

COMPARAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE PROTOCOLOS UTILIZADOS PARA INDUZIR E SINCRONIZAR ESTRO EM OVELHAS

DE SOUZA, Patrícia Gonçalves¹
AMORIM, Maria Clara Bonrruque²
VEJA-BRITEZ, Gustavo Daniel³
SUNADA, Natália da Silva⁴

RESUMO

As fêmeas ovinas são animais poliéstricos estacionais de dias curtos podendo-se utilizar protocolos de indução e sincronização ao estro para aumentar a eficiência reprodutiva e consequentemente maximizar e otimizar a produtividade animal. Esses protocolos são muito variáveis e fazem o uso de alguns hormônios como a progesterona, prostaglandina e o eCG (gonadotrofina coriônica equina). Objetivou-se com a execução desse trabalho avaliar a utilização de dois protocolos de indução ao estro de ovelhas para aumentar a eficiência reprodutiva e consequentemente potencializar a produção animal por meio da visualização da aceitação à monta. Para tanto, 72 ovelhas de aproximadamente 3 anos de idade da Raça Pantaneira foram submetidas à dois protocolos com tempo de duração fixos de oito dias, ambos utilizando eCG (gonadotrofina coriônica equina) e implante de progesterona, porém um desses com uso de Cipionato de estradiol concomitante a retirada do progestágeno. Estas fêmeas após o procedimento de indução ao estro foram avaliadas no que se refere a aceitação à monta por meio da visualização de marcação com tinta na região posterior do animal uma vez que os reprodutores utilizavam recurso para marcação de coberturas. Os resultados demonstraram que em teste qui-quadrado de independência há uma associação entre a aceitação à monta e a utilização de aplicação de Cipionato de estradiol no protocolo de indução ao estro ($X^2(2) = 8,0753$; $p < 0,001$).

PALAVRAS-CHAVE: progesterona, prostaglandina, reprodução

COMPARISON OF THE EFFICIENCY OF PROTOCOLS USED TO INDUCE AND SYNCHRONIZE ESTRUS IN EWES

ABSTRACT

Ovine females are seasonal short-day polyestrous animals, and estrus induction and synchronization protocols can be used to increase reproductive efficiency and, consequently, maximize and optimize animal productivity. These protocols are highly variable and involve the use of hormones such as progesterone, prostaglandin, and eCG (equine chorionic gonadotropin). The objective of this study was to evaluate the use of two estrus induction protocols in ewes in order to increase reproductive efficiency and, consequently, enhance animal production through the observation of mating acceptance. To this end, 72 Pantaneira breed ewes, approximately 3 years old, were subjected to two protocols with a fixed duration of eight days, both using eCG (equine chorionic gonadotropin) and a progesterone implant; however, one of the protocols included the use of estradiol cypionate concomitant with progestagen withdrawal. After the estrus induction procedure, the females were evaluated for mating acceptance through the visualization of paint marking on the posterior region of the animals, since the rams used marking devices to identify matings. The results demonstrated, through a chi-square test of independence, an association between mating acceptance and the use of estradiol cypionate application in the estrus induction protocol ($\chi^2(2) = 8.0753$; $p < 0.001$).

KEYWORDS: progesterone, prostaglandin, reproduction

¹ Médica Veterinária pelo Centro Universitário da Grande Dourados - UNIGRAN. E-mail: patricia_souza0905@outlook.com

² Médica Veterinária pelo Centro Universitário da Grande Dourados – UNIGRAN. E-mail: mariaciarabonrruque37@gmail.com

³ Engenheiro Agrônomo pela Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Asunción Filial Pedro Juan. E-mail: gda.vega@gmail.com

⁴ Professora Doutora do curso de Médica Veterinária da Faculdade de Ciências Agrarias do Centro Universitário da Grande Dourados - UNIGRAN E-mail: natysunada@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A ovinocultura chegou ao Brasil com a chegada dos colonizadores nas regiões sul e nordeste do país e sua criação se espalhou por todo o território nacional. A criação de ovinos vem ganhando espaço por se tratar de animais doces, precoces e de fácil manejo, além disso são produtores de pele, lã, carne e leite.

As ovelhas apresentam um ciclo estral poliéstrico estacional de dias curtos que dura em torno de 17 dias, e uma gestação de aproximadamente 152 dias. Com o intuito de aumentar a taxa de prenhez e a padronização do rebanho o que pode agregar valor a estes animais no momento da venda alguns produtores têm investido em protocolos que consistem em induzir e sincronizar o estro destes animais, esses protocolos são muito variáveis em relação a sua duração, métodos utilizados e hormônios administrados, alguns tendem a se mostrar mais eficientes e consequentemente passam a ser utilizados como protocolo padrão.

Objetivou-se com a execução deste trabalho comparar a manifestação de estro em fêmeas ovinas da Raça Pantaneira criadas na região de Dourados – MS submetidas a dois diferentes protocolos de indução ao estro para avaliar a eficiência destes.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 OVINOCULTURA

A ovinocultura teve início no Brasil no ano de 1556, com a chegada dos colonizadores cujo primeiros animais a serem introduzidos no país, na região sul e nordeste, possuíam origem espanhola e asiática (SELAIVE-VILARROEL, 2014).

Estes animais foram distribuídos pelo território nacional sendo que na região nordeste está localizado o maior rebanho de ovinos, constituído principalmente de raças nacionais deslanadas destinados à produção de pele e carne e adaptados ao clima tropical, enquanto na região sul se destacam animais produtores de lã e carne adaptados ao clima subtropical, representando o segundo maior rebanho (VIANA, 2008).

A produção de ovinos vem se destacando por suas características de criação como a docilidade dos animais, a não necessidade de áreas muito extensas para sua criação, a obtenção de muitos produtos como lã, pele, leite e carne cujo abate pode ser efetuado precocemente, bem como os aspectos reprodutivos destes (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

No que se refere aos aspectos reprodutivos a espécie ovina (*ovis aries*) possui um ciclo estral que dura em torno de 17 dias, caracterizados por animais poliéstricos estacionais de dias curtos, ou seja, o seu período de estro sofre influência do fotoperíodo e se dá principalmente nos meses com menor incidência de luz solar (durante o final do verão e início do outono). Além do fotoperíodo, os fatores genéticos, sociais, de manejo nutricional e as condições climáticas podem interferir no ciclo desses animais (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

A duração do estro e da ovulação das ovelhas está estabelecido entre 24 a 36 horas, podendo variar de acordo com a raça, nutrição e idade desses animais, sofrendo influência também, caso haja, a presença do macho. Durante este período ocorrerá a ovulação, liberação do oócito II para as tubas uterinas, dentro de 24 a 27 horas a partir do seu início e pensando em aumentar a taxa de parições durante o ano pode-se efetuar o uso de protocolos hormonais que induzem a apresentação de estro (cio) fora do período de monta natural dessas fêmeas (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

Define-se por indução do estro (cio), quando ele ocorre sob condições que geralmente não seria possível já que estes animais se encontram em período de anestro estacional. Podendo ser realizado de forma sincronizada ou não (HAFEZ; HAFEZ, 2004; FERNANDES NETO *et al.*, 2012). Quando este é realizado de forma sincronizada, possibilita saber com mais exatidão o período em que as fêmeas estarão ovulando, sendo realizada a administração de coquetéis hormonais como as gonadotrofinas associadas a prostaglandina, progestágenos e indutores de ovulação. Neste momento, nas fêmeas com apresentação de estro, realiza-se o procedimento da inseminação artificial (IA), ou ainda, a monta natural (FONSECA *et al.*, 2007).

2.1.2 Sistema reprodutor das fêmeas ovinas

Para se dar início a um protocolo hormonal é necessário primeiramente entender o sistema reprodutivo da espécie que vai trabalhar-se, para então escolher qual método deve ser utilizado. Tratando-se de fêmeas ovinas, cujo aparelho reprodutor é composto por ovários, tubas uterinas, útero, cérvix, vagina e vulva (GRANADOS *et al.*, 2006) no qual apresenta maior dificuldade para proceder a realização de IA já que a cérvix apresenta-se tortuosa (HAFEZ; HAFEZ, 2004) normalmente faz-se uso da monta natural.

O início da atividade reprodutiva sofre influência de vários fatores, como a raça, peso, nutrição, presença do macho e estação do ano, mas geralmente as fêmeas atingem a puberdade entre 6 e 10 meses de idade, com 70% do peso adulto (SELAIVE-VILLARROEL, 2014).

2.2 FASES DO CICLO ESTRAL

As fases do ciclo estral podem ser descritas como luteínica e folicular (HAFEZ; HAFEZ, 2004), sendo a primeira constituída por duração de 13 dias caracterizando-se pela predominância de progesterona e correspondente as etapas do metaestro e diestro. Já a fase folicular tem duração de 4 dias e tem como característica a presença de estrógeno sendo este um dos principais hormônios presentes na corrente sanguínea, caracterizando as etapas do proestro e estro (LOBATO *et al.*, 2013).

O proestro é a fase caracterizada pela produção de muco vaginal, onde a fêmea encontra-se agitada, mas ainda não aceita monta. Já a fase do estro (cio) a fêmea demonstra sinais de cio, como micção constante e agitação da cauda, sendo neste período o momento de aceitação da monta (LOBATO *et al.*, 2013)

As fases do metaestro e diestro ocorrem na sequência, sendo a ovulação correspondente a primeira etapa com duração de 12 a 16 horas após o início do cio. Já o diestro corresponde a fase em que a fêmea não aceita mais a monta, e os corpos lúteos permanecem funcionais (LOBATO *et al.*, 2013) para a manutenção da gestação.

2.2.1 Hormônios presentes no ciclo estral

O ciclo estral é regulado pela interação de alguns hormônios, o GnRH (hormônio liberador de gonadotrofinas), FSH (hormônio folículo estimulante), LH (hormônio luteinizante), estradiol e progesterona (LOBATO *et al.*, 2013).

O primeiro hormônio que está envolvido na ovulação é o GnRH (hormônio liberador de gonadotrofinas) que é secretado pelo hipotálamo para a adeno-hipofise através do sistema porta hipofisário. Neste momento a hipófise é estimulada pelo referido hormônio e secreta as gonadotrofinas FSH (hormônio folículo estimulante) LH (hormônio luteinizante) e prolactina. O FSH é responsável por estimular o desenvolvimento dos folículos primários e secundários, enquanto o LH age estimulando o amadurecimento do folículo terciário que desencadeia a ovulação (PANSANI; BELTRAN, 2009).

Em protocolos de indução hormonal o ECG (gonadotrofina coriônica equina) possui uma ação semelhante a do FSH hipofisário, e o seu uso é indicado para induzir o crescimento e desenvolvimento folicular em ovários inativos (PANSANI; BELTRAN, 2009).

A progesterona prepara o ambiente uterino para uma nova gestação e o ovário para a produção de novos folículos (oócitos). A prostaglandina F2 α (PGF2 α) é o hormônio luteolítico uterino, que controla a vida útil do corpo lúteo sendo responsável pela sua regressão em protocolos hormonais, o eCG (gonadotrofina coriônica equina) é um hormônio fundamental para a indução da atividade

ovariana por atua simulando a atividade do hormônio folículo estimulante (FSH) e do hormônio luteinizante (LH), que são responsáveis pelo desenvolvimento folicular e ovulação. O dispositivo utilizado no protocolo é impregnado com progesterona que é de liberação lenta. A fase folicular desde a regressão do corpo lúteo até a ovulação dura entre 2 a 3 dias (CANOVA, 2006).

No quadro abaixo podem ser visualizados os hormônios envolvidos na reprodução de fêmeas ovinas, bem como seu local de produção e ação desempenhada.

Quadro 1 – Hormônios da reprodução em fêmeas.

| Hormônio envolvido | Local de produção | Ação |
|--------------------|-------------------|---|
| GnRH | Hipotálamo | Promove a liberação de FSH e LH |
| FSH | Hipófise anterior | Estimula o desenvolvimento folicular e a secreção de estrógenos |
| LH | Hipófise anterior | Estimula a ovulação, formação e manutenção do corpo lúteo |
| Estradiol | Folículo (ovário) | Estimula a manifestação do cio e a liberação de LH |
| Progesterona | Ovário/Placenta | Manutenção da gestação |

Fonte: Adaptado de Granados *et al.* (2006).

3. METODOLOGIA

O trabalho foi submetido e aprovado pelo comitê de ética para o uso de animais (CEUA - Unigran), para então ser conduzido nas dependências da fazenda escola da UFGD (FAECA - Universidade Federal da Grande Dourados) na cidade de Dourados MS. Para tanto, o experimento utilizou 72 fêmeas ovinas da Raça Pantaneira submetidas ao uso de protocolos compostos de coquetéis hormonais para a indução e sincronização do estro. Estes animais foram divididos em dois grupos, cada um deles contendo 36 animais, possibilitando um Delineamento Inteiramente Casualizado.

Protocolo 1 – T1: Este consistiu em no dia 0 (D0) realizar a introdução do dispositivo intravaginal impregnado com progesterona em 36 fêmeas ovinas da Raça Pantaneira com o auxílio de um aplicador, e no dia 8 (D8) realizar a retirada do dispositivo, aplicação por via intramuscular de 1,5 ml de eCG (gonadotrofina coriônica equina), e 2 ml de prostaglandina (em forma de análogo sintético, d-cloprostenol).

Protocolo 2 – T2: Este consistiu em, no dia 0 (D0) efetuar a introdução de dispositivo intravaginal em outras 36 fêmeas ovinas da raça Pantaneira com o auxílio de um aplicador, e no dia 8 (D8) realizar a retirada do dispositivo, a aplicação por via intramuscular de 2 ml de prostaglandina (análogo sintético - d-cloprostenol), 1,5 ml de eCG (gonadotrofina coriônica equina), 1 ml de cipionato de estradiol.

Os protocolos tiveram início no dia 0 (D0) onde foi realizada a introdução do dispositivo intravaginal impregnado com progesterona no período matutino com a respectiva identificação do animal por meio do chip ruminal (bolus) e marcação com bastões para maior praticidade.

Neste momento as fêmeas marcadas com bastão de tinta na cor verde correspondiam aos animais submetidos ao protocolo com cipionato de estradiol (protocolo 2 – Tratamento teste) e na cor preta para lote controle, submetidos a um protocolo que não fez o uso do cipionato de estradiol (protocolo 1 – Tratamento controle). A retirada dos implantes hormonais e aplicação dos hormônios foi realizada no dia 8 (D8), ou seja, 8 dias após o início do protocolo no período matutino.

Figura 1 – Ovelhas da raça Pantaneira marcadas com bastão de cor verde (A) utilizadas em análise experimental frente ao uso de drogas (B) para a indução/sincronização de Estro.



A



B

Fonte: Arquivo pessoal

Após 8 horas da retirada dos implantes e aplicação dos hormônios, os machos (4 ao todo) foram colocados junto com as fêmeas dentro do aprisco durante o período do entardecer e separado pela manhã.

Para identificação de quais animais haviam aceitado a monta, a região do peito do macho foi embebida com uma tinta xadrez de cores azul ou vermelha, para que o mesmo quando realizasse o salto sobre a fêmea para cobertura a marcava indicando que esta havia aceitado a monta.

Os primeiros dados referentes às aceitações de monta foram coletados 24 horas após a retirada do implante, no período matutino, antes das fêmeas serem levadas aos piquetes. O experimento teve duração de 72 horas, desde a retirada do implante até a última coleta de dados.

Os animais que estavam com o dorso/região posterior marcado de tinta, azul ou vermelha eram identificados de acordo com o protocolo utilizado (chip ruminal – bolus) e através da marcação feita pelo bastão, com posterior registro do número de animais que já haviam aceitado a monta.

Figura 2 – Ovelhas da raça Pantaneira utilizadas em análise experimental frente ao uso de drogas para a indução/sincronização de Estro marcadas com tinta xadrez na região do dorso/posterior indicando a aceitação de monta.



Fonte: Arquivo pessoal.

4. ANÁLISES E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

4.1 RESULTADOS

Os dois lotes passaram pelos protocolos, e ao final das 72 horas foi notado que todas as fêmeas submetidas ao cipionato de estradiol (protocolo 2 – Tratamento teste) haviam aceitado monta, enquanto 19,44% das que não receberam a aplicação do referido hormônio (protocolo 1 – Tratamento controle) não haviam aceitado monta como mostra-se na Tabela 1.

Tabela 1 – Taxa de aceitação à monta de fêmeas ovinas da raça Pantaneira submetidas ao manejo de indução/sincronização de estro.

| Tratamento | Aceitou monta | Não aceitou monta | Total |
|---------------|---------------------------|--------------------------|-----------|
| Com Cipionato | 36 (100%) ^{Aa} | 0b (0%) ^{Bb} | 36 (100%) |
| Sem Cipionato | 29 (80,55%) ^{Ba} | 7 (19,44%) ^{Aa} | 36 (100%) |

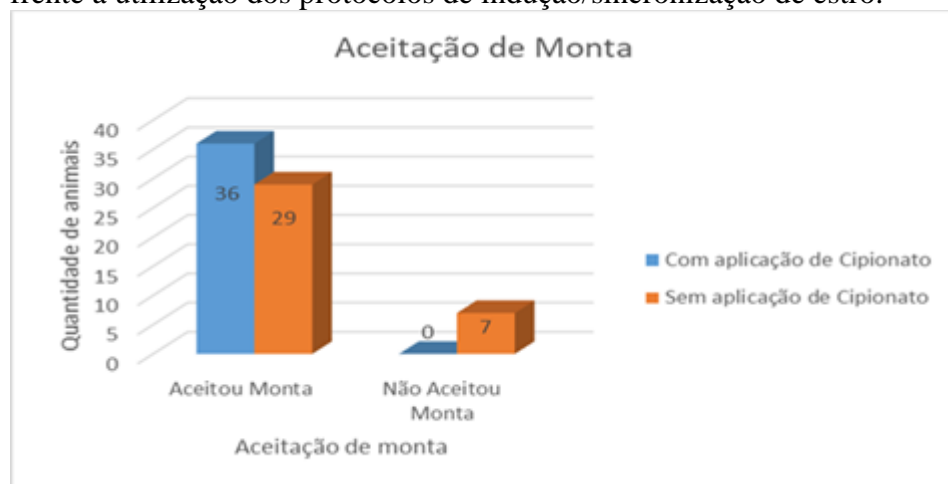
Fonte: Dados da pesquisa.

Nota: Valores médios, seguidos de letras mesma letra maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, não diferem entre si ($p < 0,001$) pelo teste de χ^2 ; n (%) = Número de fêmeas.

Através do método do qui-quadrado de independência é possível demonstrar que há uma associação entre a aceitação à monta e a utilização de aplicação de Cipionato de estradiol no protocolo de indução ao estro ($X^2 (2) = 8,0753$; $p < 0,001$). A análise dos resíduos mostrou que há uma menor quantidade de aceitação à monta quando não se utilizou a aplicação de Cipionato de estradiol e em

ocasião contrária ocorreu o inverso como pode ser visto na Figura 3.

Figura 3 – Gráfico representando a quantidade de ovelhas que aceitaram ou não a monta frente a utilização dos protocolos de indução/sincronização de estro.



Fonte: Arquivo pessoal.

4.2 DISCUSSÃO

Como demonstrado na análise estatística o protocolo hormonal que faz o uso da aplicação de cipionato de estradiol (Protocolo 2 – Tratamento teste) demonstrou maior eficiência na taxa de aceitação de monta. Segundo Biscarde (2010), o cipionato de estradiol é um hormônio que atua diretamente no sistema neuroendócrino das fêmeas promovendo o aumento na liberação do hormônio GnRH, (hormônio liberador de gonadotrofina), que é responsável por induzir o pico do LH (hormônio luteinizante), e posteriormente a formação do corpo lúteo. Esta ação ocorre por Feed-Back positivo que induz uma maior sensibilidade da hipófise aumentando a sua resposta ao GnRH (hormônio liberador de gonadotrofina).

O GnRH é um hormônio produzido no hipotálamo, que é responsável por estimular a liberação de FSH e LH, o aumento nos níveis de estrógenos circulantes apresentam um efeito de retroalimentação positiva sobre o hipotálamo o induzindo a uma repentina onda de liberação de GnRH resultando em uma onda pré-ovulatória de LH e FSH, que apresentam uma duração média de 6 a 12 horas, estes hormônios atuando em conjunto são responsáveis pela manifestação do comportamento de estro e pela ovulação (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

O efeito que o estradiol exerce na fisiologia reprodutiva não depende do estágio do estágio do ciclo estral ou da onda folicular em desenvolvimento, quando este hormônio é administrado sob a presença de progesterona ele provoca a regressão de folículos dependentes de gonadotrofinas, decorrente a ação que exerce sob a diminuição na concentração de FSH e LH. Quando ocorre a

redução das concentrações de estradiol a um aumento do FSH e posteriormente o início de uma nova onda de crescimento folicular (MOREIRA, 2016).

Diante do que relata Hafez e Hafez (2004), o FSH (hormônio folículo estimulante), é responsável por estimular o crescimento e maturação do folículo ovariano, no entanto apenas o FSH não provoca a secreção de estrógenos no ovário, ele necessita da presença do LH para que ocorra o estímulo para a produção destes. O LH age atuando em conjunto com o FSH para induzir a secreção de estrógenos do folículo ovariano dominante, fazendo com que ocorra um pico pré-ovulatório de LH que será responsável pela ruptura da parede folicular e ovulação.

Moreira (2016) relata que o estradiol é um dos hormônios responsáveis pela regulação da secreção de FSH pelo mecanismo de feedback negativo, esse mecanismo é potencializado através da combinação do estradiol com a progesterona obtendo como resultado maior supressão das concentrações séricas de FSH. A supressão das concentrações de FSH pelo uso destes dois hormônios foi relacionada com a regressão da onda folicular presente nos ovários e consequentemente o recrutamento de forma sincronizada de uma nova onda folicular.

Como descrito por Hafez e Hafez (2004) o estrógeno é secretado pela teca interna do folículo ovariano, ele é responsável por promover o comportamento sexual, age estimulando características sexuais secundárias e possui efeitos anabólicos. O estradiol é o estrógeno primário biologicamente ativo que é produzido no ovário, e possui inúmeras funções como atuar no sistema nervoso central e induzir o comportamento de cio na fêmea, no entanto ele necessita da atuação da progesterona para que ocorra a indução do cio em algumas espécies específicas como ovinos e bovinos.

O estrógeno torna-se necessário para que ocorra a manifestação de estro, é um hormônio indispensável nas coordenações endócrinas e comportamentais das fêmeas na fase reprodutiva, por atuar diretamente no sistema neuroendócrino que é responsável pela liberação de GnRH (BISCARDE, 2010).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se com a execução do trabalho que o uso do cipionato de estradiol apresenta correlação positiva com o aumento dos índices de aceitação à monta de ovelhas da Raça Pantaneira.

REFERÊNCIAS

BISCARDE, C. E. A. **Efeitos do benzoato de estradiol e/ou GnRH na função ovariana de ovelhas Santa Inês**. Botucatu, 2010.

CANOVA, E. B. **Métodos indutivos de estro em pequenos ruminantes**. 2006. 45 f. Trabalho de conclusão de curso (Curso de Zootecnia) - Faculdades Associadas de Uberaba – FAZU, Uberaba – MG, 2006.

FERNANDES NETO, V.P. NASCIMENTO, M. N., DE SOUSA OLIVEIRA, F., & DO NASCIMENTO JÚNIOR, J. R. S. Técnicas de superovulação em ruminantes. **PUBVET**, v. 6, p. Art. 1331-1337, 2016.

GRANADOS, L. B. C., DIAS, A. J. B., & SALES, M. P. D. **Aspectos gerais da reprodução de caprinos e ovinos**. Projeto PROEX/UENF, Campos dos Goytacazes, RJ, 2006.

LOBATO, E., COSTA FERRO, R. A., SANTOS, K. J. G., COSTA, M. A., COSTA, D. A. F., SANTOS, A. P. P. Fisiologia reprodutiva de ovinos. **PUBVET**, Londrina, v. 7, n. 15, Ed. 238, Art. 1573, 2013.

HAFEZ, B. & HAFEZ, E. S. E. **Reprodução animal**. 7 ed. São Paulo: Manole, 2004. 513p.

MOREIRA, N. H. **Avaliação de diferentes alternativas para aumentar a eficiência da sincronia do estro e ovulação em ovelhas deslanadas**. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2016, 154p. Tese de doutorado

PANSANI, M. A., BELTRAN, M. P. Anatomia e fisiologia do aparelho reprodutor de fêmeas bovinas. **Revista electrónica de Medicina Veterinária**, v. 12, p. 1-5, 2009.

SELAIVE-VILLARROEL, A. B. **Produção de ovinos no Brasil**. Editores: Arturo Bernardo Seleive-Villarroel, José Carlos da Silveira Osório. 1. ed. – São Paulo: Roca, 2014. 656 p.

VIANA, J. G. A. Panorama geral da ovinocultura no mundo e no Brasil. **Revista Ovinos**, v. 4, n. 12, p. 44-47, 2008.