

**EFFECT OF TWO DOSES OF eCG ON FERTILITY, PROLIFICACY AND FECUNDITY IN SERRA DA ESTRELA EWES SUBJECTED TO DOUBLE ARTIFICIAL INSEMINATION**

J. Barbas, C. Baptista, R. Mascarenhas, A.E.M. Horta

Estação Zootécnica Nacional – INIA, Departamento de Fisiologia e Reprodução Animal  
2005-048 Vale de Santarém

*(Aceite para publicação em 24 de Abril de 2001)*

**ABSTRACT**

The Serra da Estrela ewe belongs to the Bordaleiro group and is the best Portuguese milk breed. It has a good reproductive ability and reproduction is possible all year round. Two mating seasons usually occur: the main season is in Spring and the second in Autumn. The aim of this trial was to evaluate the influence of 250 or 500 UI of equine Chorionic Gonadotrophin (eCG) on several reproductive parameters when administered during synchronization treatment. In October, 39 multiparous ewes were synchronized with vaginal sponges of 40 mg of FGA (fluorogestone acetate) during 12 days. When vaginal sponges were removed, 250 UI (n=19) or 500 UI (n=20) of eCG were administered. Twenty hours after sponge removal there was an attack by vagrant dogs, remaining the groups with 8 ewes (250 UI) and 19 ewes (500 UI) respectively. About 24 hours after sponge removal systematic oestrus detection was carried out every 4 hours during a period of about 56 hours. When the first oestrus was detected, blood was collected at the same interval to detect LH peak. The luteinizing hormone (LH) was measured in peripheral blood plasma through an "ELISA sandwich" immunoenzymatic test. The mean interval between vaginal sponge removal and first oestrus (Rev-Estro, n=22) was  $36.94 \pm 2.68$  hours with no significant differences between groups. The mean interval between vaginal sponge removal and LH peak (Rev-LH, n=20) was  $45.35 \pm 7.01$  hours and no significant differences were observed between groups. In the 500 UI group, two ewes in oestrus have not presented LH peak. The eCG dose did not affect the mean intervals oestrus-LH (Oestrus-LH) and oestrus-1st AI (Oestrus-1st AI) which had in turn the following averages:  $8.76 \pm 7.43$  hours (n=20) and  $12.06 \pm 5.13$  hours (n=22), respectively. AI was carried out in all ewes (n=27) through the cervix with semen kept at 15°C with a concentration of 250 million spermatozoa per dose (0.25 ml). The 1st and 2nd AI's were carried out  $49.1 \pm 3.65$  hours and  $62.24 \pm 1.57$  hours after vaginal sponge removal,

respectively. The mean interval between artificial inseminations was  $13.14 \pm 4.98$  hours. In the group treated with 250 UI of eCG, fertility, prolificacy and fecundity percentages were 62.5%, 140% and 87.50%, respectively, and in the group treated with 500 UI of eCG, percentages were 47.37%, 144.44% and 68.42%. Global fertility, prolificacy and fecundity were 51.85%, 142,86% and 74.07%, respectively. No significant differences were observed between groups. In conclusion, eCG doses given did not significantly affect the studied reproductive parameters.

Key words: AI, fecundity, fertility, LH, eCG, prolificacy, sheep.

### **EFEITO DE DUAS DOSES DE eCG EM OVELHAS SERRA DA ESTRELA SUBMETIDAS A DUPLA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL SOBRE A FERTILIDADE, PROLIFICIDADE E FECUNDIDADE.**

#### **RESUMO**

A ovelha raça Serra da Estrela pertencente ao grupo Bordaleiro é a melhor raça leiteira Nacional. Apresenta uma boa capacidade reprodutiva e tem a possibilidade de se reproduzir todo o ano. Normalmente são efectuadas duas épocas de cobrição, uma principal na Primavera e uma suplementar no Outono. Neste trabalho pretendeu-se avaliar a influência de 250 ou 500 UI de "equine Corionic Gonadotrophin (eCG), administrada durante o tratamento de sincronização, sobre vários parâmetros reprodutivos. Foram sincronizadas 39 ovelhas múltiparas em Outubro com esponjas vaginais de 40 mg de FGA (acetato de fluorogestona) durante 12 dias e no momento da retirada das esponjas vaginais foram administradas 250 UI (n=19) ou 500 UI (n=20) de eCG. Vinte horas após a remoção das esponjas vaginais houve um ataque de cães vadios ficando os dois grupos reduzidos a 8 ovelhas (250 UI) e 19 ovelhas (500 UI) respectivamente. Cerca de 24 horas após a remoção das esponjas vaginais começaram a ser realizadas detecções sistemáticas do estro a todas as ovelhas, a intervalos de 4 horas, e durante um período aproximado de 56 horas a partir do 1º estro detectado, foram efectuadas colheitas de sangue com o mesmo intervalo para detecção do pico de LH. A hormona luteinizante (LH) foi doseada no plasma das amostras recolhidas utilizando um teste imunoenzimático de tipo "ELISA sandwich". O intervalo médio remoção da esponja vaginal-início do estro (Rev-Estro) foi de  $36,94 \pm 2,68$  horas, não havendo diferenças significativas entre grupos. O intervalo médio remoção da esponja vaginal-pico de LH (Rev-LH) (n=20) foi de  $45,35 \pm 7,01$  horas, não sendo diferente entre grupos. No grupo de 500 UI, duas ovelhas que manifestaram estro não mostraram pico de LH. A dose de eCG não afectou os intervalos médios estro-LH (Estro-LH) e estro-

1ª IA (Estro-1ª IA) cujas durações médias foram, respectivamente,  $8,76 \pm 7,43$  horas ( $n=20$ ) e  $12,06 \pm 5,13$  horas ( $n=22$ ). As IA foram efectuadas em todas as ovelhas ( $n=27$ ), por via cervical utilizando sémen refrigerado ( $15\text{ C}^\circ$ ) com uma concentração de 250 milhões de espermatozóides por dose (0,25 ml). A 1ª IA e a 2ª IA foram efectuadas às  $49,1 \pm 3,65$  horas e  $62,24 \pm 1,57$  horas após a remoção das esponjas vaginais, sendo o intervalo médio entre as inseminações artificiais de  $13,14 \pm 4,98$  horas. No grupo tratado com 250 UI de eCG a fertilidade, prolificidade e fecundidade foram respectivamente 62,5%, 140% e 87,50%. No grupo injectado com 500 UI de eCG, os parâmetros correspondentes foram 47,37%, 144,44% e 68,42%. Não se observaram diferenças significativas entre grupos, sendo a fertilidade, prolificidade e fecundidade globais de 51,85%, 142,86% e 74,07%, respectivamente.

As doses de eCG utilizadas nas condições em que se realizou este trabalho, não influenciaram significativamente os parâmetros estudados.

Palavras chave: estro, fecundidade, fertilidade, IA, LH, ovinos, eCG, prolificidade.

## INTRODUÇÃO

A ovelha Serra da Estrela tem uma boa rusticidade e é a melhor raça leiteira Portuguesa (Sobral, *et al.*, 1987 e Diniz, R., 1998) sendo por isso explorada exclusivamente em sistemas de exploração de leite. Os níveis de produção variam entre efectivos dependendo do grau de selecção e das condições de manejo principalmente alimentares e sanitárias. O leite é destinado fundamentalmente ao fabrico do queijo da Serra e os borregos comercializados precocemente são normalmente um subproduto da sua exploração. É uma raça poliéstrica tendo a possibilidade de se reproduzir ao longo do ano, todavia os períodos mais favoráveis à reprodução são o Outono e o final da Primavera-Verão (Barbas *et al.*, 1991). A taxa de ovulação avaliada em 267 exames laparoscópicos foi de 1,3 (Barbas *et al.*, 1991). No sistema tradicional de exploração, em que é efectuada uma época principal de cobrição na Primavera e uma complementar no Outono são citadas fertilidades de 90-95%, prolificidades de 120-150% e fecundidades de 110-140% (Sobral *et al.*, 1987).

A inseminação artificial (IA) é essencial em qualquer programa de melhoramento, porque permite uma mais intensa utilização de animais de elevado padrão genético, podendo contribuir assim para um mais rápido melhoramento das raças autóctones (Bettencourt *et al.*, 1997). O recurso simultâneo à sincronização do estro e indução da ovulação permite uma concentração dos partos facilitando a sua supervisão. O aumento da prolificidade geralmente associado ao tratamento de

sincronização origina um aumento de produtividade que, em termos económicos, pode compensar o aumento dos custos devidos à utilização da técnica de IA. A utilização da inseminação artificial permite ainda o melhoramento da eficiência reprodutiva durante os períodos mais desfavoráveis à reprodução, devido ao controlo do estro e indução da ovulação, possibilitando uma intensificação reprodutiva. Os machos utilizados são submetidos a rigoroso controlo sanitário permitindo reduzir a disseminação de doenças.

A eCG é uma hormona essencial nos programas de sincronização do estro e indução da ovulação permitindo obter melhores resultados quando se pratica a inseminação artificial em horas fixas pré-determinadas e também um aumento da taxa de ovulação (Gordon, 1983; Cognie e Scaramuzzi, 1988).

Um dos factores limitantes da difusão da IA nos ovinos é a obtenção de taxas de fertilidade inferiores às obtidas por monta natural, consequência principalmente da dificuldade de deposição do sémen na cavidade uterina devido às características anatómicas do canal cervical (Halbert *et al.*, 1990). Os resultados da IA podem ser melhorados através do aumento da concentração de espermatozóides por dose e com a sua deposição mais profundamente no canal cervical (FAO, 1993 e Evans e Maxwell, 1990). Parece haver um ligeiro acréscimo (5-10 %) na fertilidade quando são efectuadas duas IA comparativamente a uma só IA (Collas *et al.*, 1973; El-Gaafary *et al.*, 1986; FAO, 1993).

Neste trabalho pretendeu avaliar-se o efeitos de duas doses de eCG (250 e 500 UI), sobre os intervalos fisiológicos retirada das esponjas vaginais – estro (Rev-Estro), retirada das esponjas vaginais – pico de LH (Rev-LH), estro – pico de LH (Estro-LH) e sobre os parâmetros reprodutivos fertilidade, prolificidade e fecundidade.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Animais e tratamentos

Este ensaio decorreu no Departamento de Reprodução da Estação Zootécnica Nacional. As ovelhas foram mantidas em pastoreio e suplementadas nos períodos de escassez de erva com silagem de milho ou feno de uma consociação de aveia (*Avena sativa*) e ervilhaca (*Vicia sativa*), mantendo os animais uma boa condição corporal de 3,5 determinado segundo o método de Russel *et al.* (1969).

Foram sincronizadas 39 ovelhas múltiparas da raça Serra da Estrela com idades compreendidas entre os 3-5 anos. A sincronização do estro e indução da ovulação foi realizada no

mês de Outubro com esponjas vaginais contendo 40 mg de FGA (acetato de fluorogestona, Chronogest®, Intervet), durante 12 dias. No momento da retirada das esponjas vaginais (Rev) foram constituídos dois grupos aleatoriamente que receberam respectivamente 250 (n=19) ou 500 UI (n=20) da gonadotrofina eCG (equine Chorionic Gonadotrophin, Intergonan®, Intervet). Entre a Rev e a detecção do estro houve ataques de cães vadios ao efectivo, provocando a exclusão de 12 animais da avaliação dos resultados. O efectivo ficou assim reduzido a 27 ovelhas; 8 no grupo tratado com 250 UI e 19 no grupo tratado com 500 UI. Esporadicamente no decurso da ensaio continuaram a verificar-se ataques de cães que não originaram mais perdas de animais.

Exceptuando a dose de eCG não houve diferenças de manejo e ou tratamento nos animais sincronizados.

### **Avaliação da actividade sexual e ovárica**

Cerca de 24 horas após a remoção das esponjas vaginais (Rev) foi iniciada a detecção do estro a todos os animais existentes (n=27) com carneiro vasectomizado a intervalos de 4 horas até cerca de 56 horas após o primeiro animal ter manifestado estro. Sempre que uma ovelha era detectada com estro era separada do grupo continuando as detecções de estro aos restantes animais.

As ovelhas que manifestaram estro, foram utilizadas para a determinação das concentrações de LH no momento do pico pré-ovulatório e as concentrações médias de LH, isto é, excluindo os doseamentos efectuados no momento do pico pré-ovulatório. Nestes animais foram efectuadas colheitas de sangue com seringas heparinizadas, a intervalos de 4 horas, desde o momento de detecção do estro até 56 horas depois. Após a recolha, o sangue foi centrifugado a 2500 rpm, durante 20 minutos, sendo separado o plasma e congelado a -20°C.

Para confirmar a existência de luteólise no momento do estro, doseou-se a progesterona (P4) pelo método do Radioimunoensaio ( $I^{125}$  -Progesterone Coatria RIA Kit®, BioMérieux, France), utilizando o  $I^{125}$  como marcador radioactivo.

O intervalo de 4 horas utilizado na recolha de sangue destinado ao doseamento plasmático da hormona luteinizante (LH) é apropriado para a detecção do pico de LH (Bindon *et al.*, 1979; Barbas, 1998; Gonçalves *et al.*, 1997; Reprokit®, France; Scaramuzzi *et al.*, 1980 e Schanbacher *et al.*, 1989). O pico pré-ovulatório de LH foi identificado através do doseamento plasmático da hormona luteinizante (LH), para o que foi utilizado um teste imunoenzimático de tipo Elisa-Sandwich (Reprokit®-Sanofi Sante Nutrition Animale, France). Os valores obtidos foram expressos em unidades de densidade óptica (u.d.o), sendo o pico de LH considerado como o valor mais elevado lido entre duas séries de

valores basais (Barbas e Mascarenhas, 1997; Barbas, 1998). Em 18 animais utilizados para doseamentos da LH, determinaram-se as médias e os intervalos de confiança ( $P < 0,01$ ) de todos os doseamentos considerados basais ( $n=154$ ) e dos classificados como pico ( $n=18$ ). A média dos picos (média  $\pm$  intervalo de confiança:  $1268,8 \pm 345,7$  u.d.o.) foi 6,2 vezes superiores à dos valores basais ( $205,8 \pm 36,4$  u.d.o.). Noutro trabalho por nós efectuado (Barbas, 1998), verificámos que em 39 ovelhas que ovularam (confirmado por endoscopia), 32 (82 %) exibiram pico pré-ovulatório de LH utilizando o mesmo critério. Os coeficientes de variação intra-ensaio e inter-ensaio, respectivamente 4,6 e 8,76 %, foram determinados em doseamentos que decorreram contemporaneamente num total de 70 amostras doseadas em duplicado em seis sessões (Cavaco Gonçalves *et al.*, 1997).

Foi avaliado o efeito das duas doses (250 ou 500 UI) de eCG sobre os intervalos fisiológicos Rev-Estro, Rev-LH, Estro-LH, Estro-1<sup>a</sup> IA e sobre os parâmetros reprodutivos fertilidade, prolificidade e fecundidade.

### **Recolha, preparação do sémen e IA**

O sémen foi recolhido com vagina artificial, utilizando uma ovelha em estro induzido, e imediatamente colocado em banho-maria à temperatura de 30 °C.

Foram avaliados os seguintes parâmetros: o volume (ml), a mobilidade massal (0-5), a percentagem de espermatozóides móveis e a concentração espermática ( $N \times 10^9/ml$ ) utilizando um espectrofotómetro (450 nm).

Foram unicamente utilizados os ejaculados com mobilidade massal  $\geq 3$  e percentagem de espermatozóides móveis  $\geq 80$ . Foram utilizados  $250 \times 10^6$  espermatozóides por dose de IA (palhinha de 0,25 ml), diluídos em meio à base de leite desnatado (Colas *et al.*, 1973) e refrigerado a +15°C. O intervalo médio entre a diluição e refrigeração do sémen e a inseminação artificial foi de 2 a 3 horas.

Foram efectuadas duas IA (cervical) por ovelha às 49 e às 62 horas após Rev.

Os parâmetros reprodutivos avaliados foram os seguintes: fertilidade ( $n^\circ$  de ovelhas paridas/ $n^\circ$  de ovelhas inseminadas  $\times 100$ ), prolificidade ( $n^\circ$  de borregos nascidos/ $n^\circ$  de ovelhas paridas  $\times 100$ ) e fecundidade ( $n^\circ$  de borregos nascidos/ $n^\circ$  de ovelhas inseminadas  $\times 100$ ).

Na análise estatística dos resultados foi utilizada a análise de variância (ANOVA), o teste das menores diferenças significativas (LSD), o Mann-Whitney U Test. O nível de significância utilizado foi de 5 %.

## RESULTADOS

No grupo tratado com 250 UI de eCG (n=8), o estro foi detectado em 7 ovelhas, enquanto no grupo tratado com 500 UI de eCG (n=19), foi detectado em 15 ovelhas.

No grupo 250 UI, o intervalo médio remoção da esponja vaginal-início do estro (Rev-Estro) (n=7) foi de  $37,07 \pm 2,4$  horas (Quadro I), enquanto no grupo 500 UI, o intervalo Rev-Estro foi de  $36,88 \pm 2,7$  horas (n=15), não havendo diferenças significativas entre grupos. O valor médio do intervalo em todos os animais foi de  $36,94 \pm 2,7$  horas (n=22).

Quadro I - Intervalos Rev-Estro (média  $\pm$  d.p.) nos dois grupos tratados com eCG.

eCG	n	Rev-Estro (m $\pm$ dp)*
250	7	37,07 $\pm$ 2,37
500	15	36,88 $\pm$ 2,89
Total	22	36,94 $\pm$ 2,68

\*Diferenças não significativas (p=0,88).

No grupo tratado com 250 UI de eCG, o intervalo médio remoção da esponja vaginal-pico de LH (Rev-LH) foi de  $46,86 \pm 10,8$  horas (n=7). No grupo tratado com 500 UI este intervalo foi de  $44,53 \pm 4,4$  horas (n=13), não havendo diferenças significativas entre grupos (p=0,5). O intervalo médio no conjunto dos animais foi de  $45,35 \pm 7,0$  horas (n=20) (Quadro II). Em duas ovelhas no grupo tratado com 500 UI de eCG, foi detectado o estro mas não o pico pré-ovulatório da LH que foi anteriormente dito que está compreendido entre uma série de valores basais.

Quadro II - Intervalos Rev-LH (média  $\pm$  d.p.) nos dois grupos tratados com eCG.

eCG	n	Rev-LH(m $\pm$ dp)*
250	7	46,86 $\pm$ 10,82
500	13	44,53 $\pm$ 4,38
Total	20	45,35 $\pm$ 7,01

\*Diferenças não significativas (p=0,50).

Também não foram observadas diferenças significativas (p=0,66) entre os intervalos médios Estro-LH nos grupos tratados com 250 e 500 UI de eCG. Os valores observados foram respectivamente  $9,79 \pm 11,8$  horas e  $8,21 \pm 4,1$  horas. O valor médio observado no total de animais foi de  $8,76 \pm 7,4$  horas (Quadro III).

Quadro III - Intervalos Estro-LH (média ± d.p.) nos dois grupos tratados com eCG.

eCG	n	Estro-LH(m±dp)*
250	7	9,79±11,78
500	13	8,21±4,12
Total	20	8,76 ±7,43

\*Diferenças não significativas (p=0,66).

O intervalo médio Estro-1<sup>a</sup> IA foi de 9,49 ± 4,7 horas (n=7) no grupo tratado com 250 UI de eCG sendo de 13,26 ± 5,02 horas (n=15) no grupo tratado com 500 UI de eCG. Não houve diferenças significativas entre grupos (p=0,109), sendo o intervalo médio global de 12,06 ± 5,13 horas (n=22) (Quadro IV).

Quadro IV - Intervalos Estro-1<sup>a</sup> IA (média ± d.p.) nos dois grupos tratados com eCG.

eCG	n	Estro-1 <sup>a</sup> IA (m±dp)*
250	7	9,49±4,7
500	15	13,26±5,02
Total	22	12,06 ±5,13

\*Diferenças não significativas (p=0,11).

No grupo 250 UI de eCG (n=8) a fertilidade, a prolificidade e a fecundidade foram, respectivamente, 62,50 %, 140 % e 87,50 % e no grupo 500 UI de eCG (n=19) os parâmetros correspondentes foram 47,37 %, 144,44 % e 68,42 %, não havendo diferenças significativas entre grupos. Os valores médios globais foram, respectivamente, 51,85 %, 142,86 % e 74,07 % (Quadro V).

Quadro V - Fertilidade, prolificidade e fecundidade nos grupos tratados com 250 e 500 UI de eCG.

eCG	IA (n)	Paridas (n)	Borregos (n)	Fertilidade (%)	Prolificidade (%)	Fecundidade (%)
250 *	8	5	7	62,5	140	87,5
500 *	19	9	13	47,37	144,44	68,42
Total	27	14	20	51,85	142,86	74,07
* Significância (teste U):				p=0,48	p=0,88	p=0,55

## DISCUSSÃO

Embora a raça ovina Serra da Estrela seja uma raça poliéstrica, a estação do Outono é o período mais favorável à reprodução, observando-se nesta altura a maior percentagem de ovelhas com ciclicidade ovárica e comportamento sexual (Barbas *et al.*, 1991).

A sincronização do estro e indução da ovulação efectuada no Outono, com 40 mg de FGA e

eCG, permite uma melhor sincronização do estro e indução da ovulação e um aumento da taxa de ovulação, em relação ao estro natural (Hulet e Foote, 1967).

O momento do estro parece ser determinado pela combinação da produção endógena de estradiol e pela sensibilidade sazonal dos centros hipotalâmicos responsáveis pelo comportamento do estro (Webb *et al.*, 1985). A duração do intervalo Rev-Estro parece ser influenciada pela dose de eCG, que ao aumentar a libertação de estradiol pelo folículo pré-ovulatório promove um encurtamento da duração deste intervalo (Chemineau *et al.*, 1982). No entanto, neste estudo, não foram observadas diferenças significativas nos intervalos Rev-Estro em função da dose de eCG (250 vs. 500 UI). Observações anteriores em ovelhas Serra da Estrela não tratadas com eCG indicam um valor médio de 48,7 horas para o intervalo Rev-Estro (Barbas, 1998), o que parece confirmar um efeito de redução exercido pela eCG (36,9 horas). A duração média do intervalo Rev-Estro observada neste ensaio foi semelhante aos resultados obtidos anteriormente em ensaios com apenas uma dose de 500 UI de eCG (36,7 horas) (Barbas *et al.*, 1998). Observações feitas em outras raças indicam variações do intervalo Rev-Estro de 24 a 48 horas (Gordon, 1975; Dyrmondsson e Loftsson, 1989), observando-se variações individuais que podem ser atribuídas a diversos factores como a época do ano, a profundidade do anestro e a fase do ciclo éstrico em que é feita a sincronização.

O pico de LH ocorre cerca de 45,4 horas após a retirada das esponjas, o que confirma observações anteriores na mesma raça com 500 UI de eCG (45,3 horas) (Barbas *et al.*, 1998). Também não foram observadas diferenças significativas em relação à dose de eCG utilizada (250 vs. 500 UI), mas estes intervalos Rev-LH foram mais curtos que os observados em ovelhas não tratadas com eCG (56,2 horas) (Barbas, 1998). A injeção de eCG aumenta a proporção de grandes folículos não atresicos e os níveis plasmáticos de  $17\beta$ -estradiol no dia que antecede a descarga pré-ovulatória de LH (Chemineau *et al.*, 1982), condicionando assim a duração do intervalo entre a regressão folicular e o pico pré-ovulatório de LH (Scaramuzzi *et al.*, 1993). Cognie e Scaramuzzi (1988) observaram intervalos médios de 44-48 horas, mas estes intervalos parecem reduzir-se em ovelhas de raças naturalmente prolíficas ou em ovelhas em que foram administradas doses superiores a 750 UI de eCG, com maior número de ovulações presentes. Em ovelhas Serra da Estrela superovuladas com 1500 UI de eCG, este intervalo encurta-se para 32,3 horas (Cavaco Gonçalves *et al.*, 1997).

A dose de eCG não influenciou significativamente o intervalo Estro-LH (8,8 horas), resultados semelhantes aos obtidos sem a administração de eCG (8 horas) (Barbas, 1998). Robinson (1988) refere valores de  $4,5 \pm 0,7$  horas e Rhind *et al.*, 1985 indicam  $6,6 \pm 0,5$  horas para o intervalo Estro-LH, não parecendo que este intervalo seja influenciado significativamente pela taxa de ovulação. Cavaco Gonçalves *et al.* (1997) encontraram valores de  $4,61 \pm 0,75$  horas para este intervalo,

utilizando 1500 UI de eCG.

As ovelhas foram inseminadas com sémen refrigerado independentemente de terem manifestado estro, tendo-se verificado que 82 % das ovelhas o manifestaram previamente. Em programas comerciais de IA, esta é realizada, a momento fixo e pré-determinado relativamente ao momento da retirada das esponjas vaginais, pois são submetidas a um tratamento hormonal de sincronização do estro e indução da ovulação. Em termos de manejo não seria fácil efectuar a detecção do estro a efectivos de média ou grande dimensão previamente à IA. No nosso trabalho o momento das IA foi adequado quer referenciado à retirada das esponjas vaginais quer relativamente ao início do estro (Colas *et al.*, 1973; Evans e Maxwell, 1990; FAO, 1993).

O número de espermatozóides móveis em cada IA também influencia a fertilidade, sendo recomendados 400 a 500 milhões por dose (Colas *et al.*, 1974, citado por Várzea Rodrigues, 1990), sobretudo se apenas se utiliza uma só IA por estro. Em cada IA foram utilizados 250 milhões de espermatozóides, valor inferior ao que é referido anteriormente. Na raça Merino Branco, Bettencourt (1999) obteve fertilidades de 33 e 55 % utilizando concentrações inferiores e superiores a 300 milhões/dose, respectivamente.

Neste ensaio, não foram observadas influências significativas da dose de eCG (250 vs. 500 UI) sobre os resultados reprodutivos notando-se valores numericamente mais elevados com a dose de 250 UI, o que pode dever-se ao pequeno número de animais utilizados neste grupo que foi motivada pelos motivos atrás referidos. Em trabalho anterior, Barbas *et al.* (1998) também observaram uma tendência para doses mais altas de eCG afectarem negativamente a fertilidade. O efeito da dose de eCG sobre a fertilidade é contraditório, sendo que alguns autores não encontraram qualquer influência eCG-fertilidade (Tibary *et al.*, 1988; Gordon *et al.*, 1983), enquanto outros sugerem que a fertilidade aumenta com a dose de eCG (Colas *et al.*, 1973).

Os valores de fertilidade global obtidos (51,2 %) são aceitáveis quando comparados com os obtidos por outros autores em condições semelhantes (Barbas *et al.*, 1998; Bettencourt *et al.*, 1996; Esteves, 1998). Deve, no entanto, ter-se em conta que este ensaio foi prejudicado pelo ataque por cães vadios que vitimaram 12 ovelhas algumas horas após a REV, além de outros ataques esporádicos que não ocasionaram vítimas. Evans e Maxwell (1990) referiram que os factores de stress no momento da IA e/ou durante a gestação afectam negativamente a fertilidade, pelo que é possível que os resultados tenham sido afectados pelo ataque dos cães.

A dose de eCG aumentou ligeiramente a prolificidade pois esta hormona é estimulante da taxa de ovulação. A dose de 500 UI de eCG é normalmente utilizada nas nossas raças nacionais nos programas de indução do estro e sincronização da ovulação, não apresentando efeitos

superovulatórios. Pensamos que com estas doses seriam possíveis aumentos de 10 a 15 % na prolificidade, facto constatado noutros trabalhos (Barbas *et al.*, 1998; Bettencourt *et al.*, 1996). Relativamente à fecundidade, os nossos resultados foram condicionados pelas fertilidades obtidas, não sendo observadas diferenças significativas entre as duas dosificações de eCG utilizadas.

## CONCLUSÕES

- Não foram observadas influências das doses de eCG (250 vs 500 UI) no momento da retirada das esponjas vaginais sobre os intervalos Rev-Estro, Rev-LH ou Estro-LH, cujos valores médios foram respectivamente 37, 45 e 9 horas.
- Os valores de 49 horas e 62 horas para os intervalos Rev-1<sup>a</sup> IA e Rev-2<sup>a</sup> IA parecem adequados para obter uma boa fertilidade. O estro foi detectado em 82 % das ovelhas inseminadas.
- A dose de eCG (250 vs. 500 UI) em ovelhas submetidas a duas IA durante o período de estro induzido não afectou significativamente os parâmetros reprodutivos avaliados: fertilidade, prolificidade e fecundidade cujas taxas foram respectivamente 52 %, 143 % e 74 %.
- Embora seja necessário um maior número de observações, os resultados deste ensaio sugerem que a dose de eCG poderá ser reduzida, na ovelha Serra da Estrela, sem que seja afectada a eficiência reprodutiva.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barbas, J. 1998. Contribuição para o Melhoramento da Eficiência Reprodutiva das Raças Ovinas Nacionais através da Imunização com Líquido Folicular Bovino. Tese de Doutoramento. Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD).
- Barbas, J. e Mascarenhas, R., 1997. Efeito da imunização com líquido folicular bovino (LFB), sobre os níveis de gonadotrofinas e a taxa de ovulação na ovelha.. 1<sup>o</sup> Congresso Ibérico de Reprodução Animal, Estoril, Portugal, 3-6 de Julho.
- Barbas, J., Mascarenhas, R., Baptista, C. e Ribeiro, J., 1998. Efeito de duas técnicas de manejo reprodutivo (MND e IA) sobre os índices reprodutivos da ovelha Serra da Estrela. In: Jornadas das ovelhas Serra da Estrela e Churra Mondegueira e da cabra Serrana. Sociedade Portuguesa de Ovinotecnia e Caprinotecnia, Viseu, 29-31 de Outubro, Volume 8 (1): 231-247.
- Barbas, J., Mascarenhas, R., Baptista, C. e Horta, A.E.M., 1999. Efeito de duas doses de eCG submetidas a dupla inseminação artificial sobre a fertilidade, prolificidade e fecundidade. In: IX Congresso de Zootecnia, Exponor, 11, 12 e 13 de Novembro.

- Barbas, J., Vasques, M. e Mascarenhas, R., 1991. Actividade ovárica da ovelhas Serra da Estrela: variação sazonal. In: Jornadas Internacionais sobre Reprodução Ovina e Caprina. Sociedade Portuguesa de Ovinotecnia e Caprinotecnia. Évora, 14-16 de Novembro. Volume 2 (1): 151-158.
- Bettencourt, E., 1999. Caracterização de Parâmetros Reprodutivos nas Raças Ovinas Merina Branca, Merina Preta e Campaniça. Tese de Mestrado em Produção Animal. Universidade Técnica de Lisboa. Faculdade de Medicina Veterinária.
- Bettencourt, E., Bettencourt, C., Matos, C. e Simões, J., 1997. Utilização da inseminação artificial em raças ovinas autóctones do sul de Portugal. In: 1º Congresso Ibérico de Reprodução Animal, Vol II, 431-435.
- Bettencourt, C., Gonçalves, C., Simões, J. e Matos, C., 1996. Utilização potencial da inseminação artificial em raças ovinas autóctones. In: VI Congresso de Zootecnia. A Zootecnia e a Valorização dos Recursos Naturais. Resumo das publicações. Évora, 7-9 de Novembro.
- Bindon, B., Blanc, M., Pelletier, J., Terqui., M. e Thimonier, J., 1979. Periovulatory gonadotrophin and ovarian steroid patterns in sheep of breeds with differing fecundity. *J. Reprod. Fert.*, 55, 15-25.
- Cavaco Gonçalves, S., Marques, C.C., Stöckemann, K., Wang, W., Horta, A.E.M., 1997. Influence of an antiprogestin (onapristone) on in vivo and in vitro fertilization. *Anim. Reprod. Sci.*, 46: 55-67.
- Chemineau, P., Gauthier, D., Poirier, J. e Saumande, J., 1982. Plasma levels of LH, FSH, Prolactin, Oestradiol 17  $\beta$  and progesterone during natural and induced oestrus in dairy goats. *Theriogenology*, 17: 313-323.
- Cognie, Y. e Scaramuzzi, R., 1988. Les techniques physiologiques d'accroissement de la fertilité et de la prolificité chez les ovins. In: Proc. 3rd World Cong. Sheep Beef Cattle Breeding. Paris.
- Colas, G., Thimonier, J., Courot, M. e Ortavant, R., 1973. Fertilité, prolificité, et fecondité pendant la saison sexuelle des brebis inseminées artificiellement après traitement a l'acetate de fluorogestone. *Ann. Zootech*, 22 (4): 441-451.
- Diniz, R., 1998. A ovelha Serra da Estrela: origem, características e evolução do livro genealógico. 1as Jornadas das ovelhas Merina da Beira Baixa e Churra do campo e da cabra Charnequeira. Sociedade Portuguesa de Ovinotecnia e Caprinotecnia, Colectânea SPOC, 1997/1998, 105-112.
- Dyrmondsson, O. e Loftsson, E., 1989. Timing of artificial insemination in relation to the duration of oestrus in icelandic sheep. In: Proc. 40 th Ann. Meet. Europ. Assoc. Anim. Prod., Dublin, Volume II: 91-92.
- El-Gaafary, M., Axford, R. e Chamberlain, A., 1986. Artificial insemination. In: "New Techniques in Sheep Production", Butterworths, London, 91-101.
- Esteves, F., 1998. Perspectivas de actividade do centro de testagem de reprodutores Serra da Estrela. In: Resumos das Jornadas das ovelhas Serra da Estrela e Churra Mondegueira e da cabra Serrana. Sociedade Portuguesa de Ovinotecnia e Caprinotecnia, Viseu, 29-31 de Outubro.
- Evans, G. e Maxwell, W., 1990. Inseminacion Artificial de Ovejas e Cabras. Editorial Acribia , S. A. Zaragoza (Espanña).
- FAO (editor), 1993. Manuel de formation pour l' insemination artificielle chez les ovins et les caprins. Étude FAO Production Et Santé Animales, nº 83.

- Gordon, I., 1975. The use of progestagens in sheep bred by natural and artificial insemination. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys*, 15: 303-315.
- Gordon, I., 1983. Artificial control of oestrous and ovulation. In: "Controlled Breeding in Farm Animals. Pergamon Press. Oxford, 181-195.
- Halbert, G., Dobson, H., Walton, J. e Buck, B., 1990. The structure of the cervical canal in the ewe. *Theriogenology*, 33 (5): 977-992.
- Hulet, C. e Foote, W., 1967. Relationship between ovulation rate and reproductive performance in sheep. *J. Anim. Sci.*, 26: 563-566.
- Reprokit ®- Test imunoenzimático de tipo ELISA sandwich permitindo a detecção ou o dosagem de l'hormone lutéinizante (LH) em múltiplas espécies. Sanofi Sante Nutrition Animale, France;
- Rhind, S., Leslie, I., Gunn, R. e Doney, J., 1985. Plasma FSH, LH, prolactin and progesterone profiles of Cheviot ewes with different levels of intake profiles before and after mating, and associated effects on reproductive performance. *Anim. Reprod. Sci.*, 8: 301-303.
- Robinson, T., 1988. Controlled sheep breeding: update 1980-1985. *Aust. J. Biol. Sci.*, 41: 1-13.
- Russel, D., Doney, M. e Gunn, G., 1969. Subjective assesment of body fat in live sheep. *J. Agric. Sci. Camb.*, 72, 451-454.
- Sobral, M, Antero, C., Borrego, J. e Domingos, A., 1987. Recursos Genéticos. Raças Autóctones. Espécies Ovina e Caprina. Direcção Geral da Pecuária. Lisboa.
- Scaramuzzi, R., Adams, N., Baird, D., Campbell, B., Downing, J., Findlay, J., Henderson, K., Martin, G., McNatty, K., Mcneilly, A. e Tsonis, C., 1993. A model for follicle selection and the determination of ovulation rate in the ewe. *Reprod. Fertil. Dev.*, 5: 459-478.
- Scaramuzzi, R., Baird, D., Clarke, I., Martensz, N. e Van Look, P., 1980. Ovarian morphology and the concentration of steroids during the oestrous cycle os sheep actively immunised against androstenedione. *J. Reprod. Fertil.*, 58, 27-35.
- Schanbacher, B., Schemm, S. e Rhind, S., 1989. Gonadotrophin concentration and ovulation rates in Suffolk ewes actively immunized against inhibin alpha. *J. Reprod. Fertil.*, 93, 33-139.
- StatSoft, Inc., 1995. *Statistica for Windows (computer program manual)*. Tulsa, OK: Statsoft, Inc., 2325 East 13 th Street, Tulsa, OK, 74104, USA.
- Webb, R. e Gauld, I., 1985. Folliculogenesis in sheep: control of ovulation rate. In: R. B. Land e D.W. Robinson (editors), "Genetics of Reproduction in Sheep". Butterworths, London, 475-499.
- Tibary, A., Manar, S., Boukliq, R. e Adanani, M., 1988. Factors affecting estrus synchronization in two moroccan breeds of sheep. (Timahdite and D' Man). *Proc. 11 th Int. Cong. Anim. Reprod. Artif. Insem.*, Dublin, Irish Republic, Paper nº 462.
- Várzea Rodrigues, J., 1990. Estudo das Possibilidades de Utilização da Inseminação Artificial em Ovinos da Raça Merino da Beira Baixa. Tese de Mestrado. Faculdade de Medicina Veterinária (U.T.L.)/Estação Zootécnica Nacional.

