro. Essa resposta de E_2 durante a estação reprodutiva é restaurada em ovelhas ovariectomizadas quando tratadas com P_4 , explicando, assim, a ação sinérgica desses dois hormônios esteroidais.

O diâmetro máximo do maior folículo em desenvolvimento são maiores em folículos da primeira e última onda do ciclo, ou seja, no metaestro e fase final do diestro, em que menores concentrações de P_4 são detectadas. Essa menor taxa de P_4 favorece um aumento na frequência dos pulsos de LH, responsável pelo crescimento final e maturação dos maiores folículos (SEEKALLU *et al.*, 2010).

2.2 Dinâmica Folicular na Ovelha

O processo onde os folículos passam pelo recrutamento, crescimento, maturação de folículos e ovulação é conhecido como dinâmica folicular e na ovelha possui um padrão semelhante a uma onda, na qual esse processo se dá de maneira contínua, culminando na atresia da maioria dos folículos ou na ovulação de um ou dois folículos em espécies não prolíficas e prolíficas, respectivamente (CAMPBELL, 2009; BARTLEWSKI *et al.*, 1999). A emergência da onda, onde folículos de 3mm iniciam o estágio de crescimento para alcançar tamanhos ovulatórios, é primariamente mediada por um aumento nas concentrações séricas de FSH (BARTLEWSKI *et al.*, 1999). Na estação reprodutiva, ocorre na ovelha em torno de três a quatro ondas de emergência folicular entre ovulações, observando-se os dias de emergência sendo dias 0, 6 e 10 para os ciclos com três ondas, e dias 0, 4, 8 e 12 para os ciclos com quatro ondas. Em cada onda despontam entre um e quatro folículos que atingem tamanhos ovulatórios maiores ou iguais a 5 mm (BARTLEWSKI *et al.*, 1999; URIBE-VELÁSQUEZ; OBA; SOUZA, 2008; SEEKALLU *et al.*, 2010).

A duração do ciclo estral não difere entre ovelhas que possuem três e quatro ondas em plena estação reprodutiva, entretanto o intervalo entre ondas são encurtados em ciclos de quatro ondas (BARTLEWSKI; BABY; GIFFIN, 2011). Foi observado também maior intervalo entre a primeira e segunda onda do que entre segunda e terceira, provavelmente devido a uma ação inibitória do crescente aumento na concentração plasmática de P_4 (SEEKALLU *et al.*, 2010). A P_4 possui um papel importante na regulação do ciclo estral, por inibir notavelmente a frequência de liberação pulsátil de LH (HARESIGN, 1985), entretanto, tem sido abordada também por sua marcante influência na secreção de FSH. Ovelhas ciclando que exibiram 4 ondas foliculares apresentaram maior concentração plasmática de progesterona e menor de FSH quando comparadas às ovelhas com três ondas. Parece que a progesterona é o elemento endócrino chave que controla os aumentos periódicos nas concentrações plasmáticas de FSH e, determina, conseqüentemente, o número de ondas foliculares por ciclo. Em raças prolíficas, podem ocorrer ovulações simultâneas de folículos de penúltima e última onda, fato este que sugere a existência de uma frágil dominância folicular nessa espécie (BARTLEWSKI; BABY; GIFFIN, 2011).

2.3 Protocolo Hormonal para Sincronização da Ovulação

Inúmeras vantagens são obtidas com a utilização dos métodos de indução e sincronização do estro em ovelhas. Segundo Henderson et al. (1984), a sincronização do estro oferece ao produtor um grande número de vantagens práticas, tais como: facilidade no manejo, o aproveitamento de pastagens, a otimização do macho e posterior comercialização dos produtos da mesma idade. Além disso, em sistemas intensivos de reprodução que tem como objetivo, partos em bloco ou três partos a cada dois anos, a sincronização de estro em ovinos é imprescindível (MORAES *et al.*, 2008), sobretudo em raças originárias de clima temperado, que apresentam estacionalidade reprodutiva bem definida.

Para a realização das técnicas de sincronização é preciso levar em consideração a estacionalidade reprodutiva dos ovinos e este fator tem que ser averiguado de acordo com a região do país, haja vista a influência da latitude sobre a reprodução sazonal nessa espécie. Em latitudes mais elevadas, quando a variação da intensidade luminosa é maior, a estacionalidade reprodutiva está intimamente relacionada com o fotoperíodo, enquanto que em baixas latitudes esta relação é menos pronunciada (CHEMINEAU; BERTHELOT; MALPAUX, 1993). Segundo Sasa et al. (2002) no Brasil, cuja área geográfica estende-se tanto sobre a linha do Equador (Regiões Nordeste e Norte) como sobre uma grande variação de latitudes ao Sul (Região Central, Sudeste e Sul), a duração da estação reprodutiva das ovelhas varia consideravelmente, sendo possível observar grande diferença entre as raças lanadas, normalmente criadas no sul do país, e as deslanadas criadas na região Nordeste.

Já na região Sudeste, é possível observar certa estacionalidade na atividade reprodutiva nas ovelhas lanadas estando ausente nas raças deslanadas (RODRIGUES *et al.*, 2007) . No Estado de São Paulo, na região de Botucatu, a atividade reprodutiva das fêmeas das raças Suffolk e Romney Marsh foi estudada e demonstrou ser fortemente influenciada pelo fotoperíodo, enquanto as fêmeas da raça Santa Inês quase não foram afetadas (RODRIGUES, 2001). Sasa et al. (2002), em Pirassununga-SP, também observaram que a incidência de ciclos estrais das borregas da raça Santa Inês manteve-se regular durante o período estudado (abril a novembro) enquanto que nas borregas das raças Suffolk e Romney Marsh essa incidência diminuiu a partir de agosto.

Porém, os métodos hormonais podem ser realizados na estação reprodutiva ou mesmo fora, quando os animais estão em anestro, variando apenas quanto ao protocolo a ser usado (MORAES *et al.*, 2008).

Os protocolos hormonais para sincronização do estro e ovulação em ovinos baseiam-se na manipulação das fases folicular e luteínica do ciclo estral. As estratégias utilizadas podem envolver o prolongamento da fase lútea, através da administração exógena de P_4 , ou o seu encurtamento, através da indução da regressão prematura do CL pela prostaglandina $F2\alpha$ ($PGF2\alpha$) e o uso de gonadotrofinas como a eCG (gonadotrofina coriônica eqüina).

2.3.1 Progesterona

O primeiro hormônio a ser utilizado para a sincronização do cio há seis décadas foi a P_4 (CHRISTIAN; CASIDA, 1948 apud KNIGHTS *et al.*, 2001). Em ovinos, os pessários intravaginais de liberação lenta, impregnados com P_4 ou seus análogos sintéticos (progestágenos) são muito utilizados.

Os pessários são confeccionados com esponjas de alta densidade, impregnados com 50mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP) ou 40mg de fluoroacetato de progesterona (FGA), que introduzidos no fundo da vagina, liberam o progestágeno lentamente (MORAES *et al.*, 2008). Existe também o dispositivo interno de liberação de drogas (CIDR) que contém 0,4 g de progesterona natural (KNIGHTS; BAPTIST; LEWIS, 2002) utilizado de maneira similar à esponja de progestágeno, porém de custo mais elevado. No momento de colocação da esponja são necessários cuidados com higiene do material (espécuro) e aplicação de 0,25 mL de antibiótico (oxitetraciclina) na esponja, para evitar vaginites ou aderências.

É possível obter um controle satisfatório do estro em ovelhas com alto grau de sincronização, onde até 95% das ovelhas do rebanho demonstram estro 24 a 48 horas após a retirada do progestágeno (BOLAND; CROSBY; CALLACHAN, 1990). Embora alta taxa de cio, a fertilidade varia muito (22 a 70%), quando utilizado em ovelhas no anestro (BICUDO, 2004), e está relacionada a vários fatores desde o tipo de protocolo empregado até a qualidade do sêmen (inseminação artificial ou reprodutor). Um fator importante é o tempo de permanência do progestágeno, os primeiros protocolos recomendavam períodos de 12 a 14 dias, porém a alta permanência da esponja induz um período maior de crescimento do folículo e

conseqüente envelhecimento do oócito, o mesmo pode ser observado em bovinos (WILTBANK *et al.*, 1996).

Ungerfeld e Rubianes (1999), obtiveram taxas altas de sincronização de estros em ovelhas com protocolos de curta (6 dias) e longa (12 dias) duração de P₄ (93,8 vs. 87,5% respectivamente). Outro estudo testou o tratamento curta (6 dias) ou longa duração (12 dias) com MAP associado ou não à aplicação de eCG e concluíram que a taxa de prenhez foi maior no grupo de 6 dias sem a eCG (83%) quando comparados aos outros grupos que variaram de 58% a 67% (VIÑALES *et al.*, 2001). Por outro lado, altas taxas de manifestação de cio e prenhez foram observadas utilizando-se progestágeno por 12 dias (SILVA *et al.*, 2010; MARTEMUCCI; D'ALESSANDRO, 2010). Em outro trabalho recente a duração do tratamento com progestágeno por 6, 9 ou 14 dias não afetou a porcentagem de manifestação de estro em ovelhas, porém, os protocolos de maior duração exibiram maior sincronia (CASTILHO *et al.*, 2013).

2.3.2 Prostaglandina F₂ α

Outro hormônio rotineiramente utilizado é a PGF₂ α ou seus análogos sintéticos que induzem lise do CL, diminuindo a concentração plasmática de P₄ com conseqüente aumento no E₂, manifestação de cio e indução do pico de LH (HAFEZ; HAFEZ, 2004). Porém, esta tecnologia deve ser empregada somente durante a estação reprodutiva, em ovelhas ciclando e apresentando CL funcional nos ovários (HOPPE; SLYTER, 1989).

Em ovelhas da raça Santa Inês, o uso de duas doses de PGF₂ α , com 9 dias de intervalo, resultou em 100% de manifestação de cio até 96 h após a aplicação da segunda dose (SILVA *et al.*, 2010). Godfrey, Gray e Collins (1997) observaram que a taxa de concepção utilizando-se 2 doses de PGF₂ α com 10 dias de intervalo foi similar à de ovelhas tratadas com CIDR por 12 dias, porém o CIDR antecipou a manifestação de cio.

2.3.3 Gonadotrofina coriônica eqüina (eCG)

A eCG é um hormônio essencial nos programas de sincronização do estro e indução da ovulação, sobretudo fora da estação reprodutiva (MORAES *et al.*, 2008). Além disso, permite redução do intervalo entre estro e ovulação e aumento na área do CL subsequente (COX *et al.*, 2012).

Husein *et al.* (1998) avaliaram o tratamento de ovelhas fora da estação reprodutiva (esponja) associado à aplicação de eCG no momento da retirada da esponja e observaram taxa de prenhez de 70%. Cardwell, Fitch e Geisert (1998) observaram que a ovulação ocorre em média 70 a 80 horas após a remoção do implante de progestágeno, mantido por 10 dias, com aplicação de 500 UI de eCG no momento da retirada do implante e este tratamento antecipou a ovulação em mais de 10 horas, quando comparado ao grupo que recebeu apenas P₄.

Em outro estudo, o uso de 500 UI de eCG após retirado do progestágeno mantido por 12 dias, em anestro ou na estação reprodutiva foi testado e observou-se que as ovelhas tratadas com eCG ovularam folículos de várias ondas ao passo que no grupo sem eCG a ovulação foi proveniente da onda final do ciclo. Neste estudo também se constatou que a eCG induziu aumento de E₂ durante o período periovulatório, principalmente no anestro, aumentando a sincronização e indução de cio nesta fase (BARRET *et al.*, 2004).

A sincronização do estro e, assim, a ovulação cria uma oportunidade para usar a inseminação artificial em grupos de ovelhas com sêmen congelado de reprodutores superiores e aumentar a eficiência dos programas de melhoramento genético (CLINE *et al.*, 2001). Porém, no Brasil, o custo destas tecnologias é um dos principais determinantes para o seu emprego, portanto aprimorar e maximizar seus resultados, bem como diminuir seus custos são desafios que devem ser alcançados (CASTILHO *et al.*, 2013).

As novas pesquisas tem se focado na diminuição do tempo de permanência dos implantes de progesterona, a fim de diminuir custos quando da reutilização, no caso do CIDR, ou mesmo antecipação da concepção.

REFERÊNCIAS

- BARRET, D. M. et al. Ultrasound and endocrine evaluation of the ovarian response to a single dose of 500 UI of eCG following a 12 days treatment with progestogen-releasing intravaginal sponges in the breeding and non breeding seasons in ewes. **Theriogenology**, v. 61, n. 2-3, p. 311-327, 2004. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14662131>>.
- BARTLEWSKI, P. M. et al. Ovarian antral follicular dynamics and their relationships with endocrine variables throughout the oestrous cycle in breeds of sheep differing in prolificacy. **J. Reprod. Fertil.**, v. 115, p. 111-124, 1999. DOI: 10.1530/jrf0.1150111.
- BARTLEWSKI, P. M.; BABY, T. E.; GIFFIN, J. L. Reproductive cycles in sheep. **An. Reprod. Sci.**, v. 124, n. 3-4, p. 259-268, 2011. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2011.02.024.
- BICUDO, S. D. **Sistema de acasalamento em ovinos**: monta natural e inseminação artificial. Botucatu: universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2004. Disponível em: <<http://www.fmvz.unesp.br/fmvz/Informativos/ovinos/repman1.htm>>.
- BITTMAN, E. L. et al. Pineal melatonin mediates photoperiodic control of pulsatile luteinizing hormone secretion in ewe. **Neuroendocrinology**, v. 40, n. 5, p. 409-418, 1985. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3892351>>.
- BOLAND, M. P.; CROSBY, F.; O'CALLACHAN, D. Artificial control of the breeding season in ewes. **Irish Veterinary Journal**, v. 43, p. 2-6, 1990.
- CAMPBELL, B. K. The endocrine and local control of ovarian follicle development in the ewe. **Anim. Reprod.**, v. 6, n. 1, p. 159-171, 2009. Disponível em: <<http://www.cbpa.org.br/pages/publicacoes/animalreproduction/issues/>>.
- 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 PMSG. **Journal Animal Science**, v. 76, n. 9, p. 2235-2238, 1998. Disponível em: <<http://www.journalofanimalscience.org/content/76/9/2235.long>>.
- CASTILHO, C. et al. Protocolos de indução e sincronização do estro em ovelhas. **Ci. Anim. Bras.**, v. 14, n. 1, p. 91-97, 2013. DOI: 10.5216/cab.v14i1.13378.
- CHEMINEAU, P.; BERTHELOT, X.; MALPAUX, B. et al. La maîtrise de la reproduction par la photopériode et la mélatonine chez les mammifères d'élevage. **Cahiers Agricultures**, v. 2, n. 2, p. 81-92, 1993. Disponível em: <<http://www.jle.com/e-docs/00/04/1B/CC/article.phtml>>.
- CLINE, M. A. et al. Intervals from norgestomet withdrawal and injection of equine chorionic gonadotropin or P.G. 600 to estrus and ovulation in ewe. **J. Anim. Sci.**, v. 79, n. 3, p. 589-594, 2001. Disponível em: <<http://www.journalofanimalscience.org/content/79/3/589.long>>.

COX, J. F. et al. Follicular dynamics, interval to ovulation and fertility after AI in short-term progesterone and PGF2 oestrous synchronization protocol in sheep. **Reprod. Dom. Anim.**, v. 47, p. 946-951, 2012. DOI: 10.1111/j.1439-0531.2012.01996.x.

DUGGAVATHI, R. et al. Patterns of antral follicular wave dynamics and accompanying endocrine changes in cyclic and seasonally anestrus ewes treated with exogenous ovine follicle-stimulating hormone during the inter-wave interval. **Biol. Reprod.**, v. 70, n. 3, p. 821-827, 2004. DOI: 10.1095/biolreprod.103.023739.

GODFREY, R. W.; GRAY, M. L.; COLLINS, J. R. A comparison of two methods of oestrus synchronisation of sheep in the tropic. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 47, n. 1, p. 99-106, 1997. Disponível em: <[http://www.animalreproductionscience.com/article/S0378-4320\(97\)00007-9/abstract](http://www.animalreproductionscience.com/article/S0378-4320(97)00007-9/abstract)>.

HAFEZ, B.; HAFEZ, E. S. E. **Reprodução animal**. 7. ed. Barueri: Manole, 2004. p. 173-178.

HARESIGN, W. Comparison of the rate of decline in plasma progesterone concentrations at a natural and progesterone-synchronized oestrus and its effect on tonic LH secretion in the ewe. **J. Reprod. Fertil.**, v. 75, n. 1, p. 231-236, 1985. DOI: 10.1530/jrf.0.0750231.

HENDERSON, D. D. et al. Oestrus synchronization in ewes: a comparison of prostaglandin F_{2α} and salt with a progestagen pessary. **Anim Prod.**, v. 39, p. 229-233, 1984.

HOPPE, K. F.; SLYTER, A. L. Effects of prostaglandin dosage on synchronizing ovine estrus using a modified single injection regimen. **Theriogenology**, v. 31, n. 6, p. 1191-1200, 1989. DOI: 10.1016/00093-691-691X(89)90088-5.

HUSEIN, M. G. et al. Effect of eCG on the pregnancy rate of ewes transcervically inseminated with frozen-thawed semen outside breeding season. **Theriogenology**, v. 49, n. 5, p. 997-1005, 1998. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10732107>>.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção da pecuária municipal 2011**. Disponível em: <http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2011_v39_br.pdf>. Acesso em: 11 fev. 2013.

KNIGHTS, M. et al. Effectiveness of intravaginal progesterone inserts and FSH for inducing synchronized estrus and increasing lambing rate in anestrus ewe. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 79, n. 5, p. 1120-1131, 2001. Disponível em: <<http://www.journalofanimalscience.org/content/79/5/1120.long>>.

KNIGHTS, M.; BAPTISTE, Q. S.; LEWIS, P. E. Ability of ram introduction to induce LH secretion, estrus and ovulation in fall-born ewe lambs during anestrus. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 15, n. 3, p. 199-209, 2002. Disponível em: <[http://www.animalreproductionscience.com/article/S0378-4320\(01\)00181-6/abstract](http://www.animalreproductionscience.com/article/S0378-4320(01)00181-6/abstract)>.

MACHADO, R.; SIMPLÍCIO, A. A. Avaliação de programas hormonais para a indução e sincronização do estro em caprinos. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, v. 36, n. 1, p. 171-178, 2001. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/pab/v36n1/4239.pdf>>.

MALPAUX B. Seasonal regulation of reproduction in mammals. In: NEILL J. D. (Ed.). **Knobil and Neill's Physiology of Reproduction**. 3 ed. Birmingham: Elsevier;.2006. v. 2, p. 2231–2281. DOI: 10.1016/B978-012515400-0/50046-4.

MALPAUX, B. et al. Control of circannual rhythm of reproduction by melatonin in the ewe. **Brain Res. Bull.**, v. 44, n. 4, p. 431-438, 2007. DOI: 10.1016/S0361-9230(97)00223-2.

MARTEMUCCI, G.; D'ALESSANDRO, A. G. Synchronization of oestrus and ovulation by short time combined FGA, PGF₂ α , GnRH, eCG treatments for natural service or AI fixed-time. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 123, n. 1-2, p. 32-39, 2010. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2010.11.007.

MISZTAL, T.; ROMANOWICZ, K.; BARCIKOWSKI, B. Melatonin: a modulator of the GnRH/LH axis in sheep. **Reprod. Biol.**, v. 2, n. 3, p. 267-275, 2002. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14666149>>.

MORAES, J. C. F. et al. Controle do estro e da ovulação em ruminantes. In: GONÇALVES, P. B. D.; FIGUEIREDO, J. R.; FREITAS, V. J. F. **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2008. cap. 3, p. 33-56.

RODRIGUES, P. A. **Avaliação da sazonalidade reprodutiva e perfil secretório de melatonina em ovelhas (*Ovis aries*) das raças Romney Marsh, Suffolk e Santa Inês**. 2001. 82 p. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

RODRIGUES, P. A. et al. Annual characteristics of estrous activity in wool and hair ewe lambs under subtropical conditions. **Sci. Agric.**, v. 64, n. 5, p. 468-475, 2007. DOI: 10.1590/S0103-90162007000500003.

ROSA, H. J. D.; BRYANT, M. J. Seasonality of reproduction in sheep. **Small Ruminant Research**, v. 48, n. 3, p. 155-171, 2003. DOI: 10.1016/S0921-4488(03)00038-5.

SASA, A. et al. Concentrações plasmáticas de progesterona em borregas lanadas e deslanadas no período de abril a novembro, no estado de São Paulo. **R. Bras. Zootec.**, v. 31, n. 3, p. 1150-1156, 2002. Disponível em: <<http://www.revista.sbz.org.br/artigo/visualizar.php?artigo=3207>>.

SASA, A. et al. Progesterona plasmática de ovelhas submetidas ao efeito-macho e mantidas sob diferentes condições nutricionais. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 63, n. 5, p. 1066-1072, 2011. DOI: 10.1590/S0102-09352011000500004.

SEEKALLU, S. V. et al. Ovarian antral follicular dynamics in sheep revisited: comparison among estrous cycles with three or four follicular waves.

Theriogenology, v. 73, n. 5, p. 670-680, 2010. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2009.11.007.

SILVA, B. D. M. et al. Sincronização de estro com prostaglandina F2 α versus progestágeno associado à gonadotrofina coriônica equina (eCG) em ovelhas Santa Inês no Distrito Federal, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, p. 417-424, 2010. DOI 10.526/cab.v11i2.4284.

SIMPLÍCIO, A. A.; SALLES, H. O.; SANTOS, D. O. Transferência de embriões nos pequenos ruminantes domésticos. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, Belo Horizonte, supl. 5, p. 17-23, out. 2002. Disponível em::

<<http://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/528707>>.

UNGERFELD, R.; RUBIANES, E. Effectiveness of short-term progestagen primings for the induction of fertile oestrus with eCG in ewes during late seasonal anoestrus.

Anim. Sci., v. 68, n. 3, p. 349-353, 1999. Disponível em:

<<http://europepmc.org/abstract/AGR/IND22012480/reload=0;jsessionid=Fx85qsw7u6ygEljQI7xU.4>>.

URIBE-VELÁSQUEZ, L. F.; OBA, E.; SOUZA, M. I. L. Efeitos da progesterona exógena sobre o desenvolvimento folicular em ovelhas. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 60, n. 1, p. 58-65, 2008. DOI: 10.1590/S0102-09352008000100009.

VASQUES, M. I. et al. The effect of ram exposure previous to progestagen oestrus synchronization on corpus luteum function and fertility in crossbred ewes. In:

RAMALHO RIBEIRO, J. M. C. et al. **Animal Products from the Mediterranean Area**. Wageningen: Wageningen Academic Publishers, 2006. p. 343-348. (EAAP Publication, n. 119). Disponível em:

<<http://horta.0catch.com/aemh/57FP%20Vasques.pdf>>.

VIÑALES, C. et al. Effect of long-term and short-term progestagen treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. **Theriogenology**, v. 55, n. 4, p. 993-1004, 2001. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11291921>>.

WILTBANK, M. C. et al. Development of AI and ET programs that do not require detection of estrus using recent information on follicular growth. In: ANNUAL CONVENTION PORTLAND, 15., 1996, Oregon. **Proceedings ... Oregon**: American Embryo Transfer Association, 1996. p. 23-44.

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. **Reprod. Nutr. Dev.**, v. 43, n. 2, p. 167-177, 2003. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12956316>>.

TRABALHO CIENTÍFICO¹

Avaliação do fotoperíodo e duração do protocolo com progestágeno sobre a concentração plasmática de progesterona em ovelhas inseminadas em tempo fixo

Evaluation of photoperiod and duration of the protocol with progestin on plasma progesterone concentration in ewes inseminated at fixed time

João Lawrence Ortigosa^I; Helena Fabiana Reis de Almeida Saraiva^{II}; Rodrigo Mariuzzo Plens^{II}; Ines Cristina Giometti^I; Marilice Zundt^I; Caliê Castilho^I

^IMestrado em Ciência Animal da Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE)

^{II}Curso de Medicina Veterinária da UNOESTE

Autor para correspondência calie@unoeste.br

RESUMO

Os objetivos do presente trabalho foram: avaliar, na primavera e verão (novembro a março), a concentração plasmática de progesterona em ovelhas lanadas e deslanadas criadas no oeste paulista; avaliar a concentração plasmática de progesterona em função do tempo de permanência do progestágeno (6, 9 ou 12 dias) em protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF). No experimento 1 foram utilizadas 12 ovelhas mestiças: 6 padrão Texel (Te) e 6 Santa Inês (SI), nas quais foram feitas, entre novembro e março, oito colheitas de sangue (C1 a C8), por venopunção da jugular., para posterior dosagem de progesterona (P₄) por radioimunoensaio (RIA). No experimento 2 foram utilizadas 38 ovelhas Te e SI divididas aleatoriamente em três grupos: G-6 (n=13); G-9 (n=13); e G-12 (n=12). Inicialmente cada ovelha recebeu uma esponja intravaginal de progestágeno (D0) que permaneceu por 6 (G-6),

¹ Artigo científico nas normas de publicação do periódico Ciência Rural <http://coral.ufsm.br/ccrrevista/>

9 (G-9) ou 12 dias (G-12). Na retirada da esponja foram administrados, por via intramuscular, 0,1315 mg de prostaglandina F₂ α (PGF₂ α) e 300 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG). A IATF, por via laparoscópica, foi feita a partir de 50 horas após a retirada do progestágeno. Trinta dias após foi realizado diagnóstico de gestação através de ultrassonografia transabdominal. Exp. 1. Com exceção das colheitas 4 (C4) e 8 (C8), em todas as outras o grupo SI apresentou concentração de P₄ estatisticamente superior ($p < 0,05$) ao grupo Te. Exp. 2. No momento da retirada do progestágeno o G-12 apresentou concentração de P₄ significativamente ($p < 0,05$) menor (0,342 ng/mL) que o G-6 (1,684 ng/mL) e G-9 (1,762 ng/mL). No entanto não houve diferença na taxa de prenhez entre os grupos G-6 (76,9%), G-9 (61,5%) e G-12 (91,6%). As ovelhas SI apresentaram concentração plasmática de P₄ maior que as ovelhas Te nos períodos avaliados. A duração da permanência do progestágeno não afeta a taxa de prenhez em ovelhas.

Palavras-chave: ciclo estral, ovinos, laparoscopia, IATF

ABSTRACT

The aims of this study were to evaluate, in spring and summer (November to March), the plasma progesterone concentration in woolly and hairless ewe sheep created in western São Paulo; evaluate the plasma progesterone concentration as a function of residence time of progestogen (6 , 9 or 12 days) in TAI protocol (fixed-time artificial insemination). At experiment 1 we used 12 sheep cross breeds, 6 Texel (Te) and 6 Santa Inês (SI), in which were made between November and March, eight blood samples (C1 to C8), by jugular venipuncture for later determination of progesterone by radioimmunoassay (RIE). At experiment 2 we used 38 sheep cross breeds randomly divided into three groups: G-6 (n = 13), G-9 (n = 13), and G-12 (n = 12). Initially each sheep received an intravaginal sponge progestogen (D0) that has remained for 6 (G-6), 9 (G-9) or 12 days (G-12). At sponge

removal were administered intramuscularly, 0.1315 mg of PGF_{2a} and 300UI eCG. The IATF, laparoscopic, was made from 50 hours after withdrawal of progestin. Thirty days after pregnancy diagnosis was performed by transabdominal ultrasound Exp 1. With the exception of crops 4 (C4) and 8 (C8), all other SI group P₄ concentration showed statistically superior ($p < 0.05$) than the group Te. Exp 2. Upon withdrawal of the progestogen G-12 P₄ concentration showed significantly ($p < 0.05$) lower (0.342 ng / mL) to G-6 (1,684 ng / ml) and G-9 (1.762 ng / mL). However there was no difference in pregnancy rates between groups G-6 (76.9%), G-9 (61.5%) and G-12 (91.6%). The SI ewes showed plasma P₄ greater than the Te sheep in periods. The duration of stay of progestin does not affect the pregnancy rate in ewes. The duration of stay of progestin does not affect the pregnancy rate in sheep.

Keywords: estrous cycle, sheep, laparoscopy, FTAI

INTRODUÇÃO

A produção animal no oeste do Estado de São Paulo tem passado por uma fase de desafios devido à substituição gradativa pela monocultura canavieira, com migração de muitos produtores para essa cultura. No entanto, a ovinocultura tem despontado como opção viável ao produtor pecuarista, tanto pela sua expansão, aceitação no mercado, como otimização do espaço físico, proporcionando taxas de lotação mais atraentes em pequenos espaços (EMERENCIANO NETO *et al.* 2012).

Para a expansão da ovinocultura no Brasil, torna-se necessário a busca de novas tecnologias que permitam ao produtor obter melhores resultados. Visando melhorar a produtividade do rebanho ovino, as investigações tem-se centrado no desenvolvimento de sistemas de manejo intensivo para atingir mais de um parto por ovelha a cada ano (CAMERON *et al.*, 2010). No entanto, a estacionalidade reprodutiva, característica dessa espécie, é o principal fator a se levar em conta no momento da escolha do manejo reprodutivo a ser utilizado para atingir essa meta.

A ovelha pode apresentar-se como poliéstrica estacional ou contínua, dependendo do fotoperíodo da região, sendo a duração da estação reprodutiva definida primariamente pela latitude e secundariamente pela raça (BOLAND; CROSBY; CALLACHAN, 1990; ROSA & BRYANT, 2003; SASA *et al.*, 2011) . Portanto, se faz necessário conhecer o comportamento reprodutivo da raça a ser explorada, quer pela distinção de sua origem ou da região geográfica em que é criada, podendo assim requerer diferentes formas de manejo reprodutivo. Outro desafio também imprescindível é a viabilidade econômica para aumentar o uso dessas biotécnicas por parte dos produtores brasileiros. Portanto aprimorar e maximizar seus resultados, bem como diminuir seus custos são desafios que devem ser superados (CASTILHO *et al.*, 2013).

O uso das técnicas de inseminação artificial (IA) aliada à sincronização de estro e da ovulação visando a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) em animais geneticamente superiores permite acelerar o melhoramento genético do rebanho (MACHADO & SIMPLÍCIO, 2001). Além disso, segundo Henderson *et al.* (1984), a sincronização do estro oferece ao produtor um grande número de vantagens práticas, tais como facilidade no manejo, o aproveitamento de pastagens, a otimização do macho e posterior comercialização de produtos da mesma idade.

Os métodos hormonais podem ser utilizados na estação reprodutiva ou na fase de anestro sazonal, variando apenas quanto ao protocolo a ser usado (MORAES *et al.*, 2008). As tecnologias de sincronização do estro e ovulação em ovelhas são baseadas principalmente no controle da vida do corpo lúteo com prostaglandina F_{2α} ou utilizando tratamentos com progestágeno/progesterona associados à gonadotrofina coriônica eqüina (eCG) durante 12-14 dias (GORDON, 1997; MARTEMUCCI & D'ALESSANDRO, 1999; BARRETT *et al.*, 2004). Entretanto, há estudos que apontam resultados semelhantes ou melhores de manifestação de estro e prenhez, tanto em ovelhas ciclando como em anestro, com a diminuição no tempo de permanência do progestágeno de 12 para 5 ou 6 dias (VIÑOLES *et al.*, 2001; KNIGHTS *et al.*, 2001; MARTEMUCCI & D'ALESSANDRO, 2011). A justificativa para a diminuição do tempo de permanência do progestágeno, além do fator econômico, é embasada pelos trabalhos em bovinos que demonstraram que a alta permanência da progesterona induz um período maior de crescimento do folículo e conseqüente envelhecimento do oócito (GINTHER *et al.*, 1996).

Os objetivos do presente trabalho foi avaliar a concentração plasmática de progesterona no final da primavera e verão (novembro a março), com o intuito de conhecer o padrão de ciclicidade de ovelhas padrão Texel e Santa Inês, no oeste do estado de São Paulo; avaliar a concentração plasmática de progesterona em protocolo de IATF (inseminação

artificial em tempo fixo) em função do tempo de permanência do progestágeno (6, 9 ou 12 dias).

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado na Universidade do Oeste Paulista - UNOESTE, na cidade de Presidente Prudente, oeste do Estado de São Paulo (Latitude 22° 07' S e Longitude 51° 23') no período de novembro de 2011 a março de 2012.

Experimento 1:

Foram realizadas, entre novembro de 2011 e março de 2012, oito colheitas de sangue (C1-8) por venopunção jugular de ovelhas padrão racial Texel (Te; n=6) e Santa Inês (SI; n=6). Foram colhidas amostras de sangue em tubos de 15 mL heparinizados, mantidas em gelo por no máximo 1 hora pós-colheita, levadas ao laboratório Biotério II da UNOESTE (Universidade do Oeste Paulista, campus II, Presidente Prudente - SP) para serem centrifugadas a 750g durante 15 minutos para a separação do plasma, o qual foi congelado a -20°C para posterior dosagem de P₄ pelo método de radioimunoensaio (RIA).

As colheitas foram feitas nos dias: 24/11/11 (C1), 01/12/11 (C2), 09/12/11 (C3), 16/12/11 (C4), 21/12/11 (C5), 10/01/12 (C6), 02/02/12 (C7) e 08/03/12 (C8). A dosagem da concentração plasmática de P₄ foi realizada no Laboratório de Endocrinologia Animal do curso de Medicina Veterinária da UNESP (Universidade Estadual Paulista, Campus de Araçatuba, SP) utilizando-se “kit” comercial (Coat-a-Count, Diagnostic Products Corporation, CA, USA). As dosagens de P₄ foram realizadas em um ensaio cujo coeficiente de variação intra-ensaio do controle alto foi 10,02% e do controle baixo 0,31%.

Experimento 2:

Foram utilizadas 38 ovelhas com padrão racial Texel (Te) e Santa Inês (SI), divididas de forma casualizada em três grupos de acordo a duração do tratamento com progestágeno: curto período (6 dias, G-6), médio (9 dias, G-9) ou longo (12 dias, G-12). Para manter proporção equilibrada de ovelha Te e SI dentro de cada grupo os mesmo ficaram da seguinte forma: Grupo 6 (G-6; n=13; Te=6; SI=7); Grupo 9 (G-9; n=13; Te=6; SI=7); e Grupo 12 (G-12; n=12; Te=5; SI=7). As ovelhas apresentavam idade entre 4,0 e 6,0 anos, escore corporal médio 3,0 (escala 1 a 5), mantidas em pastagem de *Panicum maximum* cv. Mombaça, recebendo 250 g de concentrado com 18% PB (proteína bruta), com acesso a água e sal mineral *ad libitum*.

A seguir foi iniciado protocolo hormonal para sincronizar as ovulações e permitir a IATF. Em estágio aleatório do ciclo estral (dia 0), cada ovelha recebeu uma esponja intravaginal contendo 0,33 g de progestágeno (acetato de medroxiprogesterona, Progespon®, Syntex, Brasil), permanecendo por 6 (G-6), 9 (G-9) ou 12 dias (G-12). Na retirada das esponjas, todos os animais receberam 0,1315 mg de prostaglandina F₂α (PGF - Sincrocio®, Ourofino, Brasil) e 300 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG - Folligon®, MSD, Brasil) ambos por via intramuscular (IM).

A IATF foi realizada depositando-se metade da dose da palheta de sêmen em cada corno uterino por via laparoscópica a partir de 50 horas após a retirada das esponjas. Foram utilizadas doses de sêmen congelado de reprodutor Dorper, com concentração espermática de 100×10^6 espermatozoides viáveis por dose.

Nos momentos da inserção do progestágeno (D0), retirada do progestágeno (R-P4), inseminação artificial (IATF) e 10 dias após a IATF (P-IATF) foram colhidas amostras de sangue por venopunção jugular, em tubos de 15 mL heparinizados, mantidas em gelo por no máximo 1 hora pós-colheita, levadas ao laboratório Biotério II da UNOESTE (Universidade

do Oeste Paulista, campus II, Presidente Prudente - SP) para serem centrifugadas a 750 g durante 15 minutos para a separação do plasma, o qual foi congelado a -20°C . A dosagem da concentração plasmática de progesterona foi realizada no Laboratório de Endocrinologia Animal do curso de Medicina Veterinária da UNESP (Universidade Estadual Paulista, Campus de Araçatuba, SP) utilizando-se “kit” comercial (Coat-a-Count, Diagnostic Products Corporation, CA, USA), em um ensaio cujo coeficiente de variação intra-ensaio do controle alto foi de 2,54% e do controle baixo 0,09%.

Trinta dias após a IATF foi realizado diagnóstico de gestação através da ultrassonografia transabdominal (Aloka SSD500, com probe convexa de 3,5 MHz, Japão) e ao nascimento confirmou-se o número de nascituros.

Análise Estatística

Para a comparação da concentração plasmática de P_4 entre ovelhas lanadas e deslanadas, nas colheitas C1 a C8, foi utilizado o teste não paramétrico de Mann Whitney. Para a comparação da concentração plasmática de P_4 entre os grupos G-6, G-9 e G-12, utilizou-se o teste de análise de variância em uma via (ANOVA *one way*) e as médias contrastadas pelo método de Tukey, e para as comparações em que a homogeneidade de variâncias foi quebrado aplicou-se a correção de Welch com contrastes avaliados pelo método de Games-Howell. Para análise da taxa de prenhez entre grupos (G-6, G-9 e G-12) recorreu-se ao teste de Qui-quadrado de Pearson. Para todas as comparações foi considerada a associação significativa quando a estatística calculada foi correspondente a um α inferior a 5% ($p < 0,05$). Todas as análises foram conduzidas com o software SPSS v. 13.0, conforme descrito por Field (2009).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Experimento 1:

As concentrações plasmáticas de P_4 dos grupos de ovelhas Te e SI ao longo de novembro a março apresentaram diferenças entre os grupos raciais comparados (Tabela 1 e Figura 1). Com exceção das colheitas 4 (C4) e 8 (C8), nas quais não foi observada diferença significativa ($p>0,05$), em todas as outras o grupo de ovelhas SI apresentou concentração de P_4 estatisticamente superior ($p<0,05$) ao grupo de ovelhas Te, devido a uma provável maior ciclicidade das ovelhas SI. Rodrigues et al. (2007), comparando esses grupos raciais criados em latitudes médias, como na região sudeste do Brasil, verificaram que as ovelhas SI apresentaram uma distribuição mais equilibrada de ciclos estrais ao longo do ano quando comparada com os animais Te, que apresentaram estacionalidade mais marcada, ciclando no período de outono e inverno e entrando na fase de anestro na primavera e no verão. Semelhante resultado pode ser observado no estudo de Sasa et al., (2002), que observou em ovelhas deslanadas criadas no estado de São Paulo maior regularidade de ciclos estrais durante o ano todo, ao passo que ovelhas lanadas estacionam sua ciclicidade a partir de agosto, na mesma região.

Experimento 2:

As concentrações plasmáticas de P_4 em diferentes momentos, durante e após os protocolos hormonais para sincronizar a ovulação, estão demonstrados na Tabela 2. Não foi observada diferença significativa ($p>0,05$) entre os grupos nos momentos de inserção do progestágeno (D0), no dia da IATF (IATF) e 10 dias após a IATF (P-IATF), mas no momento da retirada do progestágeno (R-P4) o G-12 apresentou concentração plasmática de P_4 significativamente ($p<0,05$) menor (0,342 ng/mL) que os grupos G-6 (1,684 ng/mL) e G-9 (1,762 ng/mL).

A P_4 no G-12 no momento da retirada do progestágeno foi menor provavelmente pelo fato de que um maior tempo de permanência induz diminuição na P_4 do CL endógeno. Progestágenos por 12 a 14 dias são amplamente utilizados na sincronização do estro em ovelha, apresentando, na maioria das vezes, mais de 90% de ovelhas em estro dentro de um período de 24h, e com uma taxa de concepção de 70 a 80% (GORDON, 1997; EVANS *et al.*, 2001). Esse método leva à diminuição sincrônica de progesterona (ROCHE *et al.*, 1999).

Ao analisar a P_4 por grupo, nos diferentes momentos, observou-se que a concentração no G-6 no dia da IATF (0,22 ng/mL) foi menor ($p < 0,05$) que no D0 (1,64 ng/mL) e no dia da R-P4 (1,76 ng/mL), os quais não diferiram ($p > 0,05$) entre si (Tabela 1). Mas a concentração de P_4 avaliada 10 dias após a IATF (4,9 ng/mL) foi significativamente maior ($p < 0,05$) que todos os momentos avaliados. As mesmas diferenças na concentração de P_4 , entre os momentos avaliados no G-6, foram observadas no grupo G-9.

Por outro lado, no G-12 a concentração plasmática de P_4 não apresentou diferença ($p > 0,05$) entre D0 (2,65 ng/mL) e R-P4 (0,342 ng/mL), mas a P_4 no dia D0 foi significativamente maior ($p < 0,05$) que no dia da IATF (0,198 ng/mL). Neste grupo a concentração de P_4 10 dias após a IATF (6,916 ng/mL) foi superior ($p < 0,05$) aos momentos R-P4 e IATF, mas estatisticamente semelhante ao D0 ($p > 0,05$).

Em todas as fêmeas estudadas houve queda da P_4 abaixo de 2 ng/mL após a aplicação de PGF, dado observado na colheita de sangue no momento da IATF (50h após aplicação de PGF). O estro não ocorre, até que os níveis de P_4 declinem a cerca de 1 ng/mL de plasma (STABENFELDT *et al.*, 1969; JOHNSON *et al.*, 1996).

No presente estudo, devido ao pequeno número experimental de animais, não foi possível detectar diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) na porcentagem de prenhez entre os grupos avaliados (Tabela 2). Porém, o tratamento de curta duração com progestágeno (G-6) resultou em 76,9% de prenhez, a qual foi numericamente 10,4% maior que no

tratamento de média duração (G-9, 61,53%). No grupo de longa duração (G-12) a porcentagem de prenhez (91,6%) foi 14,7% e 30,1%, maiores que nos grupos G-6 e G-9, respectivamente. Entretanto, estatisticamente, a diminuição no tempo de uso do progestágeno de 12 para 6 dias não alterou os resultados das taxas de prenhez.

Estudo de Flynn et al. (2000) demonstrou que um tratamento por 14 dias com P₄, na ausência do CL, não teve eficácia em manter um *feedback* negativo na frequência dos pulsos de LH ao longo do tempo, levando a um crescimento prolongado do folículo ovulatório. Existem relatos de que a administração de P₄ em vacas por longos períodos promove um baixo *turnover* de folículos durante o ciclo estral, resultando na ovulação de folículos persistentes e prejudicando as taxas de prenhez, ao passo que o tratamento com períodos mais curtos de P₄ permite a ovulação de folículos jovens e conseqüentemente taxas de prenhez mais atrativas (VIÑALES *et al.*, 2001; BARTLEWSKI; BABY; GIFFIN, 2011). Esse fato não foi observado no presente estudo, onde a maior taxa de prenhez (91,6%), embora não significativa, foi observado no grupo de maior duração G-12. Em outro trabalho, Özyurtlu *et al.* (2011) obtiveram semelhantes taxas de estro, prenhez, parição, fecundidade e duração do estro comparando protocolos de curta (7 dias) e longa duração (14 dias). Taxas semelhantes de prenhez puderam ser verificadas por Ustuner et al. (2007) em tratamentos de 6 e 12 dias por, concluindo-se que protocolos de curta duração são tão eficientes quanto os de duração mais longa, principalmente se utiliza a PGF como agente luteolítico, potencializando a sincronização do estro e da ovulação. Na estação reprodutiva, o protocolo de 12 dias de P₄ com aplicação de eCG e PGF também pode ser substituído por um protocolo mais curto de 7 dias de P₄ sem prejuízos nos índices de sincronização de estro e fertilidade, podendo haver aumento da taxa de partos múltiplos ao se associar o GnRH a este protocolo de curta duração (KARACA; ATAMAN; COYAN, 2009).

CONCLUSÕES

As ovelhas Santa Inês apresentaram concentração plasmática de P₄ maior que as ovelhas Texel nos períodos avaliados.

A duração da permanência do progestágeno não afeta a taxa de prenhez em ovelhas, entretanto, as ovelhas tratadas com progestágeno por 12 dias apresentaram, na retirada do implante, menor taxa de P₄, e maior taxa numérica de prenhez, quando comparadas com as ovelhas dos tratamentos 9 e 6 dias

REFERÊNCIAS

BARRET, D. M. et al. Ultrasound and endocrine evaluation of the ovarian response to a single dose de 500 UI of eCG following a 12 days treatment with progestogen-releasing intravaginal sponges in the breeding and non breeding seasons in ewes. **Theriogenology**, v.61, n.2, p. 311-327, 2004. DOI: 10.1016/S0093-691X(03)00215-2.

BARTLEWSKI, P. M.; BABY, T. E.; GIFFIN, J. L. Reproductive cycles in sheep. **Anim. Reprod. Sci.**, v.124, n.3-4, p.259-268, 2011. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2011.02.024.

BOLAND, M. P.; CROSBY, F.; O CALLACHAN, D. Artificial control of the breeding season in ewes. **Irish Veterinary Journal**, v. 43, p. 2-6, 1990.

CASTILHO, C. et al. Protocolos de indução e sincronização do estro em ovelhas. **Ciênc. anim. bras.**, v.14, n.1, p.91-97, 2013. DOI: 10.5216/cab.v14i1.13378.

EMERENCIANO NETO, J. V. et al. Desempenho de ovinos de corte em diferentes pastagens tropicais na estação das águas. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 49. 2012, Brasília. **Anais...** Brasília: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2012. (CD-ROM)

EVANS, A. C. et al. Ovulation of aged follicles does not affect embryo quality or fertility after a 14-day progestagen estrus synchronization protocol in ewes. **Theriogenology**, n.56, v.5, p.923-936, 2001. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11665893>>

FIELD, A. **Descobrimo a estatística usando o SPSS**. 2 ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

FLYNN, J. D. et al. Progestagen synchronization in the absence of a corpus luteum results in the ovulation of a persistent follicle in cyclic ewe lambs. **Anim. Reprod. Sci.** v.62, n.4, p.285-296, 2000. Disponível em: <[http://www.animalreproductionscience.com/article/S0378-4320\(00\)00124-X/abstract](http://www.animalreproductionscience.com/article/S0378-4320(00)00124-X/abstract)>

GINTHER, O. J. et al. Selection of the dominant follicle in cattle. **Biol. Reprod.**, v. 55, n.6, p. 1187-1194, 1996. DOI: 10.1095/biolreprod55.6.1187.

GORDON, I. **Controlled Reproduction in Sheep and Goats**. CAB International: New York, 1997. 450p.

HENDERSON, D. C. et al. Oestrus synchronization in ewes: a comparison of prostaglandin F2 α than salt with a progestagen pessary. **Anim. Prod.**, v. 39, n.2, p. 229-233, 1984. DOI: [10.1017/S0003356100041854](https://doi.org/10.1017/S0003356100041854).

JOHNSON, S.K et al. Effect of peripheral concentrations of progesterone on follicular growth and fertility in ewes. **Domest. Anim. Endocrinol.** v. 13, n. 1, p. 69-79, 1996. Disponível em: <[http://www.domesticanimalendo.com/article/0739-7240\(95\)00045-3/abstract](http://www.domesticanimalendo.com/article/0739-7240(95)00045-3/abstract)>

KARACA, F.; ATAMAN, M. B.; COYAN, K. Synchronization of estrus with short- and long-term progestagen treatments and the use of GnRH prior to short-term progestagen treatment in ewes. **Small Rumin. Research.** v.81, n.2-3, p.185-188, 2009. DOI: [10.1016/j.smallrumres.2008.12.002](https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2008.12.002).

KNIGHTS, M. et al. Effectiveness of intravaginal progesterone inserts and FSH for inducing synchronized estrus and increasing lambing rate in anestrus ewe. **J. Anim. Sci.**, v. 79, n.5, p. 1120-1131, 2001. Disponível em: <<http://www.journalofanimalscience.org/content/79/5/1120.long>>

MACHADO, R.; SIMPLÍCIO, A. A. Avaliação de programas hormonais para a indução e sincronização do estro em caprinos. **Pesq. Agropec. Bras.** v.36, n.1, p.171-178, 2001. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/pab/v36n1/4239.pdf>>

MARTEMUCCI, G.; D'ALESSANDRO, A. G. Synchronization of oestrus and ovulation by short-time combined FGA, PGF2 α , GnRH, eCG treatments for natural service or AI fixed-time. **Anim. Reprod. Sci.**, v.123, n.1-2, p.32-39, 2010. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2010.11.007.

MORAES, J. C. F. et al. Controle do estro e da ovulação em ruminantes. In: GONÇALVES, P. B. D.; FIGUEIREDO, J. R.; FREITAS, V. J. F. **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2008, cap.3, p.33-56.

ÖZYURTLU, N. et al. Effect of subsequent two short-term, short-term, and long-term progestagen treatments on fertility of Awassi ewes out of the breeding season. **Ank. Üniv. Vet. Fak.**, v.58, p.105-109, 2011. Disponível em: <<http://dergiler.ankara.edu.tr/dergiler/11/1529/16797.pdf>>

RODRIGUES, P. A. et al. Annual characteristics of estrous activity in wool and hair ewe lambs under subtropical conditions. **Sci. Agric.**, v.64, n.5, p.468-475, 2007. DOI: 10.1590/S0103-90162007000500003.

ROCHE, J. F. et al. Regulation of follicle waves to maximize fertility in cattle. **J. Reprod. Fertil. Suppl.** v. 54, p. 61-71, 1999. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10692845>>

ROSA, H. J. D.; BRYANT, M. J. Seasonality of Reproduction in Sheep. **Small Ruminant Research**, v.48, N.3, p.155-171, 2003. DOI: 10.1016/S0921-4488(03)00038-5.

SANTOS, G.M.G. et al. Desempenho reprodutivo de ovelhas mestiças lanadas e deslanadas submetidas a protocolo hormonal a base de progestágeno e eCG, durante a contraestação reprodutiva. **Semina: Ciências Agrárias**. v. 32, n. 2, p. 723-732, 2011. DOI: [10.5433/1679-0359.2011v32n2p723](https://doi.org/10.5433/1679-0359.2011v32n2p723).

SASA, A. et al. Concentrações Plasmáticas de Progesterona em Borregas Lanadas e Deslanadas no Período de Abril a Novembro, no Estado de São Paulo. **R. Bras. Zootec.** v.31, n.3, p.1150-1156, 2002. Disponível em: <<http://www.revista.sbz.org.br/artigo/index.php?artigo=3207>>

SASA, A. et al. Progesterona plasmática de ovelhas submetidas ao efeito-macho e mantidas sob diferentes condições nutricionais. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.63, n.5, p.1066-1072, 2011. DOI: 10.1590/S0102-09352011000500004.

STABENFELDT, G. H.; HOLT, J. A.; EWING, L. L. Peripheral plasma progesterone levels during the ovine estrous cycle. **Endocrinology.**, v. 85, n. 1, p. 11-15, 1969.. DOI: 10.1210/endo-85-1-11.

VIÑOLES, C. et al. Effect of long-term and short-term progestagen treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. **Theriogenology**, v.55, n.4, p.993-1004, 2001. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11291921>>

USTUNER, B. et al. Effects of long and short-term progestagen treatments combined with PMSG on oestrus synchronization and fertility in Awassi ewes during the breeding season. **Acta Vet. Brno.**, v.76, n.3, p.391-397, 2007. DOI: 10.2754/avb200776030391.

Tabela 1. Média \pm desvio padrão (DP) da concentração plasmática de P₄ (ng/mL) em ovelhas Texel (Te) e Santa Inês (SI) entre novembro de 2011 a março de 2012, no município de Presidente Prudente, oeste do estado de São Paulo.

Colheita	Te	Si	Valor de p
C1 (n=11) **	0,17 \pm 0,06	3,10 \pm 3,43	p= 0,044*
24/11/11	(0,07 a 0,22)	(0,15 a 8,49)	
C2 (n=11) **	0,18 \pm 0,06	0,89 \pm 0,95	p=0,044*
01/12/11	(0,11 a 0,27)	(0,13 a 2,44)	
C3 (n=12)	0,14 \pm 0,06	2,83 \pm 3,85	p=0,006*
09/12/11	(0,11 a 0,27)	(0,21 a 9,17)	
C4 (n=12)	1,45 \pm 1,06	2,10 \pm 1,94	p=0,872
16/12/11	(0,17 a 2,94)	(0,13 a 4,8)	
C5 (n=12)	0,17 \pm 0,09	1,39 \pm 1,03	p=0,016*
21/12/11	(0,07 a 0,32)	(0,11 a 2,68)	
C6 (n=12)	0,20 \pm 0,13	2,29 \pm 2,98	p=0,025*
10/01/12	(0,09 a 0,45)	(0,17 a 6,16)	
C7 (n=12)	0,23 \pm 0,11	4,07 \pm 1,03	p=0,003*
02/02/12	(0,10 a 0,40)	(2,50 a 5,41)	
C8 (n=12)	0,87 \pm 0,75	2,29 \pm 1,51	p=0,109
08/03/12	(0,15 a 2,16)	(0,36 a 3,63)	

*Significativo ao nível 5% (p<0,05) pelo teste não paramétrico de Mann Whitney.

** Nas colheitas C 1 e C 2 no grupo das ovelhas lanadas foram utilizados 5 animais (n=5).

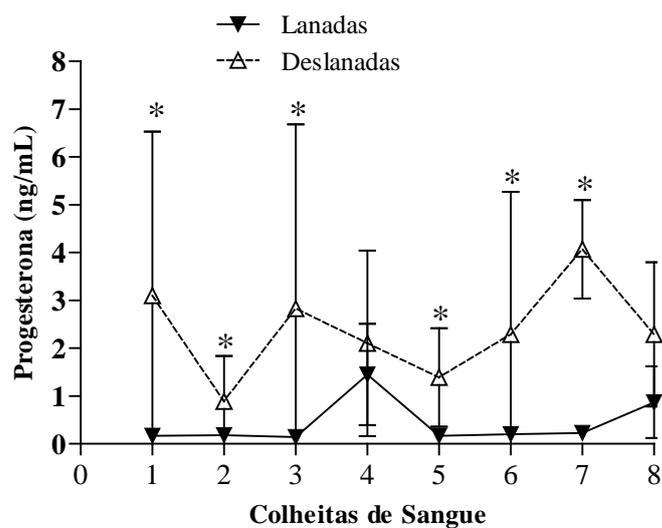


Figura 1. Concentrações plasmáticas de progesterona (ng/mL) em ovelhas Texel e Santa Inês em oito colheitas, entre novembro de 2011 e março de 2012.

Tabela 2. Concentrações plasmáticas de P₄ (ng/mL) em grupos de ovelhas com diferentes tempos de inserção de implante (6, 9 ou 12 dias), nos momentos inserção do progestágeno (D0), retirada do progestágeno (R-P4), dia da IA (IATF) e 10 dias pós IATF (P-IATF), em protocolo de sincronização da ovulação.

Grupos	Momentos			
	D0	R-P4	IATF	P-IATF
G-6	1,644±1,372 aA	1,684±1,652 aA	0,223±0,062 aB	4,9735±1,1525 aC
G-9	2,000±1,790 aA	1,762±3,917 aA	0,279±0,210 aB	6,9846±6,0023 aC
G-12	2,650±2,271 aAC	0,342±0,719 bAB	0,198±0,070 aB	6,916±4,1079 aC

Letras minúsculas diferentes na coluna diferem ao nível de 5% ($p < 0,05$) pelo teste ANOVA *one way*. Letras maiúsculas diferentes na linha diferem ao nível de 5% ($p < 0,05$) pelo teste ANOVA com correção de Greenhouse-Geisser.

Tabela 3. Porcentagem (%) e número de prenhez em ovelhas nos grupos com curta (G-6), média (G-9) e longa (G-12) permanência do progestágeno em protocolo hormonal para IATF por laparoscopia com sêmen congelado.

	G-6	G-9	G-12
%	76,9a	61,5a	91,6a
Prenhez	(10/13)	(8/13)	(11/12)

Letras iguais na linha não diferem ($p > 0,05$) pelo teste do qui-quadrado de Pearson.