



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA
INSTITUTO DA SAÚDE E PRODUÇÃO ANIMAL
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO – TCC**

RENATA KELLY TRINDADE ALEIXO

**EFEITO DA SUBSTITUIÇÃO DO eCG PELO FSH EM PROGRAMA DE
INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO DE OVINOS**

**BELÉM
2019**

RENATA KELLY TRINDADE ALEIXO

**EFEITO DA SUBSTITUIÇÃO DO eCG PELO FSH EM PROGRAMA DE
INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO DE OVINOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Federal Rural da Amazônia como parte das exigências do Curso de graduação em Medicina Veterinária para obtenção do título de Bacharel.

Área de concentração: Biotecnologia da reprodução.

Orientador: Erick Fonseca de Castilho.

BELÉM
2019

Dados Internacionais de Catalogação na
Publicação (CIP) Bibliotecas da Universidade
Federal Rural da Amazônia
Gerada automaticamente mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

A366e Aleixo, Renata Kelly Trindade
Efeito da substituição do eCG pelo FSH em programa de inseminação artificial em tempo fixo
de ovinos
/ Renata Kelly Trindade Aleixo. - 2019.
24 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Curso de Medicina
Veterinária, Campus Universitário de Belém, Universidade Federal Rural da
Amazônia, Belém, 2019.

Orientador: Prof. Dr. Erick Fonseca de Castilho

1. IATF. 2. Laparoscopia. 3. Ovelhas. 4. Hormônio Folículo Estimulante. 5. Gonadotrofina
Coriônica Equina. I. Castilho, Erick Fonseca de, *orient.* II. Título

CDD 636.08926

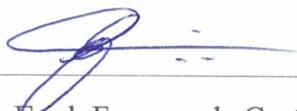
RENATA KELLY TRINDADE ALEIXO

**EFEITO DA SUBSTITUIÇÃO DO eCG PELO FSH EM PROGRAMA DE
INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO DE OVINOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Federal Rural da Amazônia como parte das exigências do Curso de graduação em Medicina Veterinária para obtenção do título de Bacharel.
Área de concentração: Biotecnologia da reprodução.

Data da aprovação 29/11/2019

Banca examinadora:



Prof. Dr. Erick Fonseca de Castilho
ISPA/UFRA
(Orientador)



Prof. Dr. Sebastião Tavares Rolim Filho
ISPA/UFRA
(Membro da banca)



Prof. Dr. Djacy Barbosa Ribeiro
ISPA/UFRA
(Membro da Banca)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer a Deus, pois sem sua presença nada disso aconteceria, colocou em minha vida pessoas incríveis, que me ajudaram nesta caminhada, do início ao fim. Agradeço fortemente à minha mãe que é sinônimo de força, permitiu-me trilhar este caminho, cuidando, dando-me amor e carinho. Ao meu irmão Ivan que sempre esteve conosco, ajudando à sua maneira. Vocês são exemplos de pessoas bondosas e empáticas, tenho orgulho de tê-los ao meu lado.

Agradeço ao meu pai que sempre se esforçou para dar uma vida em que jamais deixemos de sermos crianças, nos permitindo vivenciar esta fase de maneira serena, e, que contribuiu para as escolhas que fiz. Aos meus familiares que sempre emanaram energias positivas, deram força e palavras confortáveis que foram importantes em minha vida.

Agradeço ao meu Prof. Dr, Erick pela oportunidade de produzir este trabalho. Agradeço pelas dicas que deu aos seus estagiários ao longo da graduação, que servem de base para correr atrás de minhas conquistas e por me fazer gostar ainda mais do caminho que decidi trilhar. A toda família CPCOP que me ajudou no momento em que mais precisava em especial Sillas, Natália, Lívia, Andreia, Gisella e Ana Carolina, que disponibilizaram de seus tempos para me ajudarem. Agradeço ao seu Creeden, á Bruna, dona Andreia e “irmão”, por darem apoio nestes momentos.

Aos meus queridos amigos Maria, Alana, Rakel, Lucian, Felipe, Brenner, Cibele e Roger por tornarem momentos tensos em momentos leves e serenos. Obrigada pelas risadas, conselhos e ajudas em diversas atividades, p duor aguentarem situações difíceis juntamente comigo. Vocês foram minha família durante todo esse tempo.

Agradeço a todos por terem contribuído de alguma forma para que este trabalho saísse do papel. Obrigada!

“A meritocracia é um mito que alimenta as desigualdades”

Sidney Chalhoub

RESUMO

Neste estudo, objetivou-se avaliar o efeito da substituição da Gonadotrofina Coriônica Equina (eCG) pelo Hormônio Folículo Estimulante (FSH) em programa de Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF), bem como avaliar a taxa de prenhez, taxa de prolificidade e tipos de gestação. Foram utilizadas 50 ovelhas da raça Santa Inês, que foram divididas em dois grupos, Grupo 1: eCG (n=25) e Grupo 2: FSH (n=25). O Grupo 1 recebeu uma esponja intravaginal contendo 60 mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP) durante doze dias e no dia da retirada da mesma, administrou-se 400 UI de eCG via intramuscular e a IATF por laparoscopia foi realizada 48 horas após a retirada do implante. O Grupo 2 recebeu o mesmo tratamento que o Grupo 1, porém substituiu-se o eCG por 20 mg de FSHp no dia da retirada do implante e a IATF por laparoscopia foi realizada 48 horas após a retirada do implante. Após trinta dias da IATF, realizou-se o diagnóstico gestacional nas ovelhas pela ultrassonografia transretal. A taxa de prenhez, taxa de prolificidade e tipo de gestação foram comparados entre os grupos pelo Teste Qui-Quadrado a 5% de significância. O Grupo 1 apresentou 76,2% de taxa de prenhez, 137,5% de taxa de prolificidade, 68,8% de gestações simples, 25,0% de gestação dupla e 6,2% de gestação tripla. Enquanto que o Grupo 2 apresentou 0% de taxa de prenhez, portanto, não foi possível avaliar os demais índices. A substituição do eCG pelo FSH não foi eficaz nos protocolos de sincronização do estro, bem como sobre a taxa de prenhez de ovelhas Santa Inês.

Palavras-chave: IATF; Laparoscopia; Ovelhas; Hormônio Folículo Estimulante; Gonadotrofina Coriônica Equina.

ABSTRACT

This Study aimed to evaluate the effect of replacement of Chorionic Equine Gonadotropin (eCG) by Stimulating Follicle Hormone (FSH) in the Fixed Time Artificial Insemination (FTAI) program, as well as to evaluate pregnancy rate, proliferation rate and pregnancy models. Fifty Santa Inês breed ewes were divided into two groups, Group 1: (n=25) and Group 2: (n=25). The Group 1 received intravaginal sponge containing 60 mg of medroxyprogesterone acetate (MPA) for twelve days, after sponge removed received 400 UI eCG intramuscular application and 48h after application, FTAI was performed by fresh semen laparoscopy. Group 2 received intravaginal sponge containing 60 mg of medroxyprogesterone acetate (MAP) for twelve days, after sponge removed received 20 mg FSH intramuscular application and 48h after application, FTAI was performed by laparoscopy with fresh semen. Thirty days after the FTAI the gestational diagnosis was made in the ewes with the aid of an ultrasound device equipped with a multifrequency linear transducer. Based on the diagnosis, the pregnancy rate, prolificacy rate types of pregnancy were compared between by the Chi-Square Test at 5% significance. Group 1 presented 76,2% pregnancy rate, 137,5% prolificacy rate, 68,8% simple pregnancies, 25,0% double pregnancy and 6,2% triple pregnancy. Group 2 had a 0% pregnancy rate, so it was not possible to evaluate the other results. Substitution of eCG by FSH was not effective in estrus synchronization protocols, as well as the rate of pregnancy of Santa Inês ewes.

Keywords: FTAI; Laparoscopy; Ewes; Follicle Stimulating Hormone; Equines Chorionic Gonadotropin.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
2. OBJETIVOS.....	11
2.1. Objetivo geral	11
2.2. Objetivo específico	11
3. REFERENCIAL TEÓRICO	11
3.1. O ciclo estral em ovelhas.....	11
3.2. Sincronização de estro em ovelhas.....	12
3.3. Inseminação artificial em tempo fixo por laparoscopia em ovelhas	13
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	14
4.1. Local do experimento	14
4.2. Animais	15
4.3. Seleção de matrizes	15
4.4. Sincronização de estro e indução da ovulação.....	15
4.5. Inseminação artificial por laparoscopia.....	16
4.6. Diagnóstico de gestação.....	18
4.7. Análises estatísticas.....	18
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	18
6. CONCLUSÕES.....	20
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	21

1. INTRODUÇÃO

Devido ao destaque da ovinocultura no país, onde o número de cabeças de ovinos corresponde a 18.948.934 cabeças de ovinos, tendo a região Nordeste como a maior detentora do rebanho (65,6 %), seguido pelas regiões Sul (24 %), Centro-oeste (4,3 %), Sudeste (3,1%) e Norte (3,0%), a busca por tecnologias a baixo custo vem permitindo melhorias nos índices de eficiência produtiva e reprodutiva (IWAMURA, 2008; CASTILHO et al., 2013; IBGE, 2017). Com a finalidade de melhorar ainda mais a produção e reprodução destes animais, muitos métodos têm sido desenvolvidos em instituições de pesquisa e dentre eles, destaca-se a sincronização do ciclo estral que consiste na concentração de animais em estro, em intervalo de tempo pré-determinado e restrito, ou seja, entre 24 e 72 horas. Esta técnica tem como objetivo melhorar a eficiência reprodutiva, redução da mão de obra na detecção do estro, concentração das parições, lotes mais homogêneos para o abate e/ou reposição, bem como a redução do intervalo de partos (JAINUDEEN et al., 2000; CARVALHO, 2009; SILVEIRA et al., 2013).

Portanto, a sincronização de estro e indução da ovulação podem ser obtidas por meio da administração de hormônios, efeito macho, fotoperíodo artificial (FONSECA et al., 2014), desde que os animais estejam bem nutridos e saudáveis. A técnica mais utilizada em pequenos ruminantes é a utilização de hormônios por meio do uso de esponjas e dispositivos intravaginais impregnadas de progestágenos ou progesterona natural, responsável pelo prolongamento da fase lútea. Pode-se utilizar também em associação a outros hormônios como eCG (Gonadotrofina Coriônica Equina), hCG (Gonadotrofina Coriônica Humana), FSH (Hormônio Folículo Estimulante) e análogos de prostaglandina F2-alfa (PGF2- α) (DIAS et al., 2001; FATET et al., 2011; RODRIGUES et al., 2015). Porém, a maioria dos protocolos de sincronização do estro em ovinos contém, principalmente, a progesterona e o eCG.

Por sua vez, Uribe-Velasquez et al. (2002) afirmam que o uso de eCG administrado no momento da retirada do implante de progesterona possui capacidade de reduzir o intervalo de horas entre a retirada do dispositivo até a manifestação de estro. Além disso, concentrar a ovulação na estação de monta e aumentar a taxa de prenhez em programas de IATF (Inseminação Artificial em Tempo Fixo), aumentar a taxa de crescimento folicular e taxa de ovulação (STEWART et al., 1976; BARIL et al., 1993). No entanto, a administração seriada (a cada trinta dias) de eCG, induz a alta produção de anticorpos anti-eCG devido,

principalmente, ao seu alto peso molecular (68.000 Dáltons), alto nível de glicosilação, sua origem heteróloga e à grande quantidade de carboidratos (48 %) e ácido siálico (10,4 %) presentes na molécula, resultando em baixas taxas de ovulação e prenhez (NOEL et al., 1994; DRION et al., 2001; MOREIRA, 2013).

Ainda, Murphy et al. (1991) citados por Pinto (2009) mostram que o eCG é um fármaco que possui uma meia-vida longa, podendo ser de até três dias, é um hormônio produzido nos cálices endometriais de éguas prenhes, podendo sua produção iniciar por volta de 40 a 130 dias de gestação.

Neste contexto, vários estudos vêm buscando meios para substituir o eCG nos protocolos para IATF, no intuito de diminuir os efeitos deletérios do hormônio e baixar custos/protocolo. Portanto, este trabalho tem como objetivo substituir o eCG pelo FSH em protocolos de sincronização do estro, avaliando a taxa de prenhez após o programa de IATF.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

- Avaliar o efeito da substituição do eCG pelo FSH em programa de inseminação artificial em tempo fixo de ovinos.

2.2. Objetivo específico

- Avaliar a taxa de prenhez, taxa de prolificidade e tipos de gestação.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. O ciclo estral em ovelhas

A ovelha é uma espécie que apresenta comportamento reprodutivo sazonal (dias curtos) em regiões onde as estações são bem caracterizadas. Porém, ovelhas criadas em regiões com clima tropical tendem a apresentar um comportamento contínuo, permitindo ciclicidade reprodutiva durante o ano todo (SIMPLÍCIO et al., 1982; FONSECA, 2006). Na ovelha, o

ciclo estral tem duração média de 17 dias, e é dividido em duas fases, a fase lútea e a fase folicular, com duração de 13 e 4 dias, respectivamente (FONSECA, 2005; GRANADOS et al, 2006). O ciclo estral também pode ser dividido em quatro fases: estro, metaestro, diestro e proestro. O estro é caracterizado pela fase de receptividade sexual, sendo a fase mais importante, ocorrendo quando exposto previamente à progesterona liberada pelo corpo lúteo do ciclo antecedente (GRANADOS et al., 2006; KLEIN, 2014).

A duração do estro nas ovelhas ocorre de 24 a 36 horas, podendo ter diversos fatores que podem interferir, como o estado nutricional, sanidade, raça, idade, estação do ano e a presença do macho (HAFEZ, 1995). Enquanto que a ovulação tende a ser espontânea, a qual pode ser única ou múltipla, ocorrendo aproximadamente entre 15 a 18 horas após o início do estro (GORDON, 1997).

3.2. Sincronização de estro em ovelhas

Fonseca et al. (2014) determinam que a sincronização de estro em pequenos ruminantes pode ser realizada por meio de tratamentos hormonais, efeito macho, fotoperíodo artificial e, ainda, com o uso da melatonina. A sincronização tem como objetivo aumentar a eficiência reprodutiva de um rebanho, concentrando animais em estro em intervalo de tempo restrito (24 às 72 h) (FONSECA, 2006; MOREIRA, 2013).

Portanto, sincronização de estro por meio de protocolos hormonais tem como finalidade aproximar/aglomerar a ocorrência do mesmo, assim como da ovulação. Outra justificativa do uso da técnica é da mimetização da fase luteal e com duração pré-determinada, independente do animal (FREITAS et al., 2004). Rodrigues et al. (2004) demonstram que a fase luteal pode ser simulada com o uso da esponja intravaginal contendo progestágeno (FGA – acetato de fluorgesterona) por pelo menos 12 dias, tendo assim, a mesma função da progesterona secretada pelo corpo lúteo. Já a foliculogênese é induzida por meio da aplicação de hormônios como o eCG, que tem função principalmente de FSH.

Silva et al. (2010) compararam a sincronização de estro utilizando protocolos diferentes, sendo um grupo utilizando apenas duas doses de PGF2 α com intervalo de nove dias (D0-D9) e um protocolo utilizando MAP (acetato de medroxiprogesterona) + eCG por doze dias, e constataram que o estro foi detectado em todas as ovelhas do experimento.

Pode-se ainda, utilizar o implante auricular contendo progesterona (Crestar®), podendo ser associado a diversos hormônios como eCG, análogos do Hormônio Liberador de Gonadotrofina (GnRH), PGF2 α e valerato de estradiol, com o objetivo de sincronizar o momento da ovulação, tornando mais eficiente os resultados dos programas de IATF ou monta natural (CARVALHO, 2009).

Neto et al. (2012) usaram o FSH para substituir o eCG na sincronização da ovulação em ovelhas da raça Santa Inês e observaram que não houve diferença significativa no intervalo entre a retirada da esponja intravaginal e apresentação de estro. Porém, observaram uma diferença de 9,7 horas na duração do estro, sendo maior para o grupo tratado com eCG (29,3 horas) e menor para o grupo tratado com FSH (19,6 horas). E ainda, observaram que não teve diferença significativa entre os tamanhos dos folículos, número de ovulações e o intervalo entre o início do estro e a ovulação, portanto, animais tratados com FSH podem obter os mesmos resultados que animais tratados com eCG. Moreira (2013) sugere o FSH como uma alternativa para substituir o eCG no intuito de aumentar as taxas de ovulação e fertilidade, devido o mecanismo de ação ser, provavelmente, semelhantes.

A atividade biológica do eCG se assemelha principalmente com às do FSH (sendo 70% FSH e 30% LH), pois se liga aos seus receptores, aumentando a taxa de crescimento folicular e a taxa de ovulação. No entanto, estudos mostram que uso contínuo de eCG pode induzir a produção de anticorpos anti eCG. (STEWART et al., 1976; MANTOVANI, 2010). De modo geral, os efeitos deletérios da eCG se dão, principalmente, devido ao seu alto peso molecular, podendo ser de 45KDa, à alta porcentagem de carboidratos de cadeias laterais, a presença de ácido siálico e sua origem heteróloga (COMBARNOUS et al., 1981; ROY et al., 1999a; DRION et al., 2001).

3.3. Inseminação artificial em tempo fixo por laparoscopia em ovelhas

A inseminação artificial (IA) é uma biotécnica de reprodução assistida em que o sêmen é depositado ao aparelho reprodutor da fêmea com o uso de instrumentos adequados. Dentre as técnicas utilizadas para ovinos, destacam-se as por vias cervical superficial, cervical profunda e intrauterina. Esta última, podendo ser por transposição da cérvix ou por laparoscopia (FONSECA et al., 2014; ÁLVARES et al., 2015). A IA proporciona resultados satisfatórios nos programas de melhoramento genético por diminuir a necessidade do uso de vários

reprodutores na propriedade durante a estação de monta, aumentar a pressão de seleção de matrizes, principalmente por meio dos testes de progênie, bem como reduzir doenças que são transmitidas durante a monta natural, mantendo a sanidade do rebanho (NETO, 2009; GOMES et al., 2010).

No entanto, vários fatores podem interferir nos resultados da inseminação artificial, como o escore de condição corporal (ECC), a composição dos diluidores de sêmen, tempo na realização da IA, habilidade do inseminador, dose inseminante, raça e estacionalidade reprodutiva, dentre outros (KARAGIANNIDIS et al., 2000; MACHADO et al., 2006). Como um dos entraves da IA convencional é a identificação do estro, a IATF surge como uma alternativa para o incremento das estações de monta devido não haver a necessidade do registro do mesmo. Nesta técnica, utilizam-se protocolos hormonais para o controle/sincronização do estro e da ovulação, escolhendo-se o dia e a hora para inseminar. O objetivo da técnica visa mimetizar as fases do ciclo estral das fêmeas domésticas (JUNIOR et al., 2015).

A anatomia cervical ovina é outro fator que contribui diretamente para a escolha da técnica e para o sucesso do programa de IA. A mesma se caracteriza por ser longa, tubular e fibrosa, bastante tortuosa, com quatro a sete anéis cervicais, fornecendo uma barreira física para contaminantes e dificultando a IA por via transcervical. Neste contexto, a inseminação por laparoscopia surge como uma excelente ferramenta para o incremento da técnica, pois se deposita o sêmen diretamente nos cornos uterinos por via cirúrgica (KERSHAW et al., 2005; ALVARES, 2015).

Casali et al. (2017), comparando a eficiência das inseminações realizadas por via cervical, transcervical e intrauterina por laparoscopia de ovelhas, observaram que a taxas de concepção apresentaram diferença estatística ($p < 0,05$) entre as técnicas (36,0 %, 42,3 % e 50,2 %, respectivamente), embora sendo mais invasiva que as demais.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Local do experimento

O experimento foi conduzido na propriedade Creeden Gauch, localizada no município de Castanhal – PA, mesorregião do Estado do Pará, cujas coordenadas geográficas

correspondem a 1° 20' 12" Sul, 47° 37' 17" Oeste, com uma altitude de 48 m. Este estudo foi realizado entre os meses de agosto e novembro de 2019.

O clima da região é caracterizado como *Af* (Tropical úmido) de acordo com a classificação climática de Köppen-Geiger, com uma temperatura média anual de 26,5 °C e temperatura média mensal máxima e mínima de 30 e 21,9 °C, respectivamente. Além disso, o clima local é caracterizado por alta precipitação pluviométrica, onde a média anual é de aproximadamente 2.432 mm, concentrando-se no mês de março. A região apresenta uma umidade relativa do ar média anual de 75%.

4.2. Animais

Foram utilizadas 50 fêmeas da raça Santa Inês, híbridas, pesando aproximadamente 40 kg e com faixa etária de 12 a 24 meses, em fase reprodutiva. As fêmeas eram criadas em sistema intensivo, alimentadas diariamente com ração e capim elefante (*Pennisetum purpureum*) picado ao cocho, correspondendo a 20 % volumoso e 80 % concentrado. A dieta foi formulada para atender a manutenção dos animais, com exigências de 10,4 % de proteína bruta (PB), 61 % de nutrientes digestíveis totais (NDT) e consumo de 1,1 kg de matéria seca, de acordo com o NRC (2007) para ovinos. O fornecimento de água e suplemento mineral esteve *ad libitum*.

4.3. Seleção de matrizes

As fêmeas foram selecionadas 54 dias antes do início do estudo, realizando-se o exame ginecológico por meio da vaginoscopia e ultrassonografia (US), em que somente as fêmeas aptas à reprodução foram incorporadas ao estudo.

4.4. Sincronização de estro e indução da ovulação

As fêmeas selecionadas foram divididas aleatoriamente em dois grupos, tendo 25 animais cada, seguindo os protocolos hormonais da Tabela 1. O início da indução hormonal de cada grupo ocorreu em dias diferentes para não comprometer a logística do manejo e inseminação dos animais.

Tabela 1 – Protocolos hormonais utilizados nas ovelhas de acordo com o grupos (Grupo 1 – eCG) e Grupo 2 (FSH).

DIAS	DO	GRUPO 1 (n=25)	GRUPO 2 (n=25)
PROTOCOLO			
D0		04/10/2019 - Implante da esponja intravaginal contendo progestágeno (60 mg de acetato de medroxiprogesterona - MPA) / 07:00h	05/10/2019 - Implante da esponja intravaginal contendo progestágeno (60 mg de acetato de medroxiprogesterona - MPA) / 7:00h
D12		16/10/2019 - Retirada da esponja + 400 UI de eCG (Novormon – Zoetis®) por via intramuscular / 07:00h	17/10/2019 - Retirada da esponja + 20 mg de FSH (Folltropin-V – Vetoquinol®) por via intramuscular / 07:00h
D14		18/10/2019 - IATF (08:00h)	19/10/2019 - IATF (08:00h)

Figura 1(A, B e C) – Método de implante intravaginal com esponja contendo 60 mg de MAP, com auxílio de instrumentos como espelho e pinça.



Fonte: Arquivo pessoal (2019)

4.5. Inseminação artificial por laparoscopia

O sêmen congelado utilizado neste estudo foi proveniente da empresa Top In Life Biotecnologia & Genética Animal®, com certificação de qualidade baseado nas exigências mínimas do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (2013), ou seja, apresentou no momento do descongelamento 30 % de motilidade espermática progressiva retilínea, 3 de vigor espermático, até 20 % de defeitos espermáticos totais e ausência de contaminação microbiológica. Para a utilização do mesmo, realizou-se o descongelamento em banho maria a 37 °C por 30 segundos, com posterior secagem, corte da palheta e preparação do aplicador de sêmen.

Antes das inseminações, os animais foram submetidos ao jejum hídrico de 12 horas e alimentar de 24 horas para facilitar a visualização da genitália interna após insuflação com CO₂. As ovelhas foram colocadas em decúbito dorsal e contidas em uma maca cirúrgica para a realização da tricotomia e antissepsia da região abdominal com uma solução de iodopovidona. Em seguida foi realizado o seguinte protocolo anestésico (curto): **Minuto 0**: 2 mL (via intramuscular) de sulfato de atropina a 1 %; **Minuto 10**: Associação de 60 mg/kg de cloridrato de cetamina e 8 mg/kg de cloridrato de xilazina (via intravenosa).

Após a indução anestésica, o animal foi mantido em um ângulo de 45 a 60° de cabeça para baixo na maca cirúrgica e incisou-se a região abdominal aproximadamente 6 cm anterior ao úbere e 5 cm lateralmente a linha média, tendo cada incisão 1 cm de comprimento, suficiente para a introdução do trocater (Ø 5 mm) por onde foi insuflado o dióxido de carbono (CO₂). Uma segunda incisão foi realizada no lado oposto à primeira, no intuito de se introduzir um segundo trocater por onde foi acoplado o endoscópio rígido. A inseminação artificial propriamente dita foi realizada com auxílio de um aplicador de sêmen acoplado em uma bainha com agulha, previamente preparado, utilizando-se a via do primeiro trocater e depositando-se o sêmen na curvatura maior (região média) por meio de uma punção de ambos os cornos uterinos. Após o procedimento, foi retirado o excesso de CO₂ da cavidade abdominal, retirada dos trocateres, realizou-se a sutura da pele e a liberação do animal.

No intuito de se evitar o estresse contínuo no pós-operatório, o curativo foi realizado somente uma vez, logo após o procedimento, utilizando álcool iodado (2 %), pomada cicatrizante (nitrofurazona 2 mg/g) e *spray* repelente (Organnact® Prata), bem como o uso de antibióticos e anti-inflamatórios (Pencivet Plus PPU® - 10.000 UI/Kg - IM) em dose única.

Figura 2. Técnica de inseminação artificial por laparoscopia com auxílio de trocateres, endoscópio rígido, fonte de luz e aplicador de sêmen.



Fonte: Arquivo pessoal (2019)

4.6. Diagnóstico de gestação

O diagnóstico de gestação (DG) foi realizado 30 dias após a inseminação artificial, com auxílio de um aparelho de ultrassonografia equipado com transdutor linear multifrequencial (5,0 a 7,5 MHz – WELL. D ELETRONICS®/WED – 9618V).

4.7. Análises estatísticas

A taxa de prenhez $[(N^\circ \text{ de fêmeas prenhes}/N^\circ \text{ de fêmeas inseminadas}) \times 100]$, taxa de prolificidade $[(N^\circ \text{ de crias}/N^\circ \text{ de partos}) \times 100]$ e tipo de gestação foram comparados entre os grupos após inseminação via laparoscópica pelo teste do Qui-quadrado a 5% de significância.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre os animais submetidos à indução hormonal com o progestágeno, quatro animais pertencentes ao grupo 1 (eCG) perderam os implantes intravaginais, sendo excluídos do experimento. Já no grupo 2 (FSH), nenhum animal perdeu o implante intravaginal.

A taxa de prenhez foi diferente entre os grupos ($P < 0,05$), em que os animais tratados com eCG e FSH apresentaram 76,2 % e 0 %, respectivamente (Tabela 2). Neste estudo, os valores obtidos para este índice foram inesperados tendo em vista o potencial do FSH exógeno (Folltropin-V) na foliculogênese. De acordo com Boscos et al. (2002), no início da estação reprodutiva, o uso de 10 UI de FSH após tratamento de MAP (12 dias) permitiu a manifestação de estro em 87,5% das ovelhas em relação às que receberam 5 UI de FSH (62,5%), 2,5 UI de FSH (37,5%) ou 400 UI de eCG (33,5%), indicando que o FSH pode promover respostas superiores ao eCG neste momento da estação reprodutiva. Já na metade da estação reprodutiva, o FSH foi tão efetivo quanto o eCG em relação à taxa de estros (90 vs. 92,5%, respectivamente).

Porém, outros fatores também podem ter contribuído para a resposta negativa do uso deste hormônio. De acordo com Neto et al. (2012), o intervalo (horas) da retirada do progestágeno e a ovulação com o uso do FSH foi maior ($P < 0,05$) quando comparado com o eCG, ou seja, 47,5 horas e 61,2 horas, respectivamente. Os autores relataram também que os animais tratados com FSH apresentaram a ovulação no início do metaestro (5,56 horas depois do final

do estro), enquanto que os tratados com eCG ovularam no terço final do estro (8,31 horas antes do final do estro). Neste estudo, os animais foram inseminados a partir de 48 horas da retirada do progestágeno, podendo-se sugerir que a ausência da prenhez ocorreu em decorrência da resposta tardia do FSH exógeno no início do estro e momento da ovulação.

Apesar das instruções repassadas sobre o fornecimento do concentrado e volumoso para os animais, observou-se que nos dias das inseminações o escore de condição corporal do grupo tratado com FSH estava inferior (2,0 a 2,25) ao do eCG (2,5 a 3). Este fato foi evidenciado pela equipe e confirmado pelo relato do colaborador em que o produtor forneceu o concentrado somente a partir do dia da inseminação para ambos os grupos, representando uma variável de risco para os resultados negativos do grupo FSH. Sabendo que a atividade hipotalâmica-hipofisária depende do bom aporte energético, supõe-se que o baixo escore corporal possa ter influenciado a produção/secreção de LH para a indução da ovulação. Segundo Franco et al. (2016), os efeitos da nutrição são mediados diretamente sobre o GnRH e sobre as gonadotrofinas. Portanto, o decréscimo da secreção pulsátil de GnRH é a maior causa da reduzida secreção pulsátil de LH.

Imediatamente antes das inseminações, as palhetas de sêmen descongeladas foram avaliadas em microscopia óptica com aumento de 400X e confirmadas à qualidade das mesmas pela avaliação da motilidade espermática progressiva retilínea e vigor espermática, baseada no padrão de qualidade da empresa fornecedora. Desta forma, descartou-se a possibilidade do uso de amostras de qualidade questionável.

No presente trabalho, para o grupo eCG, registrou-se 137,5 % de taxa de prolificidade, corroborando com Ali (2007) e Murphy (2012) que afirmaram sobre a ação deste hormônio sobre as ovulações múltiplas, em que o uso do eCG aumenta o desenvolvimento folicular e a prolificidade em ovelhas em regiões subtropicais. Em alguns sistemas de produção como o de ovinos para corte, não é desejada a cria de dois ou mais animais devido à concorrência pelo leite materno, comprometendo o desempenho ponderal e peso a desmama. Já em outros, os partos gemelares são vistos como indicadores de melhoramento genético e melhor relação custo/benefício para animais destinados ao abate. Neste contexto, observou-se a ocorrência de gestações simples e múltiplas (duplas e triplas) no grupo eCG, representando 68,8 %, 25 % e 6,2 %, respectivamente.

Tabela 2 – Valores percentuais da taxa de prenhez, taxa de prolificidade e tipo de gestação das ovelhas inseminadas por laparoscopia de acordo com o tratamento hormonal nos protocolos de IATF.

Índices	eCG	FSH
Taxa de prenhez (%)	76,2 (16/21) ^a	0,0 (0/25) ^b
Taxa de prolificidade (%)	137,5 (22/16) ^a	-
Tipo de Gestação		
Gestações simples (%)	68,8 (11/16) ^A	-
Gestação dupla (%)	25,0 (4/16) ^B	-
Gestação tripla (%)	6,2 (1/16) ^C	-

Valores seguidos de letras minúsculas na mesma linha diferem entre si ($p < 0,05$) pelo Teste Qui-Quadrado. Valores seguidos de letras maiúsculas na mesma coluna diferem entre si ($p < 0,05$) pelo Teste Qui-Quadrado.

6. CONCLUSÕES

Nas condições em que o estudo foi realizado, concluiu-se que a substituição do eCG pelo FSH não foi eficaz nos protocolos de sincronização do estro, bem como sobre a taxa de prenhez de ovelhas Santa Inês.

Com base nos achados negativos em contraste com a literatura, sugerem-se novas pesquisas para a confirmação da possível eficácia do FSH nos programas de IATF de ovinos, principalmente no que se refere ao melhor momento para a IA, em relação à ocorrência da ovulação.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALI, A. Effect of time of eCG administration on follicular response and reproductive performance of FGA-treated Ossimi ewes. **Small Rumin Res**, v.72, p.33-37, 2007.
- ALVARES, C. T. G; CRUZ, J. F; FERREIRA, M. L. Técnicas de inseminação artificial e implicações fisiopatológicas em ovinos. **PubVet**. v. 9, n. 5, p. 220-231, Maringá, 2015.
- BARIL, G; LEBOEUF, B; SAUMANDE, J. Synchronization of estrus in goats: The relationship between time of occurrence of estrus and fertility following artificial insemination. **Theriogenology**. v. 40. n. 3. p. 621-628, 1993.
- BOSCOS, C. M; SAMARTZI, F. C; DELLIS, S; ROGGE, A; STEFANAKIS, A; KRAMBOVITIS, E. Use of progestagen - gonadotrophin treatments in estrus synchronization of sheep. **Theriogenology**, v.58. n.7. p.1261-1272, 2002.
- CASALI, R; PINCZAK, A; CUADRO, F; GUILLEN-MUNOZ, J. M; MEZZALIRA, A; MENCHACA, A. Semen deposition by cervical, transcervical and intrauterine route for fixed-time artificial insemination (FTAI) in the ewe. **Theriogenology**. v. 103. p. 30-35, 2017.
- CARVALHO, J. S. **Sincronização do estro e da ovulação em ovelhas da Raça Santa Inês após tratamento com progestágeno novo e reutilizado associado a eCG ou FSHp**. 2009. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Medicina Veterinária) - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, 2009.
- CASTILHO, C; ALMEIDA, M. F; COSTA, M. Z; CESARE, A. G; FILHO, L. R. A. G. Protocolos de indução e sincronização do estro em ovelhas. **Ciência Animal Brasileira**. v.14. n. 1. p. 91-97, 2013.
- COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. 3. ed. Belo Horizonte: CBRA, 2013.
- COMBARNOUS, Y; SALESSE, R; GARNIER, J. Physico-Chemical properties of pregnant mare serum gonadotropin. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Protein Structure**. v. 667. n. 2. p. 267-276, 1981.

DIAS, F. E. F; JUNIOR. E. S. L; VILLAROEL, A. B. S; RONDINA, D; FREITAS, V. J. F. 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**. v. 53. n. 5. p. 618-623, 2001.

DRION, P. V; ROOVER, R. D; HOUTAIN, J. Y; MCNAMARA, E. M; REMY, B; SULON, J; BECKERS, J. F. Increase of plasma eCG binding rate after administration of repeated high dose of eCG to cows. **Reproduction Nutrition Development**. v. 41. n. 3. p. 207-215, 2001.

FATET, A; PELLICER-RUBIO; M.T, LEBOEUE, F. B. Reproductive cycle of goats. **Animal Reproduction Science**, v.124, p.211-219, 2011.

FONSECA, J. F. **Estratégias para o controle do ciclo estral e superovulação em ovinos e caprinos**. In: Congresso Brasileiro de Reprodução Animal. 16. 2005, Goiânia, GO. **Anais: Palestras**. Goiânia: Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 2005.

FONSECA, J. F. **Bioteχνologias da reprodução em ovinos e caprinos**. 1. ed. Sobral: Embrapa, 2006.

FONSECA, J. F; CRUZ, R. C; OLIVEIRA, M. E. F; FABJAN, J. M. G. S; VIANA, J. H. M. **Bioteχνologias aplicadas à reprodução de ovinos e caprinos**. 1. ed. Brasília: Embrapa. 2014. 110 p.

FREITAS, V. J. F; RONDINA, B. JÚNIOR, E. S. L; TEIXEIRA, D. I. A; PAULA, N. R. O. Hormonal treatments for the synchronisation of oestrus in dairy goats raised in the tropics. **Reproduction, fertility and Development**. v. 16, p. 415-420, 2004.

FRANCO, G. L; FARIA, F. J. C; OLIVEIRA, M. C. Interação entre nutrição e reprodução em vacas de corte. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.37, n. 292, p. 36 – 33. 2016.

GOMES, S. P; SOUZA, G. M; SILVEIRA, P. F. P. Avaliação da taxa de fertilidade em ovelhas inseminadas com sêmen resfriado comparado à monta natural. **Cient. Ciên. Biol. Saúde**. São Paulo. v. 12. n. 4. p. 15-8, 2010.

GORDON, I. **Controlled reproduction in sheep and goats**. New York: CAB international, 1997. 450 p.

GRANADOS, L. B. C; DIAS, J. A. C; SALES, M. P. **Aspectos gerais da reprodução de caprinos e ovinos**. 1. ed. Rio de Janeiro: Universidade Estadual do Norte Fluminense. 2006.

HAFEZ, E. S. E. **Reprodução Animal**. 6. ed. São Paulo: Manole, 1988, 582p, 1995.

IBGE - **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. 2018. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/ppm/quadros/brasil/2018>. Acesso em: 01 dez. 2019.

IWAMURA, J. **Avaliação dos protocolos de sincronização de estro em ovelhas, com diferentes tempos de exposição aos progestágenos e distintas doses de eCG**. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho”, Botucatu, 2008.

JAINUDEEN, M.R, WAHID, H, HAFEZ, ESE. **Ovulation induction, embryo production and transfer**. 7. ed. New York: Lippincott Williams & Wilkins (Baltimore), 2000. 405–430p.

JUNIOR, K. C; TRIGO, Y. Inseminação artificial em tempo fixo. **PubVet**. v.9.n. 1. p. 45-51, Maringá, 2015.

PINTO, J. M. **eCG e densidade vascular em úteros bovinos**. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

KARAGIANNIDIS, A; VARSAKELI, S; ALEXOPOULOS, C; AMARANTIDIS, I. Seasonal variation in sêmen characteristics of Chios and Friesian rams in Greece. **Small Ruminants Research**. v.37. n. 1-2. p. 125-130, 2000.

KERSHAW, C. M;KHALID, M; MCGOWAN, M. R; INGRAM, K; LEETHONGDEE, S; WAX, G; SCARAMUZZI, R. J. The anatomy of sheep cervix and its influence on the transcervical passage of an inseminating pipette into the uterine lumen. **Theriogenology**. v. 64. n. 5. p. 1225-1235, 2005.

KLEIN, B. G. **Cunningham: Tratado de Fisiologia Veterinária**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014.1619 p.

MACHADO, V. P; NUNES, J. F; ARAÚJO, A. A; FERNANDEZ, D. R. P; CORDEIRO, M. A; MEDEIROS, C. H. N; MONTEIRO, A. W. U. Fertilidade após a inseminação artificial intra-cervical ou laparoscópica intra-uterina de ovelhas utilizando diluidores à base de água de coco. **Braz. J. vet. Res. anim. Sci.** São Paulo, v. 43, p. 43-49, 2006.

MANTOVANI, A. P. **Resposta imunológica contra a gonadotrofina coriônica equina (eCG) em novilhas *Bos taurus* e *Bos indicus***. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

- MOREIRA, N. H. **Sincronização do estro de ovelhas Santa Inês utilizando FSH:LH**. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade de Brasília, Brasília-DF, 2013.
- MURPHY, B. D; MARTINUK, S. D. Equine chorionic gnadotrophin. **Endocrine Reviews**, v.12, p. 27 – 44. 1991.
- MURPHY, B. D. Equine chorionic gonadotrophin: an enigmatic but essential tool. **Anim Reprod**, v.9, p.223-230, 2012.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of small ruminants: Sheeps, Goats, Cervids, and new world camelids**. 1. ed. Inglaterra: Nationals Academies Press, 2006. 362p.
- NETO, B. M. C; BARBOSA, L. P; AGUIAR, C. S; SOUZA, R. S; SANTANA, A. L. A; MENDES, C. S; DUTRA, P. A; LEITE, M. C. P. Follicule-stimulating hormone to substitute equine chorionic gonadotropin in the synchronization of ovulation in Santa Inês ewes. **R. Bras. Zootec**. v.41. n.3. p. 603-606, 2012.
- NETO, A. F. Aplicação comercial das biotécnicas reprodutivas em ovinos. **Rev. Bras. Repr. Anim**.supl., v.6, n. 6. p.182-186, 2009.
- NOEL, B; BISTER, J. L; PIERQUIN, B; PAQUAY, R. Effects of FGA and PMSG on follicular growth and LH secretion in Suffolk ewes. **Theriogenology**. n. 41. p. 719-727, 1994.
- RODRIGUES, L. F. S; ARAÚJO, A. A; NUNES, J. F; MOURA, A. A. A; MOREIRA, E. P. Sincronização do estro em ovelhas deslanadas: efeitos de diferentes doses de gonadotrofina coriônica equina sobre a taxa de ovulação. **Rev. Ciên. Agrar**. Belém, n. 41, p. 215-222, 2004.
- RODRIGUES, I. C. S; SALLES, M. G. F; NETO, A. M. V; ROCHA, D. R; SOUZA, P. T; ARAÚJO, A. A. Desempenho reprodutivo de cabras leiteiras submetidas à indução e sincronização do estro com o uso de dispositivos de progesterona reutilizados. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**. v.9. n. 4. p. 622-633, 2015.
- ROY, F; MAUREL, M. C; COMBES, B; VAIMAN, D; CRIBIU, E. P; LANTIER, I; GUILLOU, F. The negative effect of repeated equine chorionic gonadotropin treatment on subsequent fertility in Alpine goats is due to a humoral immune response involving the major histocompatibility complex. **Biology of reproduction**. v. 60. n. 4. p. 805-813, 1999a.

SILVA, B. D. M; SARTORI, R. SILVA, T. A. S. N; CARDOZO, D. M. M; OLIVEIRA, M. A. L; NEVES, J. P. Sincronização de estro com prostaglandina F2a versus progestágeno associado à gonadotrofina coriônica equina (eCG) em ovelhas Santa Inês no Distrito federal, Brasil. **Cien. Anim. Bras.**, Goiânia, v. 11, n. 2, p. 417-424, 2010.

SILVEIRA, R.O. SANTOS, G.M; SILVEIRA, C. O; CHRISTILIS, M; DIAS, J.C.O; OLIVEIRA, C. T. S. A. M. **Taxa de prenhez em cabras submetidas a diferentes protocolos de indução de estro.** Anais: V Simpoc. v. 5. n. 1. p. 569-574. Viçosa, MG. 2013.

SIMPLÍCIO, A, A; R, G, S; FIGUEIREDO, E, A, P; NUNES, J. F. Desempenho produtivo de ovelhas da raça somalis brasileira no nordeste do Brasil. **Pesq. Agropec. Brasil.** v.17. n. 12. p. 1795-1803. Brasília, 1982.

STEWART, F; ALLEN, W. R; MOOR, R. M. Pregnant mare serum gonadotrophin: ratio of follicle-stimulant hormone and luteinizing hormone activities measured by radioreceptor assay. **Journal of Endocrinology.** v. 71.n. 3. p. 371-382, 1976.

URIBE-VELASQUEZ, L. F; OBA, E; HERRERA L. C. L; SOUZA, M. I. L; VELÁSQUEZ, H. V; TRINCA, L. A; FERNANDES, C. A. C. Respostas endócrinas e ovarianas associadas com o folículo dominante da primeira onda folicular em ovelhas sincronizadas com CIDR ou PGF2 α . **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, p.944-953, 2002.