

**CARACTERIZAÇÃO DO PICO DE LH APÓS PROTOCOLO DE CURTA E
LONGA DURAÇÃO PARA IATF EM OVELHAS CICLANDO NA CONTRA
ESTAÇÃO REPRODUTIVA**

GABRIELA AZENHA MILANI SORIANO

**CARACTERIZAÇÃO DO PICO DE LH APÓS PROTOCOLO DE CURTA E
LONGA DURAÇÃO PARA IATF EM OVELHAS CICLANDO NA CONTRA
ESTAÇÃO REPRODUTIVA**

GABRIELA AZENHA MILANI SORIANO

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

Área de Concentração: Fisiopatologia Animal

636.089 26 Soriano, Gabriela Azenha Milani.
S714c Caracterização do pico de LH após protocolo de curta e longa duração para IATF em ovelhas ciclando na contra estação reprodutiva / Gabriela Azenha Milani Soriano. – Presidente Prudente, 2015.

42 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade do Oeste Paulista – Unoeste, Presidente Prudente, SP, 2015.

Bibliografia.

Orientador: Caliê Castilho.

1. CIDR. 2. IATF. 3. Laparoscopia. 4. Radioimunoensaio. 5. Progesterona. I. Título.

GABRIELA AZENHA MILANI SORIANO

**CARACTERIZAÇÃO DO PICO DE LH APÓS PROTOCOLO DE CURTA E
LONGA DURAÇÃO PARA IATF EM OVELHAS CICLANDO NA CONTRA
ESTAÇÃO REPRODUTIVA**

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

Área de Concentração: Fisiopatologia Animal

Orientadora: Profa. Dra. Caliê Castilho

Presidente Prudente, 27 de fevereiro de 2015

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Caliê Castilho
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente-SP

Profa. Dra Ines Cristina Giometti
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente-SP

Prof. Dr. Guilherme de Paula Nogueira
Universidade Estadual Paulista – Unesp
Araçatuba-SP

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a Deus, que sempre abençoa minha vida.

Dedico este trabalho aos meus pais, César e Rejane, que sempre torceram por mim, me dando apoio, carinho, muito amor e incentivo permitindo assim a sua realização. Vocês são as pessoas em que eu me espelho ser um dia. De um caráter e coração admiráveis.

Ao meu irmão Bruno, meu companheiro, que sempre está ao meu lado. Seu jeito tranquilo de levar a vida me acalma quando preciso.

À minha irmã Paola, que apesar de estar longe, sempre me aconselha e me ajuda. Sei que sempre posso contar com você.

Ao meu noivo Felipe, que não só me ajudou na realização deste trabalho, como me fez crescer como pessoa e profissional. Obrigado por sempre estar ao meu lado e acreditar na minha capacidade. Seu amor, carinho e apoio são essências para mim.

AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho só foi possível graças a orientação da professora Caliê Castilho, uma excelente profissional, que sempre me ensinou sabiamente. Obrigada pela oportunidade de realizar este trabalho, pela confiança, incentivo e amizade.

À professora Marilice Zundt, pelos ensinamentos e pela grande ajuda na realização deste trabalho.

Ao professor Rogério Giuffrida, que sempre esteve a disposição para a realização das estatísticas.

Ao professor Guilherme Nogueira, pelo auxílio no trabalho e por realizar a dosagem hormonal.

À professora Ines Giometti, pelo auxílio na realização deste.

À minha família, a minha base. Sem vocês eu não chegaria até aqui. Vocês nunca mediram esforços para que esse trabalho fosse realizado. Sempre me apoiaram nessa jornada.

Agradeço imensamente ao meu noivo Felipe Rydygier, muito especial pra mim. Obrigada pelo amor, carinho, pela ajuda, companheirismo e paciência.

Aos alunos de graduação Marco Aurélio, Gustavo Zanelli e João Zamberlan, que mesmo durante as aulas, se disponibilizaram para realizar o trabalho.

A Deus, que sempre abençoou minha vida, com uma família e um noivo maravilhoso, e amigos fiéis.

Sem vocês nada disso teria sido possível. Obrigada.

"A mente que se abre a uma nova idéia jamais voltará ao seu tamanho original. "

(Albert Einstein)

RESUMO

Caracterização do pico de LH após protocolo de curta e longa duração para IATF em ovelhas ciclando na contra estação reprodutiva

A hipótese testada pelo presente trabalho foi que o tempo de permanência do implante de progesterona (curto vs longo), em protocolo de IATF, altera as características do pico de LH. Desta forma, o objetivo do presente estudo foi determinar o momento, duração e amplitude do pico de LH em ovelhas (Texel x Santa Inês) utilizando protocolos de IATF de curta (6 dias) ou longa duração (12 dias) em ovelhas ciclando na contra estação reprodutiva. Foram utilizadas 43 ovelhas (Texel-Te x Santa Inês-SI), divididas em dois grupos de acordo com o tempo de permanência do dispositivo vaginal de liberação de progesterona de 1º uso (Easy-Breed CIDR®, Pfizer, Brasil). No grupo 12 dias (G-12, n=19), em estágio aleatório do ciclo estral receberam a inserção do CIDR (D0). No dia da retirada do implante (D12) foram administrados, por via intramuscular, 0,075 mg de cloprostenol (Veteglan®, Hertape Calier, Brasil) e 300 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG, Novormon®, MSD Saúde Animal, Brasil). O grupo 6 (G-6, n=24) recebeu o mesmo protocolo do G-12, porém a permanência do CIDR foi de 6 dias. Aproximadamente 50 horas após a retirada do CIDR as ovelhas, de ambos os grupos, foram inseminadas em tempo fixo por laparoscopia com sêmen congelado contendo 200×10^6 espermatozoides, de um único reprodutor, da raça Dorper. Aproximadamente 40 dias após as inseminações artificiais foi realizado o diagnóstico de prenhez utilizando aparelho de ultra-som. Foram realizadas colheitas de sangue, de 4 em 4 horas em 10 animais por grupo, para mensuração das concentrações plasmáticas de LH e progesterona por radioimunoensaio (RIA). Dos 20 animais utilizados para mensuração das concentrações plasmáticas, a porcentagem de animais que apresentaram pico de LH no G-6 foi de 70% (7/10) e no G-12 foi 90% (9/10). A amplitude máxima do pico de LH não diferiu entre os grupos G-6 e G-12 ($P > 0,05$) e a duração do pico de LH foi $16,60 \pm 2,76$ h no grupo G-6 e $16,40 \pm 2,40$ h no grupo G-12 ($P > 0,05$). O intervalo entre a retirada do implante e o pico de LH foi ($P > 0,05$) ocorreu $27,42 \pm 2,76$ h no grupo G-6 e $28,88 \pm 5,20$ h no G-12. A porcentagem de prenhez total por grupo não diferiu (G-6 58,33% e G-12 52,63%). Conclui-se que o tempo de permanência da progesterona (6 vs 12 dias) não alterou as características do pico de LH em ovelhas (Texel x Santa Inês) nos trópicos, na contra estação reprodutiva.

Palavras-chave: CIDR, prenhez, laparoscopia, radioimunoensaio, progesterona

ABSTRACT

Characterization of the LH peak after short and long-term protocol for FTAI in cycling sheep out of the breeding season

The hypothesis tested in this study was that the time of permanence of progesterone implant (short vs. long) in FTAI protocol change the characteristics of the LH surge. Thus, the aim of this study was to determine the timing, duration and amplitude of the LH peak in sheep (Santa Inês x Texel) using short FTAI protocols (6 days) or long (12 days) in cyclic sheep out of the breeding season. We used 43 sheep (Texel-Te x Santa Inês-SI), sorted into two groups according to the time of progesterone release's vaginal device 1st use (Easy-Breed CIDR®, Pfizer, Brazil). In group 12 days (G-12, n = 19) in stage random of the estrous cycle received the insertion of CIDR (D0). On the day of implant removal (D12) was administered intramuscularly, 0.075 mg cloprostenol (Veteglan®, Hertape Calier, Brazil) and 300 IU equine chorionic gonadotropin (eCG, Novormon®, MSD Animal Health, Brazil). The group 6 (G-6, n= 24) received the same protocol of G-12, however the permanence of CIDR was 6 days. Approximately 50 hours after CIDR removal, both groups were inseminated at fixed time by artificial insemination by laparoscopy with frozen semen containing 200×10^6 sperm of a single player of Dorper. Approximately 40 days after the artificial insemination pregnancy diagnosis was performed using ultrasound device. Blood samples were taken every 4 hours from 10 animals per group, to measure LH and progesterone plasma concentrations by radioimmunoassay (RIA). From the 20 animals used for progesterone plasma concentration, the percentage of animals showing LH surge in G-6 was 70% (7/10) and the G-12 was 90% (9/10). The maximum amplitude of the LH peak did not differ between the G-6 and G-12 groups ($P > 0.05$) and the length of LH peak was $16,60 \pm 2,76$ h in the G-6 and $16,40 \pm 2,40$ h in G-12 ($P > 0,05$). The interval between the implant removal and the LH surge was ($P > 0.05$) in the G-6 $27,42 \pm 2,76$ h and $28,88 \pm 5,20$ h in G-12. The overall pregnancy rate per group was not different (G-6 58,33% e G-12 52,63%). It was concluded that the permanence of progesterone (6 vs 12 days) did not alter the characteristics of the LH peak in sheep (St. Agnes x Texel) in the tropics, out of the breeding season.

Keywords: CIDR, pregnancy, laparoscope, radioimmunoassay, progesterone

SUMÁRIO

1 ARTIGO CIENTÍFICO.....	10
ANEXO - NORMAS PARA PUBLICAÇÃO.....	38

1 ARTIGO CIENTÍFICO

Caracterização do pico de LH após protocolo de curta e longa duração para IATF em ovelhas ciclando na contra estação reprodutiva**Characterization of the LH peak after short and long-term protocol for FTAI in cycling sheep out of the breeding season**

Gabriela Azenha Milani Soriano^I, Rogério Giuffrida^I, Felipe Rydygier de Ruediger^{II}, Marilice Zundt^I, João Paulo Zamberlan Salvador^I, Guilherme de Paula Nogueira^{III}, Marco Aurélio da Cruz Nobre Gomes^I, Ines Cristina Giometti^I, Gustavo Ricci Zanelli^I, Caliê Castilho^{I,*}

^I Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, SP, Brasil

^{II} Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brasil

^{III} Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, SP, Brasil

* Autor para correspondência: Caliê Castilho

Endereço para correspondência: Rodovia Raposo Tavares, Km 572 - Bairro Limoeiro
Presidente Prudente, SP- Brasil -CEP:19067-175

Telefone: +55 (18) 32292077 / 3229-2078

Fax: +55 (18) 3229-2080

E-mail: calie@unoeste.br

RESUMO

A hipótese testada pelo presente trabalho foi que o tempo de permanência do implante de progesterona (curto *vs* longo), em protocolo de IATF, altera as características do pico de LH. Desta forma, o objetivo do presente estudo foi determinar o momento, duração e amplitude do pico de LH em ovelhas (Texel x Santa Inês) utilizando protocolos de IATF de curta (6 dias) ou longa duração (12 dias) em ovelhas ciclando na contra estação reprodutiva. Foram utilizadas 43 ovelhas (Texel-Te x Santa Inês-SI), divididas em dois grupos de acordo com o tempo de permanência do dispositivo vaginal de liberação de progesterona de 1º uso (Easy-Breed CIDR®, Pfizer, Brasil). No grupo 12 dias (G-12, n=19), em estágio aleatório do ciclo estral receberam a inserção do CIDR (D0). No dia da retirada do implante (D12) foram administrados, por via intramuscular, 0,075 mg de cloprostenol (Veteglan®, Hertape Calier, Brasil) e 300 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG, Novormon®, MSD Saúde Animal, Brasil). O grupo 6 (G-6, n=24) recebeu o mesmo protocolo do G-12, porém a permanência do CIDR foi de 6 dias. Aproximadamente 50 horas após a retirada do CIDR as ovelhas, de ambos os grupos, foram inseminadas em tempo fixo por laparoscopia com sêmen congelado contendo 200×10^6 espermatozoides, de um único reprodutor, da raça Dorper. Aproximadamente 40 dias após as inseminações artificiais foi realizado o diagnóstico de prenhez utilizando aparelho de ultra-som. Foram realizadas colheitas de sangue, de 4 em 4 horas em 10 animais por grupo, para mensuração das concentrações plasmáticas de LH e progesterona por radioimunoensaio (RIA). Dos 20 animais utilizados para mensuração das concentrações plasmáticas, a porcentagem de animais que apresentaram pico de LH no G-6 foi de 70% (7/10) e no G-12 foi 90% (9/10). A amplitude máxima do pico de LH não diferiu entre os grupos G-6 e G-12 ($P > 0,05$) e a duração do pico de LH foi $16,60 \pm 2,76$ h no grupo G-6 e $16,40 \pm 2,40$ h no grupo G-12 ($P > 0,05$). O intervalo

entre a retirada do implante e o pico de LH foi ($P>0,05$) ocorreu $27,42\pm 2,76$ h no grupo G-6 e $28,88\pm 5,20$ h no G-12. A percentagem de prenhez total por grupo não diferiu (G-6 58,33% e G-12 52,63%). Conclui-se que o tempo de permanência da progesterona (6 vs 12 dias) não alterou as características do pico de LH em ovelhas (Texel x Santa Inês) nos trópicos, na contra estação reprodutiva.

Palavras-chave: CIDR, prenhez, laparoscopia, radioimunoensaio, progesterona

ABSTRACT

The hypothesis tested in this study was that the time of permanence of progesterone implant (short vs. long) in FTAI protocol change the characteristics of the LH surge. Thus, the aim of this study was to determine the timing, duration and amplitude of the LH peak in sheep (Santa Inês x Texel) using short FTAI protocols (6 days) or long (12 days) in cyclic sheep out of the breeding season. We used 43 sheep (Texel-Te x Santa Inês-SI), sorted into two groups according to the time of progesterone release's vaginal device 1st use (Easy-Breed CIDR®, Pfizer, Brazil). In group 12 days (G-12, n = 19) in stage random of the estrous cycle received the insertion of CIDR (D0). On the day of implant removal (D12) was administered intramuscularly, 0.075 mg cloprostenol (Veteglan®, Hertape Calier, Brazil) and 300 IU equine chorionic gonadotropin (eCG, Novormon®, MSD Animal Health, Brazil). The group 6 (G-6, n= 24) received the same protocol of G-12, however the permanence of CIDR was 6 days. Approximately 50 hours after CIDR removal, both groups were inseminated at fixed time by artificial insemination by laparoscopy with frozen semen containing 200×10^6 sperm of a single player of Dorper. Approximately 40 days after the

artificial insemination pregnancy diagnosis was performed using ultrasound device. Blood samples were taken every 4 hours from 10 animals per group, to measure LH and progesterone plasma concentrations by radioimmunoassay (RIA). From the 20 animals used for progesterone plasma concentration, the percentage of animals showing LH surge in G-6 was 70% (7/10) and the G-12 was 90% (9/10). The maximum amplitude of the LH peak did not differ between the G-6 and G-12 groups ($P > 0.05$) and the length of LH peak was $16,60 \pm 2,76$ h in the G-6 and $16,40 \pm 2,40$ h in G-12 ($P > 0,05$). The interval between the implant removal and the LH surge was ($P > 0.05$) in the G-6 $27,42 \pm 2,76$ h and $28,88 \pm 5,20$ h in G-12. The overall pregnancy rate per group was not different (G-6 58,33% e G-12 52,63%). It was concluded that the permanence of progesterone (6 vs 12 days) did not alter the characteristics of the LH peak in sheep (St. Agnes x Texel) in the tropics, out of the breeding season.

Keywords: CIDR, pregnancy, laparoscope, radioimmunoassay, progesterone

1 Introdução

A sincronização da ovulação é uma biotécnica que permite aumentar a produtividade de ovinos, aumentando a frequência de partos, concentração das inseminações e das partições em épocas do ano desejáveis dentro dos sistemas de produção e redução na mortalidade perinatal em cordeiros (KNIGHTS et al., 2001a; KNIGHTS et al., 2001b). Em sistemas intensivos de reprodução, que tem como objetivo partições em blocos, ou três partos a cada dois anos, a sincronização da ovulação é importante (MORAES, SOUZA e GONÇALVES, 2002).

Existem vários protocolos de sincronização da ovulação. Os mais utilizados em ovelhas baseiam-se, principalmente, no controle da duração do corpo lúteo com prostaglandina ou tratamentos com progestágeno ou progesterona associados à gonadotrofina coriônica eqüina (eCG) com aumento na resposta ovulatória, taxa de concepção e prolificidade (BARRET et al., 2004; MARTEMUCCI e D'ALESSANDRO, 1999).

Os primeiros protocolos de sincronização da ovulação utilizavam progesterona ou progestágenos em tratamentos de longa duração acima de 10 dias, com implantes e dispositivos intravaginais (VILONES et al., 2001). Entretanto, verificou-se resultados semelhantes ou superiores de manifestação de estro e prenhez (em ovelhas ciclando ou em anestro) com a diminuição no tempo de permanência do progestágeno de 12 para 5 ou 6 dias (KNIGHTS et al., 2001b; VILONES et al., 2001; DIXON et al., 2006; MARTEMUCCI e D'ALESSANDRO, 2011).

A ovelha é poliéstrica estacional, com ciclos ovulatórios que ocorrem no outono e inverno. Durante os dias longos (primavera-verão), a atividade sexual diminui com os animais apresentando desde anestro até irregularidade dos ciclos (GOODMAN, 1994; ROSA e BRYANT, 2003; RAWLINGS e BARTLEWSKI, 2007). Porém, o anestro é mais marcado em ovelhas criadas em climas temperados quando comparado aos animais criados nos trópicos.

Nas zonas tropicais onde a variação de luminosidade é menor, a tendência dos ovinos é reproduzir-se o ano todo. A aplicação de protocolos de sincronização da ovulação em sistemas de produção de ovinos nos trópicos pode aumentar a produtividade e frequência de partos (KNIGHTS et al., 2011).

A inseminação artificial em tempo fixo (IATF) exclui a necessidade de detecção de estros, além disso, permite inseminações sincronizadas, uso mais eficiente dos reprodutores e melhora na eficiência reprodutiva nos programas de melhoramento genético (MENCHACA e RUBIANES, 2004; MAXWELL, 1984; NICHOLAS, 1996). No entanto, a determinação precisa da ovulação é crucial para o sucesso da inseminação, pois o oócito tem vida fértil curta, 12 a 24 horas. Assim, objetiva-se que o espermatozoide atinja o oviduto na presença de um oócito viável (EVANS e MAXWELL, 1987).

A definição do momento ideal para realizar a IATF é controverso, visto o desconhecimento do momento preciso em que ocorrem as ovulações de fêmeas sincronizadas pelos diferentes protocolos hormonais disponíveis, de diferentes raças e épocas do ano. Portanto, a hipótese do presente trabalho é que o tempo de permanência do implante de progesterona (curto *vs* longo), em protocolo de IATF, altera as características do pico de LH.

Desta forma, o objetivo do presente estudo foi determinar e comparar o momento, duração e amplitude do pico de LH em ovelhas (Texel x Santa Inês) utilizando protocolo de IATF de curta (6 dias) ou longa duração (12 dias) em ovelhas ciclando na contra estação reprodutiva.

2.0 Material e Métodos

2.1 Local e experimento

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de animais (CEUA), da instituição de origem, sob protocolo número 1791.

O experimento foi realizado em uma propriedade rural, localizada no município de Marabá Paulista, latitude de 22°06'29" Sul e longitude 51°57'45" Oeste do estado de São Paulo, Brasil, em período de anestro estacional, de 7 a 22 de novembro de 2013. Foram utilizadas 43 ovelhas (linhagem paterna Texel-Te x linhagem materna Santa Inês-SI) plúriparas, escolhidas de forma aleatória, com idades entre 24 e 48 meses, escore corporal médio 3,0 (escala 1 a 5), as quais foram mantidas no mesmo piquete em pastagem de *Panicum maximum* cv. Mombaça, recebendo 250 g de concentrado com 18% proteína bruta (Fosfato bicálcico, Carbonato de cálcio, Cloreto de sódio, Enxofre ventilado, Óxido de magnésio, Sulfato de zinco, Sulfato de cobre, Sulfato de manganês, Sulfato de ferro, Sulfato de cobalto, Iodato de cálcio e Selenito de sódio, Minerfós ovinos®, Minersal Nutrição Animal, Brasil), com acesso a água e sal mineral *ad libitum*.

2.2 Tratamento

As ovelhas foram divididas em dois grupos de acordo com o tempo de permanência do dispositivo vaginal de liberação de progesterona de 1° uso (Easy-Breed CIDR®, Pfizer, Brasil). No grupo 12 dias (G-12, n=19), em estadio aleatório do ciclo estral receberam a inserção do CIDR (D0). No dia da retirada do implante (D12) foram administrados, por via intramuscular, 0,075 mg de cloprostenol (Veteglan®, Hertape Calier, Brasil) e 300 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG, Novormon®, MSD Saúde Animal, Brasil). No grupo 6 (G-6, n=24), receberam o mesmo protocolo supracitado do G-12, porém a permanência do CIDR foi de 6 dias.

2.3 Inseminação artificial laparoscópica intra-uterina

Aproximadamente 50 horas após a retirada do CIDR as ovelhas foram inseminadas em tempo fixo por laparoscopia com sêmen congelado contendo 200×10^6 espermatozóides,

de um único reprodutor com 36 meses de idade, da raça Dorper, e de uma única partida, com 60% de motilidade, vigor 4,0 (0-5) e turbilhonamento 4 (CBRA, 2013). O sêmen foi envasado em palhetas de 0,25 mL, sendo metade do volume depositado em cada corno uterino. As inseminações foram realizadas conforme KILLEN e CAFFERY (1982). As inseminações foram realizadas para conferir a fertilidade dos protocolos (6 vs 12 dias).

2.4 Colheitas de sangue e mensuração das concentrações plasmáticas de LH e progesterona.

Para a mensuração das concentrações plasmáticas de LH, após o protocolo citado acima, 10 ovelhas do G-6 e 10 ovelhas do G-12 escolhidas aleatoriamente, foram utilizadas para colheita de sangue, de 4 em 4 horas, iniciando-se no momento em que foi retirado o CIDR, até 68 horas, totalizando 17 coletas de sangue seriadas (SCHANBACHER, SCHEM, e RHIND, 1991). Para dosagem das concentrações plasmáticas de progesterona foram colhidas amostras de sangue dos mesmos 10 animais de cada grupo no dia 0, com o intuito de aferir a ciclicidade das ovelhas, considerando a concentração de progesterona acima de 1 ng/mL.

As amostras de sangue foram colhidas da veia jugular, com o auxílio de tubos de ensaio Vacutainer (Becton Dickinson, USA) com anticoagulante (heparina sódica), mantidas em gelo e, imediatamente, levadas ao laboratório Biotério II da UNOESTE (Universidade do Oeste Paulista, Campus II, Presidente Prudente - SP) para serem centrifugadas a 2900 g / 20 minutos em temperatura ambiente para obtenção do plasma. Após a centrifugação, a fração plasmática foi imediatamente transferida para criotubos previamente identificados e o conjunto foi congelado a -20°C para posterior dosagem hormonal por radioimunoensaio (RIA).

A dosagem do LH e da progesterona foram realizadas no Laboratório de Endocrinologia Animal da UNESP (Universidade Estadual Paulista, Campus de Araçatuba, SP). Os ensaios para quantificação do LH ovino foram adaptados dos descritos por BOLT et al. (1990) em bovinos. Foram realizados 5 ensaios e a sensibilidade dos ensaios variou de 0,0111 a 0,0366 ng/mL, o coeficiente de variação intra-ensaio foi 8,3% (controle alto) e 12,59% (controle baixo) e o coeficiente de variação inter-ensaio no controle alto foi 27,95% e no controle baixo 26,27%.

Para mensuração da concentração de progesterona foi utilizado “kit de radioimunoensaio Coat-a-Count (Diagnostic Products Corporation, CA, USA). A sensibilidade do ensaio foi 0,08 ng/mL, o coeficiente de variação intra-ensaio foi 0,05% (controle alto) e 0,07% (controle baixo).

2.5 Diagnóstico de prenhez

Aproximadamente 40 dias após as inseminações artificiais foi realizado o diagnóstico de prenhez utilizando aparelho de ultra-som (Mindray®, DP50vet, China) com probe trans-abdominal 3,5 MHz.

2.6 Análise estatística

O pico de LH foi definido como um aumento na concentração de LH no plasma superior a 2 DP (desvio padrão) acima da concentração basal e a manutenção desse nível elevado durante pelo menos 4 horas. Quatro aspectos do pico de LH foram analisados: porcentagem de ovelhas que expressaram o pico de LH; o intervalo entre a retirada do implante e o pico de LH; a amplitude (média dos três maiores valores, contíguos durante o pico de LH) e a duração do (pico intervalo entre o momento em que a concentração de LH

estava acima da concentração basal (2 DP) até o momento do retorno à concentração basal, BATTAGLIA et al., 1999).

O pressuposto de normalidade dos dados foi validado pelo teste de Shapiro-Wilk, pelo qual se constatou que a variável “tempo em horas entre a retirada do implante e a amplitude máxima do LH” não apresentou distribuição gaussiana. Para determinar se esta variável diferiu entre os grupos experimentais, recorreu-se ao teste não paramétrico de Mann-Whitney. Para determinar se a amplitude máxima do LH diferiu entre os grupos G6 e G12, recorreu-se ao teste t não pareado. Para determinar se as frequências de prenhez diferiram entre os grupos com implante por 6 ou 12 dias foi utilizado o teste de Qui-quadrado com correção de continuidade de Yates ou Teste exato de Fisher para tabelas de contingência com caselas com valores inferiores a cinco observações. Todas as comparações foram realizadas com auxílio do pacote computacional Biostat 5.3, com nível de significância de 5% (AYRES et al., 2007).

3 Resultados e discussão

As características do pico de LH em ovelhas (Texel x Santa Inês) criadas nos trópicos, no presente experimento foram semelhantes ao padrão observado nos animais criados no hemisfério Norte (WAGENMAKER et al, 2009; CLEEFF, KARSCH e PADMANABHAN, 1998). Sendo que no grupo G-6 a porcentagem de animais que apresentou pico de LH foi de 70% (7/10) e no grupo G-12 foi de 90% (9/10). Porém, foi observado que a concentração plasmática máxima de LH (amplitude), independente do tempo de exposição à progesterona, foi menor nas ovelhas (Texel x Santa Inês) criadas nos trópicos em comparação às médias obtidas por pesquisadores no Hemisfério Norte. A amplitude do LH não diferiu ($P > 0,05$) entre os grupos G-6 e G-12, sendo respectivamente

28,12±9,55 e 29,88±8,27 ng/mL (Tabela 1), já no Hemisfério Norte utilizando diferentes tempos (8 a 14 dias) de permanência do progestágeno ou progesterona, dentro ou fora da estação reprodutiva, às amplitudes médias de LH variaram de 55 a 155,1 ± 9,4 ng/mL (CLEEFF, KARSCH e PADMANABHAN, 1998; QUIRKE, HANRAHAN e GOSLING, 1981; LAND et al., 1973). Esse resultado provavelmente pode ser devido à raça dos animais estudados (LAND et al., 1973), dieta (KIYMA et al., 2004) bem como ao estresse térmico por hipertermia (SCHILLO, ALLISTON e MALVEN, 1978), estresse pelo manejo de coleta de sangue (EHNERT e MOBERG, 1991), período da estação do ano (MITCHELL et al., 2002), e por diferentes metodologias de quantificação do hormônio.

O intervalo entre a retirada do implante e o pico de LH ocorreu em média 28,25±4,25 horas, independente do tempo de exposição à progesterona (curto vs longo). Em um trabalho realizado por GODFREY et al. (1999) ao utilizar esponja com progestagerona por 12 dias em ovelhas nos trópicos obtiveram pico de LH 32,0±5,9 horas após a retirada, resultado superior aos grupos do presente experimento. Utilizando protocolo com CIDR que permaneceu por 8 dias após injeção de prostaglandina, CLEEFF, KARSCH e PADMANABHAN (1998) observaram resultado acima do obtido no grupo G-6 e G-12 do presente experimento, onde o intervalo entre a retirada do implante e o pico de LH foi 38,2 ± 1,5 h. O intervalo entre a retirada do CIDR até o pico de LH foi 27,42±2,76 h no grupo G-6 e 28,88±5,20 h no G-12. De acordo com os dados obtidos neste experimento, sugere-se que, nas ovelhas cruzadas padrão racial Texel (Te) e Santa Inês (SI), criadas nas condições do presente experimento, a duração do implante não altera o início do pico de LH, portanto não se faz necessário alterar o momento das inseminações de acordo com o tempo de permanência dos implantes. EVANS e MAXWELL (1987) demonstraram que os melhores índices de prenhez são obtidos pela deposição do sêmen no local e no momento mais

próximo a ovulação através da utilização de laparoscópio, uma vez que o sêmen congelado apresenta menor viabilidade no trato reprodutivo da fêmea, por volta de seis horas após a inseminação (SALAMON e MAXWELL, 1995; GILLAN, EVANS, e MAXWELL, 1997; WATSON, 2000) e além disso o oócito tem uma duração de vida fértil curta, 12 a 24 horas. Assim, o objetivo ideal é de que o espermatozóide atinja o oviduto no momento em que exista um oócito viável (EVANS e MAXWELL, 1987). O momento da inseminação foi avaliado por MARTEMUCCI e D'ALESSANDRO (2011), 50 a 62 horas após a retirada do progestágeno, obtendo altas taxas de fertilidade (50%). Já STENBAK et al. (2001) trabalhando com inseminação artificial laparoscópica, com sêmen congelado, às 36, 48 e 60 horas após a retirada do dispositivo intravaginal, obtiveram melhores índices das ovulações nos grupos inseminados às 36 e 48 horas após a remoção do dispositivo vaginal.

A duração do pico de LH foi $16,60 \pm 2,76$ h no grupo G-6 e $16,40 \pm 2,40$ h no grupo G-12 (Tabela 1). Por outro lado, resultados diferentes foram obtidos por QUIRKE, HANRAHAN e GOSLING (1981) estudando esponja vaginal mantidas por 14 dias, no qual a duração do pico foi de $8,1 \pm 0,49$ horas. Já em outro estudo utilizando também esponja com progestágeno a duração do pico de LH foi 10 a 12 horas em fêmeas da raça Romanov (LAND et al., 1973), foi menor que os resultados obtidos no presente experimento. Essas diferenças na duração do pico pré-ovulatório de LH podem ser consequência do tempo de exposição progesterona; pelos diferentes métodos de determinação do começo e final do pico (GONZÁLEZ-VALLE, BATISTA-ARTEAGA e GRACIA-MOLINA, 1998). Embora nas ovelhas cruzadas do presente experimento a amplitude foi menor (CLEEFF, KARSCH e PADMANABHAN, 1998; LAND et al., 1973), a taxa de prenhez obtida demonstra que houve ovulação após essa curta exposição ao LH.

A concentração plasmática de progesterona no dia 0 foi maior que 1ng/mL em

todos os animais do experimento, apresentando uma média de 15,15 ng/mL, indicando que 100% dos animais estavam ciclando (LEYVA, BUCKRELL e WALTON, 1998) mesmo fora da estação reprodutiva. Isso já era esperado, uma vez que os animais estudados eram em sua maioria oriundos do cruzamento da raça Texel (estacional) com Santa Inês (não estacional). Sabe-se que as fêmeas da raça Santa Inês exibem ciclicidade fora da estação reprodutiva (SASA et al., 2001; RODRIGUES e COELHO, 2007).

Os dados da concentração plasmática de LH normalizados (0 horas) estão ilustrados na Figura 2.

A percentagem de prenhez do grupo G-6 foi 58,33% (14/24) e do grupo G-12 foi 52,63% (10/19) e a percentagem geral, independente do grupo, foi 55,81% (24/43). Não houve diferença significativa na taxa de prenhez em relação ao tempo de permanência do implante ($P > 0,05$, Tabela 2).

O ciclo estral dura em média 17 dias nas ovelhas. Apesar de apresentarem um ciclo mais curto que as fêmeas bovinas, os protocolos hormonais iniciais indicados eram mais longos. No entanto, tem sido relatado que baixa taxa de prenhez observada após tratamento por longa duração (12 dias ou mais) com progesterona pode estar relacionada com uma lenta renovação folicular promovendo a ovulação de folículos dominantes persistentes e consequentemente com o oócito envelhecido (JOHNSON et al., 1996), fato este também já observado e estudado em bovinos (GINTHER et al., 1996). O tratamento de curta duração (5 a 8 dias) com progesterona por outro lado, tem resultado em taxas de prenhez semelhantes ou mais elevadas, provavelmente devido à ovulação de folículos em crescimento recentemente recrutados (KNIGHTS et al., 2001b; VINOLES et al., 2001; MARTEMUCCI e D'ALESSANDRO, 2011).

Porém, no presente estudo a taxa de prenhez não diferiu entre G-6 (58,33%) e G-12 (52,63%). Outros trabalhos tem demonstrado que protocolos de curta duração apresentam taxas de prenhez iguais ou superiores aos de longa duração. Em MARTINS et al (2012) a taxa de prenhez não diferiu no grupo de longa (31,3%) e curta duração (38,1%) com pessário vaginal contendo Acetato de Medroxiprogesterona (MAP). O mesmo foi observado por ATAMAN, AKÖZ e AKMAN (2006) onde a taxa de prenhez não diferiu entre o tratamento de curta (85,7%) e longa duração (76,9%) com esponja vaginal impregnada de acetato de fluorogestona (FGA), durante o período de anestro estacional. No entanto, resultado superior utilizando protocolo por 7 dias, no início da estação de monta, foi reportado por KARACA, ATAMAN e OYAN (2009) onde a taxa de fertilidade foi significativamente maior (87,3%) nas ovelhas tratadas com esponjas com FGA por curta duração, quando comparada com ovelhas tratadas por longa duração (12 dias, 71,6%). Possivelmente, no presente estudo a administração de eCG no momento da retirada do dispositivo intravaginal de progesterona compensou os efeitos deletérios do tratamento a longo prazo com progesterona sobre a dinâmica folicular, promovendo a admissão de novos folículos (NOEL et al., 1994) superando o problema da baixa fertilidade (BOLAND, LEMAINQNE e GORDON, 1978).

4 Conclusão

Conclui-se que o tempo de permanência da progesterona (6 vs 12 dias) não alterou as características do pico de LH em ovelhas (Texel x Santa Inês) nos trópicos, na contra estação reprodutiva.

5 Referências

ATAMAN, M. B.; AKÖZ, M.; AKMAN, O. Induction of synchronized oestrus in akkara-

man cross-bred ewes during breeding and anestrus seasons: the use of short-term and long-term progesterone treatment. **Revue Méd. Vét.**, v.157, n. 5, p. 257-260. 2006. Disponível em: <http://www.revmedvet.com/2006/RMV157_257_260.pdf>. Acessado nov 14, 2014.

AYRES, M.; AYRES JR, M, AYRES, D. L.; SANTOS A. S. Bioestat 5.0. Aplicações estatísticas das áreas das ciências biológicas e médicas. Belém; Sociedade Civil Mamiraua; 2007. 364p.

BARRET, D. M. W.; BARTLEWSKI, P. M.; BATISTA-ARTEAGA, M.; SYMINGTON, A.; BAWLINGS, N. C. Ultrassound 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 ewe. **Theriogenology**, v.61, n.2, p. 311-327. 2004. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0093-691X\(03\)00215-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0093-691X(03)00215-2)>. Acessado 18 nov, 2014. doi: 10.1016/S0093-691X(03)00215-2

BATTAGLIA, D. F.; BEAVER, A. B.; HARRIS, T. G.; TANHEHCO, E.; VIGUIE, C.; KARSCH, F. J. Endotoxin disrupts the estradiol-induced luteinizing hormone surge: interference with estradiol signal reading, not surge release. **Endocrinology**, v. 140, p. 2471–2479. 1999. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1210/endo.140.6.6739>>. Acessado 1 nov, 2014. doi: 10.1210/endo.140.6.6739

BOLAND, M. P.; LEMAINQNE, F.; GORDON, I. Comparison of lambing outcome in ewes after synchronization of oestrus by progestagen or prostaglandin treatment. **J. Agric. Camb.**, v. 91, p.765-766. 1978. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1017/S0021859600060184>>. Acessado nov 18, 2014. doi: 10.1017/S0021859600060184.

BOLT, D. J.; SCOTT, V.; KIRACOFÉ, G. H. Plasma LH and FSH after estradiol, norgestomet and GnRH treatment in ovariectomized beef heifers. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 23, p. 263-271, 1990. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/0378-4320\(90\)90040-M](http://dx.doi.org/10.1016/0378-4320(90)90040-M)>. Acessado 18 nov, 2014. doi: 10.1016/0378-4320(90)90040-M

CLEEFF, J. V.; KARSCH, F. J.; PADMANABHAN, V. Characterization of Endocrine Events During the Peri-estrous Period in Sheep After Estrous Synchronization with Controlled Internal Drug Release (CIDR) Device. **Domestic animal endocrinology**, v. 15, n. 1, p. 23-34. 1998. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0739-7240\(97\)00059-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0739-7240(97)00059-3)>. Acessado 18 nov, 2014. doi:10.1016/S0739-7240(97)00059-3

Colégio brasileiro de reprodução animal. Manual para exame andrológico e avaliação de semen animal. 3 ed. Belo Horizonte: CBRA, 2013.37 p.

DIXON, A. B.; KNIGHTS, M.; PATE, J. L.; LEWIS, P. E.; INSKEEP, E. K. Reproductive performance of ewes after 5-day treatment with intravaginal inserts containing progesterone in combination with injection of prostaglandin F_{2α}. **Reprod. Domest. Anim.**, v. 41: 142–8. 2006. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0531.2006.00656.x>>. Acessado 17 nov, 2014. doi: 10.1111/j.1439-0531.2006.00656.x

EHNERT, K.; MOBERG, G.P. Disruption of estrous behavior in ewes by dexamethasone or management related stress. **Journal of Animal Science**, v. 69, n. 7, p. 2988-2994, 1991.

EVANS, G.; MAXWELL, W. M. C. **Salamon's artificial insemination of sheep and goats**. 2 ed. Butterworths; 1987, 194p.

GILLAN, L.; EVANS, G.; MAXWELL, W. M. C. Capacitation status and fertility of fresh

and frozen-thawed ram spermatozoa. **Reproduction Fertility and Development**, v. 9, p. 481-487. 1997. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1071/R96046>>. Acessado 2 nov, 2014.doi: 10.1071/R96046

GINTHER, O. J.; WILTBANK, M. C.; FRICKE, P. M.; GIBBONS, J. R.; KOT, K. Selection of the dominant follicle in cattle. **Biol. Reprod.**, v. 55, n. 6, p. 1187-1194. 1996. Disponível em: <http://www.biolreprod.org/content/55/6/1187>. Acessado 5 out, 2014. doi: 10.1095/biolreprod55.6.1187.

GODFREY, R. W.; COLLINS, J. R.; HENSLEY, E. L.; WHEATON, J. E. Estrus synchronization and artificial insemination of hair sheep ewes in the tropics. **Theriogenology**, v.51, p. 985-997. 1999. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0093-691X\(99\)00044-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0093-691X(99)00044-8)>. Acessado 2 nov, 2014. doi: 10.1016/S0093-691X(99)00044-8

GONZÁLEZ-VALLE, F.; BATISTA-ARTEAGA, M.; GRACIA-MOLINA, A. Follicular atresia and LH concentrations during the follicular phase of the estrous cycle in the goat (*Capra hircus*). **Animal Reproduction Science**, v. 51, p. 23–30. 1998. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0378-4320\(97\)00055-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0378-4320(97)00055-9)>. Acessado 5 out, 2014. doi: 10.1016/S0378-4320(97)00055-9

GOODMAN, R. L. Neuroendocrine control of the ovine estrous cycle. In: KNOBIL, E.; NEILL, J. D. **The Physiology of Reproduction**, New York: Raven Press, 1994. p. 660–93.

JOHNSON, S. K.; DAILEY, R. A.; INSKEEP, E. K.; LEWIS, P. E. Effect of peripheral concentrations of progesterone on follicular growth and fertility in ewes. **Domestic Animal Endocrinology** v.13, n. 1, p. 69-79. 1996. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/0739-7240\(95\)00045-3](http://dx.doi.org/10.1016/0739-7240(95)00045-3)>. Acessado 2 nov, 2014. doi: 10.1016/0739-7240(95)00045-3

KARACA, F.; ATAMAN, M. B.; OYAN, K. C. Synchronization of estrus with short-term and long-term progestagen treatments and the use of GnRH prior to short-term progestagen treatment in ewes. **Small Ruminant Research**, v.81, p. 185–188. 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2008.12.002>> Acessado 3 nov, 2014. doi:10.1016/j.smallrumres.2008.12.002

KILLEN, I. D.; CAFFERY, G. J. Uterine insemination of ewes with the aid of a laparoscope. **Australian Veterinary Journal** v. 59, n. 3 p. 95, 1982. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1751-0813.1982.tb02737>. Acessado 3 nov, 2014 doi: 10.1111/j.1751-0813.1982.tb02737.

KIYMA, Z.; ALEXANDER, B. M.; VAN KIRK, E. A.; MURDOCH, W. J.; HALLFORD, D. M.; MOSS, G. E. Effects of feed restriction on reproductive and metabolic hormones in ewes. **J. anim. Sci.**, v. 82, p. 2548-2557. 2004. Disponível em: <<http://www.journalofanimalscience.org/content/82/9/2548>>. Acessado 24 nov, 2014.

KNIGHTS, M.; HOEHN, T.; LEWIS, P. E.; INSKEEP, E. K. Effectiveness of intravaginal progesterone inserts and FSH for inducing synchronized estrus and increasing lambing rate in anestrus ewes. **J. Anim. Sci.**, v.79, p.1120–1131, 2001a. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2011.04.019>>. Acessado 3 nov, 2014. doi:10.1016/j.anireprosci.2011.04.019.

KNIGHTS, M.; MAZE, T. D.; BRIDGES, P. J.; LEWIS, P. E.; INSKEEP, E. K. Short-term treatment with a controlled internal drug releasing (CIDR) device and FSH to induce fertile estrus and increase prolificacy in anestrus ewes. **Theriogenology**, v. 55, p.1181–1191, 2001b. Disponível em : <[http://dx.doi.org/10.1016/S0093-691X\(01\)00476-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0093-691X(01)00476-9)>. Acessado 3 nov 2014. doi:10.1016/S0093-691X(01)00476-9

KNIGHTS, M.; RAMGATTIE, R.; SIEW, N.; SINGH-KNIGHTS D.; BOURNE, G. Effectiveness of a short-term treatment with progesterone injections on synchrony of lambing and fertility in tropical hair sheep. **Animal Reproduction Science**, v. 126, p. 70–75. 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2011.04.019>>. Acessado 3 nov, 2014. doi: 10.1016/j.anireprosci.2011.04.019.

LAND, R. B.; PELLETIER, J.; THIMONIER, J.; MAULÉON, P. A. quantitative study of genetic differences in the incidence of oestrus, ovulation and plasma luteinizing hormone concentration in the sheep. **J. Endocr.**, v. 58, p. 305-317. 1973. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1677/joe.0.0580305>>. Acessado 17 nov, 2014. doi: 10.1677/joe.0.0580305

LEYVA, V.; BUCKRELL, B. C.; WALTON, J. S. Follicular activity and ovulation regulated by exogenous progestagen and PMSG in anestrus ewes. **Theriogenology**, v. 50, p. 377-393, 1998. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0093-691X\(98\)00147-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0093-691X(98)00147-2)>. Acessado 1 out, 2014. doi:10.1016/S0093-691X(98)00147-2

MARTEMUCCI, G.; D’ALESSANDRO, A. G. Strategie di miglioramento dell’ efficienza riproduttiva negli ovini. Sincronizzazione farmacologica de gli estri e delle ovulazioni (Strategies for improve reproductive efficiency in sheep: pharmacological synchronization of estrus and ovulation). **Agricoltura Ricerca**, v.183: 3–18. 1999.

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. **Animal Reproduction Science**, v.123, n 1-2, p. 32–39. 2011. Disponível em:

<<http://dx.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.11.007>>. Acessado 10 nov, 2014.

doi:10.1016/j.anireprosci.2010.11.007

MARTINS, L. H. S.; DRANCA, G. S.; BASTOS, G. M.; PRADO, O. R.; SAAB, B. B. Sincronização de cios em ovinos com protocolo de curta ou longa duração de exposição ao progestágeno visando a inseminação por laparoscopia com sêmen descongelado. **Synergismus scyentifica**, v. 07, n. 1. 2012. Disponível em: <<http://revistas.utfpr.edu.br/pb/index.php/SysScy/article/view/1486/949>>. Acessado 20 nov, 2014.

MAXWELL, W. M. C. Current problems and future potential for artificial insemination programs, a review. In: LINDSAY, D. R.; PEARCE, D. T, editores. **Reproduction in Sheep**, Melbourne: Australian Academy of Science and Australian wool Corporation; 1984, p. 291–298.

MENCHACA, A.; RUBIANES, E. New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. **Reprod. Fert. Dev.**, v.16, p. 403–13. 2004. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1071/RD04037>>. Acessado 3 nov, 2014. doi: 10.1071/RD04037

MITCHELL, L. M.; DINGWALL, W. S.; MYLNE, M. J. A.; HUNTONB, J.; MATTHEWS, K.; GEBBIE, F. E.; MCCALLUM, G. J.; MCEVOY, T. G. Season affects characteristics of the pre-ovulatory LH surge and embryo viability in superovulated ewes. **Animal Reproduction Science**, v. 74, n 3–4, p.163–174, 2002. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378432002001902#>> Acessado 10 nov, 2014.

MORAES, J. C. F.; SOUZA, C. J. H.; GONÇALVES, P. B. D. Controle do estro e da ovulação em bovinos e ovinos. IN: GOLÇALVES, P. B. D.; FIGUEIREDO, J. R.; FREITAS V. J. F, editores. **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**, São Paulo: Varela, 2002. p. 25-41.

NICHOLAS, F. W. Genetic improvement through reproductive technology. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 42, p. 205–214. 1996. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/0378-4320\(96\)01511-4](http://dx.doi.org/10.1016/0378-4320(96)01511-4)>. Acessado 2 nov, 2014. doi:10.1016/0378-4320(96)01511-4

NOEL, B.; BISTER, J. L.; PIERQUIN, B.; PAQUAY, R. Effects of FGA and PMSG on follicular growth and LH secretion in Suffolk ewes. **Theriogenology**, v. 41, p. 719-727. 1994. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/0093-691X\(94\)90181-H](http://dx.doi.org/10.1016/0093-691X(94)90181-H)>. Acessado 3 nov, 2014. doi:10.1016/0093-691X(94)90181-H

QUIRKE, J. F.; HANRAHAN, J. P.; GOSLING, J. P. Duration of oestrus, ovulation rate, time of ovulation and plasma LH, total estrogen and progesterone in Galway adult ewes. **J Reprod. Fert.** v. 61, p. 265-272. 1981. Disponível em: <<http://www.reproduction-online.org/content/61/2/265.full.pdf+html>>. Acesso em 3 nov, 2014.

RAWLINGS, N. C, BARTLEWSKI, P. M. 2007. Clinical reproductive physiology of ewes. In: YOUNGQUIST, R. S.; THRELFALL, W.R. edi. **Current Therapy in Large Animal. Theriogenology**, 2nd ed. Elsevier Inc, St. Louis, MO, USA.

RODRIGUES, P. A.; COELHO, L. A.; NONAKA, K. O.; SASA, A.; BALIEIRO, J. C. C 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. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0103-90162007000500003>>. Acessado 20 nov, 2014. Doi:

10.1590/S0103-90162007000500003

ROSA, H. J. D.; BRYANT, M. J. Seasonality of reproduction in sheep. **Small Rumin. Res.**, v. 48, p.155–171. 2003. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/s0921-4488\(03\)00038-5](http://dx.doi.org/10.1016/s0921-4488(03)00038-5)>. Acessado 3 nov, 2014. doi: 10.1016/s0921-4488(03)00038-5

SALAMON, S.; MAXWELL, W. M. C. Frozen storage of ram semen I. Processing, freezing, thawing and fertility after cervical insemination. **Animal Reproduction Science**, v. 37, p. 185-249. 1995. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/0378-4320\(94\)01327-I](http://dx.doi.org/10.1016/0378-4320(94)01327-I)>. Acessado 7 nov, 2014. doi:10.1016/0378-4320(94)01327-I.

SASA, A.; TESTON, D. C.; RODRIGUES, P. A.; COELHO, L. A.; SCHALCH, E. 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. 2001. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982002000500011>>. Acessado 5 nov, 2014. doi: 10.1590/S1516-35982002000500011

SCHANBACHER, B. D.; SCHEM, S. R.; RHIND, S. M. Gonadotrophin concentrations and ovulation rates in Suffolk ewes actively or passively immunized against inhibin alpha. **Journal of reproduction and fertility**, v. 93, p. 133-139. 1991. Disponível em: <<http://digitalcommons.unl.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1752&context=animalscifacpub>>. Acessado 3 nov, 2014.

SCHILLO, K. K.; ALLISTON, C. W.; MALVEN, P. V. Plasma concentrations of luteinizing hormone and prolactin in the ovariectomized ewe during induced hyperthermia. **Biol. of Reprod.**, v. 19, p. 306-313. 1978. Disponível em: <http://www.academia.edu/733492/Plasma_concentrations_of_luteinizing_hormone_and_pr

olactin_in_the_ovariectomized_ewe_during_induced_hyperthermia>.

STENBAK, T. K.; REDMER, D. A.; BERGINSKI, H. R.; ERICKSON, A. S.; NAVANUKRAW, C.; TOUTGES, M. J. Effects of follicle stimulating hormone (FSH) on follicular development, oocyte retrieval, and in vitro fertilization (IVF) in ewes during breeding season and seasonal anestrous. **Theriogenology**, v. 56, p. 51-64. 2001. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0093-691X\(01\)00542-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0093-691X(01)00542-8)>. Acessado 3 nov 2014. doi: 10.1016/S0093-691X(01)00542-8.

VINOLES, C.; FORSBERG, M.; BANCHERO, G.; RUBIANES, E. Effect of long-term and short-term progestagen treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. **Theriogenology**, v. 55, p. 993–1004. 2001. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0093-691X\(01\)00460-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0093-691X(01)00460-5)>. Acessado 3 nov, 2014. doi:10.1016/S0093-691X(01)00460-5

WAGENMAKER, E. R.; BREEN, K. M.; OAKLEY, A. E.; PIERCE, B. N.; TILBROOK, A. J.; TURNER, A. I.; KARSCH, F. J. Cortisol Interferes with the Estradiol-Induced Surge of Luteinizing Hormone in the Ewe. **Biology of reproduction**, v. 80, p. 458–463. 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1095/biolreprod.108.074252>>. Acessado 18 nov, 2014. doi: <http://dx.doi.org/10.1095/biolreprod.108.074252>

WATSON, P. F. The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. **Animal Reproduction Science**, v. 60/61, p. 481-492. 2000. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0378-4320\(00\)00099-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0378-4320(00)00099-3)>. Acessado 17 nov, 2014. doi:10.1016/S0378-4320(00

Tabela 1- Intervalo entre a retirada do implante e o pico de LH; amplitude e a duração (h) do pico de LH nos grupos G6 e G-12.

PARÂMETROS	G-6	G-12
Intervalo retirada P4/pico LH (horas)*	^a 27,42±2,76	^a 28,88±5,20
Amplitude do pico de LH (ng/mL)**	^a 28,12±9,55	^a 29,88±8,27
Duração do pico (horas)***	^a 16,60±2,76	^a 16,40±2,40

* Intervalo entre a retirada do implante e a maior concentração de LH (h).

**Maior concentração de LH verificada após a retirada do implante (ng/mL).

*** Intervalo entre o início e o término do pico de LH (h).

Valores na mesma linha seguidos de letras distintas diferem estatisticamente entre si (P<0,05).

Tabela 2– Percentagem de prenhez obtida nos grupos G-6 (n=24) no qual o implante ficou inserido por 6 dias ou G-12 (n=19) implante por 12 dias.

	G-6	G-12	Total
Prenhez	^a 58,33%	^a 52,63%	^a 55,81%
	(14/24)	(10/19)	(24/43)

Valores seguidos de letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste Qui-quadrado ($P > 0,05$)

Tabela 3- Profilificidade (%) do grupo G-6 (n=24) animais nos quais o implante ficou inserido por 6 dias ou G-12 (n=19) implante por 12 dias.

GRUPO	OVELHAS PRENHES	CORDEIROS NASCIDOS	PROLIFICIDADE (%)
G-6	14	24	171,4
G-12	10	18	180,0



Figura 1- Linha do tempo das diferentes etapas do experimento.

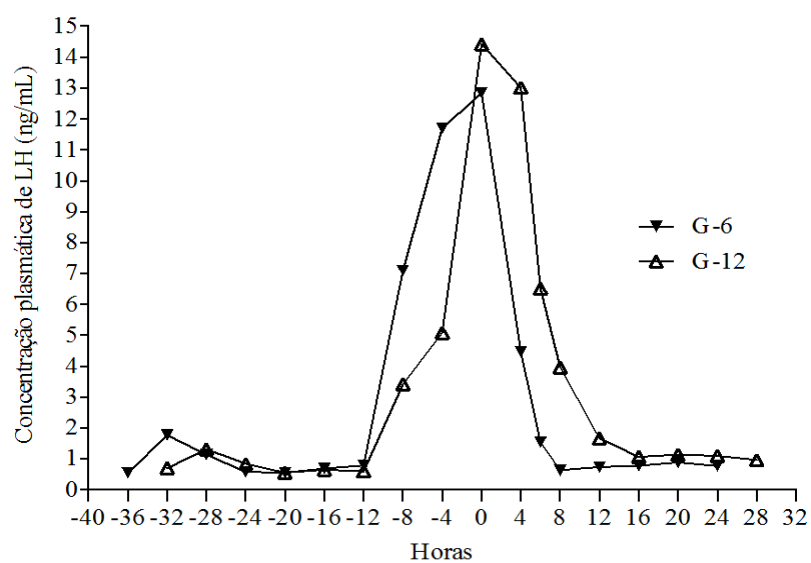


Figura 2 - Dados do momento do pico de LH normalizados (0 horas).

ANEXO – NORMAS PARA PUBLICAÇÃO



ISSN Impresso: 0103-8478



ISSN Eletrônico: 1678-4596

Normas para publicação

1. CIÊNCIA RURAL - Revista Científica do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria publica artigos científicos, revisões bibliográficas e notas referentes à área de Ciências Agrárias, que deverão ser destinados com exclusividade.

2. Os artigos científicos, revisões e notas devem ser encaminhados via eletrônica e editados em idioma Português ou Inglês. Todas as linhas deverão ser numeradas e paginadas no lado inferior direito. O trabalho deverá ser digitado em tamanho A4 210 x 297mm com, no máximo, 25 linhas por página em espaço duplo, com margens superior, inferior, esquerda e direita em 2,5cm, fonte Times New Roman e tamanho 12. **O máximo de páginas será 15 para artigo científico, 20 para revisão bibliográfica e 8 para nota, incluindo tabelas, gráficos e figuras.** Figuras, gráficos e tabelas devem ser disponibilizados ao final do texto e individualmente por página, sendo que **não poderão ultrapassar as margens e nem estar com apresentação paisagem.**

3. O artigo científico (Modelo .doc, .pdf) **deverá conter os seguintes tópicos:** Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução com Revisão de Literatura; Material e Métodos; Resultados e Discussão; Conclusão e Referências; Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição; Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão.** Alternativamente pode ser enviado um dos modelos ao lado (Declaração Modelo Humano, Declaração Modelo Animal).

4. A revisão bibliográfica (Modelo .doc, .pdf) **deverá conter os seguintes tópicos:** Título

(Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução; Desenvolvimento; Conclusão; e Referências. Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão.** Alternativamente pode ser enviado um dos modelos ao lado (Declaração Modelo Humano, Declaração Modelo Animal).

5. A nota (Modelo .doc, .pdf) **deverá conter os seguintes tópicos:** Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Texto (sem subdivisão, porém com introdução; metodologia; resultados e discussão e conclusão; podendo conter tabelas ou figuras); Referências. Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão.** Alternativamente pode ser enviado um dos modelos ao lado (Declaração Modelo Humano, Declaração Modelo Animal).

6. Não serão fornecidas separatas. Os artigos encontram-se disponíveis no formato pdf no endereço eletrônico da revista www.scielo.br/cr.

7. Descrever o título em português e inglês (caso o artigo seja em português) - inglês e português (caso o artigo seja em inglês). Somente a primeira letra do título do artigo deve ser maiúscula exceto no caso de nomes próprios. Evitar abreviaturas e nomes científicos no título. O nome científico só deve ser empregado quando estritamente necessário. Esses devem aparecer nas palavras-chave, resumo e demais seções quando necessários.

8. As citações dos autores, no texto, deverão ser feitas com letras maiúsculas seguidas do ano de publicação, conforme exemplos: Esses resultados estão de acordo com os reportados por MILLER & KIPLINGER (1966) e LEE et al. (1996), como uma má formação congênita (MOULTON, 1978).

9. As Referências deverão ser efetuadas no estilo ABNT (NBR 6023/2000) conforme normas próprias da revista.

9.1. Citação de livro: JENNINGS, P.B. **The practice of large animal surgery.** Philadelphia : Saunders, 1985. 2v.

TOKARNIA, C.H. et al. (Mais de dois autores) **Plantas tóxicas da Amazônia a bovinos e outros herbívoros.** Manaus : INPA, 1979. 95p.

9.2. Capítulo de livro com autoria: GORBAMAN, A. A comparative pathology of thyroid. In: HAZARD, J.B.; SMITH, D.E. **The thyroid.** Baltimore : Williams & Wilkins, 1964. Cap.2, p.32-48.

9.3. Capítulo de livro sem autoria: COCHRAN, W.C. The estimation of sample size. In: _____. **Sampling techniques**. 3.ed. New York : John Willey, 1977. Cap.4, p.72-90. TURNER, A.S.; McILWRAITH, C.W. Fluidoterapia. In: _____. **Técnicas cirúrgicas em animais de grande porte**. São Paulo : Roca, 1985. p.29-40.

9.4. Artigo completo: O autor deverá acrescentar a url para o artigo referenciado e o número de identificação DOI (Digital Object Identifiers), conforme exemplos abaixo:

MEWIS, I.; ULRICHS, CH. Action of amorphous diatomaceous earth against different stages of the stored product pests *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) and *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Stored Product Research**, Amsterdam (Cidade opcional), v.37, p.153-164, 2001. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X\(00\)00016-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X(00)00016-3)>. Acesso em: 20 nov. 2008. doi: 10.1016/S0022-474X(00)00016-3.

PINTO JUNIOR, A.R. et al (Mais de 2 autores). Resposta de *Sitophilus oryzae* (L.), *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) e *Oryzaephilus surinamensis* (L.) a diferentes concentrações de terra de diatomácea em trigo armazenado a granel. **Ciência Rural**, Santa Maria (Cidade opcional), v. 38, n. 8, p.2103-2108, nov. 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782008000800002&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 25 nov. 2008. doi: 10.1590/S0103-84782008000800002.

9.5. Resumos: RIZZARDI, M.A.; MILGIORANÇA, M.E. Avaliação de cultivares do ensaio nacional de girassol, Passo Fundo, RS, 1991/92. In: JORNADA DE PESQUISA DA UFSM, 1., 1992, Santa Maria, RS. **Anais...** Santa Maria : Pró-reitoria de Pós-graduação e Pesquisa, 1992. V.1. 420p. p.236.

9.6. Tese, dissertação: COSTA, J.M.B. **Estudo comparativo de algumas características digestivas entre bovinos (Charolês) e bubalinos (Jafarabad)**. 1986. 132f. Monografia/Dissertação/Tese (Especialização/ Mestrado/Doutorado em Zootecnia) - Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria.

9.7. Boletim: ROGIK, F.A. **Indústria da lactose**. São Paulo : Departamento de Produção Animal, 1942. 20p. (Boletim Técnico, 20).

9.8. Informação verbal: Identificada no próprio texto logo após a informação, através da expressão entre parênteses. Exemplo: ... são achados descritos por Vieira (1991 - Informe verbal). Ao final do texto, antes das Referências Bibliográficas, citar o endereço completo do autor (incluir E-mail), e/ou local, evento, data e tipo de apresentação na qual foi emitida a informação.

9.9. Documentos eletrônicos: MATERA, J.M. **Afecções cirúrgicas da coluna vertebral:**

análise sobre as possibilidades do tratamento cirúrgico. São Paulo : Departamento de Cirurgia, FMVZ-USP, 1997. 1 CD.

GRIFON, D.M. Arthroscopic diagnosis of elbow displasia. In: WORLD SMALL ANIMAL VETERINARY CONGRESS, 31., 2006, Prague, Czech Republic. **Proceedings...** Prague: WSAVA, 2006. p.630-636. Acessado em 12 fev. 2007. Online. Disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/wsava/2006/lecture22/Griffon1.pdf?LA=1>

UFRGS. **Transgênicos.** Zero Hora Digital, Porto Alegre, 23 mar. 2000. Especiais. Acessado em 23 mar. 2000. Online. Disponível em: <http://www.zh.com.br/especial/index.htm>

ONGPHIPHADHANAKUL, B. Prevention of postmenopausal bone loss by low and conventional doses of calcitriol or conjugated equine estrogen. **Maturitas**, (Ireland), v.34, n.2, p.179-184, Feb 15, 2000. Obtido via base de dados MEDLINE. 1994-2000. Acessado em 23 mar. 2000. Online. Disponível em: [http://www. Medscape.com/server-java/MedlineSearchForm](http://www.Medscape.com/server-java/MedlineSearchForm)

MARCHIONATTI, A.; PIPPI, N.L. Análise comparativa entre duas técnicas de recuperação de úlcera de córnea não infectada em nível de estroma médio. In: SEMINARIO LATINOAMERICANO DE CIRURGIA VETERINÁRIA, 3., 1997, Corrientes, Argentina. **Anais...** Corrientes : Facultad de Ciencias Veterinarias - UNNE, 1997. Disquete. 1 disquete de 31/2. Para uso em PC.

10. Desenhos, gráficos e fotografias serão denominados figuras e terão o número de ordem em algarismos arábicos. A revista não usa a denominação quadro. As figuras devem ser disponibilizadas individualmente por página. Os desenhos figuras e gráficos (com largura de no máximo 16cm) devem ser feitos em editor gráfico sempre em qualidade máxima com pelo menos 300 dpi em extensão .tiff. As tabelas devem conter a palavra tabela, seguida do número de ordem em algarismo arábico e não devem exceder uma lauda.

11. Os conceitos e afirmações contidos nos artigos serão de inteira responsabilidade do(s) autor(es).

12. Será obrigatório o cadastro de todos autores nos metadados de submissão. O artigo não tramitará enquanto o referido item não for atendido. Excepcionalmente, mediante consulta prévia para a Comissão Editorial outro expediente poderá ser utilizado.

13. Lista de verificação (Checklist .doc, .pdf).

14. Os artigos serão publicados em ordem de aprovação.

15. Os artigos não aprovados serão arquivados havendo, no entanto, o encaminhamento de uma justificativa pelo indeferimento.

16. Em caso de dúvida, consultar artigos de fascículos já publicados antes de dirigir-se à Comissão Editorial.

17. Todos os artigos encaminhados devem pagar a taxa de tramitação. Artigos reencaminhados (**com decisão de Reject and Resubmit**) deverão pagar a taxa de tramitação novamente.