



**Diferentes Tratamentos de Antecipação da Estação
Reprodutiva em Ovelhas da Raça Churra Galega
Bragançana**

David Venâncio

*Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária de Bragança para obtenção
do Grau de Mestre em Tecnologias da Ciência Animal*

Orientada por:

Prof. Dr. Ramiro Valentim

Prof. Dr. Teresa Montenegro

Bragança

2012

Dedicatória

*À minha mãe in memoriam, pela coragem
e força que me transmite todos os dias.
Aos meus avós, por todo o esforço, dedicação e
transmissão de valores, por terem tornado tudo
isto possível e a quem devo tudo na vida.*

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Professor Doutor Ramiro Valentim, por todos os conhecimentos transmitidos ao longo destes anos de formação, por toda a disponibilidade, apoio, paciência, palavras de incentivo e colaboração na realização deste trabalho científico.

Á Professora Doutora Teresa Montenegro, como Co-Orientadora, por toda a disponibilidade, auxílio e conhecimentos práticos transmitidos indispensáveis na realização deste estudo.

Ao Professor Doutor Alfredo Teixeira, por todo o enriquecimento curricular transmitido tanto na licenciatura em Eng. Zootécnica como no mestrado em Tecnologias da Ciência Animal, pelo apoio, disponibilidade e pelos valores e rigor científico transmitidos.

A estes três Professores agradeço ainda, o empenho e a forma fascinante como desempenham a sua profissão que fez com que ao longo destes anos, fosse crescendo cada vez mais, a minha paixão por esta área de estudo e que hoje tenho a certeza de ter sido a melhor escolha.

A todos os Professores da Escola Superior Agrária que, cada um nas suas áreas específicas, me foram acompanhando ao longo da minha formação e me transmitiram o seu conhecimento nos vários ramos da Zootécnia.

A todos os funcionários da escola que estiveram envolvidos na realização deste trabalho de pesquisa, pelo apoio, amizade, paciência, boa vontade e disponibilidade na execução dos trabalhos práticos.

Á minha amiga e colega Fátima Cortez, por todo o apoio, paciência e incentivo quando tinha vontade de desistir de tudo.

Aos meus amigos e colegas, Germano Coimbra e Helder Costa pela ajuda e boa vontade nos trabalhos práticos realizados neste estudo.

Á Silvia Botelho, meu amor, por estar sempre do meu lado sem nunca me deixar desanimar, pela cumplicidade, apoio, compreensão e toda a dedicação ao longo desta caminhada.

A todos os meus amigos que me acompanharam directa ou indirectamente ao longo destes anos na minha formação, nos bons momentos passados dos quais nunca me esquecerei.

A TODOS MUITO OBRIGADO!

ÍNDICE GERAL

LISTA DE FIGURAS E QUADROS	v
LISTA DE ABREVIATURAS	vi
RESUMO	vii
ABSTRACT	viii
I – INTRODUÇÃO	1
II – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	2
1 – FISIOLOGIA REPRODUTIVA DA OVELHA	2
1.1 – Ciclo Éstrico	2
1.1.1 – Endocrinologia do Ciclo Éstrico	2
2 – SAZONALIDADE REPRODUTIVA EM OVINOS	3
3 – CONTROLO DA ACTIVIDADE REPRODUTIVA	4
3.1 – Sincronização e/ou Indução da Actividade Ovária em Ovinos	5
3.1.1 – Métodos Naturais	6
3.1.1.1 – “Efeito Macho” e <i>Flushing</i>	6
3.1.2 – Métodos Hormonais	8
3.1.2.1 – Melatonina	8
3.1.2.2 – Progestagénios	9
3.1.2.3 – Prostaglandinas F _{2α}	11
3.1.2.4 – Gonadotropina Coriónica equina	12
3.1.2.5 – Gonadotropina Coriónica humana	14
III – PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	15
1 – MATERIAL E MÉTODOS	15
2 – RESULTADOS E DISCUSÃO	17
3 – CONCLUSÕES	23
IV – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24

LISTA DE FIGURAS E QUADROS

FIGURA 1 – Variação temporal dos níveis plasmáticos médios de cronolona (Chronogest CR) em ovelhas	10
QUADRO I – A dose de eCG que garante a ovulação varia em função do estado reprodutivo das fêmeas (idade e ciclicidade)	13
QUADRO II – Valores máximos e mínimos da idade, do peso e da condição corporal (CC) das ovelhas estudadas	17
QUADRO III – Percentagem de ovelhas que apresentaram níveis plasmáticos de P ₄ superiores a 0,5 ng/ml, antes e depois do tratamento FGA + eCG	18
QUADRO IV – Percentagem de ovelhas que apresentaram cio e que tiveram um diagnóstico de gestação positivo	20
QUADRO V – Taxas de fertilidade aparente, de prolificidade e de fecundidade das ovelhas estudadas segundo os tratamentos aplicados	22

LISTA DE ABREVIATURAS

CIDR – Dispositivo Intravaginal Libertador de Progesterona

CL – Corpo Lúteo

D – Dia

eCG – Gonadotropina Coriônica equina

FGA - Acetato de fluorogestona

FSH - Hormona Folículo-Estimulante

G – Grupo

GnRH - Hormona Libertadora de Gonadotropinas

h – horas

hCG - Gonadotropina Coriônica humana

IATF – Inseminação Artificial a Tempo Fixo

LH - Hormona Luteinizante

MAP - Acetato de medroxiprogesterona

mg – Miligramas

mm – Milímetros

MOET – Multiple Ovulation and Embryo Transfer

ng/ml – nanogramas/mililitros

P₄ - Progesterona

PGF_{2α} - Prostaglandinas F_{2α}

PMSG – Pregnant Mare Serum Gonadotropin

rmp – Rotações por minuto

SAS – Statistical Analysis System

UI – Unidade International

µg – Microgramas

RESUMO

Este trabalho foi realizado na cidade de Bragança com o intuito de estudar o efeito da melatonina, e de tratamentos progestagénicos associados à eCG na sincronização/indução do estro e, as melhorias reprodutivas desencadeados pelos mesmos. Quanto aos progestagénios foram utilizadas esponjas intravaginais impregnadas em acetato de fluorogestrona (FGA), compararam-se também os resultados obtidos quanto ao momento da administração da eCG, 24h antes ou no momento da retirada das esponjas.

No ensaio, foram utilizadas 94 ovelhas da raça Churra Galega Bragançana. Em 25 delas foram colocados implantes subcutâneos de melatonina (18mg) (grupo Melatonina). Quarenta e cinco dias depois, estas ovelhas foram tratadas com esponjas vaginais impregnadas com 20 mg de FGA (acetato de fluorogestrona). Este tratamento foi igualmente aplicado às demais 69 ovelhas (grupo controlo). O tratamento progestagénico teve a duração de 12 dias. Vinte e quatro horas antes da remoção das esponjas vaginais, a 32 das ovelhas controlo foram administradas 500 UI de eCG (Gonadotropina Coriónica equina) (Grupo dia -1). Quando da remoção das esponjas vaginais, às ovelhas Melatonina (n=25) e às restantes ovelhas Controlo (n=37) foram igualmente injectadas 500 UI de eCG (Grupo dia 0). Nessa altura foram introduzidos no rebanho 5 carneiros munidos de arneses marcadores. Todas as ovelhas foram sujeitas a diagnóstico de gestação, por ultrasonografia, 41 dias pós-introdução dos carneiros. Depois do parto, foram calculadas as taxas de fertilidade aparente, fecundidade e prolificidade.

No final concluiu-se que a melatonina não tinha evidenciado resultados estatisticamente significativos ($P > 0.05$) quanto sincronização/indução do estro, ovulação e gestação no Grupo melatonina (76,0%; 100%; 48,0%), respectivamente, em relação ao Grupo controlo (83,8%; 97,3%; 45,9%). Contudo o momento de administração da eCG demonstrou melhoria significativas nas taxas de ovelhas em cio e gestantes para os animais administrados com eCG no momento da remoção das esponjas intravaginais (83,8%; 45,9%), respectivamente, contra (71,9%; 31,3%) para as ovelhas que receberam o tratamento progestagénico 24h antes. No que se refere às taxas de ovulação, não foram afectadas pelo momento de administração da eCG.

ABSTRACT

This work was conducted in the city of Bragança in order to study the effect of melatonin, and progestagenic treatments associated to eCG in synchronization / induction of estrus, and breeding improvements triggered by them. Regarding progestagens were used intravaginal sponges impregnated in fluorogesterone acetate (FGA), were compared the results obtained by different administration timing of eCG, 24 h before or at the time of sponge removal.

In this experiment, were used 94 ewes Churra Galega Bragançana. In 25 of them were placed subcutaneous implants of melatonin (18mg) (Melatonin group). Forty-five days later, these sheep were treated with vaginal sponges impregnated with 20 mg of FGA (fluorogesterone acetate). This treatment was applied also to the other 69 sheep (control group). The progestagen treatment lasted 12 days. Twenty-four hours before the removal of vaginal sponges, to 32 control sheep were administered 500 IU eCG (Equine Chorionic Gonadotropin) (Group days -1). When the removal of vaginal sponges, melatonin to sheep (n = 25) and the remaining control sheep (n = 37) were also injected with 500 IU eCG (Group day 0). At that time were introduced in five sheep flock bearing harnesses markers. All sheep were subjected to pregnancy diagnosis by ultrasonography, 41 days after the introduction of rams. After delivery, we calculated the apparent fertility, fecundity and prolificacy rates.

At the end it was concluded that melatonin was not demonstrated statistically significant ($P > 0.05$) as synchronization / induction of oestrus, ovulation and pregnancy in the melatonin group (76.0%, 100%, 48.0%), respectively, compared to the control group (83.8%, 97.3%, 45.9%). However, the time of eCG administration demonstrated significant improvement in rates of ewes in heat and pregnant for the animals administered with eCG at the time of removal of intravaginal sponges (83.8%, 45.9%), respectively, against (71.9%, 31.3%) for the sheep that received progestagen treatment 24h before. Ovulation rates were not affected by the time of administration of eCG.

I – INTRODUÇÃO

Em Portugal, apesar dos ovinos serem considerados reprodutores de “dias curtos”, a maioria dos produtores utiliza, preferencialmente, como época de cobrição, o fim da Primavera-começo do Verão. Ainda que, normalmente, uma percentagem significativa de ovelhas se encontre acíclica nesta altura do ano, a sazonalidade das ovelhas autóctones portuguesas não é tão marcada como a de ovelhas originárias de outros países situados a latitudes mais elevadas. A aplicação de técnicas, como o “efeito macho” (Bettencourt, 1988, Correia *et al.*, 1995, Azevedo *et al.*, 1997, Matos *et al.*, 1997, Correia *et al.*, 1998, Correia *et al.*, 1999, Correia *et al.*, 2007) ou o uso de tratamentos hormonais com progestagénios (Azevedo *et al.*, 2002, Azevedo *et al.*, 2003), permite contrariar muito satisfatoriamente a sazonalidade das ovelhas locais e alcançar boas taxas de fertilidade aparente. Do ponto de vista produtivo, a utilização desta época de cobrição é de particular importância, pois tem em vista a produção de borregos para o Natal. A época de cobrição de Outono é, geralmente, utilizada para gerar os animais de substituição e para fertilizar as fêmeas que não ficaram gestantes na Primavera.

Não existe um protocolo ideal de indução da actividade ovárica. Presentemente, na Europa, os implantes subcutâneos de melatonina são muito utilizados na interrupção do anestro sazonal. Contudo, são caros e nem sempre resultam numa melhoria significativa da actividade reprodutiva (Azevedo *et al.*, 2006). Neste sentido, pode-se recorrer a outros métodos: “efeito macho” ou progestagénios e gonadotropinas. Efectivamente, alguns estudos sugerem que a utilização conjunta de melatonina e de progestagénios melhora o retorno à ciclicidade. Isoladamente, os tratamentos progestagénicos têm-se revelado satisfatoriamente eficazes na indução da actividade ovárica entre as raças ovinas nacionais (Azevedo *et al.*, 2006).

Nos tratamentos conjuntos de progestagénios e gonadotropinas, o momento da administração da gonadotropina, relativamente ao fim do tratamento progestagénico, pode afectar a resposta ovárica. A maioria dos autores sugere que a gonadotropina seja administrada quando da remoção das esponjas vaginais. Porém, alguns aconselham a sua injeção 24-48 horas antes da remoção das esponjas vaginais (Azevedo *et al.*, 2006).

II – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1 – FISIOLOGIA REPRODUTIVA DA OVELHA

1.1 – CICLO ÉSTRICO

Nas ovelhas, após o estabelecimento da puberdade, desenvolve-se um padrão rítmico de eventos fisiológicos que promovem alterações anátomo-morfológicas no tracto genital e mudanças comportamentais. Estas variações cíclicas são interrompidas apenas pela gestação ou por condições ambientais adversas ou patológicas. Nos animais, este ciclo de mudanças é denominado de ciclo éstrico, onde as alterações comportamentais são, geralmente, mais fáceis de detectar – intervalo entre períodos consecutivos de receptividade sexual ou de cio (Bearden e Fuquay, 1984; citados por Bettencourt, 1999). Nos ovinos, as manifestações de cio são muito discretas, pelo que o único indicador seguro do mesmo é o reflexo de imobilidade na presença do macho.

O ciclo éstrico das ovelhas tem uma duração média de 16-17 dias. A sua duração é influenciada por vários factores: raça, idade, peso, condição corporal, estado fisiológico, estado de saúde, alimentação, fotoperíodo, condições climatéricas, relações sociais, entre outros (Kolb *et al.*, 1987; citados por Padilha, 2007). Divide-se numa fase folicular (2-3 dias) e numa fase lútea (Rubianes, 2000a; citados por Padilha, 2007). O cio ocorre, normalmente, durante o estro e a sua duração varia entre 12-50 horas (Hafez, 1987; citado por Bettencourt, 1999). A ovulação ocorre no final do período de estro (20-30 horas após o seu início) (Hafez, 1987; citado por Bettencourt, 1999).

1.1.1 – ENDOCRINOLOGIA DO CICLO ÉSTRICO

A regulação do ciclo éstrico é feita através de mecanismos neuroendócrinos que envolvem o eixo hipotálamo-hipófise-gónadas e a secreção, respectivamente, de GnRH (Hormona Libertadora de Gonadotropinas), de gonadotropinas (FSH e LH) e de esteróides sexuais (estrogénios e progesterona). O aumento da frequência de secreção de GnRH traduz-se num incremento da secreção de FSH (Hormona Folículo-Estimulante) e, particularmente, de LH (Hormona Luteinizante). A FSH estimula o recrutamento, o crescimento e a selecção dos folículos e a LH, a ovulação e a luteinização das

remanescentes estruturas foliculares – formação do corpo lúteo (CL) (Rubianes, 2000; citado por Sicherle, 2005).

À medida que os folículos se desenvolvem, aumenta a secreção de estrogénios. Estes promovem as manifestações éstricas (cio) e o pulso pré-ovulatório de LH. Os seus valores máximos são alcançados pouco antes da ocorrência deste pulso de LH. O pulso pré-ovulatório de LH é precedido de um aumento da frequência dos pulsos de GnRH, ainda que estes tenham uma menor amplitude (Karsch *et al.*, 1997, Clark *et al.*, 1987; citados por Sicherle, 2005). De seguida, os níveis circulantes de progesterona começam a elevar-se. Os seus valores máximos surgem por volta do 3º dia pós-ovulação ($\approx 6^\circ$ dia do ciclo éstrico) (Gordon, 1997, Pant *et al.*, 1977; citados por Padilha 2007). Os níveis plasmáticos de progesterona dependem do grau de desenvolvimento do CL e do volume total de tecido lúteo e podem variar em função da raça e da taxa de ovulação (Gordon, 1997, Bartlewski *et al.*, 1999; citados por Sicherle, 2005). Os níveis plasmáticos de progesterona atingem os seus valores máximos por volta do 10º-12º dia do ciclo éstrico (5 ng/ml; nanogramas/mililitro) (Foster *et al.*, 1975). Estes mantêm-se elevados até à luteólise - 14º-15º dias do ciclo éstrico (Hauger *et al.*, 1977).

Durante a fase lútea, os elevados níveis circulantes de progesterona inibem a secreção de GnRH. Esta diminuição da frequência de secreção de GnRH é necessária à reposição das reservas de FSH nas células gonadotrópicas, essencial ao crescimento dos novos folículos (Karsch *et al.*, 1988, Chabbert-Buffer *et al.*, 2000). Nesta fase, os níveis plasmáticos de estrogénios são igualmente baixos (Karsh *et al.*, 1984; citados por Bettencourt, 1999). A secreção de progesterona reduz-se drasticamente após a luteólise do CL. Esta é promovida pelas $\text{PGF}_{2\alpha}$, produzidas no endométrio do útero, sob estimulação da oxitocina de origem ovárica (Flint *et al.*, 1983, Peluso, 2006). Depois da luteólise, ocorre um aumento da secreção de GnRH, o que estimula o crescimento folicular e a libertação de estrogénios. Recomeça assim um novo ciclo ovárico (Clark *et al.*, 1987; citados por Padilha, 2007).

2 – SAZONALIDADE REPRODUTIVA EM OVINOS

Os ovinos são animais poliéstricos sazonais. São denominados de reprodutores de “dias curtos” ou de “dias decrescentes”, pois reproduzem-se preferencialmente nos meses em que o fotoperíodo é “curto” (Outono/Inverno) ou “decrescente”

(Verão/Outono) (Fonseca, 2005). Nos restantes meses, os animais estão em anestro. Desta forma, os partos coincidem com a estação do ano em que as condições climáticas e alimentares são mais favoráveis ao crescimento fetal final e à lactação (Thiéry *et al.*, 2002, Rosa e Bryant, 2003; citados por Valentim, 2004) e, consequentemente, ao crescimento pós-natal da cria (Martin *et al.*, 2002, Thiéry *et al.*, 2002, Rosa e Bryant, 2003; citados por Valentim, 2004). A estação reprodutiva resulta assim de um processo adaptativo usado pelos animais para ajustar as condições climáticas e a disponibilidade natural de alimento às exigências nutricionais associadas à reprodução (Malpaux *et al.*, 1996a; citados por Padilha, 2007).

Nas regiões polares e temperadas, o fotoperíodo é um dos principais factores condicionadores da sazonalidade (Hafez, 1987). Contudo, a genética, a idade, o sexo, o estado nutricional, a alimentação, as condições climáticas e os factores sociais desempenham igualmente um papel relevante na regulação da actividade reprodutiva e na profundidade do anestro sazonal (Sadlier, 1969, Martin *et al.*, 1990, Chemineau *et al.*, 1992, Pérez *et al.*, 1998; Martin *et al.*, 2002; citados por Valentim, 2004).

A estação reprodutiva caracteriza-se pela apresentação “regular” de ciclos éstricos e a estação de anestro sazonal pela irregularidade destes mesmos ciclos ou pela completa inactividade reprodutiva (Martin *et al.*, 2002; citados por Valentim, 2004). As fases de transição entre a estação reprodutiva e de anestro e vice-versa são marcadas por uma actividade ovárica “imperfeita”: ovulações silenciosas e subestros. Na estação de anestro, estes fenómenos também ocorrem (Bettencourt, 1999). Ao que tudo indica, as ovulações “silenciosas” resultam da inexistência prévia de elevados níveis circulantes de progesterona, necessários à formação de receptores de estrogénios no eixo hipotálamo-hipófise-gónadas (Hall *et al.*, 1986, Valentim *et al.*, 2006b) e à manifestação de sinais detectáveis de cio (Senger, 2004, Valentim *et al.*, 2006b). Por seu turno, o subestro parece estar associado a um crescimento folicular demasiado rápido (resultante da carência em progesterona) e à falha do mecanismo de ovulação.

3 – CONTROLO DA ACTIVIDADE REPRODUTIVA

Nos animais domesticados, o controlo da actividade reprodutiva pode ser feito através da manipulação da fase folicular ou da fase lútea do ciclo éstrico. Nas ovelhas,

este controlo é exercido essencialmente sobre a fase lútea, por esta ser mais longa e susceptível de manipular eficazmente (Wildeus, 1999).

Nas modernas explorações animais, o controlo reprodutivo é algo imprescindível, pois possibilita melhorar o planeamento e a gestão das seguintes actividades (Valentim *et al.*, 2006b):

- Alimentação, consoante as disponibilidades naturais de alimentos e os estados fisiológicos dos animais.
- Épocas de cobrição e de parição, ajustando as variações anuais dos custos de alimentação e de mão-de-obra à valorização dos produtos produzidos.
- Maneio sanitário, de acordo com as principais patologias locais, o estado fisiológico das ovelhas e o momento de venda dos produtos finais (particularmente, de carne e/ou de leite). Deste modo, aumentam-se as taxas de fertilidade e de prolificidade, a produtividade do sistema (menor taxa de mortalidade) e a obtenção de produtos mais homogéneos e de maior qualidade.

A resposta dos animais aos diferentes tratamentos adoptáveis varia em função de factores como: a raça, o indivíduo, a idade, a estação do ano, o maneio, o estado nutricional, o estado sanitário, a fase da lactação, o protocolo implementado, as hormonas administradas, as doses empregues, o sistema de beneficiação adoptado (monta natural ou inseminação artificial), entre outros (Valentim *et al.*, 2006b).

3.1 – SINCRONIZAÇÃO E/OU INDUÇÃO DA ACTIVIDADE OVÁRICA EM OVINOS

Nos sistemas intensivos, em particular, a sincronização deaios facilita o maneio, melhora a eficiência reprodutiva, permite a adopção racional de tecnologias reprodutivas e origina lotes de cordeiros para venda mais homogéneos, garantindo um nível aceitável de fertilidade pós-inseminação artificial ou monta natural (Kusina *et al.*, 2000, Godfrey *et al.*, 1997; citados por Oliveira *et al.*, 2008).

Nos pequenos ruminantes, a sincronização deaios pode ser conseguida através de métodos naturais como é caso do “efeito macho” ou *flushing* (alimentação) ou por métodos hormonais que podem estender artificialmente o ciclo éstrico (progesterona

exógena ou progestagénios) ou que reduzem a fase lútea (Prostaglandinas $F_{2\alpha}$; $PGF_{2\alpha}$) ou seus análogos (Evans e Maxwell, 1986, Kusina *et al.*, 2000, Jaiunudeen *et al.*, 2000; citados por Padilha, 2007).

Nas ovelhas em anestro, a ovulação pode ser induzida através da administração exógena de GnRH, FSH, eCG e hCG (Gonadotropina Coriónica humana) (Karsh *et al.*, 1988) ou da indução da libertação endógena de GnRH/LH (Martin *et al.*, 1986; citado por Oliveira *et al.*, 2008). A administração de GnRH resulta num aumento da secreção de gonadotropinas e condiciona o crescimento e a maturação folicular e a ovulação. A FSH promove o crescimento folicular. É administrada em preparados que contêm simultaneamente uma pequena quantidade de LH (Valentim *et al.*, 2006b). Esta hormona é essencialmente utilizada na indução de superovulações (associadas a programas MOET; *Multiple Ovulation and Embryo Transfer*), pois é eficaz, precisa e dispendiosa. Por norma, recomenda-se a sua injeção a cada 12 horas, durante 2-4 dias, em doses preferencialmente decrescentes. A última injeção deve ser aplicada 12-24 horas depois de terminado o tratamento com progestagénios e/ou $PGF_{2\alpha}$ (Valentim *et al.*, 2006b).

3.1.1 – MÉTODOS NATURAIS

3.1.1.1 – “EFEITO MACHO” E *FLUSHING*

O “efeito macho” pode ser usado como método natural de indução/sincronização da actividade ovárica. Consiste na introdução de carneiros junto de ovelhas que estiveram previamente isoladas deles (Underwood *et al.*, 1944; citados por Bettencourt, 1999). Este isolamento tem de ser total, ou seja, tem de evitar qualquer contacto olfactivo, visual, auditivo e táctil entre machos e fêmeas, por um período mínimo de 4 semanas (aconselhável, 8 semanas) (Valentim, 2012; informação pessoal).

Segundo Pearce e Oldham (1988), o “efeito macho” é mediado essencialmente por estímulos olfactivos e visuais com origem nos machos e que estão associados a estímulos comportamentais gerados durante o cortejamento (Rosa e Bryant, 2002; citados por Horta e Gonçalves, 2006).

O “efeito macho” pode ser usado na interrupção da estação de anestro, induzindo a ovulação e o cio em fêmeas em anestro sazonal ou de lactação, e na modificação da

duração do ciclo éstrico (McClintock, 1971 e Martin *et al.*, 1986). Pode ainda reduzir o intervalo de tempo parto/primeira ovulação pós-parto (Mauleón e Dauzier, 1965; citados por Signoret e Cognié, 1984). A estação reprodutiva pode ser antecipada em cerca de 4-6 semanas, ou até mais (consoante a sazonalidade da raça), favorecendo uma boa sincronização das parições e posteriormente do desmame (Horta e Gonçalves, 2006). De acordo com Ungerfeld (2003) (citado por Horta e Gonçalves, 2006), produz os mesmos resultados que os conseguidos com tratamentos hormonais, a baixo custo (quando se têm condições para o implementar) e sem deixar resíduos hormonais, factor presentemente de muito importância, dadas as enormes pressões dos consumidores.

Nas ovelhas em anestro, a introdução dos machos junto das fêmeas induz a um aumento imediato da frequência de secreção de GnRH/LH (Cohen-Tannoudji *et al.*, 1986, Pearce e Oldham, 1988; citados por Padilha, 2007). Dependendo da profundidade do anestro, a primeira ovulação surge em poucos dias (primeiros 6 dias pós-introdução dos machos), mas geralmente esta não é acompanhada de cio (Schinckel, 1954, Pearce e Oldham, 1984; citados por Bettencourt, 1999). Frequentemente, as primeiras manifestações de cio surgem cerca de 18 dias após a aplicação do “efeito macho” (2º ciclo pós-introdução dos machos) ou sensivelmente 6 dias mais tarde (3º ciclo) (Sckinckel, 1954; citado por Bettencourt, 1999).

A eficácia do “efeito macho”, na indução da actividade ovárica, depende de vários factores: genéticos (raça das ovelhas e dos carneiros) (Martin *et al.*, 1986, Nugent *et al.*, 1988a), idade (Pearce e Oldham, 1984; citados por Bettencourt, 1999), estado de saúde, estado nutricional (Pearce e Oldham, 1984; citados por Bettencourt, 1999), estação do ano (Bettencourt, 1995), localização geográfica da exploração (Williams, 1978), condições climatéricas, “profundidade” do anestro (Martin *et al.*, 1986), duração do período de isolamento (Martin *et al.*, 1986), percentagem de machos/fêmeas, entre outros.

A eficácia do "efeito macho" pode ser aumentada, associando-o à técnica de *flushing* (melhoria da alimentação, tanto do ponto de vista energético como proteico, nas 2-3 semanas anteriores e imediatamente posteriores à cobrição), pois resulta num aumento das taxas ovulatória e de sobrevivência dos embriões (Neary, 2001). Porém, este efeito acrescido só surge em animais em défice alimentar (Horta e Gonçalves, 2006; citados por Oliveira *et al.*, 2008).

3.1.2 – MÉTODOS HORMONAIIS

3.1.2.1 – MELATONINA

A Melatonina é o mediador químico através do qual o fotoperíodo controla a secreção das gonadotropinas hipofisárias (Chemineau *et al.*, 1992). A sua acção produz-se através de dois mecanismos complementares: modulação directa da secreção de GnRH e alteração da sensibilidade do eixo hipotalâmico-hipofisário face à retroacção negativa exercida pelos esteróides gonadais. (Valentim *et al.*, 2006a). Durante a estação de anestro sazonal, a actividade ovárica completa das ovelhas desaparece ou é fortemente condicionada pela eficácia deste mecanismo de retroacção negativa, responsável pelo bloqueio da ocorrência do pulso pré-ovulatório de GnRH/LH e, consequentemente, da ovulação. (Valentim *et al.*, 2006a).

Nos ovinos, a melatonina pode afectar a actividade reprodutiva sazonal directamente ou através da aplicação de tratamentos luminosos (Valentim *et al.*, 2006a). Actualmente, a forma mais comum de administração de melatonina exógena é via implantes subcutâneos (Valentim *et al.*, 2006a). Outras vias de administração revelaram-se impraticáveis, quando aplicadas a um grande número de animais (Durotoye *et al.*, 1991; citado por Loureiro, 2003).

Cada implante subcutâneo de melatonina (18 mg) liberta, progressivamente, melatonina em doses semelhantes às segregadas naturalmente durante a noite, por um período de 3-4 meses (bula da *SANOFI Santé Nutrition Animal*, 1999 e da *CEVA Santé Animal*, 2001; citados por Valentim *et al.*, 2006a). A sua colocação é feita no tecido subcutâneo, com auxílio de uma pistola própria, próximo da base da orelha (parte de trás), sendo a sua remoção apenas possível cirurgicamente (Staples *et al.*, 1992).

Vinte e quatro horas após a sua colocação, aumenta a secreção pulsátil de GnRH e, consequentemente, a de FSH e a de LH (Chemineau *et al.*, 1996; citado por Loureiro, 2003). A interrupção do anestro surge 30-40 dias pós-colocação do implante subcutâneo de melatonina (Valentim *et al.*, 2006a).

Adicionalmente, a administração de melatonina exógena melhora a função lútea e aumenta a taxa de sobrevivência dos embriões (Forcada *et al.*, 2001; citados por Valentim *et al.*, 2006a). Na verdade, permite a obtenção de resultados reprodutivos semelhantes aos que ocorrem, naturalmente, na estação reprodutiva – altas taxas de

fertilidade aparente e de prolificidade (Forcada *et al.*, 2001, Sánchez *et al.*, 2003 e Santander *et al.*, 2003; citados por Valentim *et al.*, 2006a). O número de implantes a colocar, por animal, varia em função do sexo e do seu peso corporal (Valentim *et al.*, 2006a).

Vários autores consideram que a associação do tratamento de melatonina ao “efeito macho” é vatanjosa (Oldham e Martin, 1978). Ele favorece a sincronização dosaios e das ovulações (Haresign, 1992a; Staples *et al.*, 1992, Sweeney e O’Callaghan, 1996, Williams *et al.*, 1992; citados por Loureiro, 2003). Aumenta ainda a taxa de fertilidade aparente (Haresign, 1992a; Williams *et al.*, 1992; citados por Loureiro, 2003).

3.1.2.2– PROGESTAGÉNIOS

Os progestagénios são fármacos sintéticos de efeito similar à progesterona (Dixion *et al.*, 2006), mas mais potentes (Driancourt, 2012). São muito utilizados em programas de controlo da actividade reprodutiva em pequenos ruminantes (Dixion *et al.*, 2006). Na estação de anestro podem induzir a ciclicidade (Dixion *et al.*, 2006). Na estação reprodutiva, previnem a actividade ovárica completa, pois exercem uma retroacção negativa sobre a secreção de LH (Driancourt, 2012).

Os progestagénios possuem uma semivida curta, já que são rapidamente metabolizados e terminada a sua administração ocorre um rápido regresso à actividade ovárica (Valentim *et al.*, 2006b; Driancourt, 2012). Nessa altura, produz-se, rapidamente, uma elevação da secreção pulsátil de LH (Driancourt, 2012). Cerca de 24-48 horas depois as ovelhas apresentam cio. A ovulação surge, normalmente, 48-72 horas pós-tratamento (Valentim *et al.*, 2006b).

Nos ovinos, os progestagénios mais utilizados são o acetato de fluorogestona (FGA) e o acetato de medroxiprogesterona (MAP), sendo que o primeiro oferece um controlo mais preciso da actividade ovárica, particularmente importante quando se usa a técnica de inseminação artificial (Bicudo e Souza, 2003, Valentim *et al.*, 2006b). A forma mais comum de administração de progestagénios é através de esponjas vaginais (Robinson, 1970; citado por Padilha, 2007). Estes mimetizam a acção natural do corpo lúteo sobre a secreção de GnRH/LH (Valentim *et al.*, 2006b). Nos primeiros dias pós-

inserção das esponjas, a libertação de progestagénios é elevada, mas tende a diminuir com o tempo (Greyling *et al.*, 1994; citados por Padilha, 2007). Nos dois primeiros dias, estas hormonas determinam a atresia dos folículos de grandes dimensões (diâmetro: 6-8 mm) (Figura 1). Posteriormente, passam a inibir o crescimento e a maturação folicular (Driancourt, 2012). Formam, no entanto, uma população homogénea de folículos de tamanho médio (diâmetro: 4-6 mm).

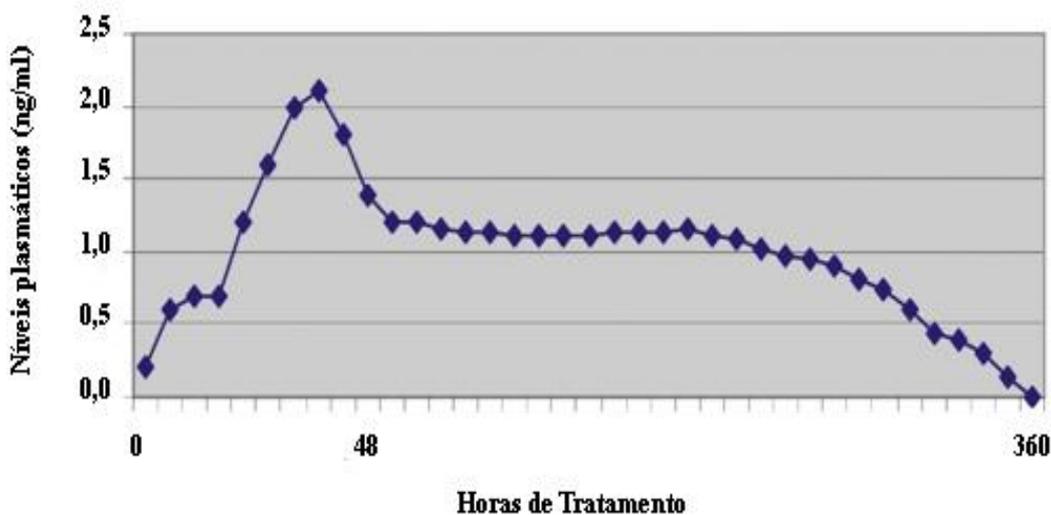


FIGURA 1 – Variação temporal dos níveis plasmáticos médios de cronolona (Chronogest CR) em ovelhas (Driancourt, 2012).

Existem vários protocolos de tratamento com progestagénios. A duração dos mesmos está relacionada com a duração natural da fase lútea (Valentim *et al.*, 2006b). Os tratamentos com FGA devem ter uma duração de 12-15 dias (Barret *et al.*, 2004, Valentim *et al.*, 2006b). Presentemente, são administrados na dose única de 20 mg, tanto na estação reprodutiva como na de anestro (Barret *et al.*, 2004, Valentim *et al.*, 2006b, Driancourt, 2012).

Na estação de anestro, os tratamentos com progestagénios pré-sensibilizam o eixo hipotálamo-hipófise-gónadas e melhoram: a actividade ovárica (Valentim *et al.*, 2006b; Driancourt, 2012), as manifestações de cio e o transporte de espermatozóides no tracto genital feminino (Valentim *et al.*, 2006b). Pelo contrário, na estação reprodutiva, os tratamentos progestagénicos prolongados afectam negativamente o funcionamento do eixo hipotálamo-hipófise-gónadas, pois prejudicam: a secreção de GnRH/LH (Valentim *et al.*, 2006b), o crescimento e a maturação folicular (Valentim *et al.*, 2006b), a

ovulação (Valentim *et al.*, 2006b; Odde, 1990; citado por Padilha, 2007), o comportamento sexual (Valentim *et al.*, 2006b; Odde, 1990; citado por Padilha, 2007), a formação de depósitos de espermatozóides no canal cervical (Valentim *et al.*, 2006b) e o transporte dos mesmos ao longo do tracto genital feminino (Valentim *et al.*, 2006b). Quando usadas repetidamente, porque são moléculas artificiais, originam a formação de anticorpos, o que reduz a sua eficácia (Valentim *et al.*, 2006b; Driancourt, 2012). Contudo, esta resposta imunitária varia muito de indivíduo para indivíduo (Driancourt, 2012).

Muitos protocolos incluem a associação do tratamento progestagénico à administração de eCG (Gonadotropina Coriónica equina), com o intuito de elevar a percentagem de fêmeas que ovulam (Ali, 2007). Todavia, os diferentes autores divergem quanto ao momento ideal de injeção da eCG: quando da remoção das esponjas intravaginais, 24 horas ou 48 horas antes.

3.1.2.3 – PROSTAGLANDINAS $F_{2\alpha}$

Desde a sua identificação como agentes luteolíticos, as $PGF_{2\alpha}$ têm sido usadas no controlo da actividade reprodutiva em pequenos ruminantes. Induzem a lise do corpo ou corpos lúteos e, conseqüentemente, determinam o começo de um novo ciclo (Dixon *et al.*, 2006; McCracken *et al.*, 1972; citados por Sicherle, 2005). Obviamente, na ausência de um CL, as $PGF_{2\alpha}$ ou seus análogos são totalmente ineficazes (Rathbone *et al.*, 2001; citados por Neto, 2009). De acordo com Rubianes (2000), as $PGF_{2\alpha}$ só actuam quando existe um CL funcional. Segundo Moraes *et al.* (2003), as $PGF_{2\alpha}$ só possuem eficácia a partir do 5º dia do ciclo éstrico. Nos ruminantes, o corpo lúteo começa a organizar-se logo após a ovulação, mas só se torna funcional após um ou dois dias; a plenitude funcional ocorre ao 5º dia (Moraes *et al.*, 2003). Neste sentido, a administração de uma injeção única de $PGF_{2\alpha}$ não é suficiente para garantir a sincronização dos cios num grupo de ovelhas. Assim sendo, há que aplicar duas injeções, com 9-11 dias de intervalo (Santos *et al.*, 2005, Valentim *et al.*, 2006b). Estes protocolos baseiam-se no pressuposto que, aquando da segunda injeção, todas as fêmeas estão sensíveis às $PGF_{2\alpha}$ (Thimonier, 1981; citado por Almeida, 2007). Quanto às doses a administrar, existe uma grande divergência entre autores: cerca de 20 mg de $PGF_{2\alpha}$ ou 35-250 µg de cloprostenol/injeção (Valentim *et al.*, 2006b).

Em ovinos, vários autores não encontram diferenças estatisticamente significativas nas taxas de fertilidade aparente, quando utilizam $\text{PGF}_{2\alpha}$ ou progestagénios no controlo da actividade ovárica. Todavia, outros autores desaconselham o uso de $\text{PGF}_{2\alpha}$ nestes animais, pois, aparentemente, esta hormona pode não resultar na completa regressão do corpo lúteo, afectar negativamente os mecanismos foliculares e ovulatórios e prejudicar o transporte de espermatozóides ao longo do aparelho genital feminino. (Valentim *et al.*, 2006b).

3.1.2.5 - GONADOTROPINA CORIÓNICA EQUINA

A eCG, também denominada Gonadotropina Sérica da Égua Gestante (PMSG), foi descoberta a partir de experiências com ratos imaturos (Hafez *et al.*, 2004; citados por Iwamura, 2008). Nestes animais, a injeção de soro de éguas prenhas induz a maturidade sexual (Hafez *et al.*, 2004; citados por Iwamura, 2008). Foi uma das primeiras gonadotropinas comercialmente disponíveis para induzir a ovulação e superovulações em animais domesticados (Hafez *et al.*, 2004).

É uma hormona com acção FSH e LH, com predomínio da primeira (Azevedo *et al.*, 2006). Possui uma semivida longa – até 3 dias (Murphy e Martinuk, 1991), devido à sua elevada concentração em ácido siálico (Hafez *et al.*, 2004). Liga-se a receptores foliculares de FSH e de LH e a receptores lúteos de LH (Stewart e Allen, 1981; citados por Neto, 2009), ou seja, condiciona o crescimento e a maturação folicular, a ovulação e suporta o CL. Segundo Driancourt (2012), a acção FSH desta hormona promove o crescimento folicular entre os 2-6 mm de diâmetro e induz a expressão da aromatase (necessária à conversão dos androgénios em estrogénios). A acção LH suporta o crescimento folicular entre os 6-8 mm de diâmetro e maximiza a produção de androgénios por parte dos grandes folículos (que depois são aromatizados em estrogénios) (Driancourt, 2012).

A eCG não é eficaz no controlo da actividade reprodutiva (Evans e Robinson 1980). A sua utilização, com este propósito, só faz sentido quando associada a um tratamento com progestagénios (Evans e Robinson 1980). Na verdade, esta associação melhora a resposta ovárica: aumento das taxas de fertilidade e de prolificidade (Dias *et al.*, 2001, Barret *et al.*, 2004; citados por Neto, 2009). Aparentemente, a eCG compensa

os efeitos negativos que os tratamentos progestagénicos prolongados exercem sobre a dinâmica folicular, recrutando novos folículos (Noel *et al.*, 1994).

Nos tratamentos conjuntos de progestagénios e de eCG, o momento da administração da gonadotropina, relativamente ao fim do tratamento progestagénico, parece afectar a resposta ovárica. Enquanto que a maioria dos autores sugere que esta gonadotropina deve ser administrada quando da remoção das esponjas vaginais, outros aconselham a sua injeção 24 ou 48 horas antes do fim do tratamento progestagénico. Em ovelhas Dorper, a administração de eCG, 24 horas antes da remoção das esponjas vaginais, resulta num aumento das taxas de prolificidade e de fecundidade; a taxa de fertilidade aparente não se altera significativamente (Zelege *et al.*, 2005). Em ovelhas Awassi, o momento da injeção de eCG (24 horas antes, quando do término do tratamento progestagénico e 24 horas depois) - 300 UI - não condiciona as taxas de fertilidade aparente e de prolificidade (Ustuner *et al.*, 2007). Por seu turno, em ovelhas Blackbelly e Pelibuey, a administração de eCG, -48 horas, -24 horas ou quando da remoção das esponjas vaginais, não afecta significativamente as taxas de fertilidade aparente e de prolificidade (Juan *et al.*, 2011).

Normalmente, enquanto doses de 450-600 UI promovem a ovulação, doses próximas de 750 UI induzem superovulações (Valentim *et al.*, 2006b). Driancourt (2012) propõe que a dose utilizada varie em função da idade e do estado reprodutivo das fêmeas (Quadro I). Deve igualmente ser menor em ovelhas de raças muito prolíficas (Driancourt, 2012). A quantidade de leite produzida pode também ditar a utilização de uma dose diferenciada de eCG (Driancourt, 2012). Todavia, doses muito elevadas podem resultar em altas perdas embrionárias ou na formação de quistos ováricos. (Valentim *et al.*, 2006b).

QUADRO I – A dose de eCG que garante a ovulação varia em função do estado reprodutivo das fêmeas (idade e ciclicidade) (Driancourt, 2012)

	Estado Reprodutivo	Dose de eCG (Folligon®)
Ovelhas	Cíclica	300-500 UI
	Anestro	400-600 UI
Malatas	Cíclica	250-400 UI
	Anestro	300-500 UI

A via de administração da eCG - subcutânea ou intramuscular - não altera significativamente a percentagem de ovelhas que manifestam cio (Ustuner *et al.*, 2007). Contudo, a administração subcutânea resulta em taxas de fertilidade aparente e de prolificidade mais elevadas (Ustuner *et al.*, 2007).

De acordo com vários autores, o uso frequente de eCG pode determinar a instalação de um estado refractário a esta hormona, provavelmente devido à formação de anticorpos específicos (Maurel *et al.*, 2003, Valentim *et al.*, 2006b). Pode inclusivamente conduzir a uma diminuição de fertilidade aparente, ditada pelo atraso do cio e pela inibição da actividade ovárica (Maurel *et al.*, 2003). Porém, outros autores garantem que a aplicação de vários tratamentos consecutivos de eCG não origina o aparecimento de qualquer estado refractário ou da formação de anticorpos específicos (Valentim *et al.*, 2006b).

3.1.2.6 - GONADOTROPINA CORIÓNICA HUMANA

A hCG é uma hormona com acção FSH e LH, com predomínio da última. Possui uma semivida longa – próxima de 4 dias. A sua capacidade de estimular o crescimento folicular é limitada, mas induz a maturação e a ovulação de vários folículos, incluindo os de pequenas dimensões (pouco férteis) (Valentim *et al.*, 2006b). Comparativamente à eCG, ainda que a hCG possa determinar taxas de fertilidade aparente mais baixas, frequentemente resulta em taxas de prolificidade mais altas (Valentim *et al.*, 2006b). Efectivamente, os efeitos luteotrópicos da LH parecem diminuir as perdas embrionárias (Valentim *et al.*, 2006b). Neste sentido, vários autores sugerem o uso combinado de eCG/hCG, com o objectivo de melhor aproveitar os efeitos FSH, da eCG (melhores taxas ovulatórias), e LH, da hCG (melhores taxas de sobrevivência embrionária). Nos ovinos, a fim de garantir a ovulação, utilizam-se doses de hCG próximas das 500 UI (Valentim *et al.*, 2006b).

III – PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

1 – MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi realizado na cidade de Bragança (Latitude: 41° 48'N, Longitude: 6° 44'W e Altitude: 691 m), mais precisamente na Quinta de Sta. Apolónia, do Instituto Politécnico de Bragança - Escola Superior Agrária, entre 22 de Fevereiro e 15 Julho de 2010.

As ovelhas foram alimentadas em pastoreio de prados naturais e suplementadas, em grupo, com feno de prados naturais (*ad libitum*) e com 300-350 g/dia/animal de alimento concentrado comercial.

1.1 – ANIMAIS

Neste trabalho foram utilizados 94 ovelhas e 5 carneiros da raça autóctone Churra Galega Bragançana. As ovelhas tinham 3-9 anos de idade e os carneiros 3-5 anos.

1.2 – PESAGEM E DETERMINAÇÃO DA CONDIÇÃO CORPORAL

No início deste estudo, todas as ovelhas foram pesadas e a sua condição corporal foi determinada. A pesagem foi efectuada recorrendo a uma balança com jaula e a condição corporal foi estabelecida com base na tabela de classificação australiana (Russel, 1969).

1.3 – AVALIAÇÃO DA CICLICIDADE INICIAL

Para avaliar a ciclicidade inicial das ovelhas foram feitas recolhas de sangue e posterior determinação dos níveis plasmáticos de progesterona (P_4). Estas recolhas realizaram-se de manhã, durante duas semanas (22 de Fevereiro a 8 de Março), com intervalos de 3-4 dias.

O sangue foi recolhido por punção da veia jugular, para tubos de recolha de sangue heparinizados e vacuonizados. Após a sua recolha, as amostras foram centrifugadas, durante 15 minutos, a 3.000 rpm, para separação do plasma sanguíneo. O sobrenadante, depois de pipetado para tubos de Eppendorf, devidamente identificados, foram congelados numa arca ultracongeladora (-70°C). Posteriormente foram

determinados os níveis plasmáticos de P₄ através da técnica de RIA (radioimunoensaio). Os coeficientes médios de variação intra e inter-ensaio foram, respectivamente, de 8,7 e 15,8%.

Considerou-se que as ovelhas estavam em anestro sazonal quando, na totalidade das amostras recolhidas, os níveis plasmáticos de P₄ permaneceram inferiores a 0,5 ng/ml.

1.4 – TRATAMENTOS APLICADOS

O grupo inicial de ovelhas (n=94) foi dividido em dois grupos: Melatonina (n=25) e Controlo (n=69). No dia 9 de Março, a todas as fêmeas do primeiro grupo foram colocados implantes de melatonina (18 mg) (Grupo Melatonina).

Quarenta e cinco dias mais tarde, todas as ovelhas (ambos os grupos) foram tratadas com esponjas vaginais impregnadas com 20 mg de FGA (acetato de fluorogestrona). Este tratamento teve a duração de doze dias.

No dia 5 de Maio, o Grupo Controlo (n=69) foi subdividido em dois grupos: Dia -1 (n=32) e Dia 0 (n=37). Nesse dia, véspera do dia de remoção das esponjas vaginais, às ovelhas do grupo Dia -1 foram administradas 500 UI de eCG. As ovelhas do grupo Dia 0 receberam o mesmo tratamento quando da remoção das esponjas vaginais. Nas ovelhas do grupo Melatonina, a administração de eCG foi feita igualmente quando da remoção das esponjas vaginais.

1.5 – AVALIAÇÃO DA CICLICIDADE PRÉ-TRATAMENTO PROGESTAGÉNICO

A avaliação da ciclicidade pré-tratamento progestagénico foi feita nas duas semanas anteriores à colocação das esponjas vaginais. A metodologia utilizada foi a mesma indicada no ponto 1.3.

1.6 – AVALIAÇÃO DA CICLICIDADE PÓS-TRATAMENTOS

Terminado o tratamento progestagénico, a actividade ovárica foi avaliada através da recolha diária de amostras de sangue, com início 24 horas após a remoção das esponjas vaginais e durante cinco dias, e posterior doseamento dos níveis plasmáticos de P₄ (metodologia indicada no ponto 1.3).

1.7 – DETECÇÃO DE CIOS

A detecção de cios foi feita, durante uma semana, por 5 carneiros adultos munidos de arnês marcador. Estes foram introduzidos no rebanho imediatamente após a remoção das esponjas vaginais. A identificação e o registo dos cios foram feitos, diariamente, ao início da manhã e ao fim da tarde (2 vezes/dia).

1.8 – DIAGNÓSTICO DE GESTAÇÃO

Quarenta e um dias depois da remoção das esponjas vaginais, todas as ovelhas foram sujeitas a diagnóstico de gestação por ultrasonografia em tempo real, com o auxílio de um ecógrafo ALOKA SSD-500 e de uma sonda rectal de 5 MHz.

1.9 – ANÁLISE ESTATÍSTICA

No sentido de identificar diferenças estatisticamente significativas entre alguns parâmetros, efectuaram-se análises de variância (Steel e Torrie, 1980). A comparação entre médias realizou-se segundo o teste de Bonferroni/Dunn (Dunn, 1961). Com o intuito de se compararem frequências, utilizou-se o teste do Qui-quadrado (χ^2) (Snedecor e Cochran, 1980).

2 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.1 – IDADE, PESO E CONDIÇÃO CORPORAL

No início deste trabalho, as ovelhas tinham $4,4 \pm 1,4$ anos (c.v. = 32,1%) de idade, pesavam $50,9 \pm 5,7$ kg (c.v. = 11,1%) e apresentavam uma condição corporal de $3,2 \pm 0,6$ (c.v. = 17,5%). Nem a idade, nem o peso, nem a condição corporal afectaram significativamente os diferentes parâmetros reprodutivos avaliados ($P > 0,05$).

QUADRO II – Valores máximos e mínimos da idade, do peso e da condição corporal (CC) das ovelhas estudadas

	Idade (anos)	Peso (kg)	CC
Mínimo	3	39,0	2,0
Máximo	9	62,0	4,5

2.2 – ACTIVIDADE OVÁRICA

Nas 2 semanas anteriores à colocação dos implantes subcutâneos de melatonina, 74,5% (n = 70) das ovelhas apresentaram níveis plasmáticos de P₄ superiores a 0,5 ng/ml. As demais 25,5% (n = 24) estavam em anestro sazonal ($\chi^2 = 46,080$; $P \leq 0,001$). De acordo com Correia (1996), em finais de Fevereiro - inícios de Março, cerca de 66% ovelhas Churras Bragançanas estão em anestro sazonal ($\chi^2 = 432,206$; $P \leq 0,001$). Nesta altura do ano, Fernandes (2008) verificou que 89,7% das ovelhas Churras Galega Bragançanas estavam em anestro ($\chi^2 = 93,831$; $P \leq 0,001$). Neste sentido, o facto da maioria das ovelhas apresentarem níveis plasmáticos de P₄ superiores a 0,5 ng/ml revelou-se algo surpreendente. Aparentemente, estas ovelhas continuavam a apresentar actividade ovárica completa.

Nas 2 semanas que precederam o tratamento com FGA + eCG, 62,8% (n = 59) das ovelhas estudadas apresentaram níveis plasmáticos de P₄ superiores a 0,5 ng/ml. No grupo Controlo, esta percentagem foi de 56,5% (n = 39) e no grupo Melatonina de 80,0% (n = 20) ($\chi^2 = 13,235$; $P \leq 0,001$) (Quadro II). A percentagem de ovelhas do grupo Controlo que exibiram níveis plasmáticos de P₄ superiores a 0,5 ng/ml foi igual ao registado por Correia (1996) - 46% ($\chi^2 = 1,621$; $P > 0,05$). Neste sentido, em meados de Abril, a percentagem de ovelhas em anestro sazonal era superior à existente em Fevereiro-Março, ainda que mais de 50,0% das ovelhas Controlo tenham apresentado níveis plasmáticos de P₄ superiores a 0,5 ng/ml. Nesta altura, o tratamento com melatonina exógena foi bastante eficaz na indução de níveis plasmáticos de P₄ superiores a 0,5 ng/ml.

QUADRO III – Percentagem de ovelhas que apresentaram níveis plasmáticos de P₄ superiores a 0,5 ng/ml, antes e depois do tratamento FGA + eCG

Tratamento	Pré-FGA	Pós-FGA
Controlo	56,5% ^a	100,0% ^a
Melatonina	80,0% ^b	97,3% ^a

a = a, para $P > 0,05$ (mesma coluna)

a ≠ b, para $P \leq 0,05$ (mesma coluna).

Cerca de 96,8% (n = 91) das ovelhas estudadas apresentaram níveis plasmáticos de P₄ superiores a 0,5 ng/ml, nos primeiros 5 dias pós-remoção das esponjas vaginais, ou seja, produziram, pelo menos, um corpo lúteo (CL) em resposta aos tratamentos aplicados. A administração de melatonina não influenciou significativamente esta percentagem – Melatonina: 100,0% (n = 25) vs. Controlo: 97,3% (n = 36) ($\chi^2 = 3,046$; P > 0,05). Apesar da melatonina afectar positivamente a percentagem de ovelhas que apresentam níveis plasmáticos de P₄ superiores a 0,5 ng/ml, antes do tratamento FGA + eCG, este efeito não determinou um aumento significativo da percentagem de ovelhas que responderam ao tratamento progestagénico. Pelo contrário, este resultado sugere que, isoladamente, o tratamento FGA + eCG foi bastante eficaz no controlo da actividade ovárica. Do ponto de vista económico, a utilização de implantes de melatonina é claramente inadequada.

O momento da administração de eCG não alterou significativamente a percentagem de ovelhas que produziram, pelo menos, um CL – Dia -1: 100,0% (n = 32) vs. Dia 0: 97,3% (n = 36) ($\chi^2 = 3,046$; P > 0,05). No que diz respeito à actividade ovárica, a antecipação, em 24 horas, da administração de eCG, não se revelou vantajosa. Tendo em conta que ela implica uma maior manipulação dos animais e, consequentemente, custos de mão-de-obra mais elevados, a sua aplicação parece não ter sido particularmente adequada.

2.3 – MANIFESTAÇÕES DE CIO

Terminado o tratamento progestagénico este mostrou que 76,6% (n = 72) de todas as ovelhas apresentaram comportamento sexual. A administração de melatonina exógena não afectou significativamente a percentagem de ovelhas que manifestaram cio – Melatonina: 76,0% (n = 19) vs. Controlo (grupo Dia 0): 83,8% (n = 31) ($\chi^2 = 2,000$; P > 0,05) (Quadro III). Resultados semelhantes foram encontrados por Eldon (1993), com ovelhas da raça Islandesa. Pelo contrário, nos trabalhos desenvolvidos por Zúñiga *et al.* (2002) e Fernandes (2008), respectivamente, com ovelhas das raças Raza Aragonesa e Churra Galega Bragançana, a administração de melatonina resultou num aumento da percentagem de ovelhas que manifestaram cio.

QUADRO IV – Percentagem de ovelhas que apresentaram cio e que tiveram um diagnóstico de gestação positivo

	Melatonina		Momento da injeção de eCG	
	Sim	Não	Dia -1	Dia 0
Cio	76,0% ^a	83,8% ^a	71,9% ^a	83,8% ^b
Diagnóstico gestação	48,0% ^a	45,9% ^a	31,3% ^a	45,9% ^b

a = a, para $P > 0,05$ (entre colunas, mesmo tratamento)

a ≠ b, para $P \leq 0,05$ (entre colunas, mesmo tratamento).

O momento da administração de eCG (grupo Controlo) influenciou significativamente a percentagem de ovelhas que apresentaram sinais detectáveis de cio – Dia -1: 71,9% (n = 23) vs. Dia 0: 83,8% (n = 31) ($\chi^2 = 4,196$; $P \leq 0,05$). De acordo com os resultados obtidos, a injeção de eCG 24 horas antes da remoção das esponjas vaginais causou uma redução significativa do número de ovelhas que manifestaram cio. Precisamente o contrário foi observado por Juan *et al.* (2011), com ovelhas das raças Blackbelly e Pelibuey (-24 horas: 96,8% vs. momento da remoção das esponjas vaginais: 78,1%). No estudo realizado por Zeleke *et al.* (2005), com ovelhas da raça Dorper, o momento da administração de eCG (-24 horas vs. momento da remoção das esponjas vaginais) não condicionou a percentagem de ovelhas que apresentaram cio. O mesmo foi registado por Ustuner *et al.* (2007), com ovelhas da raça Awassi, e por Koyuncu e Ozis (2010), com ovelhas da raça Kivircik.

No conjunto das ovelhas estudadas, o começo do cio foi registado $43,0 \pm 17,5$ horas depois da remoção das esponjas vaginais. A administração de melatonina exógena não modificou significativamente a duração do intervalo fim dos tratamentos - detecção das primeiras manifestações de cio – Melatonina: $42,9 \pm 18,9$ horas vs. Controlo: $49,0 \pm 14,0$ horas ($P > 0,05$). Resultados semelhantes foram encontrados por Eldon (1993) e Loureiro (2003).

O momento da administração de eCG (grupo Controlo) afectou significativamente a duração do intervalo fim dos tratamentos - detecção das primeiras manifestações de cio – Dia -1: $34,4 \pm 17,5$ horas vs. Dia 0: $49,0 \pm 14,0$ horas ($P \leq 0,001$). Resultado idêntico foi encontrado por Usterner *et al.* (2007). Nos estudos levados a cabo por Zeleke *et al.* (2005) e Juan *et al.* (2011), o momento da administração de eCG não influenciou a duração deste intervalo.

2.4 – DIAGNÓSTICO DE GESTAÇÃO

De acordo com o diagnóstico de gestação, realizado 41 dias após a remoção das esponjas vaginais, apenas 41,5% (n = 39) de todas as ovelhas ficaram gestantes. Este resultado foi claramente inferior ao descrito por Fernandes (2008) - 70,4% ($\chi^2 = 15,909$; $P \leq 0,001$). Na verdade, revelou-se muito reduzido. Todos os dados anteriormente apresentados indiciam que, neste ano, o anestro sazonal foi pouco marcado. Esperava-se, pois, que a resposta ao tratamento progestagénico fosse particularmente favorável. Não foi possível identificar a causa desta discrepância.

No presente trabalho, a administração de melatonina não condicionou significativamente a percentagem de ovelhas gestantes - Melatonina: 48,0% (n = 12) vs. Controlo: 45,9% (n = 17) ($\chi^2 = 0,080$; $P > 0,05$) (Quadro III). Pelo contrário, Fernandes (2008) refere que a melatonina promove um aumento significativo da percentagem de ovelhas gestantes (Melatonina: 80,1% vs. Controlo: 60,6%; $\chi^2 = 8,679$; $P \leq 0,01$). Zúñiga *et al.* (2002) reportam igualmente um efeito positivo da melatonina sobre a percentagem de ovelhas que ficam gestantes (Raza Aragonesa).

O momento da administração de eCG afectou significativamente a percentagem de ovelhas gestantes – Dia -1: 31,3% (n = 10) vs. Dia 0: 45,9% (n = 17) ($\chi^2 = 4,751$; $P \leq 0,05$). A sua antecipação baixou a percentagem de ovelhas gestantes. Reduziu a percentagem de ovelhas que manifestaram cio e antecipou a sua ocorrência, embora não tenha alterado significativamente a percentagem de fêmeas que apresentaram níveis plasmáticos de P_4 superiores a 0,5 ng/ml. Nos trabalhos realizados por Zeleke *et al.* (2005), Ustuner *et al.* (2007) e Juan *et al.* (2011) o momento da administração de eCG não influenciou significativamente a taxa de gestação.

2.5 – TAXAS DE FERTILIDADE APARENTE, PROLIFICIDADE E FECUNDIDADE

Tendo em conta o conjunto das ovelhas estudadas, a taxa de fertilidade aparente foi de 41,5%, a de prolificidade de 1,9 e a de fecundidade de 78,7%. A administração de melatonina não melhorou a taxa de fertilidade aparente ($\chi^2 = 1,648$; $P > 0,05$), mas melhorou a taxa de fecundidade ($\chi^2 = 8,000$; $P \leq 0,01$) (Quadro IV). A melatonina não

elevou a prolificidade (1,8 vs. 1,9; $P>0,05$). Por seu turno, a antecipação da administração de eCG piorou a taxa de fertilidade aparente ($\chi^2 = 5,380$; $P\leq 0,05$), mas não influenciou a taxa de fecundidade ($\chi^2 = 2,823$; $P>0,05$). Também não condicionou a prolificidade (2,3 vs. 1,8; $P>0,05$).

QUADRO V – Taxas de fertilidade aparente, de prolificidade e de fecundidade das ovelhas estudadas segundo os tratamentos aplicados

Grupo	Tratamento 1		Tratamento 2	
	Controlo	Melatonina	-24 horas	Remoção Esponjas
Fertilidade	39,1% ^a	48,0% ^a	31,3% ^a	46,8%^c
Prolificidade	1,9 ^a	1,8 ^a	2,3 ^a	1,8^a
Fecundidade	72,5%^a	88,0%^b	71,9%^a	82,3%^a

a=a, para $P>0,05$ (entre colunas, mesmo tratamento)

a≠b, para $P\leq 0,01$ (entre colunas, mesmo tratamento)

a≠c, para $P\leq 0,05$ (entre colunas, mesmo tratamento).

As taxas reprodutivas mostram que a resposta aos tratamentos aplicados foram muito baixas, fundamentalmente, devido à reduzida taxa de fertilidade aparente.

3 – CONCLUSÕES

Tendo em conta as condições em que este trabalho foi desenvolvido, a metodologia empregue e os resultados conseguidos, conclui-se que:

- Nos finais do Inverno, apenas 25,5% das ovelhas Churras Bragançanas estudadas estavam em anestro sazonal.
- Em Abril, a melatonina exógena reduziu a percentagem de ovelhas em anestro sazonal.
- O tratamento com melatonina determinou, relativamente ao tratamento clássico com progestagénios, um aumento da percentagem de ovelhas que apresentaram níveis plasmáticos de P_4 superiores a 0,5 ng/ml, mas não das que manifestaram cio.
- O momento da administração de eCG não alterou significativamente a percentagem de ovelhas que produziram níveis plasmáticos de P_4 superiores a 0,5 ng/ml, mas reduziu a das que manifestaram cio.
- Neste trabalho, independentemente do tratamento aplicado, a taxa de fertilidade aparente foi sempre baixa.

III – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

ALMEIDA, A. K. C., 2007. Associação do GnRH com protocolos de sincronização do estro de curta e longa duração em ovelhas inseminadas em tempo fixo. Universidade Federal da Bahia, Salvador- Bahia, 59 pp.. (*Master thesis*)

AZEVEDO, J.M., CORREIA, T.M., VALENTIM, R.C., SANTOS, A., FONTES, P., 1997. Acção do “efeito macho” sobre a actividade reprodutiva de ovelhas Churras Bragançanas e Suffolk submetidas a um regime luminoso de 16L:8E. *In: VII Congresso de Zootecnia. Bragança*, p. 61.

AZEVEDO, J.M., CORREIA, T.M., ALMEIDA, J.C., VALENTIM, R.C., FONTES, P., COELHO, A., 2002. Anestro fisiológico pós-parto em ovelhas Churras da Terra Quente paridas no Inverno: efeito ano. Estudo preliminar. *In: XII Congresso de Zootecnia. Vila Real*, p. 442-444.

AZEVEDO, J.M., CORREIA, T.M., ALMEIDA, J.C., VALENTIM, R.C., FONTES, P., GALVÃO, L., MENDONÇA, Á., COELHO, A., 2003. Inducción y sincronización de la actividad ovárica en corderas de la raza portuguesa “Churra da Terra Quente”. *In: XXVIII Jornadas Científicas Y VII Internacionales de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia*, p. 12.

AZEVEDO, J.M., VALENTIM, R.C., CORREIA, T.M., 2006. Control hormonal de la actividad ovárica en ovinos. *Albéitar*, **98**, p. 2-4

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

BARTLEWSKI, P.M., BEARD, A.P., COOK, S.J., CHANDOLIA, R.K., HONARAMOOZ, A., RAWLINGS, N.C., 1999. Ovarian antral follicular dynamics and relationships with endocrine variables throughout the oestrus cycles in breeds of sheep differing in prolificacy. *Journal Reproduction Fertility*, **115**, 111-124.

BEARDEN, H.J. e FUQUAY, J., 1984. Applied Animal Reproduction. 2nd Edition. Reston Publish. Virginia, USA.

BETTENCOURT, C.M.V., 1988. Effects of season of year and ram exposure on estrus and ovarian activity in four breeds of sheep in Portugal. Utah State University, Logan, Utah, USA. (*Master Thesis*)

BETTENCOURT, C.M.V., 1995. Sazonalidade reprodutiva e efeito macho em ovelhas Merinas. A Terra e o Futuro. *Revista de Informação da D.R.A.A.* Ano 1, 1.

BETTENCOURT, E.M.V., 1999. Caracterização de parâmetros reprodutivos nas raças ovinas Merina Branca, Merina Preta e Campaniça. Universidade Técnica de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa, Portugal, 106 pp.. (*Master Thesis*)

BICUDO, S.D. e SOUZA, D.B., 2003. Associação de progestágenos, prostaglandina e eCG em protocolos de curta duração para indução/sincronização do estro em ovelhas Suffolk. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, **27** (3), 473-474.

CHABBERT-BUFFET, N., SKINNER, D.C., CARATY, A., BOUCHARD, P., 2000. Neuroendocrine effects of progesterone. *Steroids*, **65**, 623-620

CHEMINAU, P., MALPAUX, B., DELGADILLO, J.A., GUERIN, Y., RAVAUULT, J.P., THIMONIER, J. PELLETIER, J., 1992. Control of sheep and goat reproduction: use of light and melatonin. *Anim Reprod Sci*, **30**, 157-184.

CHEMINEAU, P., MALPAUX, B., PELLETIER, J., LÉBOUF, B., DELGADILLO, J.A., DELETANG, F., POBEL, T., BRICE, G., 1996. Emploi des implants de mélatonine et des traitements photopériodiques pour maîtriser la reproduction saisonnière chez les ovins et les caprins. *INRA Prod Anim*, **9** (1), 45-60.

CLARK, I.J., THOMAS, G.B., YAO, B., CUMMINS, J.T., 1987. GnRH secretion throughout the ovine estrous cycle. *Neuroendocrinol*, **46**, 82-88.

COHEN-TANNOUDJI, J., LOCATELLI, A., SIGNORET, J.P., 1986. Non-pheromonal stimulation by the male of LH release in the anoestrous ewe. *Physiol Behav*, **36**, 921-4.

CORREIA, T., VALENTIM, R.C., AZEVEDO, J., TEIXEIRA, A., RODRIGUES, A., 1995. Acção do “efeito macho” sobre as ovelhas da raça Churra Galega Bragançana durante a fase final da época reprodutiva. *Revista Veterinária Técnica*. ISSN 0872-119X, **5** (5), p. 14-18.

CORREIA, T.M., VALENTIM, R.C., AZEVEDO, J., TEIXEIRA, A., 1999. Acção do “efeito macho” e do “efeito fêmea” sobre ovelhas da raça Churra Galega Bragançana durante o período de anestro sazonal. *Revista de Ciências Agrárias*, **22** (1), 3-12.

- CORREIA, T.M., VALENTIM, R.C., TEIXEIRA, A., AZEVEDO, J., JORGE, J., 1998. Acção de diferentes tratamentos com o “efeito macho” sobre o reinício da actividade ovárica sazonal de ovelhas Churras Bragançanas. *Revista Veterinária Técnica*, **3**, 12-16.
- CORREIA, T.M.M.A.A., 1996. Contributo para o estudo da sazonalidade reprodutiva das ovelhas da raça autóctone portuguesa Churra Galega Bragançana. Centro Internacional de Altos Estudos Agronómicos Mediterrânicos - Instituto Agronómico Mediterrânico de Zaragoza, Saragoça, Espanha, 84 pp.. (*Master Thesis*)
- CORREIA, T.M., AZEVEDO, J., VALENTIM, R., SIMÕES, J., GALVÃO, L., FONTES, P., MENDONÇA, Á., VELASCO, H., MAURÍCIO, R., CARDOSO, M., MEDEIROS, S., 2007. Administración de diferentes dosis de eCG en la sincronización del celo en cabras de raza Serrana al principio de la estación reproductiva. In: XXXII Jornadas Científicas y XI Jornadas Internacionales de Ovinotecnia y Caprinotecnia, Mallorca, p. 321-323.
- DUNN, O.J., 1961. Multiple comparisons among means. *Journal of the American Statistical Association*, **56**, 52-64.
- DIAS, F.E.F., LOPES JÚNIOR, E.S., VILLAROEL, A.B.S., RONDINA, D., LIMA-VERDE, J.B., PAULA, N.R.O., FREITAS, V. J. F., 2001. Sincronização do estro, indução da ovulação e fertilidade de ovelhas deslanadas após tratamento hormonal com gonadotrofina coriônica equina. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, **53**, (5), 618-623.
- DIXON, A.B., KNIGHTS, M., PATE, J.L., LEWIS, P.E., INSKEEP, E.K., 2006. Reproductive performance of ewes after 5-days treatment with intravaginal inserts containing progesterone in combination with injection of Prostaglandin F2 α . *Reproduction in Domestic Animals*, **41**, 142-148.
- DRIANCOURT, M.A., 2012. Chronogest CR and Folligon. http://www.merck-animal-health.com/binaries/Chronogest_and_Folligon-tcm50-262063.ppt
- DUROTOYE, L.A., RAJKUMAR R., ARGO C.M., NOWAK R., WEBLEY G.E., MCNEIL M.E., GRAHAM N.B., RODWAY R.G., 1991. Effect of constant-release melatonin implants on the onset of oestrous activity and on reproductive performance in the ewe. *Animal Production*, **52** (3), 489-497.
- ELDON, J., 1993. Effect of exogenous melatonin and exposure to a ram on the time of onset and duration of the breeding season in Icelandic sheep. *Journal of Reproduction and Fertility*, **99**, 1-6.

- EVANS, G. e MAXWELL, W.M.C., 1986. Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goats. Butterworths, Sydney, 194.
- EVANS, G. e ROBINSON, T.J., 1980. The control of fertility in sheep: endocrine and ovarian responses to progestagen-PMSG treatment in the breeding season and in anoestrus. *Journal of Agricultural Science*, **94**, 69-88.
- FERNANDES, S.M., 2008. Antecipação da estação reprodutiva em ovelhas da raça Churra Galega Bragançana. Dissertação (Mestrado) – Instituto Politécnico de Bragança, Bragança. 29p.
- FLINT, A.P.F. e SHELDRIK, E.L., 1983. Evidence of systemic role for ovarian oxytocin in luteal regression in sheep. *Journal of Reproduction and Fertility* **67**, 215-225.
- FONSECA, J.F., 2005 Estratégias para o controle do ciclo estral e superovulação em ovinos e caprinos. Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, Goiânia-GO, Anais... Palestras. **16**.
- FORCADA, F., ABECIA, J.A., ZUÑIGA, O., 2001. Efecto de la melatonina sobre la secreción de progesterona in vivo y el desarrollo embrionario in vitro. *Producción Ovina e Caprina*, **XXVI**, 1010-1015 pp..
- FOSTER, D.L., LEMOS, J.A., JAFFE, R.B., NISWENDER, G.D., 1975. Sequential patterns of circulating luteinizing hormone and follicle stimulating hormone in female sheep from early postnatal eife through the first estrous cycles. *Endocrinol*, **97**, 985-989.
- GODFREY, R.W., GRAY, M.L., COLLINS, J.R., 1997. A comparison of two methods of oestrus synchronization of hair sheep in the tropics. *Animal Reproduction Science*, **47**, 99-106.
- GORDON, I., 1997. Controlled Reproduction in Sheep and Goats. CAB International, New York, 450 pp..
- GREYLING, J.P.C., KOTZE, W.F., TAYLOR, G.F., HAGENDIJK, W.J., CLOETE, F., 1994. Synchronization of oestrous in sheep: use of different doses of progestagen outside the normal breeding season. *South. African J. Anima. Sci*, **24**, 33-37
- HAFEZ, E.S.E., 1987. Reproduction in farm animals. Fifth Edition. (Eds.) Philadelphia, Lea & Febiger.
- HAFEZ, B. e HAFEZ, E.S.E., 2004. Reprodução Animal. 7ª Edição, Barueri: Manole, São Paulo, Brasil, 514 pp..

HALL, D.G., FOGARTY, N.M., GILMOUR, A.R., 1986. Seasonality of Ovulation and Estrus, and the Ram Effect in Poll Dorset Ewes. *Theriogenology*, **25** (5), 455-461.

HARESIGN, W., 1992a. Responses of ewes to melatonin implants: importance of the interval between treatment and ram introduction on the synchrony of mating, and effects on ovulation rate. *Animal Production*, **54**, (1), 41-45.

HAUGHER, R.L., KARSCH, F.D., FOSTER, D.L., 1977. A new concept for control of the estrous cycle of the ewe based on the temporal relationship between luteinizing hormone, estradiol and progesterone in peripheral serum and evidence that progesterone in peripheral serum and evidence that progesterone inhibits tonic LH secretion. *Endocrinol.*, **101**, 807-817.

HORTA, A.E.M. e GONÇALVES, S.C., 2006. Bioestimulação pelo efeito macho na indução e sincronização da actividade ovárica em pequenos ruminantes. *In: Anais do XVI Congresso de Zootecnia "Saber produzir, saber transformar"*. Esc. Sup. Agrária de Castelo Branco.

IWAMURA, J., 2008. Avaliação dos protocolos de sincronização de estro em ovelhas, com diferentes tempos de exposição aos progestágenos e distintas doses de eCG. Universidade Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo, 58pp.. (*Master Thesis*)

JAINUDEEN, M.R., WAHID, H., HAFEZ, E.S.E., 2000. Ovulation induction, embryo production and transfer. In: Hafz, B., Hafez, E.S.E. (Eds.), *Reproduction in Farm Animals*, 7a ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 405–409pp..

JUAN, A.Q.E., MACÍAS-CRUZ, U., ÁLVAREZ-VALENZUELA, F.D., CORREA-CALDERÓN, A., AVENDAÑO-REYES, L., GONZÁLEZ-REYNA, A., LUCERO-MAGAÑA, F.A., SOTO-NAVARRO, S.A., 2011. The effects of time and dose of pregnant mare serum gonadotropin (PMSG) on reproductive efficiency in hair sheep ewes. *Trop. Anim. Health. Prod.* **43**, 1567-1573.

KARSCH, F.J., BITTMAN, E.L., FOSTER, D.L., GOODMAN, R.L., LEGAN, S.J., ROBINSON, J.E., 1984. Neuroendocrine basis of seasonal reproduction. *Rec. Prog. Horm. Res.*, **40**, 185-225.

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

KARSCH, F.J., BOWEN, J.M., CARATY, A., EVANS, N.P., 1997. Gonadotrophin-releasing hormone requirements for ovulation. *Biol. Reprod.*, **56**, 303-309.

KOLB, E., GURTNER, H., KETZ, H.A., SCHRODER, L., SEIDEL, H., 1987. A fisiologia da reprodução. In: Fisiologia Veterinária, KOLB, E. Editora Guanabara. 374-412pp..

KOYUNCU M. e S. OZIS ALTICEKIC., 2010. Effects of progestagen and PMSG on estrous synchronization and fertility in Kivircik ewes during natural breeding season. *Asian Aust. J. Anim. Sci.* **23**, 308-311.

KUSINA, N.T., TARWIREI, F., HAMUDIKUWANDA, H., AGUMBA, G., MUKWENA, J.A., 2000. Comparison of the effects of progesterone sponges and ear implants, PGF₂alpha, and their combination on efficacy of estrus synchronization and fertility of Mashona goat does. *Theriogenology*, **53**, 1567–1580.

LOUREIRO, M. F. P., 2003. Indução do estro por implante de melatonina em ovinos da raça Suffolk. – Universidade São Paulo, São Paulo. 68pp. Dissertação (Pós-Graduação).

MALPAUX, B., VIGUIÉ, C., SKINNER, D.C., THIÉRY, J.C., PELLETIER, J., CHEMINEAU, P., 1996a. Seasonal breeding in sheep: mechanism of action of melatonin. *Anim Reprod Sci*, **42**, 109-117.

MARTIN, G.B., FORD, J.R., PURVIS, I.W., 1990. Environmental and genetic factors affecting reproductive activity in the Merino ram. In: Reproductive physiology of Merino sheep – concepts and consequences OLDHAM, C.M., MARTIN, G.B., PURVIS, I.W. (Eds), University of Western Australia, Nedlands, Austrália, 109-129.

MARTIN, G.B., HÖTZEL, M.J., BLACHE, D., WALKDEN-BROWN, S.W., BLACKBERRY, M.A., BOUKHLIQ, R., FISCHER, J.S., MILLER, D.W., 2002. Determinants of the annual pattern of reproduction in mature male Merino and Suffolk sheep: modification of responses to photoperiod by an annual cycle in food supply. *Reprod Fertil Dev*, **14**, 165-175.

MARTIN, G.B., OLDHAM, C.M., COGNIE, Y., PEARCE, D.T., 1986. The physiological response of anovulatory ewes to the introduction of ram – a review. *Livestock Prod Sci*, **15**, 219–47.

MATOS, C.A.P., BETTENCOURT, C.M.V., SIMÕES, J.P.C., FIALHO, J.B.R., 1997. Efficiency of AI on fertility and prolificacy in a Portuguese Merino flock. 48th Annual Meeting of the European Association for Animal Production, Sheep and Goat Production-Session, Vienna, Austria. 25-28pp.

MAULEON, P., DAUZIER, L., 1965. Variations de la durée de l'anoestrus de lactation chez les brebis de race Ile-de- France. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, **5**, 131–143.

- MAUREL, M.C., ROY, F., HERVÉ, V, BERTIN, J., VAIMAN, D., CRIBUU, E., MANFREDI, E., BOUVIER, F., LANTIER, I., BOUE, P., GUILLOU, F., 2003. Immune response to equine chorionic gonadotrophin used for the induction of ovulation in goats and ewes . *Gynecol. Obstet. Fertil.*, **31** (9), 766-769.
- MCCLINTOCK, M., 1971. Menstrual synchrony and supression. *Nature*, **229**, 244-245.
- McCRACKEN, J.A., CARLSON, J.C., GLEW, M.E., GODING, J.R., BAIRD, D.T., GREEN, K., SAMUELSSON, B., 1972. Prostaglandin F2 α identified as a luteolytic hormone in sheep. *Nat. New Biol.* **238**, 129–134.
- MORAES, J.C.F., SOUZA, C.J.H., GONÇALVES, P.B.D., 2003. Controle do estro e da ovulação em bovinos e ovinos. Cap. **3**. In: GONÇALVES, P.B.D., FIGUEIREDO, J.R., FREITAS, V.J.F. Biotécnicas aplicadas à Reprodução Animal. Ed. Varela, São Paulo, 340 pp..
- MURPHY, B.D. e MARTINUK, S.D., 1991. Equine chorionic gonadotrophin. *Endocrine Reviews*, **12**, 27-44.
- NEARY, M., 2001. Reproductive management of the ewe flock and the ram. Disponível em: <http://ag.ansc.purdue.edu/sheep/articles/repromgt.html>.
- NETO, B.M.C., 2009. Sincronização da ovulação utilizando hormônio folículo estimulante em substituição a gonadotrofina coriônica em ovelhas Santa Inês. Universidade Estadual do Ceará, Ceará, Brasil, 49 pp.. (Dissertação de Pós-graduação)
- NOEL, B., BISTER, J.L. e PIERQUIN, B., 1994. Effects of FGA and PMSG on follicular growth and LH secretion in Suffolk ewes. *Theriogenology*, **41**, 719-727.
- NUGENT III, R.A., NOTTER, D.R. e BEAL, W.E., 1988a. Effects of ewe breed and ram exposure on estrous behaviour in May and June. *J Anim Sci*, **66**, 1363- 1370.
- ODDE, K.G., 1990. A review of synchronization of estrus in post partum in cattle. *Journal of Animal Science*, **68**, 817-830.
- OLDHAM, C.M., MARTIN, G.B., 1978. Stimulation of seasonally anovular Merino ewes by rams: II Premature regression of ram-induced corpora lutea. *Animal Reproduction Science*, **1**, 283-290.
- OLIVEIRA, R.P.M. e OLIVEIRA, F.F., 2008. Manipulação do ciclo estral em ovinos. *Pubvet*, **2** (7), 29.

PADILHA, R.T., 2007. Indução do estro/ovulação e fertilidade em ovelhas deslanadas após tratamento hormonal com diferentes dispositivos intravaginais. Universidade Estadual do Ceará, Ceará, Brasil, 76 pp.. (*Master Thesis*)

PANT, H.C., HOPKINSON, C.R.N., FITZPATRICK, R.J., 1977. Concentrations of estradiol, Progesterone, luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone in the jugular venous plasma of ewes during the oestrus cycle. *J. Endocrinol.* **773**, 247-255.

PEARCE, D.T. e OLDHAM, C.M., 1988. Importance of non-olfactory ram stimuli in mediating ram-induced ovulation in the ewe. *J Reprod Fertil*, **84**, 333-339.

PEARCE, D.T. e OLDHAM, C.M., 1984. The “Ram Effect”, its Mechanism and Application to the Management of Sheep. *In: Reproduction in Sheep*, Camb. Univ. Press. Austrália. 26-34pp..

PELUSO, J.J., 2006. Multiplicity of progesterone’s actions and receptors in the mammalian ovary. *Biol. Reprod.*, **75**, 2-8.

PÉREZ, R.C., FORSBERG, M., RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ, H., 1998. Seasonal variation in live weight, testes size, testosterone, LH secretion, melatonin and thyroxine in Merino and Corriedale rams in a subtropical climate. *Acta Vet Scand*, **39**, 35-47.

RATHBONE, M.J., KINDER, J.E., FIKE, K., KOJIMA, F., CLOPTON, D., OGLE, C.R., BUNT, C.R., 2001. Recent advances in bovine reproductive endocrinology and physiology and their impact on drug delivery system design for the control of the estrous cycle in cattle. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **50**, 277-320.

ROBINSON, T.J., 1970. Fertility following synchronization of oestrus in the sheep with intravaginal sponges. I. Effects of vaginal douche, supplementary steroids, time of insemination, and numbers and dilution of spermatozoa. *Aust. Journal Agricultura Researchh.* **21**, 767-781.

ROSA, H.J.D. e BRYANT, M.J., 2002. The “ram effect” as a way of modifying the reproductive activity in the ewe. *Small Ruminant Research*, **45**, 1-16.

ROSA, H.J.D. e BRYANT, M.J., 2003. Sazonality of reproduction in sheep. *Small Ruminant Research*, **48**, 155-178.

RUBIANES E., 2000. Avances en el conocimiento de la fisiología ovárica de los pequeños rumiantes y su aplicación para el manejo reproductivo. *Actas de Fisiología*, **6**, 93-103.

RUBIANES, E., 2000a. Nociones básicas de fisiologia reproductiva em cabras y ovejas. *In: Controle Farmacológico do Ciclo Estral Em Ruminantes*, São Paulo, 255-282.

RUSSEL, A.J.F., DONEY, J.M., GUNN, R.G., 1969. Subjective assessment of body fat in live sheep. *J. Agric. Sci. Camb.*, **72**, 451-454.

SADLER, R.F.M.S., 1969. The ecology of reproduction in wild and domestic mammals, London, UK.

SÁNCHEZ, A., SERRANO, M.A., DELETANG, F., MARTIN, S., MARTINO, A., 2003. Resultados reproductivos con implantes de melatonina en ovejas cruce Merino/Fleischaff en la Coop ALANSER. Interpretación de curvas de partos. *Producción Ovina e Caprina*, **XXVIII**, 212-214.

SENGER P. L., 2004. Pathways to Pregnancy and Parturition, 2nd edition, Current Conceptions, Inc., Washington, 304-325.

SANTANDER, L., SALINAS, M.S., MARTIN, S., MARTINO, A., 2003. Índices reproductivos obtenidos utilizando el método de sincronización con esponjas vaginales e inducción con implantes de melatonina en raza Rasa Aragonesa. *Producción Ovina e Caprina*, **XXVIII**, 215-217.

SANTOS, I.W., BINSFELD, L.C., SOUZA, J.C., FREITSD, J.A., 2005. Inseminação artificial em tempo fixo com PGF2a (D-cloprostenol) em ovelhas. Anais... Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, Goiânia-GO, Resumos. **16**.

SCHINCKEL, P.G., 1954. The effect of the presence of the ram on the ovarian activity of the ewe. *Aust. J. Agric. Res.*, **5**, 465-469 pp..

SICHERLE, C.C., 2005. Fisiologia da ovulação e controle ovulatório em ovelhas. Universidade Estadual Paulista, São Paulo, Brasil, 21 pp.. (Dissertação de Pós-graduação)

SIGNORET, J.P. e COGNIÉ, Y., 1984. The use of the male effect in the management of sheep reproduction. *In: The reproductive potential of cattle and sheep*. Eds. R. ORTAVANT e H. SCHINDLER, INRA, Versalhes, França, 191-205.

SNEDECOR, G.W., Cochran, W.G., 1980. Statistical methods. 7ª Edição, Iowa State University Press, Ames, IA, EUA, 185 pp..

STAPLES, L.D., MCPHEE, S., KENNAWAY, D.J., WILLIAMS, A.H., 1992. The influence of exogenous melatonin on the seasonal patterns of ovulation and oestrus in sheep. *Animal Reproduction Science*, **30**, 185-223.

STEEL, R.G.D. e TORRIE, J.H., 1980. Principles and procedures of statistics. McGraw-Hill Company. 2ª Edição, Nova Iorque, EUA, xxi-633 pp..

- SWEENEY, T. e O'CALLAGHAN, D., 1996. Breeding season and ovulation rate in ewes treated with long days in spring followed by a melatonin implant and exposure to a ram. *Anim. Sci.*, **62**, 507-512pp..
- STEWART, F., ALLEN, W.R., 1981. Biological functions and receptor binding activities of equine chorionic gonadotrophins. *Journal of Reproduction and Fertility*, **62**, 527-536.
- THIÉRY, J.C., CHEMINEAU, P., HERNANDEZ, X., MIGAUD, M., MALPAUX, B., 2002. Neuroendocrine interactions and seasonality. *Dom. Anim. Endocrinol.*, **23**, 87-100.
- THIMONIER, J., 1981. Practical uses of prostaglandins in sheep and goats. *Acta Vet. Scand.*, Suppl., **77**, 193-208.
- UNGERFELD, R., 2003. Reproductive responses of anestrus ewes to the introduction of the ram. (*Doctoral Thesis*), Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala.
- UNDERWOOD, E.J., SHIER, F.L., DAVENPORT, N., 1944. Studies in sheep husbandry in W.A.V. The breeding season in Merino, crossbred and British breed ewes in the agricultural districts. *J. Agric. (Western Australia) II. Ser.*, **2**, 135-143.
- USTUNER, B., GUNAY, V., NUR, Z., USTUNER, H., 2007. 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*, **76**, 391-397.
- VALENTIM, R.C. CORREIA, T.M., AZEVEDO, J.M., 2006a. Utilização de implantes de melatonina em ovinos. *Albêitar Portuguesa*, **2** (6), 18-22.
- VALENTIM, R.C. CORREIA, T.M., AZEVEDO, J.M., 2006b. Controlo hormonal da actividade ovárica em ovinos. *Albêitar Portuguesa*, **2** (6), 4-8.
- VALENTIM, R.C., 2004. Estudo da sazonalidade sexual em carneiros da Raça Churra Galega Bragançana. Vila Real, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, Portugal, 179 pp.. (*Master Thesis*)
- WILDEUS, S., 1999. Current concepts in synchronization of estrus: Sheep and Goats. Proceedings of the American Society of Animal Science. 1-14 pp..
- WILLIAMS, H.L., 1978. Proc 28th Ann. Meeting EAAP, Brussels.
- WILLIAMS, A.H., MCPHEE, S.R., REEVE, J.L., STAPLES, L.D., 1992. Optimum use of subcutaneous melatonin implants to enhance the reproductive performance of seasonal and non-seasonal sheep joined in spring and early summer. *Animal Reproduction Science*, **30**, 225-258.

ZELEKE, M., GREYLING, J.P.C., SCHWALBACH, L.M.J., MULLER, T., ERASMUS, J.A., 2005. Effect of progestagen and PMSG on oestrous synchronization and fertility in Dorper ewes during the transition period. *Small Rumin. Res.*, **56**, 1-3, p.47-53.

ZÚÑIGA, O., FORCADA, F., ABECIA, J.A., 2002. The effect of melatonin implants on the response to the male effect and on the subsequent cyclicity of Rasa Aragonesa ewes. *Animal Reproduction Science*, **72**, 165-174.