

JOSÉ CARLOS FERREIRA DA SILVA

**AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS REPRODUTIVOS DE OVELHAS
DESLANADAS SUBMETIDAS À BIOESTIMULAÇÃO
NA ZONA DA MATA SUL DE PERNAMBUCO**

RECIFE

2016

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA**

JOSÉ CARLOS FERREIRA DA SILVA

**AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS REPRODUTIVOS DE OVELHAS
DESLANADAS SUBMETIDAS À BIOESTIMULAÇÃO
NA ZONA DA MATA SUL DE PERNAMBUCO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência Veterinária.

Orientador: Prof. Marcos Antonio Lemos de Oliveira
Coorientador: Dr. Fernando Tenório Filho

RECIFE

2016

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA

AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS REPRODUTIVOS DE OVELHAS
DESLANADAS SUBMETIDAS À BIOESTIMULAÇÃO
NA ZONA DA MATA SUL DE PERNAMBUCO

Dissertação de Mestrado elaborada por

JOSÉ CARLOS FERREIRA DA SILVA

Apresentado em 09/03/2016

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Marcos Antonio Lemos de Oliveira

Orientador - DMV/UFRPE

Prof. Dr. Paulo Fernandes de Lima

Examinador - DMV/UFRPE

Dr. Fernando Tenório Filho

Examinador - E.E. de Itambé/IPA

Ficha Catalográfica

S586a Ferreira-Silva, José Carlos
Avaliação de parâmetros reprodutivos de ovelhas
deslanadas submetidas à bioestimulação na Zona da Mata
Sul de Pernambuco / José Carlos Ferreira da Silva. – Recife,
2016.
124 f. : il.

Orientador: Marcos Antonio Lemos de Oliveira.
Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciência
Veterinária) – Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Departamento de Medicina Veterinária, Recife, 2016.
Referências.

1. Reprodução animal 2. P4 3 LH. 4. Ovelha 5. I. Oliveira,
Marcos Antonio Lemos de, orientador II. Título

CDD 636.089

**Com amor e carinho a minha família, em especial, aos meus pais, filhos,
esposa, irmão e avós, o amor incondicional que sinto por vocês
é o que me faz querer ir cada vez mais longe!**

**A minha querida avô Djandira Ferreira (*in memoria*)
por acompanhar cada passo meu!**

DEDICO...

AGRADECIMENTOS

Este trabalho mesmo sendo desenvolvido de forma individual, é impossível negar que não houve a contribuição de várias pessoas e que nesse momento devem ser destacados. Em virtude desse fato, tento, em poucas linhas, expressar os meus sinceros agradecimentos:

Inicialmente tenho que agradecer a Deus por tudo que ele me concedeu e proporcionou até hoje em minha vida e por estar sempre comigo iluminando meus passos e por tomar conta das pessoas que tanto amo.

Aos meus pais, Carlos Alberto e Maria Leda, pela minha existência, por todo amor, carinho, orientação, lição de vida e apoio em tudo que faço. Ao meu irmão, Pedro “Nego” Neto, pelo apoio e a certeza que sempre estaremos unidos.

A minha esposa Sarah e aos meus filhos, Miguel meu companheiro de traquinagens e Valentina minha princesa, sou grato pelo carinho, compreensão e incondicional apoio durante minha jornada.

Ao Professor Marcos Antonio Lemos de Oliveira, exemplo de profissional dedicado e extremamente competente, agradeço pela orientação, pelos conselhos e sobretudo pela amizade. Do mesmo modo agradeço a todos os professores da graduação, especialmente aos mestres da área de reprodução, Paulo Lima e Claudio Coutinho pela dedicação e orientação, tanto em sala de aula quanto nas aulas práticas.

Aos profissionais que compartilharam comigo um pouco de suas experiências, especialmente, Leopoldo Mayer, Jorge Motta, Fernando Tenório, Augusto Neto, Marlon Azevedo. Acima de tudo, pessoas de extrema humildade e incomparável competência.

A todos os Professores, do Instituto Federal de Educação campus Vitoria de Santo Antônio, que sempre me incentivaram a fazer o curso de Medicina Veterinária, em especial, a Dr^a Fernanda Meirelles e ao eterno professor e amigo José Augusto (*in memoria*).

A todos os amigos que construí durante o curso, em especial, a Breno Aragão, Douglas Silva, Thiago Duarte, Alexandre poeta, Joane Isis, Cecília Freire, Thatiana Marcela e Marianne Kilma.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco pela oportunidade de realizar essa graduação, bem como a todos os professores e funcionários do curso de Medicina Veterinária.

Por último e não menos importante, aos animais, seres incríveis que sempre estão nos ensinando algo novo a cada dia, que mesmo inocentemente contribuíram de forma imprescindível para a realização desse trabalho.

Obrigado a todos!

“Há verdadeiramente duas coisas diferentes: saber e crer que se sabe.

A ciência consiste em saber; em crer que se sabe reside a ignorância”

(Hipócrates)

RESUMO

Título: Avaliação de parâmetros reprodutivos de ovelhas deslanadas submetidas à bioestimulação na Zona da Mata Sul de Pernambuco

Autor: José Carlos Ferreira da Silva

Orientador: Marcos Antonio Lemos de Oliveira

Nesta Dissertação, constituída de cinco experimentos, avaliou-se a influência do efeito macho sobre parâmetros reprodutivos de ovelhas deslanadas. **No Primeiro Experimento** foi avaliada a influência da distância de separação entre macho e fêmea antes da estação de monta (EM) sobre alguns aspectos fisiológicos de ovelhas acíclicas, com 45 a 60 dias de paridas, da raça Santa Inês submetidas a bioestimulação. As fêmeas ($n = 90$), equitativamente distribuídas nos tratamentos (T1, T2 e T3) foram afastadas dos reprodutores por 1000 m (T1), 300 m (T2) e 3 m (T3) durante 30 dias que antecederam os experimentos. As concentrações médias de P4 ($\eta\text{g/mL}$), respectivamente, antes e no 9º dia depois do contato com o reprodutor foram de $0,62 \pm 0,14/3,35 \pm 0,31$ (T1), $0,75 \pm 0,13/3,75 \pm 0,36$ (T2) e de $0,66 \pm 0,22/3,51 \pm 0,33$ (T3), registrando-se menores ($P \leq 0,05$) concentrações antes de iniciar a EM. O estro ocorreu em 100% das fêmeas até o 33º dia da EM e a maior concentração ocorreu até o 10º dia da EM. Os picos pré-ovulatórios de LH ($\eta\text{g/mL}$) ocorreram até 62 (T1), 42 (T2) e 38 (T3) horas após a introdução do macho, com o folículo ovulatório medindo $7,7 \pm 0,5$ (T1), $7,5 \pm 0,2$ (T2) e $7,6 \pm 0,4$ mm (T3) e a ovulação média sendo de $1,5 \pm 0,2$ (T1), $1,6 \pm 0,1$ (T2) e de $1,4 \pm 0,1$ (T3). A prenhez foi de 90,0% (T1), 86,6% (T2) e de 90,0 (T3) com prolificidade média de $1,30 \pm 0,4$ (T1), $1,38 \pm 0,5$ (T2) e de $1,33 \pm 0,5$ (T3). Não houve diferença ($P \geq 0,05$) entre os tratamentos para todos os parâmetros avaliados. Conclui-se que a distância de separação entre macho e fêmea, anteriormente ao início da EM, não diminui a eficiência do efeito macho em induzir o estro, a ovulação, a prenhez e a prolificidade, permitindo ainda sugerir a redução da EM para 35 dias. **No Segundo Experimento** avaliou-se o desempenho reprodutivo de ovelhas Santa Inês em anestro pós-parto submetidas ao efeito macho utilizando-se diferentes proporções macho-fêmea. As fêmeas ($n = 90$), afastadas dos reprodutores durante 30 dias que antecederam os experimentos, foram equitativamente distribuídas nos tratamentos experimentais, sendo testadas as relações macho-fêmea de 1:20 (RMF20), 1:30 (RMF30) e de 1:40 (RMF40). As concentrações médias de P4 ($\eta\text{g/mL}$), respectivamente, antes e depois do contato com os machos foram de $0,71 \pm 0,20/3,81 \pm 0,25$ (RMF20), $0,66 \pm 0,21/3,74 \pm 0,35$ (RMF30) e de $0,69 \pm 0,15/3,66 \pm 0,34$, registrando-se menores concentrações ($P \leq 0,05$) antes de iniciar a EM. O estro ocorreu em 100% das fêmeas nas RMF20 e RMF30 e em 70% na RMF40 até o 35º dia da EM e a maior concentração dos estros ocorreu até o 15º dia da EM. Os picos pré-ovulatórios de LH ($\eta\text{g/mL}$) ocorreram até 26 (RMF20), 46 (RMF30) e 86 (RMF40) horas após a introdução do macho, com o folículo ovulatório medindo $7,35 \pm 0,62$ (RMF20), $7,33 \pm 0,59$

(RMF30) e $7,43 \pm 0,88$ mm (RMF40) e a ovulação média sendo de $1,66 \pm 0,51$ (RMF20), $1,50 \pm 0,54$ (RMF30) e de $1,33 \pm 0,51$ (RMF40). A prenhez foi de 95,00% (RMF20), 86,66% (RMF30) e de 89,28% (RMF40) com prolificidade média de $1,52 \pm 0,51$ (RMF20), $1,56 \pm 0,50$ (RMF30) e de $1,48 \pm 0,50$ (RMF40). Não houve diferença ($P \geq 0,05$) entre os tratamentos para estes parâmetros avaliados. Conclui-se que a relação macho-fêmea pode comprometer a eficiência do efeito macho no que concerne a induzir e sincronizar o estro de ovelhas em anestro pós-parto sem comprometer a prenhez e a prolificidade. **No Terceiro Experimento** objetivou-se determinar a concentração de P4 para monitorar a atividade cíclica de ovelhas da raça Santa Inês na condição de anestro pós-parto, o perfil pulsátil de LH e a atividade ovariana após a introdução do macho no rebanho de fêmeas previamente isoladas do contato físico com os reprodutores. As fêmeas ($n = 66$), equitativamente distribuídas nos tratamentos com 35 a 40 (T1) e 55 a 60 (T2) dias do pós-parto foram afastadas dos reprodutores durante 30 dias que antecederam os experimentos. O estro ocorreu em 93,30% (T1) e 100% (T2) das fêmeas. Os picos pré-ovulatórios de LH ($\eta\text{g/mL}$) ocorreram entre 42 (T2) e 70 (T1) horas após a introdução do macho com os folículos ovulatórios medindo $7,90 \pm 0,31$ (T1) e $8,50 \pm 0,30$ (T2) e as médias de ovulações sendo de $1,50 \pm 0,54$ (T1) e de $1,60 \pm 0,51$ (T2). As concentrações médias de P4 ($\eta\text{g/mL}$), antes e depois da introdução do macho, foram, respectivamente, de $0,53 \pm 0,17/4,55 \pm 0,24$ (T1) e de $0,73 \pm 0,06/4,90 \pm 0,11$ (T2), registrando-se menores concentrações ($P \leq 0,05$) antes do contato físico entre macho e fêmea. A prenhez foi de 85,70% (T1) e de 93,3% (T2), não havendo diferença ($P \geq 0,05$) entre os tratamentos. Conclui-se que o efeito macho é eficiente para induzir e concentrar os estros de ovelhas entre o 35º e o 60º dia do pós-parto, que o pico pré-ovulatório de LH ocorre até 72 horas após o contato físico entre fêmea e macho, que a luteinização dos folículos aumenta significativamente a concentração de P4 após o referido contato físico entre fêmea e macho e que ovelhas neste período do pós-parto podem ser submetidas a esta biotécnica sem comprometimento da prenhez. Ainda é possível sugerir a utilização de ovelhas que se encontrem entre o 35º e o 40º dia do pós-parto visando diminuir o intervalo entre partos. **No Quarto Experimento** avaliou-se a influência do efeito macho associado ao desaleitamento temporário sobre parâmetros reprodutivos de ovelhas Santa Inês em anestro pós-parto. As fêmeas ($n = 90$), afastadas dos reprodutores durante 30 dias que antecederam os experimentos, foram equitativamente distribuídas nos tratamentos experimentais (DT0, DT24 e DT48). No DT0, não houve desaleitamento temporário; no DT24 e no DT48, o desaleitamento ocorreu, respectivamente, durante 24 e 48 horas. As concentrações médias de P4 ($\eta\text{g/mL}$), respectivamente, antes e após o contato com o reprodutor, foram de $0,78 \pm 0,16/3,69 \pm 0,26$ (DT0), $0,76 \pm 0,16/4,18 \pm 0,38$ (DT24) e de $0,70 \pm 0,22/3,63 \pm 0,25$ (DT48), registrando-se menores ($P \leq 0,05$) concentrações antes de iniciar a estação de monta. Após o contato das fêmeas com os reprodutores, o pico de LH ($\eta\text{g/mL}$) ocorreu até 50 horas no DT0 (185,20), 62 horas no DT24 (158,50) e 66 horas no DT48 (201,2) com ovulação média de $1,33 \pm 0,51$ (DT0), $1,66 \pm 0,51$ (DT24) e de $1,16 \pm 0,40$ (DT48) sem haver diferença ($P \geq 0,05$)

entre os tratamentos. O estro ocorreu em 83,33% das fêmeas no DT0 e DT48 e em 100% no DT24, não havendo diferença ($P \geq 0,05$) entre os tratamentos. O diâmetro do folículo ovulatório foi de $6,51 \pm 0,34$ (DT0), $7,45 \pm 0,65$ (DT24) e $6,65 \pm 0,39$ mm (DT48), registrando-se que o diâmetro do DT24 foi maior ($P \leq 0,05$) do que os demais. A prenhez foi de 68,00% (DT0), 90,00% (DT24) e de 52,00 (DT48) com prolificidade média de $1,29 \pm 0,46$ (DT0), $1,48 \pm 0,50$ (DT24) e de $1,16 \pm 0,38$ (DT48), não havendo diferença ($P \geq 0,05$) entre os tratamentos. Conclui-se que o efeito macho associado ao desaleitamento temporário por 24 horas pode ser recomendado para induzir e concentrar o estro de ovelhas em anestro no pós-parto sem comprometer a prenhez e a prolificidade. **No Quinto Experimento** avaliou-se o desempenho reprodutivo de ovelhas Santa Inês e Morada Nova em anestro pós-parto submetidas ao efeito macho, associado ou não a protocolos hormonais. As fêmeas ($n = 120$), previamente afastadas dos reprodutores por 30 dias, foram equitativamente distribuídas nos tratamentos experimentais constituídos pelo grupo controle (T1), tratado com insulina (T2) e com progesterona (T3). As concentrações médias de P4 ($\eta\text{g/mL}$), respectivamente, antes e depois do contato com os machos foram de $0,51 \pm 0,22/3,78 \pm 0,68$ (T1), $0,65 \pm 0,21/3,77 \pm 0,78$ (T2) e de $0,52 \pm 0,21/3,84 \pm 0,84$ nas fêmeas Santa Inês e de $0,74 \pm 0,19/3,71 \pm 0,56$ (T1), $0,70 \pm 0,21/3,79 \pm 0,75$ (T2) e de $0,81 \pm 0,14/3,87 \pm 0,80$ nas fêmeas Morada Nova, registrando-se menores concentrações ($P \leq 0,05$) antes de iniciar a estação de monta. Os estros foram detectados em 85,00% (T1), 90,00% (T2) e 95,00% (T3) das fêmeas Santa Inês e em 95,00% (T1 e T2) e 100% (T3) das fêmeas Morada Nova. Os picos pré-ovulatórios de LH ($\eta\text{g/mL}$) ocorreram em 34 (T1), 50 (T2) e 54 (T3) horas após a introdução do macho nas fêmeas Santa Inês e até 70 (T1), 46 (T2) e 50 (T3) horas após a introdução do macho nas fêmeas Morada Nova. O folículo ovulatório mediu $7,4 \pm 0,65$ (T1), $7,2 \pm 0,47$ (T2) e $7,6 \pm 0,24$ mm (T3) nas fêmeas Santa Inês e $6,9 \pm 0,50$ (T1), $6,7 \pm 0,36$ (T2) e $7,0 \pm 0,35$ mm (T3) nas fêmeas Morada Nova. A ovulação média foi de $1,3 \pm 0,51$ (T1), $1,5 \pm 0,54$ (T2) e de $1,6 \pm 0,51$ (T3) nas fêmeas Santa Inês e de $1,3 \pm 0,51$ (T1), $1,6 \pm 0,51$ (T2) $1,6 \pm 0,51$ (T3) nas Morada Nova. A prenhez foi de 94,11% (T1), 88,88% (T2) e de 94,73% (T3) nas fêmeas Santa Inês e de 89,47% (T1), 89,47% (T2) e de 90,00% (T3) nas fêmeas Morada Nova. A prolificidade média foi de $1,37 \pm 0,50$ (T1), $1,43 \pm 0,51$ (T2) e de $1,38 \pm 0,50$ (T3) nas fêmeas Santa Inês e de $1,41 \pm 0,61$ (T1), $1,41 \pm 0,50$ (T2) e de $1,44 \pm 0,51$ (T3) nas fêmeas Morada Nova. Não houve diferença ($P \geq 0,05$) entre os tratamentos para estes parâmetros avaliados. Conclui-se que o efeito macho é eficiente para induzir e sincronizar o estro de ovelhas acíclicas no pós-parto sem comprometer a prenhez e a prolificidade e sua associação com P4 e insulina não é recomendada porque agrega custos ao programa sem contribuir para melhoria dos índices reprodutivos.

ABSTRACT

Title: Evaluation of reproductive parameters in woolless ewes submitted to biostimulation in Zona da Mata Sul region in Pernambuco state

Author: José Carlos Ferreira da Silva

Advisor: Marcos Antonio Lemos de Oliveira

In this Dissertation, constituted of five experiments, was evaluated the influence of the male effect on reproductive parameters of woolless sheep. **In the first experiment** it was aimed to evaluate the influence of separation distance between males and females before the breeding season (BS) on some reproductive parameters of non-cycling ewes that had delivered within 45 to 60 days raised at the Zona da Mata Sul region in Pernambuco state. Females (n = 90) were evenly distributed to treatments (T1, T2 and T3) and were isolated from males for 1000 m (T1), 300 m (T2) and 3 m (T3) during 30 days before experiment onset. Mean P4 concentrations ($\eta\text{g/mL}$), respectively, before and after the 9th day after mating were $0.62\pm 0.14/3.35\pm 0.31$ (T1), $0.75\pm 0.13/3.75\pm 0.36$ (T2) and $0.66\pm 0.22/3.51\pm 0.33$ (T3), which were lower than ($P < 0.05$) concentrations before BS onset. Estrous were detected in 100% females until the 33th day of the BS and most estrous were detected up to the 10th day of the BS. Pre-ovulatory peaks of LH ($\eta\text{g/mL}$) were evaluated at 62 (T1), at 42 (T2) and at 38 (T3) hours after exposure to males, with mean ovulatory follicle of 7.7 ± 0.5 (T1), 7.5 ± 0.2 (T2) and 7.6 ± 0.4 mm (T3), and mean number of ovulations of 1.5 ± 0.2 (T1), 1.6 ± 0.1 (T2) and 1.4 ± 0.1 (T3). The pregnancy was 90.0% (T1), 86.6% (T2) and 90.0 (T3) with mean prolificacy of 1.30 ± 0.4 (T1), 1.38 ± 0.5 (T2) and 1.33 ± 0.5 (T3). There was no difference ($P \geq 0.05$) between treatments for all evaluated parameters. The results allow the conclusion that the separation distance between males and females, before BS onset, does not interfere with male effect efficiency on estrous induction, on ovulation, as well as pregnancy and prolificacy, suggesting the reduction of BS duration to 35 days. **In the second experiment** it was aimed to evaluate the reproductive performance of Santa Inês ewes postpartum anestrus submitted to the male effect using different male-female proportions. Females (n = 90), were isolated from males for 30 days before the experiments, were evenly distributed in the experimental treatments being tested the male-female relationship 1:20 (MFR20), 1:30 (MFR30) and 1:40 (MFR40). Mean P4 concentrations ($\eta\text{g/mL}$), respectively, before and after mating were $0.71\pm 0.20/3.81\pm 0.25$ (MFR20), $0.66\pm 0.21/3.74\pm 0.35$ (MFR30) and $0.69\pm 0.15/3.66\pm 0.34$ (MFR40), which were lower than ($P \leq 0.05$) concentrations before bread season (BS) onset. Estrous were detected in 100% females until the 35th day of the and most estrous were detected up to the 15th day of the BS. Pre-ovulatory peaks of LH ($\eta\text{g/mL}$) were evaluated at 26 (MFR20), 46 (MFR30) and at 86 (MFR40) hours after exposure to males, with mean ovulatory follicle of 7.35 ± 0.62 (MFR20), 7.33 ± 0.59 (MFR30) and 7.43 ± 0.88 mm (MFR40),

and mean number of ovulations of 1.66 ± 0.51 (MFR20), 1.50 ± 0.54 (MFR30) and 1.33 ± 0.51 (MFR40). The pregnancy was 95.0% (MFR20), 86.6% (MFR30) and 89.2% (MFR40) with mean prolificacy of 1.52 ± 0.51 (MFR20), 1.56 ± 0.50 (MFR30) and 1.48 ± 0.50 (MFR40). There was no difference ($P \geq 0.05$) between treatments for all evaluated parameters. The results allow the conclusion that the male-female relationship can compromise the efficiency of the male effect in relation to induce and synchronize oestrus sheep in postpartum anestrus, however without compromising pregnancy and prolificacy. **In the third experiment** it was aimed to evaluate the concentration of P4 to monitor the cyclic activity of Santa Ines ewes in postpartum anoestrus condition, the pulsatile profile of LH and ovarian activity after introduction of male into previously isolated female herd physical contact with males. Females ($n = 66$), evenly distributed in the treatments with 35 to 40 (T1) and 55 and 60 (T2) postpartum days were isolated from males for 30 days before the experiments. Estrous were detected in 93.30% (T1) and 100% (T2) of females. Pre-ovulatory peaks of LH ($\eta\text{g/mL}$) were evaluated at 42 (T2) and at 70 (T1) hours after exposure to males, with mean ovulatory follicle of 7.90 ± 0.31 (T1) and 8.50 ± 0.30 mm (T2), and mean number of ovulations of 1.50 ± 0.54 (T1) and 1.60 ± 0.51 (T2). Mean P4 concentrations ($\eta\text{g/mL}$), respectively, before and after mating were $0.53 \pm 0.17/4.55 \pm 0.24$ (T1) and $0.73 \pm 0.06/4.90 \pm 0.11$ (T2), registering lower concentrations ($P \leq 0.05$) before the physical contact between male and female. The pregnancy was 85,70% (T1) and 93,3% (T2), there was no difference ($P \geq 0.05$) between treatments. The results showed that the male effect is effective for inducing and concentrate estrous ewes between the 35th and the 60th day after birth, the pre-ovulatory LH peak occurs within 72 hours after the physical contact between female and male, luteinization of the follicle increases significantly P4 concentration after contact between male and female ewes and in the postpartum period may be subjected to the biotechnical without compromising pregnancy. It is possible to suggest the use of ewes that are between the 35th and 40th day after birth in order to decrease the interval between births. **In the fourth experiment** it was aimed to evaluate the influence of the male effect with temporary weaning on some reproductive parameters of ewes in postpartum anestrus. Females ($n = 90$), were isolated from males for 30 days before the experiments, were evenly distributed in the experimental treatments (DT0, DT24 and DT48). In DT0, without temporary weaning, in DT24 and DT48, weaning occur, respectively, for 24 and 48 hours. Mean P4 concentrations ($\eta\text{g/mL}$), respectively, before and after mating were $0.78 \pm 0.16/3.69 \pm 0.26$ (DT0), $0.76 \pm 0.16/4.18 \pm 0.38$ (DT24) and $0.70 \pm 0.22/3.63 \pm 0.25$ (DT48), which were lower than ($P \leq 0.05$) concentrations before bread season (BS) onset. Estrus occurred in 83.33% of females in DT0 and DT48 and 100% in the DT24, without difference ($P \geq 0.05$) between treatments. Pre-ovulatory peaks of LH ($\eta\text{g/mL}$) were evaluated at 50 hours in DT0 (185.20), 62 hours in DT24 (158.50) and 66 hours in DT48 (201.2), after exposure to males, with mean ovulatory follicle of 6.51 ± 0.34 (DT0), 7.45 ± 0.65 (DT24) and 6.65 ± 0.39 mm (DT48), registering the diameter of the DT24 was higher ($P \leq 0.05$) than the others. The pregnancy was 68.00% (DT0), 90.00% (T24) e de 52.00 (DT48) with

mean prolificacy of 1.29 ± 0.46 (DT0), 1.48 ± 0.50 (DT24) e de 1.16 ± 0.38 (DT48), without difference ($P \geq 0.05$) between treatments. The results showed that the male effect with temporary weaning for 24 hours can be recommended to induce and concentrate estrus ewes anestrous postpartum without compromising pregnancy and prolificacy. **In the fifth experiment** it was aimed to evaluate the reproductive performance of Santa Inês and Morada Nova ewes postpartum anestrous submitted to the male effect, with or without hormonal protocols. Females ($n = 120$), isolated from the males for 30 days, were evenly distributed in the experimental treatments constituted by the control group (T1) and previously treated with insulin (T2) and progesterone (T3). Mean P4 concentrations ($\eta\text{g} / \text{mL}$), respectively, before and after contact with males were $0.51 \pm 0.22/3.78 \pm 0.68$ (T1), $0,65 \pm 0.21/3.77 \pm 0.78$ (T2) and $0.52 \pm 0.21/3.84 \pm 0.84$ in Santa Inês females and $0.74 \pm 0.19/3.71 \pm 0.56$ (T1), $0.70 \pm 0.21/3.79 \pm 0.75$ (T2) and $0.81 \pm 0.14/3.87 \pm 0.80$ in Morada Nova females, registering lower concentrations ($P \leq 0.05$) before bread season onset. Estrous were detected in 85.00% (T1), 90.00% (T2) and 95.00% (T3) of Santa Inês females and 95.00% (T1 and T2) and 100% (T3) of Morada Nova females. After exposure to males pre-ovulatory peaks of LH ($\eta\text{g} / \text{mL}$) occurred at 34 (T1), 50 (T2) and 54 (T3) hours in Santa Inês females and at 70 (T1), 46 (T2) e 50 (T3) hours in Morada Nova female. The mean ovulatory follicle was $7,4 \pm 0,65$ (T1), $7,2 \pm 0,47$ (T2) e $7,6 \pm 0,24$ mm (T3) in Santa Inês females and $6,9 \pm 0,50$ (T1), $6,7 \pm 0,36$ (T2) e $7,0 \pm 0,35$ mm (T3) in Morada Nova females. The mean number of ovulations were $1,3 \pm 0,51$ (T1), $1,5 \pm 0,54$ (T2) e de $1,6 \pm 0,51$ (T3) in Santa Inês females and $1,3 \pm 0,51$ (T1), $1,6 \pm 0,51$ (T2) $1,6 \pm 0,51$ (T3) in Morada Nova females. The pregnancy was 94.11% (T1), 88.88% (T2) and 94.73% (T3) in females Santa and 89.47% (T1), 89.47% (T2), and 90.00% (T3) in females Morada Nova. The mean prolificacy was 1.37 ± 0.50 (T1) 1.43 ± 0.51 (T2) and 1.38 ± 0.50 (T3) in Santa Inês females and $1.41 \pm 0,61$ (T1) 1.41 ± 0.50 (T2) and 1.44 ± 0.51 (T3) in Morada Nova females. There was no difference ($P \geq 0.05$) between treatments for all evaluated parameters. The results allow the conclusion that the male effect is effective to induce and synchronize oestrus sheep in postpartum anestrous without compromising pregnancy and prolificacy and its association with P4 and insulin is not recommended because it adds cost to the program and does not contribute to improvement reproductive rates.

LISTA DE TABELAS

		Páginas
Experimento I		
Tabela 1	P4 blood concentration of non-cycling Santa Inês ewes, that had delivered within 45 and 60 days, before and after the 9th day of breeding and that were previously isolated from males during 30 days for 1000 m (T1), 300 m (T2) and 3 m (T3) before onset of an 45 day-breeding season.....	51
Tabela 2	Percentage of single (one) and double estrous, as well as mean values ($\bar{x} \pm s$) of diameter (mm) of ovulatory follicle and number of ovulations in Santa Inês ewes, that delivered within 45 to 60 days, that had previously from males for 30 days for 1.000 m (T1), 300 m (T2) and 3 m (T3) before a breeding season of 45 days.....	53
Tabela 3	Percentage de pregnancy per number of services of Santa Inês females, that delivered between 45 and 60 days, that were previously isolated from males during 30 days for 1000 m (T1), 300 m (T2) and 3 m (T3) before breeding season for 45 days.....	53
Tabela 4	Lambing and prolificacy of Santa Inês ewes, that had delivered within 45 to 60 days, that had been isolated from males for 30 days for 1000 m (T1), 300 m (T2) and 3 m (T3) before a breeding season of 45 days.....	54
Experimento II		
Tabela 1	Serum concentrations of P4 of postpartum Santa Inês ewes under anestrus, before and after biostimulation, submitted to male to female ratio of 1:20 (MFR20), 1:30 (MFR30) and 1:40 (MFR40).....	66
Tabela 2	Percentage of single and double estrus din postpartum ewes under anestrus, and submitted to biostimulation under male to female ratios of 1:20 (MFR20), 1:30 (MFR30) and 1:40 (MFR40).....	68
Tabela 3	Mean values for ovarian follicular diameter (mm) and ovulation ($\bar{x} \pm s$) of postpartum Santa Inês ewes under anestrus, submitted to biostimulation under male to female ratios of 1:20 (MFR20), 1:30 (MFR30) and 1:40 (MFR40).....	68
Tabela 4	Pregnancy rate per service of postpartum Santa Inês ewes under anestrus, submitted to biostimulation under male to female ratios of 1:20 (MFR20), 1:30 (MFR30) and 1:40 (MFR40).....	69
Tabela 5	Delivery type and prolificacy of postpartum Santa Inês ewes under anestrus, submitted to biostimulation under male to female ratios of 1:20 (MFR20), 1:30 (MFR30) and 1:40 (MFR40).....	70
Experimento III		
Tabela 1	P4 concentration in Santa Inês ewes under postpartum anestrus that delivered within 35 to 40 (T1) and 55 to 60 days (T2), and further subjected to male effect.....	81
Tabela 2	Mean values for follicular diameter (mm) and ovulation in Santa Inês ewes under postpartum anestrus that delivered within 35 to 40 (T1) and 55 to 60 (T2) days and further subjected to male effect.....	82
Tabela 3	Pregnancy rates of Santa Inês ewes under postpartum anestrus that delivered within 35 to 40 (T1) and 55 to 60 (T2) days and further subjected to male effect.....	83

Experimento IV

Tabela 1	Serum concentration of P4 in Santa Inês ewes under anestrus, that delivered within 45 to 60 days, before and after male effect, that were subjected to suckling interruption for 0 (SI0), 24 (SI24) and 48 (SI48) hours before breeding season onset.....	92
Tabela 2	Percentages of single and double estrus in Santa Inês ewes, subjected to male effect, that delivered within 45 to 60 days, with no suckling interruption (SI0), suckling interruption for 24 (SI24) and suckling interruption for 48 (SI48) hours before breeding season onset.....	94
Tabela 3	Mean values for follicular size (mm) and number of ovulations in Santa Inês ewes, that delivered within 45 to 60 days, without suckling interruption (SI0), suckling interruption for 24 (SI24) and suckling interruption 48 (SI48) hours before breeding season onset.....	94
Tabela 4	Pregnancy rates per number of services in Santa Inês ewes, that delivered within 45 to 60 days, without suckling interruption (SI0), suckling interruption for 24 (SI24) and 48 (SI48) hours before breeding season onset.....	95
Tabela 5	Delivery type and prolificacy in Santa Inês ewes, that delivered within 45 to 60 days, without suckling interruption (SI0), suckling interruption for 24 (SI24) and suckling interruption for 48 (SI48) hours before breeding season onset.....	95

Experimento V

Tabela 1	Mean P4 concentration, before and after male effect in Santa Inês and Morada Nova ewes under postpartum anestrus and subjected to male effect associated a with hormone protocols.....	108
Tabela 2	Percentages of single and double estrus in Santa Inês and Morada Nova ewes under postpartum anestrus and subjected to male effect associated with hormone protocols.....	110
Tabela 3	Mean follicular diameter (mm) and number of ovulations in Santa Inês and Morada Nova ewes under postpartum anestrus and subjected to male effect associated with hormone protocols.....	110
Tabela 4	Pregnancy rates per service in Santa Inês and Morada Nova ewes under postpartum anestrus and subjected to male effect associated with hormone protocols.....	111
Tabela 5	Delivery types and prolificacy in Santa Inês and Morada Nova ewes under postpartum anestrus and subjected to male effect associated to hormone protocols.....	111

LISTA DE FIGURA

		Páginas
Experimento I		
Gráfico 1	LH Concentration ($\eta\text{g mL}^{-1}$) in Santa Inês ewes, that had delivered within 45 and 60 days, that were previously isolated from males for 30 days for 1000 m (T1), 300 m (T2) and 3 m (T3) before the onset of 45-day breeding season and that developed a pre-ovulatory wave within an 6 to 98 hour period after male introduction.....	52
Gráfico 2	Estrous detection in Santa Inês ewes, that delivered within 45 to 60 days, that were kept apart from male for 30 days for distances of 1000 m (T1), 300 m (T2) and 3 m (T3) before onset of the breeding season of 45 days.....	52
Experimento II		
Gráfico 1	Concentration of LH ($\eta\text{g mL}^{-1}$), during the period from 6 to 98 hours after male effect onset, in postpartum Santa Inês ewes under anestrus, submitted to biostimulation under male to female ratios of 1:20 (MFR20), 1:30 (MFR30) and 1:40 (MFR40).....	67
Gráfico 2	Estrus distribution in postpartum Santa Inês ewes under anestrus, submitted to biostimulation, under male to female ratios of 1:20 (MFR20), 1:30 (MFR30) and 1:40 (MFR40).....	67
Experimento III		
Gráfico 1	LH Concentration ($\eta\text{g mL}^{-1}$) during the period of 6 to 98 hours after male effect onset in Santa Inês ewes under postpartum anestrus (n = 6), that delivered within 35 to 40 (T1) and 55 to 60 (T2).....	81
Gráfico 2	Distribution of estrus in Santa Inês ewes under postpartum anestrus that delivered within 35 to 40 (T1) and 55 to 60 (T2) and subjected to male effect.....	82
Experimento IV		
Gráfico 1	LH concentration ($\eta\text{g mL}^{-1}$), in a period from 6 to 98 hours after male effect, in Santa Inês ewes under anestrus, that delivered within 45 to 60 days, without suckling interruption (SI0), suckling interruption for 24 (SI24) and 48 (SI48) hours before breeding season onset.....	93
Gráfico 2	Estrus distribution in Santa Inês ewes under anestrus, subjected to male effect, that delivered within 45 to 60 days, with no suckling interruption (SI0), suckling interruption for 24 (SI24) and suckling interruption for 48 (SI48) hours before breeding season onset.....	93
Experimento V		
Gráfico 1	LH Concentration ($\eta\text{g mL}^{-1}$) from 6 to 98 hours after breeding season onset in Santa Inês and Morada Nova ewes under postpartum anestrus and subjected to male effect and hormone protocols, where T1 (Control), T2 (Male effect + Insulin) and T3 (Male effect + Progesterone).....	109
Gráfico 2	Estrus distribution in Santa Inês and Morada Nova ewes under postpartum anestrus subjected to male effect associated with hormone protocols.....	109

SUMÁRIO

	Páginas
DEDICATÓRIA.....	v
AGRADECIMENTOS.....	vi
EPÍGRAFE.....	vii
RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	xi
LISTA DE TABELAS.....	xv
LISTA DE FIGURAS.....	xvi
SUMÁRIO.....	xvii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1 Ovinocultura Brasileira.....	4
2.2 Principais Biotécnicas de Interesse na Ovinocultura.....	5
2.3 Nutrição versus Reprodução.....	6
2.4 Atividade Reprodutiva da Ovelha.....	7
2.4.1 Puberdade.....	7
2.4.2 Ciclo Estral.....	8
2.4.3 Controle Endócrino.....	8
2.4.4 Dinâmica Folicular.....	9
2.4.5 Ovulação.....	10
2.4.6 Corpo Lúteo.....	10
2.5 Indução e Sincronização do Estro em Ovelhas.....	11
2.5.1 Métodos Farmacológicos.....	11
2.5.2 Métodos Naturais.....	15
2.5.2.1 Melatonina.....	15
2.5.2.2 Fotoperíodo Artificial.....	16
2.6 Efeito Macho.....	17
2.6.1 Aspectos Fisiológicos.....	17
2.6.2 Fatores que Influenciam na Resposta ao Efeito Macho.....	20
3. REFERÊNCIAS.....	23
4. EXPERIMENTOS.....	46
4.1 Reproductive efficiency of non-cycling postpartum ewes submitted to the male effect under tropical semi humid conditions	48
4.2 Influence of male to female ratio on physiological and reproductive parameters of postpartum ewes under anestrus and subjected to the male effect.....	62
4.3 Monitoring progesterone and LH profiles and ovarian activity in postpartum ewes subjected to male effect.....	76
4.4 Male effect associated with suckling interruption in ewes under postpartum anestrus affects ovarian activity and hormone profiles.....	89
4.5 Hormone profiles in hair sheep under postpartum anestrus and subjected to male effect associated with insulin and progesterone.....	105

1 - INTRODUÇÃO

A agropecuária no ano de 2011 foi responsável por 22,74% do Produto Interno Bruto (IBGE, 2011) e a ovinocultura é um segmento importante para o desenvolvimento socioeconômico do país, considerando ser uma alternativa sustentável para a geração de emprego e renda, além de contribuir para a fixação da população rural nas atividades de produção primária (BANDEIRA et al., 2004). A criação de ovinos deslanados, pelo seu biótipo, potencial produtivo, alta adaptabilidade e rusticidade, destaca-se como uma alternativa viável para a produção de carne e pele de qualidade superior (SILVA e ARAÚJO, 2000; COUTO, 2001).

O efetivo nacional de ovinos é de aproximadamente 17,6 milhões de animais (IBGE, 2014) e 57,5% desse contingente está concentrado na Região Nordeste. O Semiárido detém a maior parcela, entretanto, a Região da Zona da Mata, que outrora se caracterizava pela cultura canavieira, surge como uma região promissora para criação de ovinos e por esse motivo é importante avaliar a eficiência reprodutiva dos rebanhos nessa região.

O desenvolvimento de novas biotécnicas e a adoção de estratégias de manejo reprodutivo associadas à utilização de fármacos para a indução e sincronização de estros têm melhorado os índices reprodutivos dos rebanhos (OLIVEIRA et al., 2001; FALCÃO et al., 2008). Essas substâncias hormonais são frequentemente utilizadas durante a estação de monta para concentrar as coberturas em curto período de tempo, tanto em programas de inseminação artificial (NEVES et al., 1982; MORAES et al., 2008) quanto naqueles de transferência de embriões (LIMA-VERDE et al., 2003, GONÇALVES et al., 2007; 2008) visando acelerar o melhoramento genético.

Apesar dos métodos farmacológicos serem bastante satisfatórios para induzir e sincronizar os estros na espécie ovina, os custos elevados para a implantação desses programas inviabilizam sua adoção pelos pequenos produtores (CORDEIRO, 1992). Além disso, a utilização constante de algumas substâncias resulta na formação de anticorpos que comprometem os resultados dos programas de reprodução assistida, tanto relativos a sincronização quanto a indução do estro e da ovulação (URIBE-VELÁSQUEZ et al., 2007).

A indústria animal moderna tem sido fortemente influenciada por novas exigências de mercado, especialmente no que concerne a qualidade dos produtos e ao bem estar dos animais (MARTIN e KADOKAWA, 2006; SALLES, 2008). Nesse contexto, os métodos naturais para induzir e sincronizar o estro surgem como alternativa eficaz, de baixo custo (HAWKEN et al., 2005) e também acessível ao pequeno produtor.

Dentre os métodos naturais de indução e sincronização do estro, o efeito macho merece destaque por ser uma técnica de fácil implantação, de baixo custo e de eficiência comprovada nos pequenos ruminantes (ALMEIDA-IRMÃO, et al., 2014, ALVES et al., 2014/2015; CALDAS et al., 2015ab). O efeito macho pode ser definido como um estímulo social (RAMÍREZ e QUINTERO, 2001) caracterizado pela bioestimulação após a introdução de reprodutores num determinado rebanho de ovelhas previamente isoladas (CUSHWA et al., 1992).

Essa biotécnica contribui para maximizar os índices reprodutivos em decorrência de antecipar a puberdade, estimular o retorno da ciclicidade de fêmeas nos pós-parto ou fora da estação reprodutiva, além de contribuir para sincronizar o estro (MARTIN et al., 1986). A eficiência do efeito macho foi previamente confirmada por Ungerfeld et al. (2003), entretanto, é importante destacar que os resultados ainda são insipientes, sendo necessário conduzir novas pesquisas visando buscar resultados mais consistentes, especialmente com raças deslanadas (BUENO et al., 2006).

A distância de separação entre machos e fêmeas para evitar o contato físico, olfativo, auditivo e visual (CHEMINEAU et al., 2006) que deve ser de 1 km (PEARCE e OLDHAM, 1988), é outro fator limitante que torna impraticável o uso dessa biotécnica em propriedades de dimensões reduzidas. Além disso, pouca informação tem sido repassada no que concerne a relação macho/fêmea, especialmente nas condições edafoclimáticas da zona da mata nordestina. A relação macho/fêmea pode variar quando são utilizados reprodutores acima de dois anos, sendo recomendável a proporção de 1:40 ou de 1:50, mas é também sugerido a relação de 1:100 quando os piquetes são pequenos ou de 1:30 em áreas grandes e acidentadas (RIBEIRO, 1996). Cheminau (1986) recomenda a relação de 1:20 quando é pretendido aumentar o estímulo sexual através do efeito macho.

Apesar da progesterona (P4) ser bastante utilizada em programas de sincronização do estro e da ovulação, são poucos os relatos sobre seu uso em conjunto com o efeito macho. Ela é fundamental para que ocorra a indução pré-ovulatória de GnRH nas ovelhas durante o pós-parto (CARATY e SKINNER, 1999) e quando submetidas a uma pré-exposição a esse hormônio ocorre maior incidência de fêmeas em estro, aumenta a receptividade ao macho e reduz o período do parto ao primeiro estro fértil (FABRE-NYS e MARTIN, 1991). Além da P4, estudos demonstram que o período de anestro pós-parto é reduzido em ovelhas que têm o "déficit" energético corrigido em função do aumento da insulina circulante (MANN et al., 2003). Dessa forma é esperado que animais em anestro pós-parto sob boa condição alimentar restabeleça, mais prontamente, a condição de ciclicidade, especialmente, quando submetidos a

injeções contínuas de insulina exógena, tanto por meio da modulação local das gonadotrofinas quanto por sinalização metabólica e também por preparação folicular (DOWNING e SCARAMUZZI, 1997).

Adicionalmente ao que foi abordado é importante comentar sobre o uso da ultrassonografia aplicada à reprodução animal que tem aprimorado o conhecimento da função ovariana nos pequenos ruminantes (OLIVEIRA et al., 2004). Contudo, a dinâmica folicular em ovelhas submetidas ao efeito macho é pouco conhecida, existindo a necessidade de monitoramento a atividade ovariana.

O desenvolvimento de estratégias e técnicas de manejo reprodutivo com baixo custo, fácil aplicabilidade e grande alcance social é plenamente justificado, especialmente porque as ações são focadas não somente na produtividade e na rentabilidade, mas priorizando o equilíbrio socioambiental. Diante do exposto, objetivou-se, dentre outros parâmetros reprodutivos, avaliar o perfil da P4, os pulsos de LH e o diâmetro do folículo pré-ovulatório de ovelhas em anestro pós-parto submetidas ao efeito macho.

2 - REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Ovinocultura Brasileira

Diante do crescimento populacional e do conseqüente aumento da demanda por alimentos, o Brasil passou a ter papel de destaque no cenário mundial como um dos grandes exportadores, tanto de produtos de origem vegetal quanto animal. Nesse contexto, a agropecuária é um setor de grande importância para a economia brasileira, tendo em vista que somente em 2011 foi responsável por 22,74% do Produto Interno Bruto (IBGE, 2011).

Dentre os setores da agropecuária, a ovinocultura é uma das atividades de maior expressão socioeconômica do agronegócio, contribuindo significativamente para fixação do homem no campo. Essa atividade é praticada em quase todos os continentes sob as mais diversas condições edafoclimáticas, fato que justifica o tamanho do efetivo mundial que é de aproximadamente 1,1 bilhão de cabeças (FAO, 2012). A China, a Índia e a Austrália são detentores dos maiores rebanhos e o Brasil, com um efetivo de pouco mais de 17,6 milhões de animais, ocupa apenas a 17^o posição no ranking mundial (IBGE, 2014).

A Região Nordeste concentra 57,5% do efetivo nacional, conforme dados do IBGE (2014), todavia, os índices produtivos, de um modo geral, permanecem abaixo do potencial biológico que a espécie oferece. Esse fato é decorrente, principalmente, do empirismo em que essa atividade é conduzida, associado ao baixo uso de tecnologias (VIDAL et al., 2006).

Os ovinos apresentam grande potencial para produção de carne e pele, particularmente os de raças deslanadas, as quais, em sua maioria, são criadas no Nordeste brasileiro devido sua rusticidade e precocidade sexual, em especial, quando submetidos a manejo nutricional e sanitário adequados. Além disso, o curto período de prenhez, geralmente de 150 dias, somado a elevada prolificidade, favorece para que esses pequenos ruminantes domésticos apresentem uma alta eficiência produtiva por unidade de tempo (COUTO, 2001; SIMPLÍCIO, 2001). Nesse contexto, a raça é também um dos principais fatores que podem contribuir para o sucesso desse agronegócio, especialmente na Região Nordeste do Brasil (EMBRAPA, 2005).

Existem várias raças de ovinos nativas ou já adaptadas às condições edafoclimáticas do Nordeste brasileiro, entretanto, os animais da raça Santa Inês merecem destaque. Esses animais são provenientes do cruzamento de carneiros da raça Bergamácia com ovelhas das raças Crioula e Morada Nova (PEDREIRA, 1987; BARROS et al., 1990; SIMPLÍCIO, 2001). Trata-se de uma raça rústica de grande capacidade adaptativa a qualquer ambiente tropical com elevado potencial para produção de carne, apresenta boa habilidade materna, além de não

apresentar estacionalidade reprodutiva quando criadas em regiões como o Nordeste brasileiro (PEDREIRA, 1987; FURUSHO-GARCIA et al., 2004; GONZAGA NETO et al., 2006).

É inquestionável a expressividade numérica do rebanho ovino presente na Região Nordeste, sobretudo da raça Santa Inês, contudo, apesar do grande número de animais, os índices produtivos ainda permanecem baixos, sobretudo quando comparados aos de países como Nova Zelândia e Austrália, onde o processo de modernização do campo já está bem consolidado (LÔBO e LÔBO, 2007; VARAGO et al., 2009). Mesmo com os avanços tecnológicos ocorridos no Brasil nas últimas décadas, em especial, no âmbito da pesquisa científica, é importante que os produtores tenham acesso a essas tecnologias para maximizarem a eficiência produtiva dos rebanhos através da disseminação de animais de alto mérito zootécnico. (BICUDO et al., 2003; CARNEIRO, 2007; GONÇALVES et al., 2007; RUBIN et al., 2009).

2.2. Principais Biotécnicas de Interesse na Ovinocultura

O sucesso do melhoramento genético animal é fundamental para que a cadeia produtiva torne-se rentável para todos os agentes envolvidos (LÔBO e LÔBO, 2007). Todavia, para atingir essa meta é imprescindível que o produtor possa aperfeiçoar constantemente o manejo nutricional, sanitário e, em especial, o reprodutivo que é responsável por acelerar a multiplicação de animais geneticamente superiores (BICUDO et al., 2003; CARNEIRO, 2007; GONÇALVES et al., 2007; 2008; RUBIN et al., 2009).

Várias ferramentas podem ser adotadas para contribuir com a melhoria genética dos rebanhos. Em ovinos, a inseminação artificial, a transferência de embriões, produzidos *in vivo* ou *in vitro*, o diagnóstico precoce de gestação e a sexagem fetal são as principais ferramentas disponíveis que podem ser utilizadas (SANTOS et al., 2006).

Segundo Bertoline e Bertoline (2009), a inseminação artificial foi a primeira biotécnica reprodutiva utilizada em rebanhos comerciais. Pode ser efetuada empregando-se sêmen *in natura*, diluído, resfriado ou congelado (GONZALES et al., 2002). As primeiras inseminações artificiais na espécie ovina foram realizadas na Rússia por Ivanov entre 1901 e 1905 (MIES FILHO, 1975). No Brasil, a primeira inseminação artificial nessa espécie foi efetuada ainda na década de 40 no Estado do Rio Grande do Sul (GONÇALVES, et al. 2008).

A inseminação artificial proporciona a multiplicação de descendentes de reprodutores de alto mérito genético, embora este aspecto possa ser também garantido por meio da reprodução natural. Essa biotécnica permite ainda o adicional ganho genético por geração, bem como contribui para um controle sanitário mais eficiente, quando comparados à monta

natural. Além disso, é uma técnica completamente estabelecida, de fácil execução e de baixo custo (SIMPLÍCIO et al., 2007; SIMPLÍCIO, 2008; NOGUEIRA et al., 2008; 2009).

Apesar das inúmeras vantagens proporcionadas por essa biotécnica, apenas os caracteres genéticos do macho são transmitidos para os descendentes de forma mais acelerada. Em virtude dessa limitação, a produção de embriões, inicialmente *in vivo* e posteriormente *in vitro*, surgiu como uma técnica capaz de transmitir para suas progênes os caracteres genéticos desejados, tanto do macho quanto da fêmea, assegurando um melhoramento genético mais eficiente (VIANA et al., 2008, VIEIRA, 2012).

Em virtude das constantes pesquisas que permitiram um melhor acompanhamento do desenvolvimento embrionário (SARTORI e DODE, 2008), houve um crescimento da produção de embriões no Brasil, tanto nos centros de pesquisa quanto no âmbito comercial, fato auxiliado, principalmente, pela aspiração folicular ovariana guiada por ultrassom e ao advento de novas técnicas de reprodução assistida (RUBIN et al., 2009). Em contrapartida, como resultado do aumento da produção de embriões, um número significativo passou a ser descartado por nem sempre existir quantidade suficiente de receptoras para atender a demanda. Como consequência, a criopreservação de embriões surgiu como uma alternativa viável utilizada na rotina de programas de melhoramento genético (HASLER et al., 1997).

Paralelamente ao aperfeiçoamento dessas biotécnicas, o diagnóstico precoce de gestação e a sexagem fetal surgiram como ferramentas para, respectivamente, minimizarem as perdas econômicas geradas pelo manejo equivocado de fêmeas vazias e agregar valor à comercialização de embriões e animais de elevado valor zootécnico (OLIVEIRA, et al., 2004; REICHENBACH, et al., 2004; SANTOS et al., 2006).

Segundo Bandeira et al. (2004), o progresso científico ocorrido há alguns anos, especialmente na área de reprodução animal, contribuiu para o aperfeiçoamento de biotécnicas que estimularam a tecnificação da produção animal. Apesar dessas ferramentas incrementarem os índices reprodutivos e produtivos, são requeridos significativos investimentos para sua adoção, muitas vezes inviabilizando a exploração animal nas pequenas propriedades. Por esse motivo, o desenvolvimento de técnicas alternativas e de baixo custo, como o efeito macho, que possibilitem a melhoria genética do rebanho são indispensáveis para fortalecer a ovinocultura brasileira.

2.3. Nutrição *versus* Reprodução

De acordo com Valasi et al. (2012), a condição nutricional do rebanho exerce forte influência sobre o desempenho reprodutivo dos animais. A nutrição influencia diretamente o

desenvolvimento do aparelho reprodutivo do feto durante a gestação e, indiretamente, sobre os hormônios responsáveis pelo processo reprodutivo (ROBINSON et al., 2006).

Um manejo nutricional deficiente pode retardar o aparecimento da puberdade, inibir a manifestação da libido, alterar a produção e a qualidade espermática e comprometer a lactação (ROBINSON et al., 2006; MONTEIRO et al., 2010; VALASI et al., 2012), além de afetar a ovulação das fêmeas que se encontram em balanço energético negativo (BRONSON, 1988).

Não só a alimentação deficiente pode comprometer a eficiência reprodutiva, mas, a mudança brusca de alimentação, sem uma previa adaptação, poderá determinar alterações ruminais e metabólicas que comprometem os índices reprodutivos (BOMFIM, et al., 2014).

Na espécie ovina o “status” da condição corporal está diretamente relacionado com o desencadeamento do pico do hormônio luteinizante (LH), conforme reportado por Yildiz, et al. (2002ab). Pressupõem-se que existe uma relação entre o escore de condição corporal e o hipotálamo, onde ocorrem a secreção do fator liberador de gonadotrofina (GnRH), com reflexos sobre a atividade reprodutiva (BLACHE et al., 2000; YILDIZ et al., 2002ab). Adicionalmente, parece existir também um efeito no ovário, que resulta no aumento da foliculogênese e, conseqüentemente, da taxa de ovulação nas fêmeas da espécie ovina (SCARAMUZZI, et al., 2006).

2.4. Atividade reprodutiva da Ovelha

2.4.1. Puberdade

A puberdade nos pequenos ruminantes está relacionada com a idade, raça, peso, escore de condição corporal, fatores ambientais e nutricionais (JAINUDEEN et al., 2004). A fêmea da espécie ovina torna-se sexualmente ativa entre quatro e oito meses de idade, mas, nas ovelhas de zonas tropicais e subtropicais, a puberdade ocorre, em geral, de 6 a 12 meses de idade. Nesse momento apresenta o primeiro estro clínico acompanhado ou não de ovulação (JAINUDEEN et al., 2004), mas, com certeza é capaz de manifestar seqüências completas de comportamento sexual e de emitir gametas (JAINUDEEN et al., 2004; CUNNIGHAM, 2008). Nos machos, a puberdade é caracterizada pela liberação do pênis do prepúcio, o que propicia a cópula, e pela presença de espermatozoides viáveis no ejaculado (SOUZA et al., 2001).

Apesar da precocidade sexual de algumas raças, as ovelhas somente devem ser utilizadas em programas de reprodução quando atingirem 70% do peso de uma fêmea adulta de mesma raça, uma vez que a maturidade sexual está mais relacionada com o peso corporal

do que com a idade desses animais (GONZÁLES-STAGNARO, 1993; BELIBASAKI e KOUIMTZIS, 2000).

2.4.2. Ciclo estral

O ciclo estral é um conjunto de eventos fisiológicos e endócrinos que se repetem sucessivamente (RUBIANES et al., 2004). Em regiões de clima temperado, as ovelhas evidenciam picos de atividade sexual condicionados a determinadas épocas do ano e são classificados como poliéstricos estacionais e naquelas próximas à linha do Equador, como o Nordeste do Brasil, elas se apresentam sexualmente ativas durante todo o ano e são classificados como poliéstricos contínuos (JAINUDEEN et al., 2004).

No Nordeste, as maiores taxas de atividade sexual são registradas na estação chuvosa, sendo esse fato justificado pela maior disponibilidade de alimentos e também pela menor incidência de luminosidade, já que a ocorrência de estro na ovelha é inversamente relacionada com o comprimento do dia (RODRIGUES, 2001).

Nas fêmeas da espécie ovina, o ciclo estral tem uma duração aproximada de 17 dias, no entanto, são registradas variações entre 14 e 21 dias (RUBIANES, 2000; JAINUDEEN, et al., 2004). O ciclo estral é constituído por duas fases, sendo uma estrogênica, na qual ocorre o estro com duração de 24 a 48 horas acompanhado de uma ou mais ovulações entre 24 e 27 horas de iniciado o estro. A outra fase é chamada de luteínica com duração aproximada de 16 dias (RUBIANES, 2000). O estro é o período do ciclo estral que coincide com o máximo de desenvolvimento dos folículos e sua duração varia de acordo com a raça, idade, estação do ano, presença do macho e com o indivíduo (JAINUDEEN et al., 2004).

2.4.3 Controle endócrino

Os principais hormônios envolvidos com o equilíbrio neuroendócrino do ciclo estral são o GnRH, as gonadotrofinas adeno-hipofisárias (FSH e LH), os esteróides gonadais (estrógeno - E₂ e progesterona - P₄) e a prostaglandina (PGF₂α), também denominada de luteolisina (ALBUQUERQUE et al., 2004). O sistema de controle da atividade ovariana inclui a liberação pulsátil do GnRH, o qual estimula a adeno-hipófise a secretar o FSH e o LH que induzem as gônadas produzirem esteróides responsáveis pela ação moduladora do mecanismo hormonal do eixo hipotalâmico-hipofisário-ovariano (SWENSON e REECE, 2006).

O FSH e o LH são gonadotrofinas sinérgicas que atuam tanto no recrutamento e no desenvolvimento dos folículos ovarianos quanto na ovulação (GINTHER et al., 1995). O pico de LH conduz a ovulação dos folículos pré-ovulatórios e a luteinização da estrutura folicular

excedente, com a subsequente formação do corpo lúteo. À medida que o corpo lúteo se desenvolve aumenta também as concentrações plasmáticas de P4 (RUBIANES, 2000). Contudo, é evidente a elevação nas concentrações plasmáticas de P4 a partir do 5º dia depois de iniciado o estro e essa elevação é atribuída ao desenvolvimento do corpo lúteo (GAAFAR et al., 2005).

No ovário, o período de estro é caracterizado por elevada secreção de E2 pelos folículos pré-ovulatórios, os quais também estimulam a produção de PGF₂ α uterina (JAINUDEEN et al., 2004). A PGF₂ α é o hormônio luteolítico uterino em várias espécies de mamíferos que controla a vida útil do corpo lúteo, o qual, por sua vez, regula a extensão do ciclo estral (JAINUDEEN et al., 2004).

2.4.4 Dinâmica folicular

As relações intrínsecas e extrínsecas entre as FSH, LH, E2 e P4 determinam a periodicidade da atividade reprodutiva na ovelha (CHEMINEAU et al., 1993; CHEMINEAU e DELGADILLO, 1994), bem como, sua dinâmica folicular (RUBIANES, 2000). O conhecimento da dinâmica ovariana tem sido importante para o desenvolvimento de técnicas que maximizem a fertilidade em ovelhas e o entendimento sobre o padrão de crescimento de ondas foliculares que ocorrem durante o ciclo estral, podendo ser constituído por duas a quatro ondas (EVANS, 2003; BARTLEWSKI et al., 2011), com alta variação individual, mas, com um padrão mais frequente de três ondas foliculares (VIÑOLES et al., 2004).

O ovário de uma ovelha adulta pode conter mais de 86000 folículos primordiais e de 100 a 400 folículos em crescimento, dos quais 10 a 40 são visíveis na superfície do ovário (PINEDA, 1989). Em uma onda folicular são observadas as fases de emergência, crescimento, estática e regressão ou ovulação. Uma onda é caracterizada pelo crescimento sincronizado de um conjunto de folículos (emergência), dos quais um ou mais continuam crescendo (folículos dominantes) enquanto outros regridem, considerados folículos subordinados (EVANS et al., 2000). A emergência de uma próxima onda de folículos ocorre somente após o folículo dominante perder seu efeito inibitório sobre o crescimento de outros folículos e após um aumento na concentração de FSH (ADAMS et al., 1992; SUNDERLAND et al., 1994).

O folículo ovulatório de ovelhas que apresentam duas ondas foliculares emerge ao mesmo tempo quando terminou a fase estática do folículo dominante na primeira onda e em ovelhas com 3 ondas, o folículo dominante da segunda onda emergiu após o fim da fase de crescimento do folículo dominante da primeira onda (EVANS et al., 2000). Foi também observado que o número médio de dias entre a emergência do folículo dominante (ou

ovulatório) e a diferenciação com o folículo secundário de ovelhas com duas ondas foi maior do que daquelas com três ondas (respectivamente, $1,6 \pm 0,3$ dias e $1,0 \pm 0,1$ dia). A diferenciação entre o folículo dominante e folículo ovulatório é identificada pelo maior diâmetro apresentado no primeiro (GINTHER et al., 1997).

Um folículo dominante funcional tem a habilidade para inibir o desenvolvimento de outros folículos concorrentes dentro de ambos ovários enquanto continua seu crescimento (FORTUNE, 1994). Rubianes et al. (1997), observando um padrão de ondas foliculares, com predominância de 2 a 3 ondas por ciclo estral, bem como uma hierarquia entre folículos dentro de uma onda, relataram que a dominância não somente ocorre pelo diâmetro folicular, mas, também pelas concentrações de fluidos esteróides. Um folículo dominante produz mais estradiol e menos P4 do que os folículos subordinados (FORTUNE, 1994; EVANS et al., 2000).

2.4.5 Ovulação

As ovelhas, geralmente, ovulam entre 12 e 36 horas após o início do estro (SHELTO, 1980; JAINUDEEN et al., 2004). Goel e Agrawal (1998), relataram uma maior ocorrência de ovulações próxima ao final do estro, de 28 a 54 horas.

A ovulação é um processo complexo iniciado pelas ondas sinérgicas do FSH e LH, sendo caracterizada pela retomada da meiose, culminando com ruptura da superfície folicular, liberação de um oócito maduro e fértil, bem como, a reestruturação do tecido folicular (GOEL e AGRAWAL, 1998).

O dia da ovulação é identificado como o aquele em que ocorre o desaparecimento do folículo dominante, sendo logo seguido pelo desenvolvimento do corpo lúteo no mesmo local (EVANS et al., 2000; TENÓRIO FILHO et al., 2007). O folículo funcionalmente dominante contém elevada concentração de E2 e de receptores para LH e FSH nas células da granulosa (FORTUNE, 1994), além de possuir habilidade para inibir o desenvolvimento de outros folículos concorrentes em ambos ovários.

2.4.6 Corpo lúteo

O corpo lúteo é uma glândula endócrina transitória que secreta P4 para dar suporte à gestação (MILVAE et al., 1996). É formada a partir da parede do folículo de Graff após a ovulação, por um complexo mecanismo envolvendo mudanças morfológicas e bioquímicas (SANGHA et al., 2002). É uma glândula dinâmica mostrando variações no tamanho, estrutura

e atividade esteroidogênica em diferentes estágios do ciclo estral e da gestação (FIELDS e FIELDS, 1996; MILVAE et al., 1996).

O corpo lúteo é um dos poucos tecidos adultos que exhibe períodos de crescimento e desenvolvimento de maneira extremamente rápida (REYNOLDS e REDMER, 1998). Tem a capacidade de secretar a P4 como seu principal hormônio esteróide e pequenas quantidades de E2, PGF 2α e um número de hormônios peptídicos como a relaxina, ocitocina, ocitocina-ligante (neurofisina-I), vasopressina e inibina (FIELDS e FIELDS, 1996; SANGHA et al., 2002).

Dentre as funções do corpo lúteo, destaca-se a determinação do comprimento do ciclo estral, incluindo os processos de luteólise e ovulação (MILVAE et al., 1996). Entretanto, o reconhecimento da prenhez e a sobrevivência embrionária dependem do suporte endócrino respaldado pela qualidade do corpo lúteo formado (MENEGATOS et al., 2006).

2.5 Indução e Sincronização do Estro em Ovelhas

A eficiência reprodutiva do rebanho é influenciada por diversos fatores, entre os quais pode ser destacado o controle deficiente do período de acasalamentos. Nascimentos em épocas desfavoráveis, com baixa disponibilidade de forragem e/ou de alta pluviosidade que favorece o surgimento de enfermidades, contribuem para o aumento da taxa de mortalidade no peri-parto, elevação do intervalo entre partos e desuniformidade dos lotes, resultando em perdas econômicas (GODFREY et al., 1999).

O desenvolvimento de técnicas e estratégias no manejo reprodutivo ocorrido nos últimos anos tem propiciado a adoção de procedimentos que favorecem a reprodução animal assistida, especialmente no que concerne a indução e a sincronização do estro, seja através de fármacos (OLIVEIRA et al., 2001; FALCÃO et al., 2008) ou de métodos naturais (ALMEIDA-IRMÃO et al., 2014; ALVES et al., 2014, 2015; CALDAS et al., 2015). Essas biotécnicas, que melhoram os índices reprodutivos, são frequentemente utilizadas durante a estação de monta para maximizar as coberturas em curto período de tempo, bem como em programas de inseminação artificial (NEVES et al., 1982; MORAES, 2008) e transferência de embriões (LIMA-VERDE et al., 2003, GONÇALVES et al., 2008) para acelerar o melhoramento genético.

2.5.1 Métodos Farmacológicos

A manipulação farmacológica do ciclo estral surgiu como alternativa para maximizar a eficiência reprodutiva dos animais criados em regiões de clima temperado por apresentarem

inatividade sexual em determinado período do ano (OLIVEIRA e OLIVEIRA, 2008; MAIA e BEZERRA, 2010). Entretanto, mesmo que a espécie ovina não evidencie estacionalidade reprodutiva na Região Nordeste brasileira, o uso de substâncias hormonais é importante para a sincronização de nascimentos ajustados às épocas de maior disponibilidade de forragens, evitando que a nutrição torne-se um fator limitante da eficiência reprodutiva, bem como essencial para o êxito dos programas de indução e sincronização de estro (FREITAS et al., 2004; FONSECA, 2005).

A PGF₂ α e seus análogos, por serem agentes luteolíticos que promovem a regressão do corpo lúteo, são bastante utilizados em programas de reprodução assistida. Nos ovinos, essas substâncias são utilizadas em dose única para induzir o estro em até 72 horas, determinando uma subsequente fase folicular com ovulação (ABECIA et al., 2011, 2012) ou em dose dupla, com intervalo de sete ou nove dias, para sincronizá-lo (MENCHACA e RUBIANES, 2004; URIBE-VELÁSQUEZ et al., 2011) sem alterar, de forma muito distinta, a dinâmica folicular decorrente do processo normal de regressão luteal ao final do ciclo estral (URIBE-VELÁSQUEZ et al., 2002, 2008ab, 2010, 2011; FIERRO et al., 2013).

A administração da PGF₂ α no terceiro dia após a ovulação induz a luteólise com consequente ovulação, evidenciando que o corpo lúteo não é refratário a ação desse agente luteolítico nesse período. Essa ocorrência mostra que o período refratário do corpo lúteo a ação da PGF₂ α é restrita a dois dias ou até mesmo menor após a ovulação (RUBIANES et al., 2003; 2004). De acordo com Uribe-Velásquez et al. (2011), assim como Fierro et al. (2013), a expectativa de resposta mais eficiente do corpo lúteo frente a ação da PGF₂ α deve ser esperada quando a administração é efetuada no momento em que as fêmeas encontram-se no início e no final da fase lútea, porque evidencia o estro rapidamente e com maior número de ovulações.

O pico pré-ovulatório de LH é mais precoce após a luteólise do que em estádios mais tardios da fase luteal devido à menor quantidade de P₄ e, conseqüentemente, de seu efeito inibitório sobre a pulsatilidade de LH, embora o início do estro e a ovulação permaneçam inalterados (CONTRERAS-SOLIS et al., 2009).

O uso do protocolo com duas doses de PGF₂ α em intervalo de sete dias resulta em alta sincronização de estro no intervalo de 25 a 48 horas após o final do tratamento (MENCHACA et al., 2004), com a ovulação ocorrendo entre 24 a 36 horas após manifestação de estro (URIBE-VELÁSQUEZ et al., 2010). Por outro lado, o momento e o número de ovulações após tratamento com esse luteolítico é muito variável, tanto em decorrência do status da onda folicular ao tratamento quanto à extensão da vida média de folículos ovulando que tenham

emergido antes da administração de $\text{PGF}_{2\alpha}$, assim como em consequência da ovulação de alguns folículos que emergem após o tratamento (BARRETT et al., 2002, 2004; URIBE-VELÁSQUEZ et al., 2010; FIERRO et al., 2013).

Olivera-Muzante et al. (2011a) comparando a sincronização do estro com duas doses de $\text{PGF}_{2\alpha}$, em sete dias de intervalo, com a associação entre P4 e eCG, obtiveram melhores resultados com o segundo protocolo. Igualmente, como Barrett et al. (2002) e Olivera-Muzante et al. (2011b), atribuíram as alterações do transporte espermático no trato reprodutivo, as baixas concentrações de P4 durante a fase lútea do prévio ciclo estral, alterando maturação do oócito e a taxa de fecundação, a quebra no modelo de secreção de FSH e na dinâmica folicular ovariana, com falha na ovulação e na formação do corpo lúteo, ou modificação na capacidade esteroidogênica do folículo ovulatório, com função luteal anormal e falha de prenhez, como possíveis causas para menor performance reprodutiva de ovelhas tratadas com $\text{PGF}_{2\alpha}$.

Diante do conceito de que a dose reduzida de $\text{PGF}_{2\alpha}$ poderia melhorar a performance reprodutiva por diminuir possíveis efeitos colaterais, Olivera-Muzante et al. (2011ab) testaram a administração de uma dose completa e uma meia-dose de um análogo de $\text{PGF}_{2\alpha}$. Ao final do experimento relataram que o referido conceito não pode ser ratificado em função dos resultados serem similares e hipotetizaram que muitos corpos lúteos jovens falham em responder à $\text{PGF}_{2\alpha}$, fato que reduz o número de ovelhas próximas à ovulação no momento da inseminação artificial em tempo fixo.

O "rebound effect" provocado pelo rápido aumento da concentração de P4 seguido de uma rápida queda da concentração desse hormônio, o qual alcança níveis basais após a retirada de sua fonte, estimula o sistema hipotálamo-hipófise-gonadal regular a dinâmica folicular, reagidando os folículos persistentes e recrutando novos folículos, numa condição de baixa concentração dos hormônios luteinizante e estradiol (HUSEIN e ABABNEH, 2008).

A P4 impregnada em dispositivos intravaginais que podem ser reutilizados (SOLORZANO et al., 2004; GUIDO et al., 2007; VILARIÑO et al., 2013) ou seus análogos sintéticos, denominados de progestágenos, contidos em implantes subcutâneos auriculares têm a ação potencializada quando associados a gonadotrofina coriônica equina (eCG), a gonadotrofina coriônica humana (hCG) ou ao FSH. No entanto, a eficiência da eCG é reduzida após sua utilização constante em decorrência da formação de anticorpos está relacionada com a redução da fertilidade (BARIL et al., 1996, 1998; ROY et al., 1999; URIBE-VELÁSQUEZ et al., 2007).

A inibição temporária do ciclo estral com progestágenos pode ser obtida, segundo Rathboun et al. (2001) e Abecia et al. (2011, 2012), tanto através do acetato de medroxiprogesterona (MAP) quanto do acetato de fluorgestona (FGA) e do CRESTAR[®], além da P4 contida no Controlled Internal Drug Release (CIDR[®]), no Progesterone Releasing Intravaginal Device (PRID) e no Dispositivo Intravaginal Caprino Ovino (DICO[®]). A ação da P4 contida no CIDR[®], além de ser mais eficiente do que o MAP, ainda pode-se reutilizar o dispositivo intravaginal (SOLORZANO et al., 2004) porque induz o estro e a ovulação de forma similar aos novos dispositivos (VILARIÑO et al., 2013), mesmo determinando menor concentração plasmática de P4.

Por outro lado, nos casos de reutilização por mais de 12 dias, é recomendado utilizar o CIDR[®] associado ao E2 17 β para melhorar as porcentagens de estro e prenhez (UNGERFELD, 2009; UNGERFELD et al., 2004a). Vale ressaltar que o CIDR[®] novo promove o "turnover" folicular em 100% das ovelhas tratadas (VILARIÑO et al., 2013) enquanto que o reutilizado somente em 80% delas (MENCHACA e RUBIANES, 2004).

Testando a eficiência do DICO[®] com a mesma concentração de P4 do CIDR[®] em ovelhas normais e ovariectomizadas para avaliar a liberação de P4, Vilariño et al. (2010) comentaram que o DICO[®] apresenta eficiência semelhante ao CIDR[®], tanto no que concerne a concentração sérica de P4 quanto em relação ao desenvolvimento folicular e ovulação, assim como sobre a possibilidade de sua reutilização.

Em regiões subtropicais, a eCG eleva o desenvolvimento folicular e a prolificidade de ovelhas (ALI, 2007; MURPHY, 2012). A associação entre a P4 e a eCG, quando utilizada em ovelhas, eleva a concentração plasmática desse hormônio entre o 6^o e o 10^o e reduz o intervalo de estro e ovulação em decorrência da eCG aumentar a concentração de E2 17 β e induzir tanto o estro quanto o pico pré-ovulatório de LH e FSH de forma mais precoce (URIBE-VELÁSQUEZ et al., 2008b).

A habilidade da hCG induzir a síntese de P4 e elevar a fertilidade depende do dia do ciclo estral que é realizado o tratamento nas ovelhas (GÓMEZ-BRUNET et al., 2007). A administração de hCG pode ser importante para aumentar a fertilidade de ovelhas pertencentes a rebanhos com problemas de fertilidade porque além de aumentar o índice de ovulação reduz a mortalidade embrionária (GÓMEZ-BRUNET et al., 2007) em consequência de talvez favorecer o desenvolvimento folicular, melhorar a qualidade de oócitos ou de embriões, ou ainda melhorar o ambiente uterino para receber o concepto (KHAN et al., 2009). Dependendo do momento da estação reprodutiva e da dose de FSH, a associação desse hormônio ao MAP pode produzir resultados mais satisfatórios do que a eCG no início da

estação reprodutiva, todavia, quando utilizado na metade dessa estação, o eCG é tão eficiente quanto ao FSH (BOSCOS et al., 2002).

2.4.2. Métodos Naturais

Os resultados obtidos, na espécie ovina, com os métodos farmacológicos para indução e sincronização de estro são bastante satisfatórios, entretanto, os custos mais elevados na implantação desse método tornam-se um obstáculo, sobretudo para os pequenos produtores (CORDEIRO, 1992). Além disso, a utilização constante dessa técnica pode resultar na formação de anticorpos contra as gonadotrofinas heterólogas, que culminam, por sua vez, com baixos resultados, tanto de sincronização quanto de indução do estro e da ovulação (MUNIZ, 2003).

A indústria animal moderna tem sido fortemente influenciada por novas exigências de mercado, especialmente, no que concerne ao bem estar dos animais e, nesse contexto, os métodos naturais para indução e sincronização do estro surgem como uma alternativa eficaz e de baixo custo, que pode ser utilizada em associação com os métodos farmacológicos (HAWKEN et al., 2005) ou isoladamente, tanto por pequenos quanto por grandes produtores.

2.4.2.1. Melatonina

A melatonina, hormônio secretado pela glândula pineal, tem ação direta na função reprodutiva das fêmeas sensíveis ao fotoperíodo (BITTMAN et al., 1983; RATHBOUNE et al., 1997). Sua síntese ocorre na ausência de luz e as concentrações na glândula pineal e no sangue sofrem variações de acordo a luminosidade, sendo baixas durante o dia e elevadas durante a noite (CHEMINEAU et al., 1986, 1993; ROSA e BRYANT, 2003). A informação fotoperiódica é levada ao axis reprodutivo através da glândula pineal pela secreção noturna de melatonina, sendo as variações na duração do dia transmitidas em mudanças na secreção de melatonina que, por sua vez, determinam alterações na secreção de LH (VIGUIE et al., 1995).

A secreção circadiana de melatonina induz a ativação do eixo hipotalâmico-hipofisário (ARENDRT et al., 1983; BITTMAN et al., 1983; KARSCH et al., 1984), como demonstrado por Rosa e Bryant (2003) ao administrarem melatonina em ovelhas ovariectomizadas expostas a dias longos e, como resposta, observarem aumento da frequência dos pulsos de GnRH. A melatonina atua também diretamente sobre o ovário, apresentando uma ação luteotrófica *in vivo* (WALLACE et al., 1988; ABECIA et al., 2002, 2007, 2008) e *in vitro*

(DUROTOYE et al., 1997), bem como aumentando a taxa de ovulação através da diminuição da atresia dos médios e grandes folículos (BISTER et al., 1999).

A melatonina tem sido administrada sob a forma de implante subcutâneo, injeções diárias ou na alimentação, como forma de antecipar a estação reprodutiva da ovelha. Esse hormônio tem proporcionado bons resultados na indução de estro tanto nas fêmeas de raças sazonais quanto naquelas de sazonalidade reduzida, dependendo do tempo de duração da luminosidade (HARESIGN et al., 1990; DUROTOYE et al., 1991; FORCADA et al., 1995; CHEMINEAU et al., 1996, ABECIA et al., 2002). A administração de melatonina de uma forma contínua mimetiza o efeito dos dias curtos, em termos de resposta reprodutiva.

Ovinos provenientes de regiões de clima temperado ou de alta latitude, onde existe variação na quantidade de horas luz diárias durante o ano, só apresentam atividade reprodutiva durante determinada época do ano, repetindo ciclos de estrais a cada outono (ABECIA et al., 2008). Devido a isso, quando as ovelhas são submetidas ao efeito macho associado a melatonina exógena, ocorre aumento do número de estros e da taxa de fertilidade (ZÚÑIGA et al., 2002; ABECIA et al., 2007, 2008). Nos machos, o uso desse hormônio tem sido relacionado com a antecipação da secreção de LH e com o aumento do volume testicular (WEBSTER et al., 1991).

2.4.2.2. Fotoperíodo Artificial

Se por um lado a melatonina exógena simula dias curtos, por outro, o tratamento fotoluminoso simula dias longos. O fotoperíodo é o principal fator determinante da estacionalidade reprodutiva nos ovinos e tanto o início quanto o final da estação reprodutiva estão condicionados as alterações do mecanismo de retroalimentação negativa promovido pelo E2 (THOMAS et al, 1988). Nos ovinos, o bloqueio da atividade ovariana durante o anestro estacional é decorrente da elevada sensibilidade ao efeito retroativo negativo dos estrógenos sobre a secreção de LH que, por sua vez, impede a ovulação (GÓMEZ-BRUNET et al., 2008, 2012).

A atividade reprodutiva das ovelhas ocorre pelo estímulo provocado pelos dias curtos, todavia, essa atividade pode cessar quando esse estímulo persiste por longo período. Essa perda da capacidade de responder ao estímulo é temporária e pode ser readquirida pela exposição dos animais aos dias longos. Os dias longos podem ser simulados artificialmente na forma de 16 horas de luz artificial e 8 horas de escuro ou o fornecimento de 1 a 2 horas de luz fornecidas entre 15 e 18 horas após anoitecer (CHEMINEAU, 1986; CHEMINEAU et al., 1992ab,1993; GÓMEZ-BRUNET et al., 2008).

O fotoperíodo e a nutrição são os principais fatores que influenciam a reprodução dos ovinos da raça Merino criados na Austrália (MARTIN et al., 2004; CAMERON et al., 2010). Para ovinos adaptados às condições tropicais, onde a variação fotoperiódica é pequena ou em raças pouco sensíveis ao fotoperíodo, outros fatores como temperatura ou alimentação são maiores determinantes da atividade reprodutiva do que a extensão do dia (GÓMEZ-BRUNET et al., 2012).

Na Região Semiárida do Nordeste brasileiro, a nutrição e a temperatura apresentam-se como os mais importantes fatores limitantes da reprodução de ovinos deslanados (SIMPLÍCIO et al., 1982; SANTOS et al., 2009, SANTOS et al., 2011). Mesmo criadas na Região Sudeste do Brasil, ovelhas da raça Santa Inês, menos sensível ao fotoperíodo, apresentam-se cíclicas ao longo do ano, ao contrário do que ocorre com aquelas das raças Suffolk e Romney Marshey, mais sensíveis a essa condição, que permanecem em anestro entre os meses de agosto a novembro (SASA et al., 2002).

2.6. Efeito Macho

De acordo com Ramírez e Quintero (2001), o efeito macho pode ser definido como um estímulo social e segundo Cushwa et al. (1992) é caracterizado pela bioestimulação promovida com a introdução de reprodutores num determinado rebanho de ovelhas previamente isoladas, antes da época reprodutiva, culminando com o retorno da ciclicidade. Esse efeito contribui para melhorar os índices reprodutivos em decorrência da antecipação da puberdade e da estação reprodutiva, além de contribuir para sincronização do estro (MARTIN et al., 1986).

Os resultados obtidos com o efeito macho em programas reprodutivos com ovelhas em anestro são similares aos obtidos com a utilização de tratamentos hormonais, além disso, é um método de baixo custo e que pode ser facilmente empregado em todas as propriedades (UNGERFELD et al., 2003), independente da extensão da propriedade (ALVES et al., 2015; CALDAS et al 2015).

2.6.1. Aspectos Fisiológicos

A eficiência da bioestimulação provocada pela introdução do reprodutor junto as fêmeas varia de acordo com o indivíduo e sofre influência direta e indireta das condições edafoclimáticas, sociais e, essencialmente, fisiológicas. Todos esses fatores se relacionam entre si e essas interações determinam a intensidade e a velocidade de resposta ao efeito macho (WALKDEN-BROWN et al., 1993)

De um modo geral, a súbita introdução dos machos promove um aumento na secreção pulsátil de LH e reduz o efeito retroativo negativo do E2 sobre o eixo hipotalâmico-hipofisário, resultando em uma onda pré-ovulatória de LH (MARTIN et al., 1986). Essa influência desencadeia uma série de reações endócrinas que resultam em alterações específicas no comportamento reprodutivo de animais de mesma espécie, que ocorre em consequência a comunicação química mediada pelos hormônios sexuais (REKWOT et al., 2001). Em contrapartida, verificou-se uma ação do efeito macho entre diferentes espécies, constatada através de ovulações em ovelhas anovulatórias, estimuladas pela introdução de machos caprinos no rebanho (KNIGHT et al., 1983).

Os hormônios sexuais dos mamíferos são sinalizadores liberados no ambiente como produtos de excreção das glândulas cutâneas e microorganismos da pele, entretanto, nem todos os odores atuam como sinais químicos (VANDENBERGH, 1988). Conforme reportado por Rekwot et al. (2001), os feromônios presentes na lã, cera e urina dos ovinos são responsáveis por estimular a ovulação nas ovelhas enquanto que nos caprinos odor característico do macho pode ser utilizado para auxiliar na indução do estro das cabras durante a estação sexual.

Nos países situados em altas latitudes, a separação entre machos e fêmeas durante o anestro estacional e a posterior junção na estação reprodutiva, permitiu, possivelmente, o desenvolvimento de fatores sociais, como o efeito macho, o qual exerce influência sobre a atividade reprodutiva dos caprinos e ovinos (ROSA e BRYANT, 2002). Nas espécies selvagens do gênero *Ovis* foi observado que os animais formam grupos separados de machos e de fêmeas com crias. Só ocorre a junção entre os dois grupos antes da estação de monta, promovendo uma sincronização dos estros e concentração dos partos em épocas de maior abundância de alimentos (WALKDEN-BROWN et al., 1999).

Esse mesmo comportamento reprodutivo é também observado nas espécies domésticas (LINDSAY, 1991). Tanto por parte das fêmeas caprinas quanto das ovinas que se encontram em aciclia durante o anestro estacional (UNGERFELD et al., 2008), o anestro pós-parto (CHEMINEAU, 1986; LASSOUED et al., 2004) ou na pré-puberdade (GONZALEZ-STAGNARO, 1991; BARTLEWSKI et al., 2011), a estimulação multisensorial e feromonal, produzida pelo macho, promove o retorno da atividade ovariana e determina o início mais precoce da puberdade (UNGERFELD et al., 2008).

A secreção tônica de gonadotrofinas, mediada pelo eixo hipotalâmico-hipofisário, é alterada pela introdução do macho no rebanho das fêmeas, fato que resulta na onda pré-ovulatória do LH e determina a ovulação (MARTIN et al., 1986; ROSA e BRYANT, 2002).

Apesar de alguns autores descreverem que ocorre significativo aumentos nas concentrações de LH após a introdução do macho, o tempo em que ocorre esses aumentos é variável. Nas ovelhas da raça Merino em anestro, o aumento na concentração de LH ocorreu dentro de apenas 10 minutos após a introdução dos reprodutores (OLDHAM et al., 1978), por outro lado, Martin et al. (1986) verificaram aumento na frequência pulsátil de LH em apenas 2 minutos. Já Rosa e Bryyant (2002) mencionaram que a frequência da secreção pulsátil de LH continua alta por algum tempo, culminando com a onda pré-ovulatória dentro das 36 horas que seguem ao aumento inicial observado minutos após a introdução do macho, muito embora este período apresente variações entre 11 e 50 horas.

O efeito macho nas fêmeas que se encontram em anestro e quando previamente isoladas induz o estro e a ovulação (UNGERFELD et al., 2004b). Os resultados com fêmeas cíclicas, além de escassos apresentam grandes variações e, de um modo geral, essas ovelhas são menos sensíveis ao “feedback” negativo do estradiol, podendo ser ou não responsivas ao efeito macho (ROSA e BRYANT, 2002). Em contrapartida, ovelhas da raça Corriedade em anestro não apresentam alterações na atividade ovariana, mesmo após a introdução dos reprodutores (UNGERFELD et al., 2003).

Após a introdução do macho algumas ovelhas apresentam duas fases lúteas, sendo uma normal e uma segunda de curta duração, ovulações retardadas, 5 a 7 dias após a introdução dos machos, seguidas por novos ciclos de curta ou de duração normal, bem como luteinização de folículos não ovulatórios, cistos foliculares luteinizados e ausência de fase lútea (UNGERFELD e SILVA, 2004). Foi registrado aumento na duração do ciclo estral e na produção de P4 em ovelhas que se encontravam na fase lútea no momento da introdução do macho, fato sugestivo de ação luteotrópica (UNGERFELD et al., 2003).

A ovulação nas ovelhas em anestro, quando bioestimuladas pelo efeito macho, ocorre, em média, de 1 a 3 dias após a introdução do reprodutor. Todavia, o corpo lúteo formado secreta baixa quantidade de P4, implicando na sua regressão precoce, ocorrência que determina o surgimento de ciclo estral de curta duração, de 5 a 6 dias, com ciclo posterior de duração normal, conforme descrito por Pearce e Oldham (1984), Chemineau (1986) e Martin et al. (1986). Segundo Martin et al. (1986), a onda pré-ovulatória induz a ovulação e a formação de um corpo lúteo. Esses mesmos autores relatam que ovelhas em anestro respondem ao efeito macho com elevação na frequência dos pulsos de LH, seguida por uma onda pré-ovulatória desse hormônio que varia de 6 a 52 horas, com média de 27, após o início da bioestimulação.

O efeito macho induz diferentes comportamentos nas fêmeas dos pequenos ruminantes (THIMONIER et al., 2000). Conforme reportado por Signoret (1991) o primeiro estro nas ovelhas ocorre normalmente de forma silenciosa e as ovelhas só evidenciam estro após a exposição a fase lútea de duração normal e de acordo com Sutherland et al. (1994), esse motivo esclarece o padrão de distribuição de estro.

Uma vez submetidas ao efeito macho, as ovelhas podem apresentar dois grupos de acordo com a distribuição dos estros (THIMONIER et al., 2000). No primeiro grupo, após a exposição das fêmeas ao macho, a ovulação ocorre de 2 a 3 dias de forma silenciosa e a manifestação do primeiro estro ocorre por volta dos 18 a 20 dias, seguido por um ciclo normal de 17 dias com uma segunda ovulação acompanhada de estro. No segundo grupo, formado por ovelhas que evidenciam estro entre o 24^o e o 26^o dia, a ovulação também ocorre de forma silenciosa entre 2 e 3 dias após introdução dos machos, seguindo-se de uma fase lútea de 6 dias e depois uma terceira ovulação acompanhada de estro (MARTIN et al., 1986; THIMONIER et al., 2000).

Conforme descrito por Martin et al. (1986), a bioestimulação provocada pelo efeito macho nas ovelhas em anestro induz, precocemente, uma onda pré-ovulatória de LH que, geralmente, é sucedida por uma fase lútea de curta duração, em consequência da ausência de uma prévia exposição a P4.

Apesar do efeito macho ser utilizado há bastante tempo existem controvérsias quanto ao real estímulo provocado pela introdução dos machos previamente isolados das fêmeas. A bioestimulação provocada pelo efeito macho é decorrente do estímulo olfatório que os reprodutores ovinos exercem sobre as fêmeas (PEARCE e OLDHAM, 1984), por outro lado, grande parte dos pesquisadores acreditam que esse efeito decorra de estímulos multissensoriais (PEARCE e OLDHAM, 1988; THIMONIER et al., 2000; RAMIREZ e QUINTERO, 2001).

2.6.2. Fatores que influenciam na resposta ao efeito macho

A bioestimulação provocada pelo efeito macho tem se mostrado efetiva, tanto na indução quanto na sincronização de estros nas espécies caprina (ALMEIDA-IRMÃO et al., 2014; ALVES et al., 2015) e ovina (CALDAS et al., 2015).

Apesar dos resultados positivos obtidos com a adoção dessas biotécnicas, uma série de fatores pode comprometer a sua eficácia, especialmente, nas explorações tradicionais, na qual os machos e fêmeas permanecem em contato permanente e com isso a percepção e o comportamento sexual das fêmeas são comprometidos, culminando com a instalação de um

estado de atividade reprodutiva refratária ao efeito macho (GONZALEZ-STAGNARO, 1991; FOLCH et al., 1993).

Fatores como o escore de condição corporal (GONZALEZ-STAGNARO, 1991; FOLCH et al., 1993), raça das fêmeas (SIGNORET, 1991; WALKDEN-BROWN et al., 1999), substituição de reprodutor (PEARCE e OLDHAM, 1984; CUSHWA et al., 1992), proporção macho/fêmea e libido do macho (CHEMINEAU, 1986; FOLCH et al., 1993; PERKINS e FITZGERALD, 1994), condição de anestro da fêmea (THIMONIER et al., 2000; CHEMINEAU et al., 2006), intensidade e duração do estímulo promovido pelo reprodutor (FOLCH et al., 1993; WALKDEN-BROWN et al., 1993), prévia experiência sexual da fêmea (GELEZ e FABRE-NYS, 2004), completo isolamento inicial, nutrição e estágio do pós-parto das fêmeas expostas (CHEMINEAU, 1986; FOLCH et al., 1993), podem interferir na eficácia dessa biotécnica.

Segundo Rekwot et al. (2001), o período de pré-isolamento dos machos não é bem delimitado. No entanto, de maneira geral, nos trabalhos conduzidos empregando-se o efeito macho é preconizado um período superior a três semanas de afastamento para que a bioestimulação ocorra imediatamente (PEARCE e OLDHAM, 1984; CHEMINEAU, 1986). Foi descrito por Ramírez e Quintero (2001), que deve existir uma distância mínima de separação e que é necessário evitar o contato físico, olfativo e visual, entre reprodutores e matrizes para que se proceda a bioestimulação. Por outro lado, alguns autores reportaram haver apenas influência do contato físico nas espécies caprina (ALVES et al., 2015) e ovina (CALDAS et al., 2015).

Cushwa et al. (1992) e Pearce e Oldham (1988), trabalhando com ovelhas em anestro, constataram que, mesmo com os machos no rebanho, apenas a introdução de novos machos foi suficiente para estimular a indução do estro em um grupo de ovelhas.

É sabido que as fêmeas da espécie ovina são poliéstricas estacionais e, em decorrência desse aspecto fisiológico, os estros tendem a ser mais concentrados em um único período (BINELLI et al., 2006). Por isso, fatores como o libido do reprodutor tem se mostrado importante para melhoria dos resultados obtidos com o efeito macho (PERKINS e FITZGERALD, 1994). Adicionalmente, tanto ciclos ovarianos de curta duração quanto ovulações silenciosas têm sido verificados com fêmeas em anestro e com machos pouco ativos sexualmente, conforme reportado por Perkins e Fitzgerald (1994) e por Ramírez e Quintero (2001). Entretanto, esses fatores podem ser corrigidos pelo uso de reprodutores sexualmente mais ativos e/ou através da diminuição na proporção macho/fêmea (CHEMINEAU, 1986).

Thimonier et al. (2000), observaram que uma série de fatores exercem influência sobre os resultados obtidos pela bioestimulação provocada pelo efeito macho, dentre os quais destacam-se a raça, o período de anestro, o estado fisiológico, a idade das fêmeas e, principalmente, o “status” nutricional (ROSA e BRYANT, 2002; SASA et al., 2002).

Segundo estudos efetuados por Sasa (2003), com ovelhas das raças Santa Inês, Sulffolk, Romney Marsch, em diferentes condições nutricionais e submetidas ao efeito macho, apenas as fêmeas da raça Santa Inês evidenciaram 100% de atividade cíclica imediatamente após à exposição aos machos. Por outro lado, apenas 50% daquelas da raça Sulffolk apresentaram atividade cíclica, enquanto que as da raça Romney Marsch permaneceram em aciclia.

Os melhores resultados obtidos com o efeito macho, traduzidos pela maior quantidade de ovulações, são diretamente proporcionais a intensidade e duração da exposição das fêmeas ao reprodutor (OLDHAM e PEARCE, 1983; WALKDEN-BROWN et al., 1993). Além disso, Oldham e Pearce (1983) concluíram que a continuidade da ciclicidade, após a primeira ovulação, é também influenciada pelo tempo de permanência do reprodutor junto ao rebanho das fêmeas. Por outro lado, Rosa e Bryant (2002), reportaram que as fêmeas podem voltar à condição anovulatória mesmo permanecendo em contato com o macho.

Conforme reportado por Otto et al. (1998), foram obtidas respostas similares utilizando o efeito macho durante o anestro estacional de ovelhas da raça Suffolk, independentemente da idade. Além disso confirmaram que os estros férteis ocorrem a partir da segunda semana da estação de monta. No que concerne a prévia experiência sexual, fêmeas púberes apresentam maior resposta quando submetidas ao efeito macho, traduzida por um maior e mais rápido aumento na secreção de LH em comparação a fêmeas pré-púberes (GELEZ e FABRE-NYS, 2004). Esses autores creditaram esse achado ao fato das pré-púberes serem mais sensíveis ao estresse provocado pela introdução dos machos.

A eficiência do efeito macho nas fêmeas é comprometida por uma série de fatores intrínsecos e extrínsecos (GONZALEZ-STAGNARO, 1991; WALKDEN-BROWN et al., 1999; THIMONIER et al., 2000; SASA et al., 2002; GELEZ e FABRE-NYS, 2004). Nos machos, antagonicamente ao que ocorre com as fêmeas, a raça, a idade e a experiência sexual são os principais aspectos a serem considerados, conforme reportado por Rosa e Bryant (2002). Além disso, o sucesso do efeito macho depende da perfeita simbiose entre os diferentes aspectos que envolvem os reprodutores e as matrizes, bem como, da forma com a qual eles se correlacionam entre si (FOLCH et al., 1993; WALKDEN-BROWN et al., 1999, THIMONIER et al., 2000).

3 – REFERÊNCIAS

ABECIA, J.A., VALARES, J.A., FORCADA, F.; PALACIN, I.; MARTIN, S.; MARTINO, A. The effect of melatonin on the reproductive performance of three sheep breeds in Spain. **Small Ruminant Research**, v.69, p.10-16, 2007.

ABECIA, J.A.; FORCADA, F.; CASAO, A.; PALACIN, I. Effect of exogenous melatonin on the ovary, the embryo and the establishment of pregnancy in sheep. **Animal**, v.2, p.399-404, 2008.

ABECIA, J.A.; FORCADA, F.; GONZALEZ-BULNES, A. Hormonal control of reproduction in small ruminants. **Animal Reproduction Science**, v.130, p.173 – 179, 2012.

ABECIA, J.A.; FORCADA, F.; GONZALEZ-BULNES, A. Pharmaceutical Control of Reproduction in Sheep and goats. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.27, p.67–79, 2011.

ABECIA, J.A.; FORCADA, F.E.; ZÚÑIGA, O. The effect of melatonin on secretion of progesterone in sheep and on development of ovine embryos in vitro. **Veterinary Research Communications**, v.26, p.151–158, 2002.

ADAMS, G.P.; MATTERI, R.L.; KASTELIC, J.P.; KO, J.C.H.; GINTHER, O.J. Association between surges of follicle-stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. **Journal of Reproduction & Infertility**, v. 94, p. 177-188. 1992.

ALBUQUERQUE, F.T; BARROS FILHO, J.B.; VIANA, J.H.M. **Manipulação do ciclo estral em bovinos de corte: bases anatômicas fisiológicas e histológicas da reprodução da fêmea**. UFLA – Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2004.

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

ALMEIDA-IRMÃO, J.M.; FREITAS NETO, L.M.; MOURA, M.T.; NEVES, J.P.; LIMA, P. F.; OLIVEIRA, M.A.L. Duration of the breeding season on the reproductive performance of Anglo-Nubian goats during dry and rainy periods. **Veterinary Science Development**, v.4, p. 43-45, 2014.

ALVES, C.G.T.; ALMEIDA-IRMÃO, J.M.; MOURA, M.T.; SILVA, J.C.F.; DEUS, P.R.; NEVES, J.P.; BARTOLOMEU, C.C.; LIMA, P.F.; OLIVEIRA, M.A.L. Influence of male-to-female ratio and climatic conditions on the reproductive performance of anglo nubian goats. **Boletim da Indústria Animal**, v.71, n.3, p.284-290, 2014.

ALVES, C.G.T.; SILVA, J.C.F.; ALMEIDA-IRMAO, J.M.; MOURA, M.T.; BARTOLOMEU, C.C.; LIMA, P.F.; OLIVEIRA, M.A.L. Reproductive outcomes using different distances for preconditioning for male effect in goats during two distinguish climate seasons. **Boletim de Indústria Animal**, v.72, n.1, p.69-76, 2015.

ARENDRT, A.; SYMONS, A.M.; LAUD, C.A.E.; PRYDE, S.J. Melatonin can induce early onset of the breeding season in ewe. **Journal of Endocrinology**, v.97, p.395-400, 1983.

BANDEIRA, D.A.; SANTOS, M.H.B.; NETO, J.C.; NUNES, J.F. Aspectos da caprino-ovinocultura no Brasil e seus reflexos produtivo e reprodutivo. In: SANTOS, M.H.B. et al. **Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha**. São Paulo: Varela, 2004. Cap.1. p.1-9.

BARIL, G.; FREITAS, V.J.F.; SAUMANDE J. Les traitements progestagènes d'induction de l'oestrus chez la chèvre: le point sur les recherches récentes. **Revue de Medecine Veterinaire**, n.5, p.359-366, 1998.

BARIL, G.; REMY, B.; LEBOEUF, B.; BECKERS, J.F.; SAUMANDE, J. Synchronization of estrus in goats: the relationship between eCG binding in plasma, time of occurrence of estrus and fertility following artificial insemination. **Theriogenology**, v.45, p.1553-1559, 1996.

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

BARRETT, D.W.M.; BARTLEWSKI, P.M.; COOK, S.J.; RAWLINGS, N.C. Ultrasound and endocrine evaluation of the ovarian response to PGF₂ α given at different stages of the luteal phase in ewes. **Theriogenology**, v.58, p.1409-1424, 2002.

BARROS, N.N.; FIGUEIREDO, A.P. de; BARBIERI, M.E.; FERNANDES, F.D.; SIMPLICIO, A.A. Efeito da raça do carneiro no desempenho de cordeiros de corte no Estado do Ceará. In: REUNIAO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 27. 1990, Campinas. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1990. p.523

BARTLEWSKI, P. M.; BABY, T. E.; GIFFIN, J. L. Reproductive cycles in sheep. Review. **Animal Reproduction Science**, v.124, p.259-268, 2011.

BELIBASAKI, S.; KOUIMTZIS, S. Sexual activity and body and testis growth in prepubertal ram lambs of Friesland, Chios, Karagouniki and Serres dairy sheep in Greece. **Small Ruminant Research**, v.377, p.109-113, 2000.

BERTOLINI, M.; BERTOLINI, L.R. Advances in reproductive technologies in cattle: from artificial insemination to cloning. **Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia**, v.56, n.3, p.184-194, 2009.

BICUDO, S.D.; SOUZA, D.B.; TAKADA, L. Possibilidades e limitações da inseminação com sêmen ovino refrigerado e biotécnicas associadas como estratégias de intensificação do manejo reprodutivo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 15, 2003. Porto Seguro – BA. **Anais...** Belo Horizonte - MG: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 2003.

BINELLI, M.; IBIAPINA, B.T.; BISINOTTO, R.S. Bases fisiológicas, farmacológicas e endócrinas dos tratamentos de sincronização do crescimento folicular e da ovulação. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.34, n.1, p.1-7, 2006.

BISTER, J.L.; NOËL, B.; PERRAD, B.; MANDIKI, S.N.M.; MBAYAHAGA, J.; PAQUAY, R. Control of ovarian follicle activity in the ewe. **Domestic Animal Endocrinology**, v.17, p.315-328, 1999.

BITTMAN, E.L., DEMPSEY, R.J.; E KARSCH, F.J. Pineal melatonin secretion drives the reproductive response to daylength in the ewe. **Endocrinology**, v.113, p.2276-2283, 1983.

BLACHE, D.; TELLAM, R.L.; CHAGAS, L.M., et al. Level of nutrition affects leptin concentrations in plasma and cerebrospinal fluid in sheep. **Journal of Endocrinology**, v.165, p.625-637, 2000.

BOMFIM, M.A.D.; ALBUQUERQUE, F.H.M.A.R.; SOUSA, R.T. Papel da nutrição sobre a reprodução ovina. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.8, p.372-379, 2014.

BOSCOS, C.M.; SAMARTZI, F.C.; DELLIS, S.; ROGGE, A.; STEFANAKIS, A.; KRAMBOVITIS, E. Use of progestagengonadotrophin treatments in estrus synchronization od sheep. **Theriogenology**, v.58, p.1261-1272, 2002.

BRONSON, F.H. Effect of food manipulation on the GnRH-LH-estradiol axis of young female rats. **American Journal of Physiology**, v.252, p.140-114, 1988.

BUENO, M. S.; CUNHA, E. A.; SANTOS, L. E. dos; VERÍSSIMO, C. J. **Santa Inês: uma boa alternativa para a produção intensiva de carne de cordeiros na região Sudeste**.2006. Disponível em:<http://www.infobibos.com/Artigos/2006_2/SantaInes/index.htm>. Acesso em: 13/3/2015.

CALDAS, E.L.C., FERREIRA-SILVA, J.C., FREITAS NETO, L M., VELOSO NETO, H.F., MOURA, M.T., LIMA, P.F., SANTOS, M.H.B., OLIVEIRA, M.A.L. Male effect associated with suckling interruption on the reproductive performance of santa inês ewes. **Boletim de Indústria Animal** (Online), v.72, p.117-123, 2015a.

CALDAS, E.L.C., FREITAS NETO, L M., ALMEIDA-IRMÃO, J.M., SILVA, J.C.F., SILVA, P. G. C., VELOSO NETO, H.F., NEVES, J.P., MOURA, M.T., LIMA, P.F., OLIVEIRA, M.A.L. The influence of separation distance during the preconditioning period of the male effect approach on reproductive performance in sheep. **Veterinary Science Development**, v.4, p.1-9, 2015b.

CAMERON, J.; MALPAUX, B.; CASTONGUAY, F.W. Accelerated lambing achieved by a photoperiod regimen consisting of alternating 4-month sequences of long and short days applied year-round. **Journal of Animal Science**, v.88, p.3280-3290, 2010.

CARATY, A.; SKINNER, D.C. Progesterone priming is essential for the full expression of the positive feedback effect of estradiol in inducing the preovulatory gonadotropin-releasing hormone surge in the ewe. *Endocrinology*, v.140, n.1, p.165-170, 1999.

CARNEIRO, G.F. Biotecnologia da reprodução na espécie caprina: perspectivas atuais. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.31, n.2, p.268-273, 2007.

CHEMINEAU, P. Seasonal behaviour and gonadal activity during the year. I. Female oestrous behaviour and ovarian activity. **Reproduction Nutrition Développement**, v.26, p.441-452, 1986.

CHEMINEAU, P.; BERTHELOT, X.; MALPAUX, B.; GUÉRIN, Y.; GUILLAUME, D.; PELLETIER, J. La maîtrise de la reproduction par la photopériode et la mélatonine chez les mammifères d'élevage. **Cash Agriculture**, v2 p.81-92, 1993.

CHEMINEAU, P.; DAVEAU, A.; MAURICE, F.; DELGADILLO, J. A. Seasonality of oestrus and ovulation is not modified by subjecting female Alpine goats to a tropical photoperiod. **Small Ruminant Research**, v. 8, p. 299-312, 1992a.

CHEMINEAU, P.; DELGADILLO, J.A. Neuroendocrinologie de la reproduction chez les caprins. **INRA Produção Animal**, v.7, n.5, p.315-326, 1994.

CHEMINEAU, P.; MALPAUX, B.; PELLETIER, J.; LEBOEUF, B.; DELGADILLO, J.A.; DELETANG, F.; POBEL, T.E.; BRICE, G. Emploi des implants de mélatonine et des traitements photopériodiques pour maîtriser la reproduction saisonnière chez les ovins et les caprins. **INRA Productions Animales**, v.9, p.45–60, 1996.

CHEMINEAU, P.; MALPAUX, B.; DELGADILLO, J.A. Control of sheep and goat reproduction: use of light and melatonin. **Animal Reproduction Science**, v.30, p.157-184, 1992b.

CHEMINEAU, P.; PELLICER-RUBIO, M.T.; LASSOUED, N.; KHALDI, G. E MONNIAUX, D. Male-induced short oestrous and ovarian cycles and sheep and goats: a working hypothesis. **Reproduction Nutrition Development**, v.46, p.417-429, 2006.

CONTRERAS-SOLIS, I.; VASQUEZ, B.; DIAZ, T.; LETELIER, C.; LOPEZ-SEBASTIAN, A.; GONZALEZ-BULNES, A. Efficiency of estrous synchronization in tropical sheep by combining short-interval cloprostenol-based protocols and “male effect”. **Theriogenology**, v.71, p.1018-1025, 2009.

CORDEIRO, P.R.C. Sincronização de cio em cabras leiteiras com fotoperiodismo artificial. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINARIA, 22.1992, Curitiba. **Anais...** Curitiba: Sociedade Goiana de Veterinária, 1992. p.22-25.

COUTO, F.A. Importância econômica e social da caprinocultura brasileira. In: SEMINÁRIO APOIO À CADEIA PRODUTIVA DA OVINO-CAPRINO-CULTURA BRASILEIRA, 1, 2001, Brasília. **Anais...** Brasília: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, 2001. p.10-15.

CUNNINGHAM, J.G, **Tratado de fisiologia**, 4ª edição, Rio de Janeiro: Elsevier, 2008, 579p.

CUSHWA, W.T.; BRADFORD, G.E.; STABENFELDT, G.H.; BERGER, Y.M.; DALLY, M.R. Ram Influence on Ovarian and Sexual Activity in Anestrous Ewes: Effects of Isolation of Ewes from rams Before Joining and date of Ram Introduction. **Journal of Animal Science**, v.70, p.1195-1200, 1992.

DUROTOYE, L.A.; RAJKUMAR, R.; ARGO, C.M.; NOWAK, R.; WEBLEY, G.E.; MCNEIL, M.E.; GRAHAM, N.B.; RODWAY, R.G. Effect of constant-release melatonin implants on the onset of oestrous activity and on reproductive performance in the ewe. **Animal Production**, v.52, p.489–497, 1991.

DUROTOYE, L.A.; WEBLEY, G.E.; RODWAY, R.G. Stimulation of the production of progesterone by the corpus luteum of the ewe by the perfusion of melatonin in vivo and by treatment of granulosa cells with melatonin in vitro. **Research in Veterinary Science**, v.62, p.87–91, 1997.

DOWNING, J.A.; SCARAMUZZI, R.J. The effect of the infusion of insulin during the luteal phase of the estrous cycle on the ovulation rate and on plasma concentrations of LH, FSH and glucose in ewes. **Theriogenology**, v. 47, n. 3, p. 747-759, 1997.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Caprinos. **Sistema de Produção de Caprinos e Ovinos de Corte no Nordeste Brasileiro**, 2005. EMBRAPA-CNPC, 2005 Disponível em: <<http://www.cnpc.embrapa.br>> Acesso em: 13/03//2015.

EVANS, A.C.O. Ovarian follicle growth and consequences for fertility in sheep. **Animal Reproduction Science**, v.78, p.289-306, 2003.

EVANS, A.C.O.; DUFFY, P.; HYNES, N.; BOLAND, M.P. Waves of follicle development during the estrous cycle in sheep. **Theriogenology**, v.53, p. 699-715, 2000.

FABRE-NYS, C., AND G.B. MARTIN. Hormonal control of proceptive and receptive sexual behavior and the preovulatory LH surge in the ewe: reassessment of the respective roles of estradiol, testosterone, and progesterone. **Hormones and behavior**, v.25, n.3, p.295-312, 1991.

FALCÃO, D.P.; SANTOS, M.H.B.; FREITAS NETO, L.M.; NEVES, J.P.; LIMA, P.F.; OLIVEIRA, M.A.L. Uso da PGF 2α no puerpério para reduzir o anestro pós-parto de cabras em aleitamento contínuo e controlado. **Ciência Animal Brasileira**, v.9, n.2, p.512-518, 2008.

FAO. Food and agriculture organization of the united nations, Statistics 2012. Disponível em: <www.fao.org>. Acesso em: 13/03/2015.

FIELDS, M. J.; FIELDS, P. A. Morphological characteristics of the bovine corpus luteum during the estrous cycle and pregnancy. **Theriogenology**, v.45, n.7, p.1295-1325, 1996.

FIERRO, M.S.; GIL, J.; VIÑOLES, C.; OLIVERA-MUZANTE, J. The use of prostaglandins in controlling estrous cycle of the ewe: a review. **Theriogenology**, v.79, p.399-408, 2013.

FOLCH, J.; GONZALEZ, F.; ALABART, J. L. “Efeito macho” en cabras Blanca Celtiberica. In: Jornadas Sobre Produccion Animal, 5 ,Zaragoza, 1993. **Anais...** Zaragoza, ITEA, 1993, p.454-455.

FONSECA, J.F. Estratégias para o controle do ciclo estral e superovulação em ovinos e caprinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.16, p.1-9, 2005.

FORCADA, F.; ZARAZAGA, L.E.; ABECIA, J.A. Effect of exogenous melatonin and plane of nutrition after weaning on estrous activity, endocrine status and ovulation rate in Salz ewes lambing in the seasonal anoestrus. **Theriogenology**, v.43, p.1179–1193, 1995.

FORTUNE, J.E. Ovarian follicular growth and development in mammals. **Biology of Reproduction**, v.50, p.225-232, 1994.

FREITAS, V.J.F.; LOPES-JUNIOR, E.S.; RONDINA, D.; SALMITO-VANDERLEY, C.S.B.; SALLES, H.O.; SIMPLICIO, A.A.; SAUMANDE, J. Puberty in Anglo-Nubian and Saanen female kids raised in the semi-arid of North-eastern Brazil. **Small Ruminant Research**, v.53, n.1, p.167-172, 2004.

FURUSHO-GARCIA, I.F.; PEREZ, J.R.O.; BONAGURIO, S.; LIMA, A.L.; QUINTÃO, F.A. Desempenho de cordeiros Santa Inês puros e cruzas Santa Inês com Texel, Ile de France e Bergamácia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.6, p.1591-1603, 2004.

GAAFAR, K.M.; GABR, M.K.; TELEB, D.F. The hormonal profile during the estrous cycle and gestation in Damascus goats. **Small Ruminant Research**, v.57, p.85-93, 2005.

GELEZ, H.; FABRE-NYS, C., The “male effect” in sheep and goats: a review of the respective roles of the two olfactory systems. **Hormones and behavior**, v.46, p.257-261, 2004.

GINTHER, O.J.; KOT, K.; KULICK, L.J.; WILTBANK, M.C. Emergence and deviation of follicles during the development of follicular waves in cattle. **Theriogenology**, v.48, p.75-87. 1997.

GINTHER, O.J.; KOT, K.; WILTBANK, M.C. Associations between emergence of follicular waves and fluctuations in FSH concentrations during the estrous cycle in ewes. **Theriogenology**, v.43, p.689-703, 1995.

GODFREY, R.W.; COLLINS, J.R.; HENSLEY, E.L.; WHEATON, J.E. Estrus synchronization and artificial insemination of hair sheep ewes in the tropics. **Theriogenology**, v.51, n. 5, p. 985-97, 1999.

GOEL, A.K.; AGRAWAL, K. Oestrus synchronization in cyclic goats following luteal administration. **Indian Journal of Animal Sciences**, v.68, n.2, p.155-156, 1998.

GÓMEZ-BRUNET, A.; SANTIAGO-MORENO, J.; DEL CAMPO, A.; MALPAUX, B.; CHEMINEAU, P.; TORTONESE, D.J.; GONZALEZ-BULNES, A.; LÓPEZ-SEBASTIA, N.; A. Endogenous Circannual Cycles of Ovarian Activity and Changes in Prolactin and Melatonin Secretion in Wild and Domestic Female Sheep Maintained under a Long-Day Photoperiod. **Biology of Reproduction**, v.78, p.552-562, 2008.

GÓMEZ-BRUNET, A.; SANTIAGO-MORENO, J.; MONOTOR, V.; GARDE, J.; PONS, P.; GONZÁLEZ-BULNES, A.; LÓPEZ-SEBASTIAN, A. Reproductive performance and progesterone secretion in estrus-induced Manchega ewes treated with hCG at the time of AI. **Small Ruminant Research**, v.71, p.117-122, 2007.

GÓMEZ-BRUNET, A.; SANTIAGO-MORENO, J.; TOLEDANO-DIAZ, A.; LÓPEZ-SEBASTIÁN, A. Reproductive seasonality and its control in spanish sheep and goats. **Tropical and Subtropical Agroecosystems**, v.15, n.1, p.47-70, 2012.

GONÇALVES P.B.D, BARRETA MH, SANDRI LR, FERREIRA R, ANTONIAZZI AQ. Produção in vitro de embriões bovinos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.31, p.212-217, 2007.

GONÇALVES, P.B.D.; FIGUEIREDO, J.R.; FREITAS, V.J.F. **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. 2.ed. São Paulo: Varela, 2008. 340p.

GONZAGA NETO, S.; SILVA SOBRINHO, A.G., ZEOLA, N.M.B.L.; MARQUES, C.A.T.; SILVA, A.M.A; PEREIRA FILHO, J.M.; FERREIRA, A.C. Características quantitativas da carcaça de cordeiros deslanados Morada Nova em função da relação volumoso:concentrado na dieta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 4, p. 1487-1495, 2006.

GONZALES, I. M.; SOARES, A. T.; GOMES, M. G. G.; SOUSA, W. H. Reprodução Assistida em Caprinos. Paraíba, p. 11-42, 2002.

GONZALES-STAGNARO, C. Comportamento Reproductivo de Ovejas y Cabras Tropicales. **Revista Científica**, v.3, n.3, p.173-190, 1993.

GONZALEZ-STAGNARO, C. Control y manejo de los factores que afectan al comportamiento reproductivo de los pequeños rumiante em el mediotropical. In: International symposium on nuclear and related techniques in animal production and health, 1991, Viena. **Proceedings...**Viena: IAEA, 1991. p.405-421

GUIDO, S.I.; GUIDO, F.C.L.; NASCIMENTO FILHO, E.V.; FREITAS NETO, L.M.; ALVES, J.D.R.; EVÊNCIO NETO, J.; LIMA, P.F.; OLIVEIRA, M.A.L. Avaliação da concentração de progesterona utilizando CIDR novo e reutilizado em protocolos de sincronização do estro e da ovulação em cabras. **Medicina Veterinária**, v.1, p.66-68, 2007.

HARESIGN, W.; PETERS, A.R.E.; STAPLES, L.D. The effect of melatonin implants on breeding activity and litter size in commercial sheep flocks in U.K. **Animal Production**, v.50, p.111-121, 1990.

HASLER J.F., HURTGEN P.J., JIN Z.Q., STOKES J.E. Survival of IVF-derived bovine embryos frozen in glycerol or ethylene glycol. **Theriogenology**, v.48, p.563-579, 1997.

HAWKEN, P.A.R.; BEARD, A.P.; O'MEARA, C.M.; DUFFY, P.; QUINN, K.M.; CROSBY, T.F.; BOLAND, M.P.; EVANS, A.C.O. The effects of ram exposure during progestagen oestrus synchronization and time of ram introduction post progestagen withdrawal on fertility in ewes. **Theriogenology**, n.63, p.860-871, 2005.

HUSEIN, M.Q.; ABABNEH, M.M. A new strategy for superior reproductive performance of ewes bred out-of-season utilizing progestagen supplement prior to withdrawal of intravaginal pessaries. **Theriogenology**, v.69, p.376-383, 2008.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção da Pecuária Municipal**. Rio de Janeiro, v.37, p.1-55, 2011. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2011/ppm2011.pdf>>. Acesso em: 13/02/2015.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção da Pecuária Municipal**. Rio de Janeiro, v.37, p.1-55, 2014. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2014/ppm2014.pdf>>. Acesso em: 13/12/2015.

JAINUDEEN, M.R.; WAHID, H.; HAFEZ, E.S.E. Ovinos e Caprinos. In: HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. Ed. **Reprodução Animal**. São Paulo. São Paulo 7.ed., Manole, 2004. p.173-182.

KARSCH, F.J.; BITTMAN, E.; FOSTER, D.L.; GOODMAN, R.L.; LEGAN, S.J.; ROBINSON, J.C. Neuroendocrine basis of seasonal reproduction. **Recent Progress in Hormone Research**, v.40, p.185-223, 1984.

KHAN, T.H.; BECK, N.F.G.; KHALID, M. The effect of hCG treatment on day 12 post-mating on ovarian function and reproductive performance of ewes and ewe lambs. **Animal Reproduction Science**, v.116, p.162-168, 2009.

KNIGHT, T.W.; TERVIT, H.R.; LYNCH, P.R. Effect of boar pheromones, ram's wool and presence of bucks on ovarian activity in anovular ewes early in the breeding season. **Animal Reproduction Science**, v.6, p.129-134, 1983.

LASSOUED N, NAOUALI M, KHALDI G, REKIK M. Influence of the permanent presence of rams on the resumption of sexual activity in postpartum Barbarine ewes. **Small Ruminant Research**, v.54, p.25-31, 2004

LIMA-VERDE, J.B.; LOPES JUNIOR, E.S.; TEIXEIRA, D.I.A.; PAULA, N.R.O.; MEDEIROS, A.A.; RONDINA, D.; FREITAS, V.J.F. Transcervical embryo recovery in Saanen goats. **South African Society for Animal Science**, v.33, p.127-131, 2003.

LINDSAY, D.R.; WILKINS, J.F.; OLDHAM, C.M. Overcoming constraints: the ram effect. **Proceedings of the Australian Society of Animal Production**, v.19, p.208-210, 1992.

LÔBO, R.N.B.; LÔBO, A.M.B.O. Melhoramento Genético como ferramenta para o crescimento e o desenvolvimento da ovinocultura de corte. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.31, n.2, p. 247-253, 2007.

MAIA, K. M.; BEZERRA, A.C.D.S. Controle do ciclo estral em caprinos: revisão. **Acta Veterinária Brasilica**, v.4, p.14-19, 2010.

MANN, G.E., GREEN, M.P., SINCLAIR, K.D., DEMMERS, K.J., FRAY, M.D., GUTIERREZ, C.G., WEBB, R. Effects of circulating progesterone and insulin on early embryo development in beef heifers. **Animal reproduction science**, v.79, n.1, p.71-79, 2003.

MARTIN, G.B.; KADOKAWA, H. "Clean, Green and Ethical" Animal Production. Case Study: Reproductive Efficiency in Small Ruminants. **Journal of Reproduction and Development**, v.52, n.1, 2006.

MARTIN, G.B.; MILTON, J.T.B.; DAVIDSON, R.H.; HUNZICKER, G.B.; LINDSAY, D.R.; BLACHE, D. Natural methods for increasing reproductive efficiency in small ruminants. **Animal Reproduction Science**, v.82-83, p.231-246, 2004.

MARTIN, G.B.; OLDHAM, C.M.; COGNIÉ, Y.; PEARCE, D.T. The physiological responses of anovulatory ewes to the introduction of rams-A review. **Livestock Production Science**, v.15, p.219-247, 1986.

MENCHACA, A.; RUBIANES, E. New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. **Reproduction, Fertility and Development**, v.16, p.403-413, 2004.

MENEGATOS, J.; GOULAS, C.; KALOGIANNIS, D. The productivity, ovarian and thyroid activity of ewes in an accelerated lambing system in Greece. **Small Ruminant Research**, v.65, n.3, p.209-216, 2006.

MILVAE, R.A.; HINCKLEY, S.T.; CARSON, J.C. Luteotropic and luteolytic mechanisms in the bovine corpus luteum. **Theriogenology**, v.45, p.1327-1350, 1996.

MONTEIRO, C.D.; BICUDO, S.D.; TOMA, H.S. Puberdade em fêmeas ovinas. **PUBVET**, v.4, n.21, art.856, 2010.

MORAES, J.C.F.; SOUZA, C.J.H.; GONÇALVES, P.B.D.; FREITAS, F. J. V.; JÚNIOR, E. S. L. Controle do estro e da ovulação em ruminantes. In: GONÇALVES, P.B.D.; FIGUEIREDO, J.R.; FREITAS, V.J.F. **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. 2.ed. São Paulo: Rocca, 2008. p.33-55.

MIES FILHO, A. **Inseminação artificial**. 6 ed. Porto Alegre: Sulina, 1975. v. 2, p. 750.

MUNIZ, A.P. Inseminação artificial em caprinos. São Paulo: Universidade Paulista, 2003. 45p. Monografia (conclusão do curso de Veterinária) - Universidade Paulista, 2003.

MURPHY, B.D. Equine chorionic gonadotrophin: an enigmatic but essential tool. **Animal Reproduction Science**, v.9, p.223-230, 2012.

NEVES, J.P.; IRALA, P.N.D.; GONZALEZ, C.I.M.; DORNELLES, W.M. Utilização do diluente Tris na inseminação artificial em ovinos. **Revista Centro de Ciências Rurais**, v.12, n.2-3, p.181-187, 1982.

NOGUEIRA, D. M.; LOPES JÚNIOR, E. S.; CARVALHO-JUNIOR, G. M.; SOUSA, P. H. F. Efeito da sincronização do estro com dupla aplicação de d-cloprostenol associada ou não à eCG sobre o desempenho reprodutivo de cabras $\frac{1}{2}$ Boer/SRD exploradas na região semiárida do Nordeste do Brasil. **Ciência Animal Brasileira**. v.10, n.2, p.625-633, 2009.

NOGUEIRA, D.M.; LOPES JÚNIOR, E.S.; CHRISTILIS, M.; MONTE, A.P.O.; MARTINS, S.R. Fertilidade de cabras leiteiras exploradas na região semiárida do Nordeste do Brasil após inseminação artificial e utilização por até três vezes do dispositivo de liberação controlada de drogas (CIDR) para sincronização do estro. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 45., 2008, Lavras. Biotecnologia e sustentabilidade: **Anais...** Lavras: UFLA: SBZ, 2008.

OLDHAM, C.M.; PEARCE, D.T. Mechanism of the "ram effect". **Proceedings of the Australian Society for Reproductive Biology**, v.15, p.72, 1983.

OLDHAM, C.M.; ADAMS, N.R.; GHERARDI, P.B.; LINDSAY, D.R.; MACKINTOSH, J.B. The influence of level of feed intake on sperm-producing capacity of testicular tissue in the ram. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.29, n.1, p.173-9, 1978.

OLIVEIRA, M.A.L.; GUIDO, S.I.; LIMA, P.F. Comparison of different protocols used to induce and synchronize estrus cycle of Saanen Goats. **Small Ruminant Research**, v.40, n.3, p.149- 153, 2001.

OLIVEIRA, M.A.L.; REICHENBACH, H-D.; SANTOS, M.H.B.; TENÓRIO-FILHO, F. Aplicabilidade do scan B na reprodução de pequenos ruminantes. In: SANTOS, M.H.B.; LIMA, P.F.; OLIVEIRA, M.A.L. **Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha**. São Paulo: Varela, 2004. Cap.13. p.85-96.

OLIVEIRA, R.P.M.; OLIVEIRA, F.F. Manipulação do ciclo estral em ovinos. **PUBVET**, v.2, n.7, 2008.

OLIVERA-MUZANTE, J.; FIERRO, S.; LÓPEZ, V.; GIL, J. Comparison of prostaglandin- and progesterone based protocols for timed artificial insemination in sheep. **Theriogenology**, v.75, p.1232-1238, 2011a.

OLIVERA-MUZANTE, J.; GIL, J.; FIERRO, S.; MENCHACA, A.; RUBIANES, E. Alternatives to improve a prostaglandina based protocol for timed artificial insemination in sheep. **Theriogenology**, v.76, p.1501-1507, 2011b.

OTTO, C.; ANDRIGUETTO, J.L.; SÁ, J. Estudo do "efeito macho" na concentração dos partos de ovelhas e borregas expostas à monta no anestro sazonal. **Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.163-165, 1998.

PEARCE, D.T.; OLDHAM, C.M. Importance of non-olfactory ram stimuli in mediating ram-induced ovulation in the ewe. **Journal of Reproduction & Infertility**, v.84, p.333-339, 1988.

PEARCE, D.T.; OLDHAM, C.M. The "Ram Effect", its Mechanism and Application to the Management of Sheep. In: *Reproduction in Sheep*. **Cambridge University Press Australia and New Zealand**, p.26-34, 1984.

PEDREIRA, P. A .S. **Diagnóstico da exploração de ovinos da raça Santa Inês no estado de Sergipe**. Aracajú: EMBRAPA- CNPCo, 1987. Relatório de Projeto de Pesquisa.

PERKINS, A.; FITZGERALD, J.A. The Behavioral Component of the Ram Effect: The Influence of Ram Sexual Behavior on the Induction of Estrus in Anovulatory Ewes. **Journal of Animal Science**, v.72, p.51-55, 1994.

PINEDA, M.H. Reproductive Patterns of Sheep and Goat. In: Mc DONALD, L.E. (Ed) **Veterinary Endocrinology and Reproduction**. 4^a ed. Philadelphia: Lea & Fabiger, 1989. p. 428-447.

RAMÍREZ, L.A.; QUINTERO, L.A.Z. Los fenómenos de bioestimulación sexual en ovejas y cabras. **Veterinaria Mexicana**, v.32, n.2, p. 117-129, 2001.

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

RATHBOUNE, M.J.; MACMILLAN, K.L.; BUNT, C.R.; BURGGRAAF, S. Conceptual and commercially available intravaginal veterinary drug delivery systems. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v.28, p.363-692, 1997.

REICHENBACH, H-D.; SANTOS, M.H.B.; OLIVEIRA, M.A.L.; BUSTEL, D-M.; MEINECKETILLMANN, S. Sexagem fetal na cabra e na ovelha por ultra-sonografia. In: SANTOS, M.H.B. et al. **Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha**. São Paulo: Varela, 2004. Cap.15. p.117-136.

REKWOT, P.I.; OGWU, D.; OYEDIPE, E.O.; SEKONI, V.O. The role of pheromones and biostimulation in animal reproduction. **Animal Reproduction Science**, v.65, p.157-170, 2001.

REYNOLDS, L.P.; REDMER, D.A. Expression of angiogenic factors, basic fibroblast growth factors and vascular endothelial growth factor in the ovary. **Journal of Animal Science**, v.76, p.1671-1681, 1998.

RIBEIRO, S.D.J. Genetics and environmental effects on milk yield of saanen goats in Brazilian southeast. In: NATIONAL CONGRESS GENETICS, Caxambu, **Proceeding**... p.1-235, 1996.

ROBINSON, J.J.; ASHWORTH, C.J.; ROOKE, J.A. et al. Nutrition and fertility in ruminant livestock. **Animal Feed Science and Technology**. v.126, p.259–276, 2006.

RODRIGUES, P.A. Avaliação da sazonalidade reprodutiva e perfil secretório de melatonina em ovelhas (ovis áries) das raças Romney Marsh, Suffolk e Santa Inês. 2001 Tese (doutoramento) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

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

ROSA, H.J.D.; BRYANT, M.J., Seasonality of Reproduction in Sheep. **Small Ruminant Research**, n.48, p.155-171, 2003.

RUBIANES, E. Control farmacológico del ciclo estral em caprinos y ovinos. IN: SIMPÓSIO SOBRE CONTROLE FARMACOLÓGICO DO CICLO ESTRAL EM RUMINANTES, 2000. São Paulo - SP **Anais...** São Paulo - SP: FMVZ-USP. 2000.

RUBIANES, E.; MENCHACA, A.; GIL, J.; OLIVEIRA, J. Reproductive performance of a new timed artificial insemination protocol (SynchrovineTM) in sheep. **Reproduction, Fertility and Development**, v.16, n.4, p.508, 2004.

RUBIANES, E.; UNGERFIELD, R.; VIÑOLES, C.; RIVERO, A.; ADAMS, G.P. Ovarian response to gonadotropin treatment initiated relative to wave emergence in ultrasonographically monitored ewes. **Theriogenology**, v. 47, p. 1479-1488. 1997.

RUBIANES, E.; MENCHACA, A.; CARBAJAL, B. Response of the 1 to 5-day aged ovine corpus luteum to Prostaglandin F₂α. **Animal Reproduction Science**, v.78, p.47-55, 2003.

RUBIN, M. I. B.; PESSOA, G. A.; FRAGA, D. R.; VASCONCELOS, F. F.; SILVA, C. A. M. Produção in vitro de embriões e Clonagem: um caminho conhecido? **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 33, p.77-85, 2009.

SANGHA GK, SHARMA R.K, GURAYA SS. Biology of corpus luteum in small ruminants. **Small Ruminant Research**, v.43, p.53-64, 2002.

SALLES, H.O. Efeito macho: alternativa natural de sincronização do estro para a produção orgânica de caprinos e ovinos. **Embrapa Caprinos e Ovinos**. Comunicado Técnico, 2008.

SANTOS, T.C.P.; ALFARO, C.E.P.; FIGUEIREDO, S.M. Aspectos sanitários e de manejo em criações de caprinos e ovinos na microrregião de Patos, região semi-árida da Paraíba. **Ciência Animal Brasileira**, v.12, n.2, p.206-212, 2011.

SANTOS, M.H.B.; MORAES, É.P.B.X.; GUIDO, S.I.; BEZERRA, F.Q.G., MELO, A.N.; LIMA, P.F., OLIVEIRA, M.A.L. Sexagem fetal em ovelhas Santa Inês por ultrassonografia. **Ciência Rural**, vol.36, n.2, pp. 573-578, 2006.

SANTOS, G.M.G.; SILVA, K.C.F.; CASIMIRO, T.R.; COSTA, M.C.; MORI, R.M.; MIZUBUTI, I.Y.; MOREIRA, F.B.; SENEDA, M.M. Reproductive performance of ewes mated in the spring when given nutritional supplements to enhance energy levels. **Animal Reproduction**, v.6, n.2, p.422-427, 2009.

SARTORI, R.; DODE, M. A. N. Mortalidade embrionária na IA, TE, FIV e clonagem. In: Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, 3., 2008, Londrina. **Anais...** São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2008. p. 175-194.

SASA, A.; TESTON, D.C.; RODRIGUES, P.A.; COELHO, L.A.; SCHALCH, E. Concentrações Plasmáticas de progesterona em Borregas Lanadas e Deslanadas no Período de Abril a Novembro, no Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, p.1150-56, 2002.

SCARAMUZZI, R.J.; CAMPBELL, B.K.; DOWNING, J.A.; KENDALL, N.R.; KHALID, M.; MUÑOZGUTIÉRREZ, M.; SOMCHIT, A. A review of the effects of supplementary nutrition in the ewe on the concentrations of reproductive and metabolic hormones and the mechanisms that regulate folliculogenesis and ovulation rate. **Reproduction Nutrition Development**, v.46, p.1-16, 2006.

SHELTON, M. Goats: Influence of various exteroceptive factors on initiation of oestrus and ovulation. **International Goat and Sheep Research**, v.1, p.156-162, 1980.

SIGNORET, J.P. Sexual pheromones in the domestic sheep: importance and limits in the regulation of reproductive physiology. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v.39, p.639–645, 1991.

SILVA, F.L.R.; ARAÚJO, A.M. de. Características de reprodução e de crescimento de ovinos mestiços Santa Inês, no Ceará. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.6, p.1712-1720, 2000.

SIMPLÍCIO, A.A. Caprino-ovinocultura na visão do agronegócio. **Revista Conselho Federal de Medicina Veterinária**. v.7, n.24, p.15-18, 2001.

SIMPLÍCIO, A.A. Estratégias de manejo reprodutivo como ferramenta para prolongar o período de oferta de carnes caprina e ovina no Brasil. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v.2, n.3, p.29-39, 2008.

SIMPLÍCIO, A.A.; FREITAS, V.J.F.; FONSECA, J.F. Biotécnicas da reprodução como técnicas de manejo reprodutivo em ovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.31, n.2, p.234-246, 2007.

SIMPLÍCIO, A.A., RIERA, G.S., FIGUEIREDO, E.A.P. Desempenho produtivo de ovelhas da raça Somalis Brasileira no Nordeste do Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.17, n.12, p.1795-1803, 1982.

SOLORZANO, C.W.; MENDOZA, J.H.; ODEN; J. pregnancy rates after estrus synchronization treatment with new and reused cidr-b devices. **Reproduction, Fertility and Development**, v.16, n.2, p.214–214, 2004.

SOUZA, C.E.A.; MOURA, A.A.; LIMA, A.C.B. Circunferência escrotal e características seminais em carneiros Santa Inês. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 25, n. 2, p. 196-199, 2001.

SUNDERLAND, S.J.; CROWE, M.A.; BOLAND, M.P.; ROCHE, J.P.; IRELAND, J.J. Selection, dominance and atresia of follicles during the oestrous cycle of heifers. **Journal of Reproduction & Infertility**, v. 101, p. 547-555. 1994.

SWENSON, M.J. e REECE, W. O. **Dukes fisiologia dos animais domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara, 2006. 926p.

TENÓRIO FILHO, F.; SANTOS, M.H.B.; CARRAZZONI, P.G.; BARTOLOMEU, C.C.; LIMA, P.F.; OLIVEIRA, M.A.L. Follicular dynamics in Anglo-Nubian goats using transrectal and transvaginal ultrasound. **Small Ruminant Research**, v.72, p.51-56, 2007.

THIMONIER, J. Détermination de l'état physiologique des femelles par analyse des niveaux de progestérone. **INRA Production Animal**, v.13, n.3, p.177-183, 2000.

THOMAS, V.M.; MCINERNEY, M.J.; KOTT, R.W. Influence of body condition and lasalocid during late gestation on blood metabolites, lamb birth weight and colostrum composition and production in Finn-cross ewes. **Journal of Animal Science**, v.66, n.3, p.783-791. 1988.

UNGERFELD, R. The induction of oestrus in ewes during the non-breeding season using pre-used CIDRs and o estradiol-17 β treatment. **Small Ruminant Research**, v.84, p.129-131, 2009.

UNGERFELD, R.; DAGO, A.L.; RUBIANES, E.; FORSBERG, M. Response of anestrus ewes to the ram effect after follicular wave synchronization with a single dose of estradiol-17 β . **Reproduction Nutrition Development**, v.44, p.89-98, 2004a.

UNGERFELD, R.; FORSBERG, M.; RUBIANES, E. Overview of the response of anoestrous ewes to the male effect. **Reproduction, Fertility and Development**. v.16, p.479-490, 2004b.

UNGERFELD, R.; RAMOS, M.A.; GONZÁLEZ-PENSADO, S.P. Ram effect: Adult rams induce a greater reproductive response in anestrus ewes than yearling rams. **Animal Reproduction Science**, v.103, p.271-277, 2008.

UNGERFELD, R.; SILVA, L. Ewe effect: endocrine and testicular changes in experienced adult and inexperienced young Corriedale rams used for the ram effect. **Animal Reproduction Science**, v.80, p.251-259, 2004.

UNGERFELD, R.; SUÁREZ, G.; CARBAJAL, B.; SILVA, L.; LACA, M.; FORSBERG, M.; RUBIANES, E. Medroxyprogesterone priming and response to the ram effect en Corriedale ewes during the nonbreeding season. **Theriogenology**, v.60, p.35-45, 2003.

URIBE-VELÁSQUEZ, L.F.; OBA, E.; LARA-HERRERA, L.C.; SOUZA, M.I.L.; VILLA-VELÁSQUEZ, H.; TRINCA, L.A.; FERNÁNDEZ, C.A.C. Respostas Endócrinas e Ovarianas Associadas com o Folículo dominante da Primeira Onda Folicular em Ovelhas Sincronizadas com CIDR ou PGF_{2α}. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.2, p.944-953. 2002.

URIBE-VELÁSQUEZ, L.F.; OBA, E.; SOUZA, M.I.L. Efeitos da progesterona exógena sobre o desenvolvimento folicular em ovelhas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, p.58-65, 2008a.

URIBE-VELÁSQUEZ, L.F.; OBA, E.; SOUZA, M.I.L. Respuesta endocrina y ovárica a la sincronización del estro y de la ovulación utilizando CIDR y eCG en ovejas. **Veterinária e Zootecnia**, v.1, p.9-17, 2007.

URIBE-VELÁSQUEZ, L.F.; OBA, E.; SOUZA, M.I.L.; VÉLEZ-MARÍN, M.; CORREA-OROZCO, A. Desarrollo folicular en ovejas durante el ciclo estral natural e inducido con prostaglandinas. **Revista Científica FCV-LUZ**, v.20, p.417-421, 2010.

URIBE-VELÁSQUEZ, L.F.; SOUZA, M.I.L.; ECHEVERRI, A.M.L. Efecto de la sincronización del estro con prostaglandinaf_{2α} vs CIDR + 500 UI de eCG en ovejas Bergamacia durante el inicio de la fase luteal. **Revista Científica FCV-LUZ**, v.18, p.368-373, 2008b.

URIBE-VELÁSQUEZ, L.F.; SOUZA, M.I.L.; OSORIO, J.H. Efeito do tempo da aplicação de prostaglandina na resposta folicular em ovelhas durante o ciclo estral. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.985-991, 2011.

VANDERBERGH, J.G. Pheromones and mammalian reproduction. In: KNOBIL, E.; NEILL, J. (ed.). **The Physiology of Reproduction**, p.1679-1699, 1988.

VARAGO, F.C.; MUSTACAS, V.S.; Cruz, B. C.; CARVALHO, B.C.; MENDONÇA, L.F.; LAGARES, M.A. HENRY, M.R.J.M. Biotécnicas da reprodução aplicadas a pequenos ruminantes. In: VIII CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA. **Anais...** Belo Horizonte-MG: **Ciência Animal Brasileira**, [S.l.], 2009.

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

VIEIRA, R.J. Biotécnicas aplicadas à reprodução bovina: generalidades. **Ciência Animal**, v.22, n.1, p.55-65, 2012.

VIDAL, M.F.; SILVA, R.G.; NEIVA, J.N.M.; CÂNDIDO, M.J.D.; SILVA, D.S.; PEIXOTO, M.J.A. Análise econômica da produção de ovinos em lotação rotativa em pastagem de capim tanzânia (*Panicum maximum* (Jacq)), **Revista de Economia e Sociologia Rural**, vol.44, no.4, p.801-818, 2006.

VILARIÑO, M.; RUBIANES, E.; VAN LIER, E.; MENCHACA A. Serum progesterone concentrations, follicular development and time of ovulation using a new progesterone releasing device (DICO®) in sheep. **Small Ruminant Research**, v.91, p.219-224, 2010.

VILARIÑO, M.; RUBINAES, E.; MENCHACA, A. Ovarian response and pregnancy rate with previously used intravaginal progesterone releasing devices for fixed-time artificial insemination in sheep. **Theriogenology**, v.79, p.206-210, 2013.

VALASI, I.; CHADIO, S; FTHENAKIS, G.C.; AMIRIDIS, G.S Management of pre-pubertal small ruminants: Physiological basis and clinical approach. **Animal Reproduction Science**, v. 130, p. 126-134, 2012.

VIGUIE, C.; CARATY, A.; LOCATELLI, A. et al. Regulation of luteinizing hormone releasing hormone (LHRH) secretion by melatonin in the ewe. Simultaneous delayed increase in LHRH and luteinizing hormone pulsatile secretion. **Biology of Reproduction**, v.52, p.1114-1120, 1995.

VIÑALES, C.; MEIKLE, A.; FORSBERG, M. Accuracy of evaluation of ovarian structures by transrectal ultrasonography in ewes. **Animal Reproduction Science**, v.80, p.69-79, 2004.

WALKDEN-BROWN, S.W.; MARTIN, G.B.; RESTALL, B.J. Role of male-female interaction in regulating reproduction in sheep and goats. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.52, p.243-257, 1999.

WALKDEN-BROWN, S.W.; RESTALL, B.J.; HENNIAWATI. The male effect in the Australian Cashmere goat. Enhancement with buck nutrition and use of oestrus females. **Animal Reproduction Science**, v. 32, n. 1-2, p. 69-84. 1993.

WALLACE, J.M.; ROBINSON, J.J.; WIGZELL, S.; AITKEN, R.P. Effects of melatonin on the peripheral concentrations of LH and progesterone after oestrus, and on conception rate in ewes. **Journal of Endocrinology**, v.119, p.523-530, 1988.

WEBSTER, J.R.; SUTIE, J.M.; VEENVLIET, B.A.; MANLEY, T.R.; LITTLEJOHN, R.P. Effect of melatonin implants on secretion of luteinizing hormone in intact and castrated rams. **Journal of Reproduction & Infertility**, v.92, p.21-31, 1991.

YILDIZ, S.; SAATCI, M.; UZUN, M.; GÜVEN, B. Effects of ram introduction after the second prostaglandin F_{2α} injection on day 11 on the surge characteristics in fat tailed ewes. **Reproduction in Domestic Animals**, v.37, p.1-4, 2002a.

YILDIZ, S.; UZUN, M.; CENESIZ, M.; UCAR, O.; KAYA, M.; ONDER, F. Effects of Sexually Activated Rams or Ewes on Pulsatile LH Secretion in Anoestrous Sheep. **Acta Veterinaria Brno**, v.71, p.297-302. 2002b.

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

EXPERIMENTOS

EXPERIMENTO I

Reproductive efficiency of non-cycling postpartum ewes submitted to the male effect under tropical semi humid conditions

José Carlos Ferreira-Silva¹, Fernando Tenório Filho², Pabola Santos Nascimento, Marcelo Tigre Moura¹, Leopoldo Mayer Freitas Neto¹, José Monteiro de Almeida-Irmão³, Marcos Antonio Lemos Oliveira¹

¹Laboratório de Biotécnicas Aplicadas à Reprodução. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife-PE/Brasil.

²Instituto Agrônomo de Pernambuco. Estação Experimental de Itambé-PE/Brasil.

³Instituto de Educação Ciência e Tecnologia de Pernambuco; Campus Barreiros, Barreiros-PE/Brasil.

Abstract

It was aimed to evaluate the influence of separation distance between males and females before the breeding season (BS) on reproductive parameters of non-cycling postpartum ewes raised under tropical semi humid conditions. Females were evenly distributed into three groups and isolated from males for 1000 m (T1), 300 m (T2) and 3 m (T3) during 30 days before male effect onset. P4 concentrations ($\eta\text{g mL}^{-1}$) before and after the 9th day after mating were $0.62\pm 0.14/3.35\pm 0.31$ (T1), $0.75\pm 0.13/3.75\pm 0.36$ (T2) and $0.66\pm 0.22/3.51\pm 0.33$ (T3), respectively, which were lower than concentrations before BS onset. Estrous were detected in 100% females until the 33th day of the BS, while most were detected before the 10th day of the BS. Pre-ovulatory peaks of LH ($\eta\text{g mL}^{-1}$) of two females of each treatment were evaluated at 42 and 82 (T1), at 22 and 46 (T2) and at 34 and 38 hours (T3) after exposure to males, with mean ovulatory follicle of 7.7 ± 0.5 (T1), 7.5 ± 0.2 (T2) and 7.6 ± 0.4 mm (T3), and number of ovulations of 1.5 ± 0.2 (T1), 1.6 ± 0.1 (T2) and 1.4 ± 0.1 (T3). The pregnancy was 90.0% (T1), 86.6% (T2) and 90.0 (T3) with prolificacy of 1.30 ± 0.4 (T1), 1.38 ± 0.5 (T2) and 1.33 ± 0.5 (T3). There was no difference between treatments for all evaluated parameters. In conclusion, the pre-conditioning distance does not interfere with male effect efficiency and further suggests the reduction of BS duration to 35 days.

Keywords: bioestimulation, P4, LH, ovulation, prolificacy.

1 – Introduction

Sheep production is an economic activity performed in almost all continents under diverse edaphoclimatic conditions for production of meat, skin, wool and milk for a wide variety of applications (Bandeira et al 2004). Reproduction plays a major role in productivity of different sheep production schemes, and climatic conditions dictate to a large degree the reproductive efficiency. The investigation of reproductive technologies under different climatic conditions may help increase sheep production worldwide.

The male effect is an approach of easy implantation, low cost and proven efficiency in sheep (Caldas et al 2015). Besides these advantages, it allows estrous induction without hormone-based protocols, avoiding the production of meat and milk without any contamination by exogenous hormones, with no detrimental effects to animal welfare, a fact

that is in accordance with growing demands by consumers (Martin and Kadokawa 2006, Salles 2006).

The male effect is defined as a social stimulus (Ramirez and Quintero 2001) capable of stimulating cyclicity onset in females under seasonal or postpartum anestrous after the introduction of males in a previously isolated flock of ewes (Cushwa et al 1992) at a minimum distance of 1000 m (Pearce and Oldham 1988). Recently, under semiarid conditions, Caldas et al (2015) reported that the male effect can be obtained, without any efficiency loss, under a distance of 3 m, where the minimum requirement is the avoidance of physical contact between males and females. However, the physiological basis for these results remained to be described.

The subtle introduction of males in a female flock promotes an increase in LH pulse release and reduces the E2 negative feedback over the hypothalamic-pituitary axis that ultimately results in a LH pre-ovulatory wave (Martin et al 1986). Moreover, the increase in LH pulse frequency estimates follicular development and E2 secretion, that ultimately leads to ovulation (Perkins and Fitzgerald 1994).

Skinner et al (2000) described that P4 provokes an reduction of LH pre-ovulatory wave, a fact that may influence, oocyte maturation and follicle luteinization. Moreover, the first ovulation in anestrous ewes under the male effect, display low fertility due to the insufficient LH during the luteal phase, fact that can only be overcome by exogenous P4 usage concomitant with the male effect (Skinner et al 2000).

Based on these facts, it was aimed to evaluate the influence of pre-conditioning between males and females under distances of 1000 m, 300 m and 3 m upon cyclicity of Santa Inês ewes under tropical semi humid conditions. The work was aimed to evaluate the LH pre-ovulatory peak, P4 concentrations before introduction of males and after breeding, ovulatory follicle diameter growth, pregnancy rates and prolificacy.

2 – Material and Methods

The experiment was conducted in Escada, Pernambuco state, Brazil. The geographic coordinates are, latitude 08° 21' 33" S, longitude 35° 13' 25" O, altitude de 109 m, mean annual temperature of 24.4 °C and mean annual rainfall of 1.763 mm³. The weather is tropical semi humid, with rainfall from May to August.

The animals were raised in pastures during the day and returned to pens in the afternoon. Animals were fed with cultivated (*Brachiaria humidicola*) and native pastures

(*Paspalum maritimum*, *Chloris orthonton*, *Cynodon dactylon*, *Brachiaria tunnergrass*), and further supplemented with hay (*Pennisetum purpureum*) when kept in the pen. Animals had free access to mineral salt and water (*ad libitum*). The main sanitary practices were removal of manure from pens once a week and systematic deworming and vaccination against rabies and clostridiosis.

Females with age from 2 to 4 years that had delivered from 15 to 30 days, were initially evaluated for body score condition, where females with a score of 2 to 3 were pre-selected, as previously described Gonzalez-Stagnaro (1993), as well as by ultrasonography of the reproductive tract to determine the cyclicity status.

The ultrasound exams were performed by the same technician throughout the experiment using an Aquila Pro equipment with 6.0 and 8.0 MHz linear transducer adapted using a PVC support in order to facilitate the manipulation in the rectum of the animal, as described by Santos et al (2004). Pre-selected females were identified with numbered plastic ear tags, and were further maintained distant from males for 30 days in order to avoid any physical, visual, olfactive and auditive contact within the first two experimental groups (T1 and T2), respectively, for 1000 m and 300 m and on (T3) were kept apart from males for 3 m, only avoiding physical contact. Three Santa Inês rams of proven fertility were selected and were further evaluated for their reproductive capacity by an andrology exam, as previously described (CBRA 2013).

On the week before experiment onset, blood samples of all ewes were collected by jugular vein puncture in vacutainer tubes containing heparin. The serum was stored at -20 C, until P4 concentration analysis by radioimmunoassay. Females were scored as non-cycling when P4 concentration were lower than 1 ng mL⁻¹ (Morales et al 2003). After P4 concentration analysis, females (n = 90) were randomly and equitably allocated to experimental groups.

Rams were marked with wax and ink mixture (4:1) every ten days on the sternum region in order to detected cycling females (females after mating). Ink of different colors were used every ten days to avoid recounting of mating events. Rams were introduced in the female flocks in a male to female ratio of 1:32.

After the introduction of the males within the female flocks, 10% of females (n = 3) of each group were randomly submitted to blood collection during an 98 hour period with four hour intervals to determine luteinizing hormone (LH) concentration. Blood serum was used for determination of LH and P4 by radioimmunoassay. Increase in LH concentration was considered significant when over 20 ng mL⁻¹, for two consecutive measurements (Martin et

al 1983). P4 concentration was measured on the 9th day after breeding, and ewes were scored as cycling when displayed P4 concentration of 1 ng mL⁻¹ or higher.

Ovarian activity was evaluated daily by ultrasonography after estrous detection in 20% females (n = 6) of each experimental group experimental. Ultrasonography was performed by the same technician in order to count and measure growing antral follicles. The moment of ovulation was defined as the time point of absence of the growing follicle, followed by corpus luteum formation on the same position on the ovary (Tenório Filho et al 2007).

Estrous were observed twice a day (6:00 and 16:00 hours) by trained personnel during the breeding season of 45 days, and estrous were considered synchronized when detected within the first five days of the breeding season. Pregnancy diagnosis was performed by ultrasonography on the 60th day after breeding, as previously described by Santos et al (2004).

Parametric variables were submitted to analysis of variance (ANOVA) and compared by the SNK test in System for Statistical Analysis (SAEG) software, with results being presented as means and standard deviation ($\pm s$). Non-parametric variables were evaluated by the chi-square test, and were presented as percentages (%). A 5% difference between groups was considered significant.

3 – Results

Table 1 shows the data on P4 blood concentration. P4 concentrations were lower than 1 ng mL⁻¹, indicating that all females were non-cycling before exposure to males. On the same table, it is possible to verify that after the introduction of males, females cycled and ovulated, displaying ($P < 0.05$) differences in P4 concentrations.

Table 1 - P4 blood concentration of non-cycling Santa Inês ewes, that had delivered within 45 and 60 days, before and after the 9th day of breeding and that were previously isolated from males during 30 days for 1000 m (T1), 300 m (T2) and 3 m (T3) before onset of an 45 day-breeding season.

Treatment	N ^o of Animals	P4 Concentration (ng mL ⁻¹)	
		Before ($\bar{x} \pm s$)	After ($\bar{x} \pm s$)
T1	30	0.62±0.14 ^a	3.35±0.31 ^b
T2	30	0.75±0.13 ^a	3.73±0.36 ^b
T3	30	0.66±0.22 ^a	3.51±0.33 ^b

Different superscript letters on same line differ significantly ($P < 0.05$).

Figure 1 displays the data on LH blood concentration after introduction of males on females flocks. It became evident that, irrespectively of the pre-conditioning distance between males and females, bioestimulation induced by a LH pre-ovulatory peak between 38 and 62 hours of the breeding season.

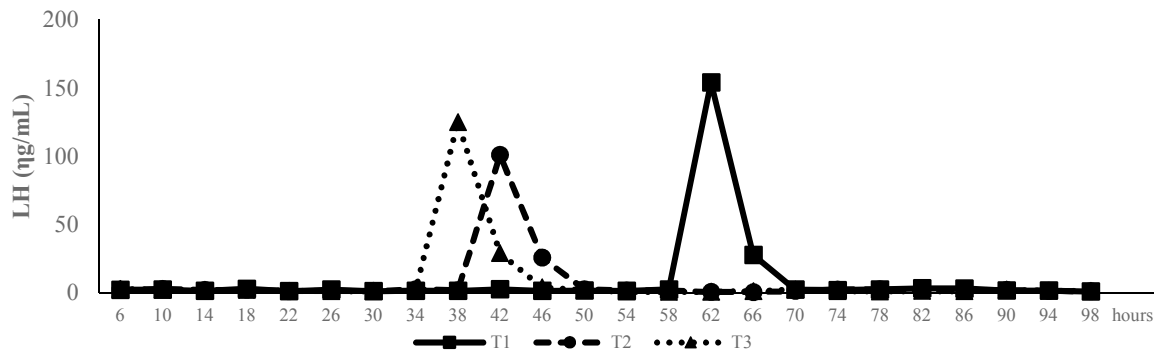


Figure 1 - LH Concentration ($\eta\text{g mL}^{-1}$) in Santa Inês ewes, that had delivered within 45 and 60 days, that were previously isolated from males for 30 days for 1000 m (T1), 300 m (T2) and 3 m (T3) before the onset of 45-day breeding season and that developed a pre-ovulatory wave within an 6 to 98 hour period after male introduction.

Figure 2 contains the data regarding the estrous dispersion that were observed until the 33th day of the breeding season. Estrous detection was observed throughout the breeding season, where most estrous were detected within the first ten days. The first estrous detection of each female was from the 1st up to the 33th day of the breeding season, and the mean first estrous in days was 15.45 ± 10.36 (T1), 9.25 ± 6.41 (T2) and 13.05 ± 10.24 (T3) days. It is also possible to note on the same figure that estrous synchronization, namely, estrous detected on the first five days of the breeding season, but only approximately 23% of all females, where 26% on T1, 20% T2 and 23% on T3, did not differ ($P > 0.05$) between groups.

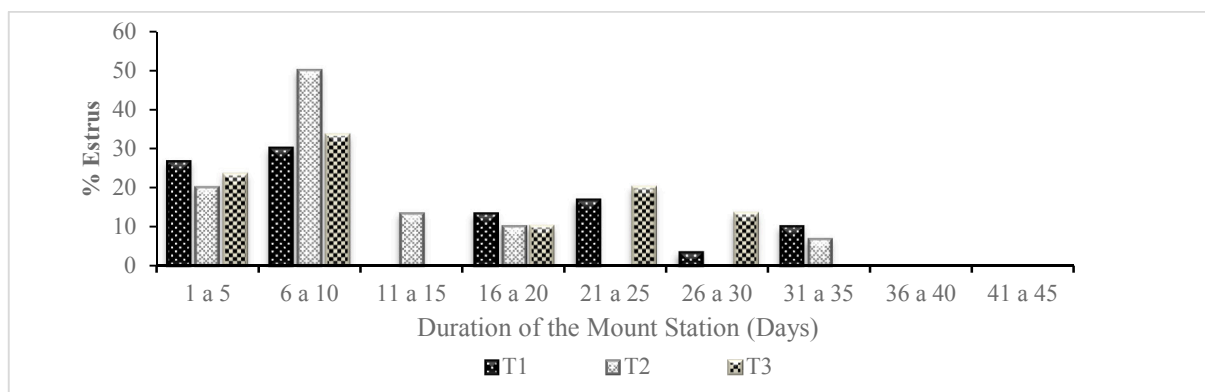


Figure 2 - Estrous detection in Santa Inês ewes, that delivered within 45 to 60 days, that were kept apart from male for 30 days for distances of 1000 m (T1), 300 m (T2) and 3 m (T3) before onset of the breeding season of 45 days.

Table 2 contains the data regarding simples and duplo estrous, as well as mean diameter of ovulatory follicles and number of ovulations. It can also be observed that all females displayed at least one estrous, with no difference between ($P > 0.05$) the incidence of single and double estrous. It can be observed on the same table that ovulatory follicle diameter and number of ovulations did not differ ($P > 0.05$) between groups.

Table 2 - Percentage of single (one) and double estrous, as well as mean values ($\bar{x} \pm s$) of diameter (mm) of ovulatory follicle and number of ovulations in Santa Inês ewes, that delivered within 45 to 60 days, that had previously from males for 30 days for 1.000 m (T1), 300 m (T2) and 3 m (T3) before a breeding season of 45 days.

Treatment	Estrous			Ovulation	
	Simples n/n (%)	Double n/n (%)	Total n/n (%)	Follicle diameter ($\bar{x} \pm s$)	Total ($\bar{x} \pm s$)
T1	15/30 (50.0)	15/30 (50.0)	30/30 (100)	7.7±0.5	1.5±0.2
T2	18/30 (60.0)	12/30 (40.0)	30/30 (100)	7.5±0.2	1.6±0.1
T3	14/30 (46.7)	16/30 (53.3)	30/30 (100)	7.6±0.4	1.4±0.1

Table 3 contains data regarding pregnancy on first and second services, as well as prolificacy for all treatments, with no difference between groups ($P > 0.05$). For conception rates, there was no difference between groups ($P > 0.05$).

Table 3 - Percentage de pregnancy per number of services of Santa Inês females, that delivered between 45 and 60 days, that were previously isolated from males during 30 days for 1000 m (T1), 300 m (T2) and 3 m (T3) before breeding season for 45 days.

Treatment	Pregnancy per Service		
	First n/n (%)	Second n/n (%)	Total n/n (%)
T1	18/27 (66.6) ^a	9/27 (33.4) ^b	27/30 (90.0)
T2	19/26 (73.0) ^a	7/26 (27.0) ^b	26/30 (86.6)
T3	18/27 (66.6) ^a	9/27 (33.4) ^b	27/30 (90.0)

Different superscript letters on same line differ significantly ($P < 0.05$).

Table 4 shows that all pregnant females delivered, delivering singletons or twins. The percentage of singletons deliveries were substantially higher ($P < 0.05$) than twin deliveries. However, prolificacy did not differ ($P > 0.05$) between groups.

Table 4 - Lambing and prolificacy of Santa Inês ewes, that had delivered within 45 to 60 days, that had been isolated from males for 30 days for 1000 m (T1), 300 m (T2) and 3 m (T3) before a breeding season of 45 days.

Treatment	Lambing		Prolificacy
	Singles n/n (%)	Twins n/n (%)	($\bar{x} \pm s$)
T1	19/27 (70.4) ^a	8/27 (29.6) ^b	1.30±0.4
T2	18/26 (69.2) ^a	8/26 (30.8) ^b	1.38±0.5
T3	18/27 (66.7) ^a	9/27 (33.3) ^b	1.33±0.5

Different superscript letters on same line differ significantly ($P < 0.05$)

4 - Discussion

P4 mean concentrations immediately before the introduction of males in the female flocks of the three treatments were in accordance with non-cycling females (Morales et al 2003) and the mean values on the 9th day after breeding were in agreement with a cyclicity status after contact with males, demonstrating the efficiency of male effect usage for inducing fertile estrous in non-cycling lambing ewes. Despite the fact that mean values were not measured before or immediately before exposure to males, Lima (2006) reported increased P4 concentrations after initial contact between females and vasectomized males.

Estrous followed by ovulation were due to LH ovulatory peak that was observed in a moderately disperse fashion in time, independently of pre-conditioning distance between males and females before breeding season onset. It was initially hypothesized that longer distances would increase ovulation rates, however, it is important to note that immediate increase in pulse frequency and ultimately LH concentration rise was observed after the introduction of males in the females flocks, independently of pre-conditioning distance. Other authors, such as Martin et al (1983), Atkinson and Williamson (1985), Minton et al (1991) and Lima (2006) also reported the role male effect on pulse and concentration increase of this gonadotropin after exposure to males.

As described here, the LH peak was observed within the initial 42 hours of interaction between males and females, in accordance with Oldham et al (1979) that reported high ovulation rates within the initial 72 hours after exposure to males, probably due to, at this time point, elevated basal LH concentration are observed. However, the fact that all females were responsive to the male effect was not associated with their cyclicity status since they were lambing females, therefore, did not display basal LH concentration before male effect onset. This hypothesis is in disagreement with Martin et al (1980), that reported higher LH basal concentrations immediately before contact with males, which contributed to increased sensibility of females to the male effect. Since LH concentrations were not evaluated before breeding season onset, it may suggested that the increase in LH concentration was due to male exposure and its high variability between measurements as described by Lima (2006), possibly due to LH low stability or half life.

Estrous were observed until the 33th day of the breeding season and within this period it was possible to note that females with two estrous was similar to those that displayed one estrous and based on these findings, collectively with the high percentage of synchronized estrous, it is possible to suggest a reduction in breeding season duration from 45 to 35 days. This reduction in duration would result in lower production costs, especially specialized labor, further concentrating lambing during more favorable periods of the year, leading to more uniform lamb lots and further allowing ovine production according with market demands (Fonseca 2007). It is still important to note that the number of ovulations was similar between all pre-conditioning groups, showing that the stimulus provided by the male was efficient despite the distance between males and females, at least for the period of 30 days as described here. Using wool breeds, Guinther et al (1995) and Evans et al (2001) described ovulatory follicles varying from 5.1 to 5.7 mm. As described here, the diameter of the ovulatory follicle was higher that described by Cavalcanti (2008) and Saunders et al (2010) for hair sheep (Santa Inês), fact that could be due to the male effect have stimulated, with greater efficiency, FSH secretion and release determined by greater E2 production, that ultimately leads to follicular diameter increase.

The results on total pregnancy are in accordance with EMBRAPA (1989) for the semiarid regions in the northeast of Brazil. Pregnancy rates in Santa Inês ewes were equivalent to the 42% rate described by Silva et al (1987). Pregnancy in the first service were higher than the second, independently of pre-conditioning distance, findings that disagrees with the observation that the first estrous due to the male effect could be anovulatory (Ungerfeld et al 2004) or alternatively, if ovulation occurs, the corpus luteum that is formed

could be weak, with faster regression, followed by estrous cycles of shorter duration (Jainudeen et al 2004, Chemineau et al 2006). The estrous induction was observed in most females, demanding intense activity from males within the first ten days of the breeding season, a fact that could contribute to a similar pregnancy rate in the second service or more efficient since fewer estrous were detected around the second service period. The good disposability of forage may have minimized the effects of energetic deficit due to postpartum conditions, and proven fertility of males and andrology exam that they have been submitted to, besides the sufficient male to female ratio that was previously suggested by Nogueira et al (2011), that could have contributed to the reproductive rates described here.

The findings described here showed a significant prevalence of single lambing in despite of twin deliveries, in agreement with Vinagre et al (1992), Pereira et al (1998) and Mexia et al (2004) and prolificacy data are in accordance with Machado et al (1999) with Santa Inês and Morada Nova ewes.

The results described here allow the conclusion that male effect is efficient to induce and synchronize estrous of postpartum ewes without affecting pregnancy rates and prolificacy irrespectively of pre-conditioning distance between males and females before breeding season onset, and further allows the suggestion that breeding season duration could be shorten to 35 days since females that did not conceive on the first service could have a second chance and conceive in the same breeding season.

Acknowledgements

The work was financially supported by CAPES and CNPq.

5 – Referências

ATKINSON, S. e WILLIAMSON, P. Ram-induced growth of ovarian follicles and gonadotrophin inhibition in anoestrous ewes. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.73, p.185-189, 1985.

CALDAS, E.L.C; FREITAS NETO, L.M.; ALMEIDA-IRMAO, J.M.; SILVA, J.C.F.; SILVA, P.G.C.; VELOSO NETO, H.; NEVES, J.P.; MOURA, M.T.; LIMA, P.F.; OLIVEIRA, M.A.L. The influence of separation distance during the preconditioning period of the male effect approach on reproductive performance in sheep. **Veterinary Science Development**, v. 5, n. 1, p.17-20, 2015.

BANDEIRA, D.A.; SANTOS, M.H.B.; NETO, J.C.; NUNES, J.F. Aspectos da caprino-ovinocultura no Brasil e seus reflexos produtivo e reprodutivo. In: SANTOS, M.H.B. et al. **Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha**. São Paulo: Varela, 2004. Cap.1. p.1-9.

CBRA - COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL. **Manual para exame e avaliação de sêmen animal**. 2. ed. Belo Horizonte. 1998, 50p.

CAVALCANTI, A. S. **Avaliação do uso de GnRH em protocolos curtos de indução e sincronização do estro e da ovulação em ovelhas**. 2008. 111f. 2008. (Doutorado. em Clínica e Reprodução Animal) Universidade Federal Fluminense, Niterói.

CHEMINEAU, P.; PELLICER-RUBIO, M.T.; LASSOUED, N.; KHALDI, G. E MONNIAUX, D. Male-induced short oestrous and ovarian cycles and sheep and goats: a working hypothesis. **Reproduction Nutrition Development**, v.46, p.417-429, 2006.

CUSHWA, W.T.; BRADFORD, G.E.; STABENFELDT, G.H.; BERGER, Y.M.; DALLY, M.R. Ram Influence on Ovarian and Sexual Activity in Anestrous Ewes: Effects of Isolation of Ewes from rams Before Joining and date of Ram Introduction. **Journal of Animal Science**, v.70, p.1195-1200, 1992.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Recomendações tecnológicas para a produção de caprinos e ovinos no Estado do Ceará**. Sobral, CE: EMBRAPA-CNPC, 1989, 58p.

EVANS, A.C.O.; FLYNN, J.D.; QUINN, K.M.; DUFFY, P.; QUINN, P.; MADGWICK, S.; CROSBY, T.F.; BOLAND, M.P.; BEARD, A.P. Ovulation of aged follicles does not affect embryo quality or fertility after a 14-day progestogen estrous synchronization protocol in ewes. **Theriogenology**, n.56, p.923-936, 2001.

FONSECA, J.F.; SOUZA, J.M.G.; BRUSCHI, J.H. **Sincronização de estro e superovulação em ovinos e caprinos**. Embrapa Caprinos e Ovinos-Nota técnica, 2007.

GINTHER, O. J.; KOT, K.; WILTBANK, M. C. Associations between emergence of follicular waves and fluctuations in FSH concentrations during the estrous cycle in ewes. **Theriogenology**, v.43, n.3, p.689-703, 1995.

GONZÁLES-STAGNARO, C. Comportamento Reprodutivo de Ovejas y Cabras Tropicales. **Revista Científica**, v.3, n.3, p.173-190, 1993.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA IBGE. **Produção da Pecuária Municipal**. Rio de Janeiro, v.37, p.1-55, 2011. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2011/ppm2011.pdf>>. Acesso em: 13 Janeiro de 2015.

JAINUDEEN, M.R.; WAHID, H.; HAFEZ, E.S.E. Ovinos e Caprinos. In: HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. **Reprodução Animal**. São Paulo. São Paulo 7.ed., Manole, 2004. p.173-182.

LIMA, S.A. **O efeito macho sobre a manifestação de estro em ovelhas Merino e Santa Inês**. 2006. 132p. Tese (Doutorado em Ciência Veterinária) – Programa de Pós Graduação em Ciência Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco.

MACHADO, I.B.B., FERNANDES, A.A.O., SELAIVE- VILLARROEL, A.B. Parâmetros reprodutivos de ovinos deslanados Morada Nova e Santa Inês mantidos em pastagem cultivada no estado do Ceará. **Revista Científica de Produção Animal**, v.1, p. 81-87, 1999.

MARTIN, G.B.; KADOKAWA, H. “Clean, Green and Ethical” Animal Production. Case Study: Reproductive Efficiency in Small Ruminants. **Journal of Reproduction and Development**, v.52, n.1, 2006.

MARTIN, G.B.; OLDHAM, C.M.; COGNIÉ, Y.; PEARCE, D.T. The physiological responses of anovulatory ewes to the introduction of rams-A review. **Livestock Production Science**, v.15, p.219-247, 1986.

MARTIN, G.B.; OLDHAM, C.M.; LINDSAY, D.R. Increased plasma LH levels in seasonally anovular Merino ewes following the introduction of rams. **Animal Reproduction Science**, v.3, n.2, p.125-132, 1980.

MARTIN, G. B.; SCARAMUZZI, R. J.; HENSTRIDGE, J. D. Effects of oestradiol, progesterone and androstenedione on the pulsatile secretion of luteinizing hormone in ovariectomized ewes during spring and autumn. **Journal of Endocrinology**, v.96, n.2, p.181-193, 1983.

MORALES, J.U.; VÁQUEZ, H.G.G.; ANDRADE, B.M.R. Influencia del pastoreo restringido en el efecto macho em cabras em baja condición corporal durante la estación de anestro. **Técnica Pecuaria e México**, n.41, p.251-260, 2003.

MINTON, J. E., COPPINGER, T. R., SPAETH, C. W., MARTIN, L. C. Poor reproductive response of anestrus Suffolk ewes to ram exposure is not due to failure to secrete luteinizing hormone acutely. **Journal of Animal Science**, v.69, n.8, p.3314-3320, 1991.

MEXIA, A.A.; MACEDO, F.A.F.; ALCALDE C.R.; SAKAGUTI, MARTINS, E.S.; E.N.; ZUNDT, M.; YAMAMOTO, S.M.; MACEDO, R.M.G. Desempenhos Reprodutivo e Produtivo de Ovelhas Santa Inês Suplementadas em Diferentes Fases da Gestação, **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.3, p.658-667, 2004.

NOGUEIRA, D.M.; ELOY, A.M.X.; SÁ, C.O.; LOPES JÚNIOR, E.S.; FIGUEIREDO, H.O.S.; SÁ, J.L.; SOUZA, P.H.F. Manejo Reprodutivo, In: VOLTOLINE, T.V. **Produção de Caprinos e Ovinos no Semiárido**, Petrolina: Embrapa Semiárido, 2011.

OLDHAM, C.; MARTIN, G. B.; KNIGHT, T. W. Stimulation of seasonally anovular Merino ewes by rams. I. Time from introduction of the rams to the preovulatory LH surge and ovulation. **Animal Reproduction Science**, v.1, n.4, p.283-290, 1979.

PEARCE, D.T.; OLDHAM, C.M. Importance of non-olfactory ram stimuli in mediating ram-induced ovulation in the ewe. **Journal of Reproduction & Infertility**, v.84, p.333-339, 1988.

PEREIRA, R.G.A.; MAGALHÃES, J.A.; COSTA, N.A. Ovinos deslanados: Alternativa para a agricultura familiar. Resultados e discussão. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, **Anais...** São Paulo: Gmosis, 1998.

PERKINS, A.; FITZGERALD, J.A. The Behavioral Component of the Ram Effect: The Influence of Ram Sexual Behavior on the Induction of Estrus in Anovulatory Ewes. **Journal of Animal Science**, v.72, p.51-55, 1994.

RAMÍREZ, L.A.; QUINTERO, L.A.Z. Los fenómenos de bioestimulación sexual en ovejas y cabras. **Veterinaria Mexicana**, v.32, n.2, p. 117-129, 2001.

SALLES, M.G.F.; ARAÚJO, A.A. Indução do estro em cabras leiteiras pelo efeito macho. In: XI SEMANA UNIVERSITÁRIA, 2006, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: Universidade Estadual do Ceará, 2006.

SANTOS, M.H.B.; OLIVEIRA, M.A.L.; MORAES, E.P.B.X.; MOURA, R.T.D.; LIMA P.F.; REICHENBACH, H-D. (2004). Diagnóstico de gestação por ultra-sonografia de tempo real. In SANTOS, M.H.B.; OLIVEIRA, M.A.L.; LIMA P.F. **Diagnóstico de gestação por ultra-sonografia de tempo real**. São Paulo, Brasil: Varela, p.97-116, 2004.

SAUNDERS, G.D.A.; ALVES, N.G.; PÉREZ, J.R.O.; SOUZA, J.C.D.; MUNIZ, J.A.; JOSÉ NETO, A. Effect of flushing with sources of protein with different deegratability on ovulation in Santa Inês ewes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 12, p. 2731-2738, 2010.

SILVA, A.E.D.F.; FOOTE, W.C.; RIERA, S.G.; UNANIAN, M.M. Efeito do manejo nutricional sobre a taxa de ovulação e de folículos, no decorrer do ano, em ovinos deslanados no Nordeste do Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.22, n.6, p.635-645, 1987.

SKINNER, D.C.; HARRIS, T.G.; EVANS, N.P. Duration and amplitude of the luteal phase progesterone increment times the estradiol-induced luteinizing hormone surge in ewes. **Biology of reproduction**, v.63, n.4, p.1135-1142, 2000.

TENÓRIO FILHO, F.; SANTOS, M.H.B.; CARRAZZONI, P.G.; BARTOLOMEU, C.C.; LIMA, P.F.; OLIVEIRA, M.A.L. Follicular dynamics in Anglo-Nubian goats using transrectal and transvaginal ultrasound. **Small Ruminant Research**, v.72, p.51-56, 2007.

VIDAL, M.F.; SILVA, R.G.; NEIVA, J.N.M.; CÂNDIDO, M.J.D.; SILVA, D.S.; PEIXOTO, M.J.A. Análise econômica da produção de ovinos em lotação rotativa em pastagem de capim tanzânia (*Panicum maximum* (Jacq)), **Revista de Economia e Sociologia Rural**, vol.44, no.4, p.801-818, 2006.

UNGERFELD, R.; DAGO, A.L.; RUBIANES, E.; FORSBERG, M. Response of anestrous ewes to the ram effect after follicular wave synchronization with a single dose of estradiol-17 β . **Reproduction Nutrition Development**, v.44, p.89-98, 2004.

VINAGRE, O.T.; SILVEIRA, J.B.; SIMPLÍCIO, J.B. Parâmetros de avaliação do comportamento reprodutivo de ovinos Santa Inês, no Agreste Paraíbano. In: REUNIÃO ANUAL DE ZOOTECNIA, 29, 1992, Lavras. **Anais...** Lavras: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1992. p.231.

EXPERIMENTO II

Influence of male to female ratio on physiological and reproductive parameters of postpartum ewes under anestrus and subjected to the male effect

José Carlos Ferreira-Silva¹, Fernando Tenório Filho², Claudio Coutinho Bartolomeu¹,
Paulo Fernandes de Lima¹ Marcos Antonio Lemos Oliveira¹

¹Laboratório de Biotécnicas Aplicadas à Reprodução. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife-PE/Brasil.

²Instituto Agronômico de Pernambuco. Estação Experimental de Itambé-PE/Brasil.

Abstract

It was aimed to evaluate the reproductive performance of postpartum ewes under anestrus and submitted to the male effect using different male to female ratios. Females (n = 90) were isolated from males for 30 days before the experiments, were then randomly distributed into groups under male to female ratios 1:20 (MFR20), 1:30 (MFR30) and 1:40 (MFR40). Mean P4 concentrations ($\eta\text{g mL}^{-1}$) before and after breeding season (BS) were $0.71\pm 0.20/3.81\pm 0.25$ (MFR20), $0.66\pm 0.21/3.74\pm 0.35$ (MFR30) and $0.69\pm 0.15/3.66\pm 0.34$ (MFR40), respectively, where concentrations were lower ($P \leq 0.05$) before BS onset. Estrous were detected in 100% females until the 35th day of the BS, while most estrous were detected until day 15 of the BS. Pre-ovulatory peaks of LH ($\eta\text{g mL}^{-1}$) were evaluated at 26 (MFR20), 46 (MFR30) and at 86 (MFR40) hours after exposure to males, with mean ovulatory follicle of 7.35 ± 0.62 (MFR20), 7.33 ± 0.59 (MFR30) and 7.43 ± 0.88 mm (MFR40), and mean number of ovulations of 1.66 ± 0.51 (MFR20), 1.50 ± 0.54 (MFR30) and 1.33 ± 0.51 (MFR40). Pregnancy rates were 95.0% (MFR20), 86.6% (MFR30) and 89.2% (MFR40) with mean prolificacy of 1.52 ± 0.51 (MFR20), 1.56 ± 0.50 (MFR30) and 1.48 ± 0.50 (MFR40). There was no difference ($P \geq 0.05$) between groups for all parameters. The results allow the conclusion that male to female ratios can compromise efficiency of male effect regarding estrous induction and synchronization in postpartum ewes under anestrus, however without compromising pregnancy and prolificacy.

Keywords: biostimulation, P4, LH, ovulation, pregnancy, prolificacy.

1 – Introduction

Sheep production is normally performed under extensive areas that do not favor high reproductive efficiency (RUBIANES and UNGERFELD, 2002) and prolonged anestrus postpartum is a limiting factor to livestock production since it negatively affects reproductive rates and overall profitability.

Moreover, this reality can be easily minimized adopting adequate management practices, of low cost and easy execution (FALCÃO et al., 2008; ALMEIDA-IRMÃO et al., 2014; ALVES et al., 2015; CALDAS et al., 2015ab; FERREIRA-SILVA, 2015) or possibly corrected using animal breeding practices as a tool to select females with potential to reduce age at first delivery, interval between deliveries and increase the number of multiple deliveries (NOTTER and COPENHAVER, 1980; AZZARIN, 2004).

In general terms, farms in semiarid regions of the northeast of Brazil are small to medium size. This makes it difficult to adopt approaches such as male effect due to limited distances to isolate genders in order to avoid visual, physical, auditive and olfactive contact (PEARCE and OLDHAM, 1988) for variable periods of time (MARTIN et al., 1986; ROSA and BRYANT, 2002; CHEMINEAU et al., 2006). However, recent unequivocal demonstration showed that preconditioning distance for male effect is not a major factor, since it only requires avoidance of physical contact between genders (CALDAS et al., 2015b). In contrast to sexually less active males that may contribute to estrous of short duration and silenced ovulations (PERKINS and FITZGERALD, 1994; RAMIREZ and QUINTERO, 2001), it is known that males with higher libido induce greater number of ovulations due to higher interaction with females (PERKINS and FITZGERALD, 1994; CHEMINEAU et al., 2006). Moreover, male to female ratio is an important variable of reproductive management since the importance of male fertility on reproduction programs is much greater than any female alone, since males can be mated to several females, independently of mating systems (PACHECO et al., 2010).

Due to the fact that male to female ratio is less understood, specially when associated with biostimulation, as well as the need to improve current understanding on physiological parameters possibly influenced by this association during the BS, the work was aimed to evaluate P4 and LH levels and ovarian activity in postpartum ewes under anestrus and subjected to male effect.

2 - Material and Methods

Experiments were conducted in Escada, Zona da Mata region of Pernambuco state. Geographic coordinates were latitude 08° 21' 33" S, longitude 35° 13' 25" O, altitude of 109 m, mean annual temperature of 24.4 oC and mean annual rainfall of 1.763 mm³. The weather is tropical semi humid, with rainy period from May to August.

Animals were raised in pastures during the day and kept in a pen in the afternoon. Animals were fed with cultivated pastures (*Brachiaria humidicola*) and native pastures (*Paspalum maritimum*, *Chloris orthonton*, *Cynodon dactylon*; *Brachiaria tunnergrass*) and further supplemented with hay (*Pennisetum purpureum*) when kept in the pen. Animals had free access to mineral salt and water.

Kidding females with 2 to 3 years of age were initially selected and evaluated accordingly to body condition score, and pre-selected with scores from 2 to 3, as described by

Gonzalez-Stagnaro (1993). Anestrus condition was evaluated by ultrasonography of the reproductive tract, with the methodology recommended by Santos et al. (2004). Females were identified after selection by numbered plastic earrings and colored necklaces in order to ease management practices. Females were kept apart from males during 30 days at a distance of 10 m, avoiding physical contact only, as described by Caldas et al. (2015b).

Anestrus was determined based upon P4 blood concentration. Blood samples were collected in all ewes on days 10, 20 and 30 after isolation from males. Blood plasma was sampled twice and stored at -20 °C, until P4 concentration analysis by radioimmunoassay. Females were considered in anestrus when P4 concentration was lower than 1 ng mL⁻¹ in two consecutive samples, as suggested by Morales et al. (2003). After P4 concentration diagnosis, females (n = 99) were randomly allocated to experimental groups under male to female ratios of 1:20 (MFR20), 1:30 (MFR30) and 1:40 (MFR40).

Santa Inês rams (n = 3) were selected accordingly to their reproductive performance (proven fertility) and submitted to andrology exam one week before experiment onset (CBRA, 2013). Bucks were marked with a mixture of grease and ink (4:1) around the sternum to facilitate identification of cycling females before being introduced in groups. Rams were marked with inks of different colors and were exchanged between groups on days 10, 20 and 30 of the BS.

After introduction of males in female flocks, three females of each group were randomly subjected to blood collection during an 98 hour period in four-hour intervals for LH concentration analysis. Moreover, these females were removed from flocks in order to avoid handling stress effects on their reproductive performance. Blood plasma was used to measure LH and P4 concentrations. Gonadotropin concentrations were determined by radioimmunoassay, and variations of 20 ng mL⁻¹ or higher, within two consecutive samples, were considered significant, as previously described by Martin et al. (1983).

Ovulations were confirmed by P4 concentrations were measured on days 10, 20 and 30 of the BS, by methods as described above. Ewes were considered cycling when displayed P4 concentrations reached 1 ng mL⁻¹ or higher in two consecutive samples. Ovarian activity was performed by daily ultrasonographic exams after estrous manifestation in six females of each group. Exams were performed by the same technician and moment of ovulation was defined according to Tenório Filho et al. (2007).

Estrous events were observed twice a day (6:00 and 16:00 hours) by trained personnel during the BS of 35 days, and estrus were considered synchronized, within the initial five

days of BS. Pregnancy diagnosis was performed by ultrasonography on day 35 and day 60 after the last mating, as suggested by Santos et al. (2004).

Parametric variables were submitted to analysis of variance (ANOVA) and compared by SNK test from System for Statistical Analysis (SAEG) software, with results displayed as means and standard deviation ($\pm s$). Nonparametric variables were evaluated by the chi-square test and displayed as percentages (%). Level of significance was 5%.

3 – Results

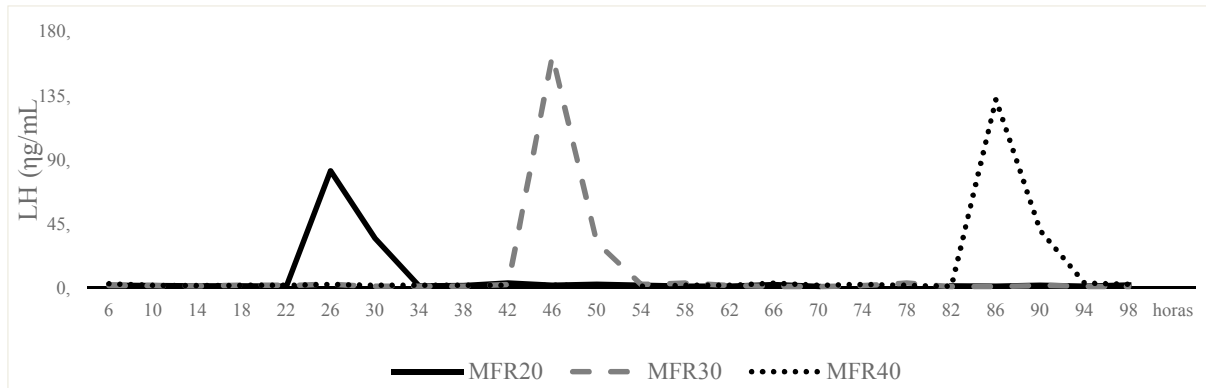
Table 1 displays the data relative to P4 serum concentration. It can be noted that P4 concentration were lower than 1 ng mL^{-1} , indicating that all females were in a non-cycling condition before BS onset. On the same table, it is possible to verify that after a introduction of males, females began cycling, leading to ovulation and further differences in P4 levels ($P \leq 0.05$) in comparisons between before and after male introduction to female flocks.

Table 1 - Serum concentrations of P4 of postpartum Santa Inês ewes under anestrus, before and after biostimulation, submitted to male to female ratio of 1:20 (MFR20), 1:30 (MFR30) and 1:40 (MFR40).

Group	Animals (n)	P4 Concentration (ng mL^{-1})	
		Before ($\bar{x} \pm s$)	After ($\bar{x} \pm s$)
MFR20	20	0.71 \pm 0.20 ^a	3.81 \pm 0.25 ^b
MFR30	30	0.66 \pm 0.21 ^a	3.74 \pm 0.35 ^b
MFR40	40	0.69 \pm 0.15 ^a	3.66 \pm 0.34 ^b

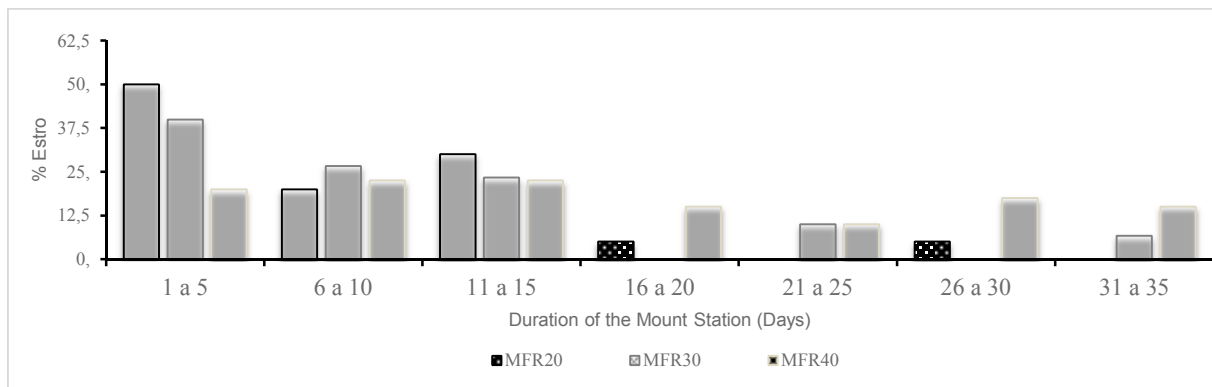
Different superscript letters on same line indicate statistical difference ($P \leq 0.05$).

Graphic 1 displays the data regarding LH serum concentrations after introduction of males into female flocks. It became evident that, irrespectively of male to female ratio, biostimulation induced LH pre-ovulatory peaks within 26 to 86 hours of the BS onset.



Graphic 1 - Concentration of LH ($\eta\text{g mL}^{-1}$), during the period from 6 to 98 hours after male effect onset, in postpartum Santa Inês ewes under anestrus, submitted to biostimulation under male to female ratios of 1:20 (MFR20), 1:30 (MFR30) and 1:40 (MFR40).

Graphic 2 contains data related to estrous dispersion that was observed until day 35 of the BS. Estrus onset was dispersed throughout the BS, were 50% MFR20, 40% MFR30 and 20% on MFR40 of females displayed synchronized estrous. On this same graphic it is still possible to note that 100% (MFR20), 90% (MFR30) and 65% (MFR30) of estrous were detected within the initial 15 days of BS.



Graphic 2 - Estrus distribution in postpartum Santa Inês ewes under anestrus, submitted to biostimulation, under male to female ratios of 1:20 (MFR20), 1:30 (MFR30) and 1:40 (MFR40).

Table 2 contains data concerning estrous manifestation that varied from 70% to 100%, with no difference ($P \geq 0.05$) between groups. The number of females that repeated estrous on MFR20 and MFR30 was lower ($P \leq 0.05$) than those that displayed a single estrous.

Table 2 - Percentage of single and double estrus in postpartum ewes under anestrus, and submitted to biostimulation under male to female ratios of 1:20 (MFR20), 1:30 (MFR30) and 1:40 (MFR40).

Group	Estrous Type		
	Single n/n (%)	Double n/n (%)	Total n/n (%)
MFR20	18/20 (90.00) ^a	2/20 (10.00) ^b	20/20 (100.00)
MFR30	26/30 (86.66) ^a	4/30 (13.33) ^b	30/30 (100.00)
MFR40	19/40 (47.50) ^a	9/40 (22.50) ^a	28/40 (70.00)

Different superscript letters on same line indicate statistical difference ($P \leq 0.05$).

Table 3 demonstrates major findings on ovarian activity, where no difference was found between follicle sizes ($P \geq 0.05$). Moreover, mean number of ovulations did not differ between groups ($P \geq 0.05$).

Table 3 – Mean values for ovarian follicular diameter (mm) and ovulation ($\bar{x} \pm s$) of postpartum Santa Inês ewes under anestrus, submitted to biostimulation under male to female ratios of 1:20 (MFR20), 1:30 (MFR30) and 1:40 (MFR40).

Groups	Ovarian Activity			
	Diameter of larger follicle ($\bar{x} \pm s$)	Diameter of 2 ^o larger follicle ($\bar{x} \pm s$)	Mean follicular diameter ($\bar{x} \pm s$)	Number of ovulations ($\bar{x} \pm s$)
MFR20	7.35±0.62	6.60±0.58	6.97±0.69	1.66±0.51
MFR30	7.33±0.59	6.45±0.48	6.89±0.69	1.50±0.54
MFR40	7.43±0.88	6.33±0.25	6.88±0.84	1.33±0.51

Table 4 displays the data on overall pregnancy rates, as well as pregnancy rates on first and second services. In contrast to other groups, MFR40 did not display difference between pregnancy rates from first and second services ($P \geq 0.05$). The overall pregnancy rate did not differ between groups ($P \geq 0.05$).

Table 4 - Pregnancy rate per service of postpartum Santa Inês ewes under anestrus, submitted to biostimulation under male to female ratios of 1:20 (MFR20), 1:30 (MFR30) and 1:40 (MFR40).

Group	Pregnancies per Service		
	First n/n (%)	Second n/n (%)	Total n/n (%)
MFR20	17/18(94.44) ^a	2/2 (100.00) ^b	19/20 (95.00)
MFR30	23/26 (88.46) ^a	3/4 (75.00) ^b	26/30 (86.66)
MFR40	16/28 (64.28) ^a	9/9 (100.00) ^a	25/28 (89.28)

Different superscript letters on same line indicate statistical difference ($P \leq 0.05$).

Table 5 shows that 98.57% of pregnant females delivered singletons and twins at similar rates ($P \geq 0.05$). Prolificacy did not differ between groups ($P \geq 0.05$).

Table 5 - Delivery type and prolificacy of postpartum Santa Inês ewes under anestrus, submitted to biostimulation under male to female ratios of 1:20 (MFR20), 1:30 (MFR30) and 1:40 (MFR40).

Group	Delivery Type			
	Singleton n/n (%)	Twins n/n (%)	Total n/n (%)	Prolificacy ($\bar{x} \pm s$)
MFR20	9/19 (47.37)	10/19 (52.63)	19/19 (100.00)	1.52±0.51
MFR30	11/26 (42.31)	14/26 (53.84)	25/26 (96.15)	1.56±0.50
MFR40	13/25 (52.00)	12/25 (48.00)	25/25 (100.00)	1.48±0.50

4 - Discussion

P4 mean concentrations immediately before BS onset on all experimental groups were accordingly to females in a non-cycling condition, as suggested by Morales et al. (2003). P4 mean values after contact between genders increased to levels common to cyclicity condition, demonstrating the effectiveness of male effect to induce fertile estrus in non-cycling ewes under anestrus postpartum. Despite the fact that P4 was not evaluated during male effect preconditioning period, Lima (2006) described similar P4 concentrations after BS onset.

High percentages of females ovulated within an 72 hour period after exposure to males, probably due to, elevated basal LH levels (OLDHAM et al., 1979) that increased female sensibility to stimulation (MARTIN et al., 1980). Estrus that were followed by ovulation were due to LH peak that occurred in a disperse fashion in all groups. Moreover, LH preovulatory peak on MFR20 occurred before remaining groups, 20 hours before MFR30 and 60 hours before MFR40. Since males were submitted to an andrology exam, in which libido was also evaluated, it is possible that lower male to female ratios led to greater interaction between genders that ultimately led to ovulation anticipation. This hypothesis was established based upon the argument that males with increased libido raise biostimulation efficiency by inducing a higher number of ovulations due to increased interaction with females, as previously described by Perkins and Fitzgerald (1994) and Okamura et al., 2010. Since LH concentrations were not determined before BS onset, it is fair to consider that response to stimulus may be due to the male activity and high variation on gonadotropin levels as described by Lima (2006), that attributed to the instability of gonadotropin concentrations the high coefficient values.

Despite the fact that estrus were observed until day 35 of the BS, it is necessary to note a relevant synchronization rate in MFR20 and MFR30, possibly due to higher male to female ratios. It is important to note that male effect, irrespectively of groups, was efficient to concentrate estrus in most females within the initial 15 days of the BS, a relevant aspect in a production system since it lowers costs with trained personnel, concentrates deliveries under favorable periods, results in uniform lots of animals and allows ovine production planning in accordance with market demands, as described by Fonseca (2005). Another important aspect to be mentioned is that the majority of females on MFR20 and MFR30, differently from MFR40, exhibited a single estrus followed by corpus luteum formation. Moreover, only 70% of MFR40 females displayed estrus, showing the importance of male to female ratio during the BS.

Using woolled sheep breeds, Guinther et al. (1995) and Evans et al. (2000) registered ovulatory follicles varying from 5.1 to 5.7 mm. As described here, the diameter of ovulatory follicle was larger then described by Cavalcanti (2008) and Saunders et al. (2010) for Santa Inês ewes. It is relevant to consider that ovulatory follicle size and the number of ovulations was similar between all groups, showing that male to female ratio did not influence such factors, that may ultimately be related to their genetic background.

Pregnancy rate on first service was higher than the second service on MFR20 and MFR30, groups where interaction between genders was higher. This finding desmistifies the

observation that the first estrus due to the male effect could be anovulatory (UNGERFELD et al., 2004) or, if ovulation occurs, corpus luteum is weak, lapses rapidly and leads to occurrence of short estrous cycles (CHEMINEAU et al., 2006). Moreover, it shows that male to female ratios of 1:30 or higher, even under controlled mating, as suggested by some authors (EMBRAPA, 1989), should be reanalyzed and consider adopting 1:30 ratio, even if total pregnancy rates did not differ between groups. What must have happened in MFR40 is that a concentration of estrus occurred in a large number of females, making it demanding for the ram within the initial 15 days of the BS, fact that may have contributed to similar pregnancy rates on both services.

The findings described here did not show prevalence of singletons over twin deliveries, which is not in agreement with Vinagre et al. (1992), Pereira et al. (1998) and Mexia et al. (2004). Moreover, data on prolificacy is in agreement with reported by Machado et al. (1999) with pluriparous Santa Inês ewes.

The results described here allow the conclusion that male to female ratio affects the efficiency of male effect to induce and synchronize estrus in ewes under anestrus postpartum, but it does not affect pregnancy rates and prolificacy.

5 – References

ALMEIDA-IRMAO, J.M., SILVA, J. C. F., SILVA, P. G. C., FREITAS NETO, L M., MOURA, M.T., OLIVEIRA, L. R. S., LIMA, P.F., OLIVEIRA, M.A.L. Efeito do desaleitamento temporário e do efeito macho sobre a reprodução de caprinos. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, v.8, p.24 - 30, 2014.

ALVES, CARLOS G.T., FERREIRA-SILVA, JOSÉ C., ALMEIDA-IRMÃO, JOSÉ M., MOURA, MARCELO T., BARTOLOMEU, CLÁUDIO C., LIMA, PAULO F., OLIVEIRA, MARCOS A.L. Reproductive outcomes using different distances for preconditioning for the male effect in Anglo Nubian goats during two distinct climate seasons. **Boletim de Indústria Animal**, v.72, p.69 -76, 2015.

AZZARINI, M. Potencial reproductivo de los ovinos. **Producción Ovina**, v.16, p.5-17, 2004.

CALDAS, E.L.C., FERREIRA-SILVA, J.C., FREITAS NETO, L M., VELOSO NETO, H.F., MOURA, M.T., LIMA, P.F., SANTOS, M.H.B., OLIVEIRA, M.A.L. Male effect associated with suckling interruption on the reproductive performance of santa inês ewes. **Boletim de Indústria Animal**, v.72, p.117-123, 2015a.

CALDAS, E.L.C., FREITAS NETO, L M., ALMEIDA-IRMÃO, J.M., SILVA, J.C.F., SILVA, P. G. C., VELOSO NETO, H.F., NEVES, J.P., MOURA, M.T., LIMA, P.F., OLIVEIRA, M.A.L. The influence of separation distance during the preconditioning period of the male effect approach on reproductive performance in sheep. **Veterinary Science Development**, v.4, p.1-9, 2015b.

CAVALCANTI, A. S. Avaliação do uso de GnRH em protocolos curtos de indução e sincronização do estro e da ovulação em ovelhas. 2008. 111f. 2008. (Doutorado. em Clínica e Reprodução Animal) Universidade Federal Fluminense, Niterói.

CBRA - COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. 3.ed. Belo Horizonte, 2013. 104 p.

CHEMINEAU, P.; PELLICER-RUBIO, M.T.; LASSOUED, N.; KHALDI, G. E MONNIAUX, D. Male-induced short oestrous and ovarian cycles and sheep and goats: a working hypothesis. **Reproduction Nutrition Development**, v.46, p.417-429, 2006.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Recomendações tecnológicas para a produção de caprinos e ovinos no Estado do Ceará. Sobral, CE: EMBRAPA-CNPC, 1989, 58p.

EVANS, A.C.O.; DUFFY, P.; HYNES, N.; BOLAND, M.P. Waves of follicle development during the estrous cycle in sheep. **Theriogenology**, v.53, p. 699-715, 2000.

FALCÃO, D.P., SANTOS, M.H.B.D., FREITAS NETO, L.M., NEVES, J.P., LIMA, P.F., OLIVEIRA, M.A.L. Uso da PGF2 α no puerpério para reduzir o anestro pós-parto de cabras em aleitamento contínuo e controlado. **Ciência Animal Brasileira**, v.9, n.2, p.512-518, 2008.

FERREIRA-SILVA, J.C. **Avaliação de parâmetros reprodutivos de ovelhas da raça Santa Inês submetidas ao efeito macho**. 2015. 61p. Monografia (Estágio Supervisionado Obrigatório) – Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife. 2015.

FONSECA, J.F. Estratégias para o controle do ciclo estral e superovulação em ovinos e caprinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.16, p.1-9, 2005.

GINTHER, O.J.; KOT, K.; WILTBANK, M.C. Associations between emergence of follicular waves and fluctuations in FSH concentrations during the estrous cycle in ewes. **Theriogenology**, v.43, p.689-703, 1995.

GONZÁLES-STAGNARO, C. Comportamento Reproductivo de Ovejas y Cabras Tropicales. **Revista Científica**, v.3, n.3, p.173-190, 1993.

LIMA, S.A. **O efeito macho sobre a manifestação de estro em ovelhas Merino e Santa Inês**. 2006. 132p. Tese (Doutorado em Ciência Veterinária) – Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco.

MACHADO, I.B.B., FERNANDES, A.A.O., SELAIVE- VILLARROEL, A.B. Parâmetros reprodutivos de ovinos deslanados Morada Nova e Santa Inês mantidos em pastagem cultivada no estado do Ceará. **Revista Científica de Produção Animal**, v.1, p. 81-87,1999.

MARTIN, G. B.; OLDHAM, C. M.; LINDSAY, D. R. Increased plasma LH levels in seasonally anovular Merino ewes following the introduction of rams. **Animal Reproduction Science**, v.3, n.2, p.125-132, 1980.

MARTIN, G.B.; OLDHAM, C.M.; COGNIÉ, Y.; PEARCE, D.T. The physiological responses of anovulatory ewes to the introduction of rams-A review. **Livestock Production Science**, v.15, p.219-247, 1986.

MARTIN, G.B.; SCARAMUZZI, R.J.; HENSTRIDGE, J.D. Effects of oestradiol, progesterone and androstenedione on the pulsatile secretion of luteinizing hormone in ovariectomized ewes during spring and autumn. **Journal of Endocrinology**, v.96, n.2, p.181-193, 1983.

MEXIA, A.A.; MACEDO, F.A.F.; ALCALDE C.R.; SAKAGUTI, MARTINS, E.S.; E.N.; ZUNDT, M.; YAMAMOTO, S.M.; MACEDO, R.M.G. Desempenhos Reprodutivo e Produtivo de Ovelhas Santa Inês Suplementadas em Diferentes Fases da Gestação, **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.3, p.658-667, 2004.

MORALES, J.U.; VÁQUEZ, H.G.G.; ANDRADE, B.M.R. Influencia del pastoreo restringido en el efecto macho em cabras em baja condición corporal durante la estación de anestro. **Técnica Pecuaria e México**, n.41, p.251-260, 2003.

NOTTER, D. R.; COPENHAVER, J. S. Performance of Finnish Landrace crossbred ewes under accelerated lambing. II. Lamb growth and survival. **Journal of Animal Science**, v. 51, n. 5, p. 1043-1050, 1980.

OKAMURA, H., MURATA, K., SAKAMOTO, K., WAKABAYASHI, Y., OHKURA, S., TAKEUCHI, Y., & MORI, Y. Male Effect Pheromone Tickles the Gonadotrophin-Releasing Hormone Pulse Generator. **Journal of neuroendocrinology**, v.22, n.7, p.825-832, 2010.

OLDHAM, C.; MARTIN, G. B.; KNIGHT, T. W. Stimulation of seasonally anovular Merino ewes by rams. I. Time from introduction of the rams to the preovulatory LH surge and ovulation. **Animal Reproduction Science**, v.1, n.4, p.283-290, 1979.

PACHECO, A.; QUIRINO, C.R.; OLIVEIRA, A.F.M. Assessment of sexual behavior of young rams of Santa Inês breed, with and without prior experience with females. **Archivos Latinoamericanos de Producción Animal**, v. 17, n. 1-2, 2010.

PEARCE, G. P.; OLDHAM, C. M. Importance of non-olfactory ram stimuli in mediating ram-induced ovulation in the ewe. **Journal of reproduction and fertility**, v.84, n.1, p.333-339, 1988.

PEREIRA, R.G.A.; MAGALHÃES, J.A.; COSTA, N.A. Ovinos deslanados: Alternativa para a agricultura familiar. Resultados e discussão. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, Anais... São Paulo: Gmosis, 1998.

PERKINS, A.; FITZGERALD, J.A. The Behavioral Component of the Ram Effect: The Influence of Ram Sexual Behavior on the Induction of Estrus in Anovulatory Ewes. **Journal of Animal Science**, v.72, p.51-55, 1994.

RAMÍREZ, L.A.; QUINTERO, L.A.Z. Los fenómenos de bioestimulación sexual en ovejas y cabras. **Veterinaria Mexicana**, v.32, n.2, p. 117-129, 2001.

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

SANTOS, M.H.B.; OLIVEIRA, M.A.L.; MORAES, E.P.B.X.; MOURA, R.T.D.; LIMA P.F.; REICHENBACH, H-D. (2004). Diagnóstico de gestação por ultra-sonografia de tempo real. In SANTOS, M.H.B.; OLIVEIRA, M.A.L.; LIMA P.F. Diagnóstico de gestação por ultra-sonografia de tempo real. São Paulo, Brasil: Varela, p.97-116, 2004.

SAUNDERS, G.D.A.; ALVES, N.G.; PÉREZ, J.R.O.; SOUZA, J.C.D.; MUNIZ, J.A.; JOSÉ NETO, A. Effect of flushing with sources of protein with different degradableity on ovulation in Santa Inês ewes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.12, p.2731-2738, 2010.

TENÓRIO FILHO, F.; SANTOS, M.H.B.; CARRAZZONI, P.G.; BARTOLOMEU, C.C.; LIMA, P.F.; OLIVEIRA, M.A.L. Follicular dynamics in Anglo-Nubian goats using transrectal and transvaginal ultrasound. **Small Ruminant Research**, v.72, p.51-56, 2007.

UNGERFELD, R.; FORSBERG, M.; RUBIANES, E. Overview of the response of anoestrous ewes to the ram effect. **Reproduction Fertility and Development**, v.16, n.4, p.479-490, 2004.

VINAGRE, O.T.; SILVEIRA, J.B.; SIMPLÍCIO, J.B. Parâmetros de avaliação do comportamento reprodutivo de ovinos Santa Inês, no Agreste Paraíbano. In: REUNIÃO ANUAL DE ZOOTECNIA, 29, 1992, Lavras. **Anais...** Lavras: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1992. p.231.

EXPERIMENTO III

Monitoring progesterone and LH profiles and ovarian activity in postpartum ewes subjected to male effect

José Carlos Ferreira-Silva¹, Fernando Tenório Filho², Marcelo Tigre Moura¹, Claudio Coutinho Bartolomeu¹, Paulo Fernandes de Lima¹, Marcos Antonio Lemos Oliveira¹

¹Laboratório de Biotécnicas Aplicadas à Reprodução. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife-PE/Brasil.

²Instituto Agrônomo de Pernambuco. Estação Experimental de Itambé-PE/Brasil.

Abstract

It was aimed to evaluate P4 concentration as an approach to monitor cyclicity of ewes under postpartum anestrus, and further establish LH profile and ovarian activity after male effect approach. Santa Inês females (n = 66) were evenly distributed into experimental groups accordingly to postpartum period of 35 to 40 (T1) and 55 and 60 days (T2) and further isolated from males for 30 days before experiment onset. Estrus were detected in 93.30% (T1) and 100% (T2) of females. Pre-ovulatory peaks of LH ($\eta\text{g mL}^{-1}$) were evaluated at 42 (T2) and at 72 (T1) hours after exposure to males, with mean ovulatory follicle of 7.90 ± 0.31 (T1) and 8.50 ± 0.30 mm (T2), and mean number of ovulations of 1.50 ± 0.54 (T1) and 1.60 ± 0.51 (T2). Mean P4 concentrations ($\eta\text{g mL}^{-1}$), respectively, before and after mating were $0.53 \pm 0.17/4.55 \pm 0.24$ (T1) and $0.73 \pm 0.06/4.90 \pm 0.11$ (T2), respectively, where lower concentrations ($P \leq 0.05$) were detected before contact between genders. Pregnancy rates were 85.70% (T1) and 93.3% (T2), with no difference ($P \geq 0.05$) between groups. Results showed that male effect is effective for inducing and concentrating estrus in postpartum ewes that had delivered within 35 to 60 days. Moreover, pre-ovulatory LH peaks occurred within 72 hours after the physical contact between genders, which led to follicle luteinization and increased P4 concentration, without compromising pregnancy rates. Male effect can be applied to postpartum ewes that delivered within 35 to 40 days in order to decrease time between deliveries.

Keywords: biostimulation, P4, LH, ovulation, pregnancy, prolificacy.

1 – Introduction

Traditional sheep production in South America is predominantly sustained by production systems in extensive areas with low reproductive efficiency (RUBIANES and UNGERFELD, 2002). Moreover, seasonal reproduction systems and long postpartum anestrus periods are factors that affect sheep production by reducing overall lambing rates. Reduction of periods of sexual inactivity, anticipation of breeding season onset and increased prolificacy are economically relevant factors that allow profitability in such commercial settings, particularly when under adequate management practices and when those technologies are of low cost and simple execution (SIMPLÍCIO, 2008).

Sheep production can be improved by genetic selection for ewes of improved reproductive efficiency, with lower age at first delivery, shorter time between deliveries and

increased prolificacy (NOTTER and COPENHAVER, 1980; AZZARIN, 2004). Male effect alone (SASA et al., 2011; CALDAS et al. 2015ab) or associated with pharmacals (KNIGHTS et al., 2001; UNGERFELD et al., 2004; MONREAL et al., 2009) is an effective, simple and low cost approach to reduce postpartum anestrus duration without affecting pregnancy rates (CALDAS et al. 2015ab; FERREIRA-SILVA, 2015).

The sudden introduction of males in female flocks under anestrus determines an immediate increase in LH pulse frequency and amplitude in intervals of 54-72 hours (KNIGHT et al., 1983) or 38-62 hours (FERREIRA-SILVA, 2015) followed by ovulation (MARTIN et al., 1983; MORAES, 1991; THIMONIER, 2000; FERREIRA-SILVA, 2015). This variation on LH pulses may be or not due to silent estrus behavior in ewes under anestrus (KNIGHT et al., 1983; THIMONIER, 2000). Depending upon the resulting type of corpus luteum formed, females may display short or normal estrous cycles (CALDAS et al. 2015ab; FERREIRA-SILVA, 2015), accompanied by increase in P4 concentration (SASA et al., 2011; FERREIRA-SILVA, 2015).

The work was aimed to evaluate P4 concentrations as a tool to monitor cyclicity in ewes under postpartum anestrus, and determine LH profile and ovarian activity after male effect onset.

2 - Material and Methods

Experiments were conducted in Escada, near the coast region of Pernambuco state, Brazil. Geographic coordinates are latitude 08° 21' 33" S, longitude 35° 13' 25" O, altitude of 109 m, mean annual temperature of 24.4 °C e mean annual rainfall of 1.763 mm³. Climate conditions are tropical semi humid, with rainy period from May to August.

Animals were raised in pastures during the day and kept in pens during the afternoon. Nutrition was based upon cultivated (*Brachiaria humidicola*, *Pennisetum purpureum*) and native pastures (*Paspalum maritimum*, *Chloris orthonton*, *Cynodon dactylon*, *Brachiaria tunnergrass*). Mineral salt and water were offered ad libitum.

Postpartum ewes of 2 to 3 years of age were initially evaluated for body condition score, pre-selected when display score of 2 or 3, as methodology described by Gonzalez-Stagnaro (1993). Anestrus condition was evaluated by reproductive tract ultrasonography (Santos et al., 2004). Selected ewes were identified with numbered plastic earring and colored necklaces in order to ease management. Male effect pre-conditioning was established by isolating ewes from rams for 30 days at a distance of 10 m, which avoids physical contact

between genders (Caldas et al., 2015b). Santa Inês rams ($n = 2$) were pre-selected accordingly to fertility records and subjected to an andrology exam a week before experiment onset (CBRA, 2013).

Cyclicity status was determined based upon P4 concentration. Blood samples were collected on days 10, 20 and 30 during the male effect preconditioning period. Blood plasma was stored before analysis at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. P4 concentration was performed in duplicates using radioimmunoassay. Females were considered in anestrus when displayed serum concentrations lower than $1\text{ }\eta\text{g mL}^{-1}$ in two consecutive samples (Morales et al., 2003). After P4 concentration analysis, ewes ($n = 66$) were allocated to groups T1 (35-40 days after delivery) and T2 (55-60 days after delivery), respectively.

Rams were marked with a mixture of grease and ink (4:1) around the sternum, then introduced in ewes flocks under male to female ratios of 1:33. Rams were marked with different ink colors and exchanged between ewe flocks on days 10, 20 and 30 of the BS.

After introduction of rams in ewe flocks, three ewes of each group were randomly submitted to blood sampling in four hour intervals during an 98-hour period in order to determine LH concentration. Gonadotropin measurements were made by radioimmunoassay, and were considered significantly different when varied $20\text{ }\eta\text{g mL}^{-1}$, for two consecutive samples (Martin et al., 1983). Moreover, ewes used for LH evaluation were excluded from further analysis, in order to avoid any effect of excessive handling on estrus and pregnancy rates.

In order to estimate ovulation rates on ewes after mating, P4 concentration was also measured on days 10, 20 and 30 after male effect onset as described above for LH analysis. Ewes were considered cycling when displayed P4 concentration of $1\text{ }\eta\text{g mL}^{-1}$ or higher in two consecutive samples.

Ovarian activity was evaluated by daily ultrasonographic exams after estrus detection in 20% females ($n = 6$) of each group. Exams were performed by same technician and the moment of ovulation was defined accordingly to Tenório Filho et al. (2007).

Estrus events were observed twice a day (6:00 and 16:00 hours) by trained technician during a breeding season (BS) of 35 days. Estrus were considered synchronized when detected within the initial five days of the BS. Pregnancy diagnosis was made by ultrasonography on days 35 and 60 after mating as described by Santos et al. (2004).

Parametric variables were submitted to analysis of variance (ANOVA) and compared by SNK test from System for Statistical Analysis (SAEG) software, with results presented as means and standard deviation ($\bar{x}\pm s$). Non-parametric variables were evaluated by chi-square

test, and presented as percentages (%). Differences were considered significant when displayed probabilities lower than 5%.

3 – Results

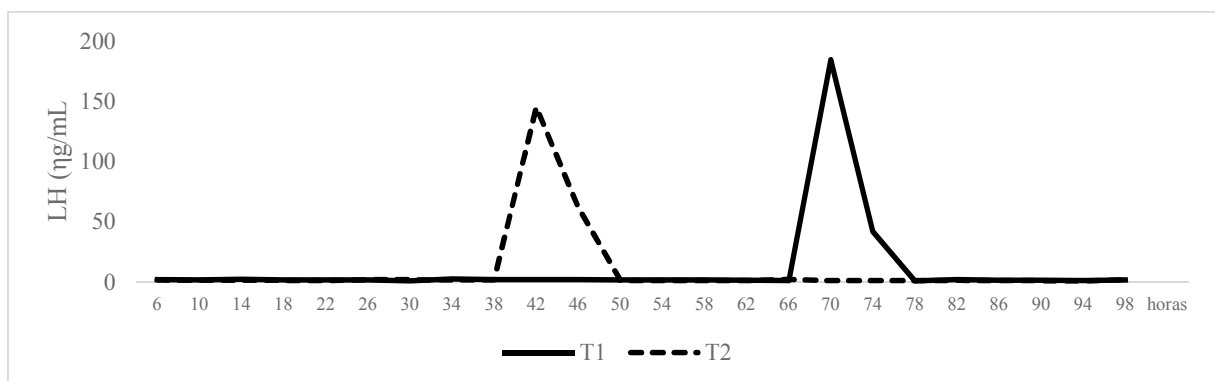
P4 levels were assessed before experiment onset, in order to determine cyclicity status of postpartum ewes (Table 1). Mean P4 concentrations were lower than 1 ng mL⁻¹, indicating that all ewes were in anestrus before BS, irrespectively of postpartum period. However, after male effect, ewes cycled and ovulated, as demonstrated by increased ($P \leq 0.05$) P4 levels.

Table 1 - P4 concentration in Santa Inês ewes under postpartum anestrus that delivered within 35 to 40 (T1) and 55 to 60 days (T2), and further subjected to male effect.

Group	Animals (n)	P4 Concentration (ng mL ⁻¹)	
		Before male effect ($\bar{x} \pm s$)	After male effect ($\bar{x} \pm s$)
T1	30	0,53±0,17 ^{aA}	4,55±0,24 ^{bA}
T2	30	0,73±0,06 ^{aB}	4,90±0,11 ^{bB}

Different superscript letters on same line denote statistical difference ($P \leq 0.05$).

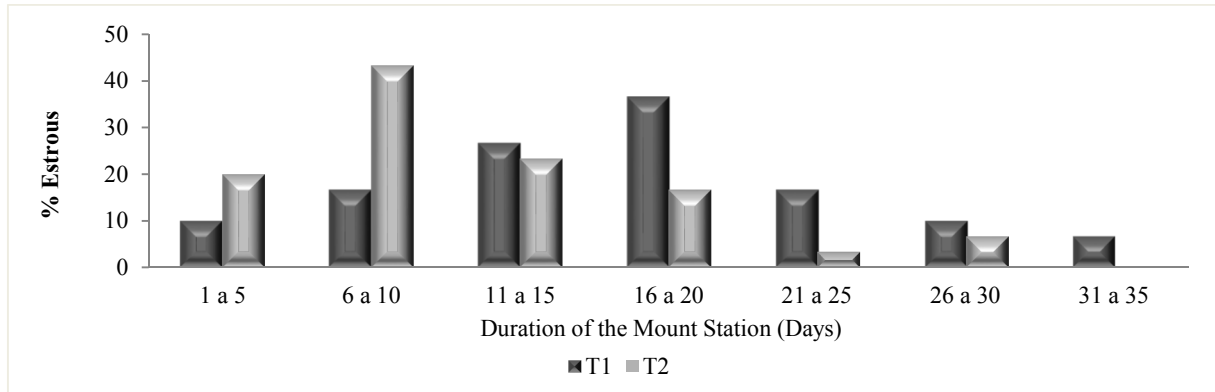
LH concentrations were also measured after ewes were subjected to male effect. Despite varying postpartum periods, male effect induced LH pre-ovulatory peaks between 42 and 70 hours after BS onset (Graphic 1).



Graphic 1 - LH Concentration (ng mL⁻¹) during the period of 6 to 98 hours after male effect onset in Santa Inês ewes under postpartum anestrus (n = 6), that delivered within 35 to 40 (T1) and 55 to 60 (T2).

The incidence of estrus during the BS was also determined (Graphic 2). Estrus were detected until day 33 of the BS. Estrus were detected in 93.30% on T1 and 100% on T2 ewes,

respectively, but an increased incidence of estrus was observed on T2 within the initial ten days of the BS. First estrus occurred between days 1 and 33, where mean values for first estrus were 15.45 ± 10.36 (T1), 9.25 ± 6.41 (T2) days. Overall incidence of synchronized estrus was 23% for all ewes, where 26% on T1 and 20% on T2, with no difference between groups ($P > 0.05$).



Graphic 2 - Distribution of estrus in Santa Inês ewes under postpartum anestrus that delivered within 35 to 40 (T1) and 55 to 60 (T2) and subjected to male effect.

Ovarian activity was monitored in order to correlate with estrus and pregnancy rates (Table 2). Larger follicles ($P \leq 0.05$) were detected on T2, where second larger follicle did not differ between groups (Table 2). Mean number of ovulations was similar between groups ($P \geq 0.05$).

Table 2 - Mean values for follicular diameter (mm) and ovulation in Santa Inês ewes under postpartum anestrus that delivered within 35 to 40 (T1) and 55 to 60 (T2) days and further subjected to male effect.

Group	Ovarian Activity			
	Larger follicle diameter	2 ^o larger follicle diameter	Mean follicular diameter	Number of ovulations
	($\bar{x} \pm s$)	($\bar{x} \pm s$)	($\bar{x} \pm s$)	($\bar{x} \pm s$)
T1	7.9 ± 0.31^a	7.6 ± 0.41^a	7.8 ± 0.38^a	1.5 ± 0.54^a
T2	8.5 ± 0.30^b	8.0 ± 0.25^a	8.3 ± 0.37^b	1.6 ± 0.51^a

Different superscript letters on same line denote statistical difference ($P \leq 0.05$).

Pregnancy rates were determined after first and second matings throughout the BS (Table 3), but no difference was observed ($P \geq 0.05$) between groups.

Table 3 - Pregnancy rates of Santa Inês ewes under postpartum anestrus that delivered within 35 to 40 (T1) and 55 to 60 (T2) days and further subjected to male effect.

Group	Pregnancy per Service		
	First n/n (%)	Second n/n (%)	Total n/n (%)
T1	18/20 (90.0)	6/8 (75.0)	24/28 (85.7)
T2	24/25 (96.0)	4/5 (80.0)	28/30 (93.3)

4 - Discussion

Monitoring reproductive activity by P4 concentration has been used to detect anestrus in ewes, due to seasonal factors or postpartum condition (SASA et al. 2011; FERREIRA-SILVA, 2015). As described here, mean P4 concentrations before male effect demonstrated that ewes were in anestrus, based upon P4 parameters perviously described by Morales et al. (2003). However, exposure of ewes to male effect, irrespectively of postpartum period, led to a significant increase in P4 levels, which is in accordance with previous reports (SASA et al., 2002; FERREIRA-SILVA, 2015).

Several evidences correlate P4 to sexual behavior in ewes under anestrus, since P4 stimulates receptivity to rams and increases estrus behavior (FABRE-NYS and MARTIN, 1991ab; CARATY and SKINNER, 1999). The total incidence of estrus was similar between groups. However, most estrus on T2 were concentrated on initial 10 ten days of the BS, in agreement with their higher P4 concentration. Since all ewes were in anestrus, it was expected that, irrespectively of postpartum period, would display similar responsiveness to male effect. However, more encouraging results were described with cycling ewes (Caldas et al., 2015ab), for estrus incidence within initial 10 days of the BS and estrus synchronization within initial five days of the BS.

The presence of P4 is required to induce GnRH production (CARATY and SKINNER, 1999) that is responsible for subsequent LH preovulatory peak (MARTIN et al., 1983). The data described here shows that LH preovulatory peak was induced with 30 hours in advance in ewes that showed higher P4 concentrations before male effect. Moreover, these ewes were under prolonged postpartum anestrus, a fact that may have contributed to this observation, since these ewes were expected to show higher basal LH levels than ewes under more recent postpartum periods. This hypothesis is in accordance with Martin et al. (1980), that found that higher basal LH levels before interaction between genders increased responsiveness to male

effect. Despite differences in LH preovulatory kinetics, mean LH concentrations were similar between groups and that all ewes showed LH pre-ovulatory peaks within 72 hours after male effect onset, as previously described by Oldham et al. (1979). This similarity between results is in agreement with similar incidences of short estrous cycles and number of ovulations between groups.

The fact that LH preovulatory peaks occurred later in ewes with more recent delivery may not have benefited less for resulting oocyte competence during oocyte maturation and subsequent follicle luteinization, even after usage of exogenous P4 in association to male effect (Skinner et al., 2000). In accordance, larger follicle diameter was larger in ewes under prolonged postpartum period conditions and did not affect pregnancy viability, since P4 produced after follicle luteinization was sufficient to maintain full-term pregnancies at similar rates.

Results allow the conclusion that male effect is efficient to induce and concentrate estrus in postpartum ewes within 35 to 60 after delivery. Under those conditions, LH preovulatory peak occurs within 72 hours, that ultimately leads to follicle luteinization and further increases in P4 concentration. Moreover, postpartum ewes can be subjected to male effect in order to reduce time between deliveries, with no effect on overall pregnancy rates.

5 – References

AZZARINI, M. Potencial reproductivo de los ovinos. **Producción Ovina**, v. 16, p. 5-17, 2004.

CALDAS, E.L.C., FERREIRA-SILVA, J.C., FREITAS NETO, L M., VELOSO NETO, H.F., MOURA, M.T., LIMA, P.F., SANTOS, M.H.B., OLIVEIRA, M.A.L. Male effect associated with suckling interruption on the reproductive performance of santa inês ewes. **Boletim de Indústria Animal**, v.72, p.117-123, 2015a.

CALDAS, E.L.C., FREITAS NETO, L M., ALMEIDA-IRMÃO, J.M., SILVA, J.C.F., SILVA, P. G. C., VELOSO NETO, H.F., NEVES, J.P., MOURA, M.T., LIMA, P.F., OLIVEIRA, M.A.L. The influence of separation distance during the preconditioning period of the male effect approach on reproductive performance in sheep. **Veterinary Science Development**, v.4, p.1-9, 2015b.

CARATY, A.; SKINNER, D.C. Progesterone priming is essential for the full expression of the positive feedback effect of estradiol in inducing the preovulatory gonadotropin-releasing hormone surge in the ewe. **Endocrinology**, v.140, n.1, p.165-170, 1999.

CBRA - COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. 3.ed. Belo Horizonte, 2013. 104 p.

FABRE-NYS, C., AND G.B. MARTIN. Hormonal control of proceptive and receptive sexual behavior and the preovulatory LH surge in the ewe: reassessment of the respective roles of estradiol, testosterone, and progesterone. **Hormones and behavior**, v.25, n.3, p.295-312, 1991a.

FABRE-NYS, C., AND G.B. MARTIN. Roles of progesterone and oestradiol in determining the temporal sequence and quantitative expression of sexual receptivity and the preovulatory LH surge in the ewe. **Journal of endocrinology**, v.130, n.3, p.367-379, 1991b.

FERREIRA-SILVA, J.C. **Avaliação de parâmetros reprodutivos de ovelhas da raça Santa Inês submetidas ao efeito macho**. 2015. 61p. Monografia (Estagio Supervisionado Obrigatório) – Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife. 2015.

GONZÁLES-STAGNARO, C. Comportamento Reproductivo de Ovejas y Cabras Tropicales. **Revista Científica**, v.3, n.3, p.173-190, 1993.

KNIGHT, T.W.; TERVIT, H.R.; LYNCH, P.R. Effect of boar pheromones, ram's wool and presence of bucks on ovarian activity in anovular ewes early in the breeding season. **Animal Reproduction Science**, v.6, p.129-134, 1983.

KNIGHTS, M.; HOEHN, T.; LEWIS, P.E.; INSKEEP, E.K. Effectiveness of intravaginal progesterone inserts and FSH for inducing synchronized estrus and increasing lambing rate in anestrus ewes. **Journal Animal Science**, v. 79, p. 1120-1131, 2001.

MARTIN, G.B.; SCARAMUZZI, R.J.; HENSTRIDGE, J.D. Effects of oestradiol, progesterone and androstenedione on the pulsatile secretion of luteinizing hormone in ovariectomized ewes during spring and autumn. **Journal of Endocrinology**, v.96, n.2, p.181-193, 1983.

MONREAL, A.C.D.; CARNEIRO, L.O.H.B.; REDONDO, M.V.S. Efeito macho associado ao emprego de progesterona intravaginal em ovelhas, sob latitude 20^o52' South. **Agrarian**, v.2, n.4, p.143-152, 2009.

MORAES, J.C.F. Emprego do “efeito carneiro” na indução e manipulação do ciclo estral em ovelhas durante o anestro. **A Hora Veterinária**, ano 11, n 63, p.32-34, 1991.

MORALES, J.U.; VÁQUEZ, H.G.G.; ANDRADE, B.M.R. Influencia del pastoreo restringido en el efecto macho em cabras em baja condición corporal durante la estación de anestro. **Técnica Pecuaria e México**, n.41, p.251-260, 2003.

NOTTER, D.R.; COPENHAVER, J.S. Performance of finnish landrace crossbred ewes under accelerated lambing. I. Fertility, prolificacy and ewe productivity. **Journal of Animal Science**, v. 51, n. 5, p. 1033-1041, 1980.

OLDHAM, C.; MARTIN, G. B.; KNIGHT, T. W. Stimulation of seasonally anovular Merino ewes by rams. I. Time from introduction of the rams to the preovulatory LH surge and ovulation. **Animal Reproduction Science**, v.1, n.4, p.283-290, 1979.

RUBIANES, E.; UNGERFELD, R. Perspectivas de la investigación sobre reproducción ovina em América Latina em El marco de las actuales tendencias productivas. **Archivos Latinoamericanos de Producción Animal**, v. 10, p. 117-125, 2002.

SANTOS, M.H.B.; OLIVEIRA, M.A.L.; MORAES, E.P.B.X.; MOURA, R.T.D.; LIMA P.F.; REICHENBACH, H-D. (2004). **Diagnóstico de gestação por ultra-sonografia de tempo real**. In SANTOS, M.H.B.; OLIVEIRA, M.A.L.; LIMA P.F. Diagnóstico de gestação por ultra-sonografia de tempo real. São Paulo, Brasil: Varela, p.97-116, 2004.

SASA, A., TESTON, D.C., RODRIGUES, P.D.A., COELHO, L.D.A., SCHALCH, E. Concentrações plasmáticas de progesterona em borregas lanadas e deslanadas no período de abril a novembro, no Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.3, p.1150-1156, 2002.

SASA, A.; NONAKA, K.O.; BALIEIRO, J.C.C.; COELHO, L.A. Progesterona plasmática de ovelhas submetidas ao efeito-macho e mantidas sob diferentes condições nutricionais. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.63, n.5, p.1066-1072, 2011.

SIMPLÍCIO, A. A. Estratégias de manejo reprodutivo como ferramenta para prolongar o período de oferta de carnes caprina e ovina no Brasil. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v.2, n.3, p.29-39, 2008.

SKINNER, D.C.; HARRIS, T.G.; EVANS, N.P. Duration and amplitude of the luteal phase progesterone increment times the estradiol-induced luteinizing hormone surge in ewes. **Biology of Reproduction**, v.63, n.4, p.1135-1142, 2000.

TENÓRIO FILHO, F.; SANTOS, M.H.B.; CARRAZZONI, P.G.; BARTOLOMEU, C.C.; LIMA, P.F.; OLIVEIRA, M.A.L. Follicular dynamics in Anglo-Nubian goats using transrectal and transvaginal ultrasound. **Small Ruminant Research**, v.72, p.51-56, 2007.

THIMONIER, J. Détermination de l'état physiologique des femelles par analyse des niveaux de progestérone. **INRA Produção Animal**, v.13, n.3, p.177-183, 2000.

UNGERFELD, R.; FORSBERG, M.; RUBIANES, E. Overview of the response of anoestrous ewes to the ram effect. **Reproduction Fertility and Development**, v.16, n.4, p.479-490, 2004.

EXPERIMENTO IV

Male effect associated with suckling interruption in ewes under postpartum anestrus affects ovarian activity and hormone profiles

José Carlos Ferreira-Silva, Maico Henrique Barbosa Santos, Leopoldo Mayer Freitas Neto,
Paulo Fernandes de Lima, Marcos Antonio Lemos Oliveira

Laboratório de Biotécnicas Aplicadas à Reprodução. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife-PE/Brasil.

Abstract

It was aimed to evaluate the effect of male effect associated with suckling interruption on reproductive behavior in ewes under postpartum anestrus. Females ($n = 90$), were isolated from males for 30 days and were evenly distributed in the experimental groups before breeding season (BS). In SI0, no suckling interruption was performed, where in SI24 and SI48, suckling interruption lasted for 24 and 48 hours, respectively. Mean P4 concentrations ($\eta\text{g mL}^{-1}$), respectively, before and after BS were $0.78 \pm 0.16 / 3.69 \pm 0.26$ (SI0), $0.76 \pm 0.16 / 4.18 \pm 0.38$ (SI24) and $0.70 \pm 0.22 / 3.63 \pm 0.25$ (SI48), which were lower than ($P \leq 0.05$) concentrations before BS onset. Estrus occurred in 83.33% females in SI0 and SI48 and 100% in the SI24, without difference ($P \geq 0.05$) between groups. Pre-ovulatory peaks of LH ($\eta\text{g mL}^{-1}$) were evaluated at 50 hours in SI0 (185.20), 62 hours in SI24 (158.50) and 66 hours in SI48 (201.2), after male effect, with mean ovulatory follicle of 6.51 ± 0.34 (SI0), 7.45 ± 0.65 (SI24) and 6.65 ± 0.39 mm (SI48), where SI24 follicles was larger ($P \leq 0.05$) than SI0 and SI48. Pregnancy rates were 68.00% (SI0), 90.00% (SI24) and 52.00 (SI48) with mean prolificacy of 1.29 ± 0.46 (SI0), 1.48 ± 0.50 (SI24) and 1.16 ± 0.38 (SI48), with no difference ($P \geq 0.05$) between groups. Results showed that male effect with suckling interruption for 24 hours can be recommended to induce and concentrate estrus in ewes under postpartum anestrus without compromising pregnancy rates and prolificacy.

Keywords: biostimulation, P4, LH, ovulation, pregnancy, prolificacy.

1 – Introduction

Male effect has reached an important relevance among scientists in recent years due to its high efficiency, ease of execution and low cost (SASA et al., 2011; ALMEIDA-IRMÃO et al., 2014; ALVES et al., 2015; CALDAS et al. 2015ab). Despite its importance to make sheep production a profitable activity at reproductive, productive and economic standpoints (RUBIANES and UNGERFELD, 2002), there are remaining aspects that deserve investigation in order to elucidate female physiology subjected to male effect.

Male effect is generally applied to ewes under seasonal anestrus (MATIN et al., 1986; SASA et al., 2011) or under postpartum anestrus (CALDAS et al., 2015b). It is a chemically mediated process by pheromones, that promote specific endocrine alterations. These endocrine modulations act upon the hypothalamic-pituitary axis, ultimately leading to tonic gonadotropin secretion (PEARCE e OLDHAM, 1984; MARTIN et al., 1986; COHEN-TANNOUJJI et al., 1989).

The increase in pulsatile LH, may occur in order of minutes after contact between genders (OLDHAM et al., 1979; ATKINSON and WILLIAMSON, 1985; MARTIN et al., 1986; SIGNORET, 1991; ROSA and BRYANT, 2002), and is followed by a LH preovulatory wave within 54 to 72 hours or 38 to 62 hours later (KNIGHT et al., 1983; FERREIRA-SILVA, 2015), leading to ovulation and corpus luteum formation followed by P4 production (MARTIN et al., 1986; SASA et al., 2011; FERREIRA-SILVA, 2015).

Despite these evidences, it is well established that suckling stimulus (STAGG et al., 1998) and continuous lambing (GONZALEZ STAGNARO, 1991; FALCÃO et al., 2008; CALDAS et al., 2015a), may affect male effect efficiency due to inadequate nutritional regimen (SASA et al., 2011) that inhibits the hypothalamic - pituitary axis, further blocking gonadotropin activity (CALDAS et al., 2015a). Pastures are generally the sole nutritional source for lambing females, a condition which does not provide animals with sufficient energetic supply under growing demand, reason why is recommended use "flushing" as an approach to minimize energetic "deficit" (GUNN et al., 1991; KENYON, et al., 2014).

Since few reports have described hormone profile in hair ewes subjected to male effect, it was aimed to evaluate Santa Inês ewes under postpartum anestrus by determination of P4 concentration, LH profile and ovarian activity after male effect using suckling interruption for 24 and 48 hours.

2 - Material and Methods

Experiments were conducted in Escada, Pernambuco state, Brazil. Geographic coordinates are latitude 08° 21' 33" S, longitude 35° 13' 25" O, altitude of 109 m, mean annual temperature of 24.4 °C and mean annual rainfall of 1.763 mm³. The weather is tropical semi humid, with rainy period from May to August.

Animals were raised under pasture conditions during the day and kept in pens during the night. Animals were fed with cultivated pastures (*Brachiaria humidicola*), native pastures (*Paspalum maritimum*, *Chloris orthonton*, *Cynodon dactylon*, *Brachiaria tunnergrass*), and further supplemented with cultivated hay (*Pennisetum purpureum*). Mineral salt and water were offered ad libitum.

Lambing ewes with 24 to 36 months of age, were initially evaluated for body condition score (Gonzalez-Stagnaro, 1993), were ewes scored as 2 and 3 were kept for further analysis. Reproductive status (anestrus) was determined by ultrasonography (Santos et al., 2004). Furthermore, ewes destined for experiments were identified by numbered plastic ear tags and

necklaces. For male effect preconditioning, rams were isolated from ewes for 30 days at a distance of 10 m (Caldas et al., 2015b). Adult Santa Inês rams (n = 3) of proven fertility were chosen for the experiments. Rams were subjected to andrology exam one week before breeding season (BS) onset (CBRA, 2013).

Anestrus condition was also determined based upon P4 concentration. Blood samples were collected from all ewes on days 10, 20 and 30 after initiation of male effect preconditioning. Blood plasma was stored at -20 °C, in duplicate samples, until P4 analysis by radioimmunoassay. Ewes were considered in anestrus when displayed P4 concentrations lower than 1 ng mL⁻¹ in two consecutive samples (Morales et al., 2003).

After determining P4 concentrations, ewes (n = 99) were randomly and evenly distributed to experimental groups (SI0, SI24 and SI48). On SI0 (n = 30), no suckling interruption was used, on SI24 (n = 30) suckling interruption for 24 hours and SI48 (n = 30), suckling interruption for 48 hours. During suckling interruption, lambs were fed with milk replacer and water ad libitum.

Rams were marked with a mixture of grease and ink (4:1) around the sternum bone region before the BS. Each ram was marked with a certain color. During the BS, rams were exchanged between groups on days 10, 20 and 30 of the BS. Rams were used in a male to female ratio of 1:33.

After introduction of rams in flocks of ewes, 10% ewes (n = 3) of each group were randomly subjected to blood sampling during a period of 98 hours, at four-hour intervals, for LH concentration analysis. Moreover, these ewes were excluded from further analysis in order to avoid any detrimental effect due to excessive handling.

Blood plasma also was used for LH analysis as described for P4 and determined by radioimmunoassay. Variations in LH levels were considered significant when increased by 20 ng mL⁻¹ or more for two consecutive measurements (Martin et al., 1983).

In order to determine ovulation rate on ewes after mating, P4 was also measured on days 10, 20 and 30 after male effect onset. Ewes were considered cycling when P4 concentration reached 1 ng mL⁻¹ or higher, for two consecutive measurements.

Ovarian activity was evaluated by ultrasonography daily after initial estrus detection in six females of each group. Ultrasonography was performed by same technician and moment of ovulation was defined as previously described (Tenório Filho et al., 2007).

Estrus were visually detected by trained personnel, during two one-hour periods each day (6:00 and 16:00 hours) during a BS of 35 days. Estrus were coined as synchronized when detected until day 5 of the BS. Pregnancy diagnosis was performed by ultrasonography on

day 35 and confirmed on day 60 after the last mating (Santos et al., 2004).

Descriptive statistics was performed by determining means, standard deviation and percentages. Parametric variables were submitted to Analysis of Variance (ANOVA) and means were compared by SNK test (System for Statistical Analysis Software). Non-parametric variables were evaluated by chi-square test. Differences with probability of $p < 0.05$ were considered significant.

3 – Results

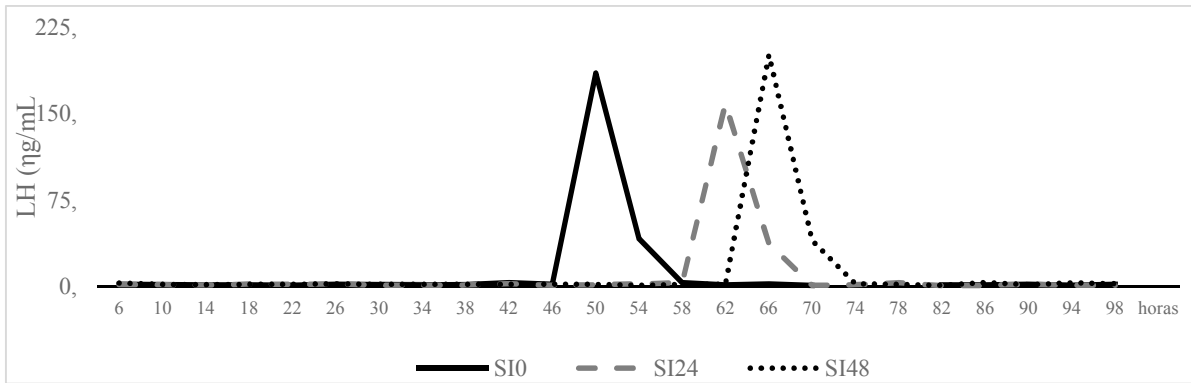
Table 1 contains data relative to P4 serum concentration. All P4 concentrations were lower than 1 ng mL^{-1} , indicating that all females were in anestrus before male effect. On same table, it is also possible to note that after male effect, ewes cycled and ovulated, with difference ($P \leq 0.05$) in P4 levels.

Table 1 - Serum concentration of P4 in Santa Inês ewes under anestrus, that delivered within 45 to 60 days, before and after male effect, that were subjected to suckling interruption for 0 (SI0), 24 (SI24) and 48 (SI48) hours before breeding season onset.

Group	Animals (n)	P4 Concentration (ng mL^{-1})	
		Before ($\bar{x} \pm s$)	After ($\bar{x} \pm s$)
SI0	30	0.78 ± 0.16^a	3.69 ± 0.26^a
SI24	30	0.76 ± 0.16^a	4.18 ± 0.38^b
SI48	30	0.70 ± 0.22^a	3.63 ± 0.25^a

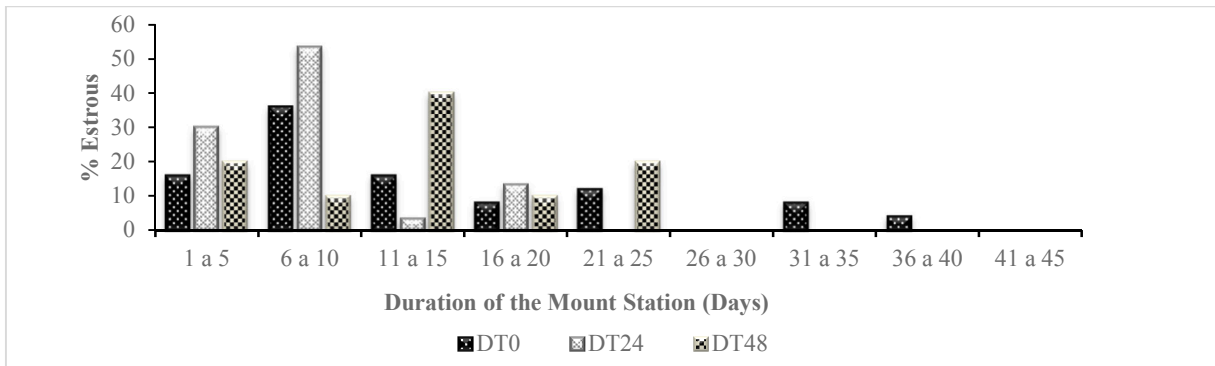
Different superscript letters on same line denote statistical difference ($P \leq 0.05$).

Graphic 1 describes data on LH blood concentration after male effect. It can be stated that, irrespectively of separation distance between genders, biostimulation induced LH preovulatory peaks between 50 to 66 hours of the BS.



Graphic 1 - LH concentration (ng mL⁻¹), in a period from 6 to 98 hours after male effect, in Santa Inês ewes under anestrus, that delivered within 45 to 60 days, without suckling interruption (SI0), suckling interruption for 24 (SI24) and 48 (SI48) hours before breeding season onset.

Graphic 2 contains data relative to estrus dispersion that occurred until day 40 of the BS. Estrus manifestation was observed in a dispersed fashion in all experimental groups, however, estrus in SI24 ewes were more concentrated within initial ten days of the BS. Figure 2 also shows that estrus in ewes subjected to suckling interruption occurred until day 25 of the BS, where SI0 showed until day 40.



Graphic 2 - Estrus distribution in Santa Inês ewes under anestrus, subjected to male effect, that delivered within 45 to 60 days, with no suckling interruption (SI0), suckling interruption for 24 (SI24) and suckling interruption for 48 (SI48) hours before breeding season onset.

Table 2 contains data relative to estrus manifestation, that varied from 83.33% to 100% with no difference between ($P > 0.05$) groups. It can also be noted that only 20.00% females on SI24 repeated estrus, a lower incidence then ($P < 0.05$) than those that displayed a single estrus.

Table 2 - Percentages of single and double estrus in Santa Inês ewes, subjected to male effect, that delivered within 45 to 60 days, with no suckling interruption (SI0), suckling interruption for 24 (SI24) and suckling interruption for 48 (SI48) hours before breeding season onset.

Group	Estrus Type		
	Single n/n (%)	Double n/n (%)	Total n/n (%)
SI0	18/30 (60.00) ^a	07/30 (23.33) ^a	25/30 (83.33) ^A
SI24	24/30 (80.00) ^a	06/30 (20.00) ^b	30/30 (100.00) ^A
SI48	15/30 (50.00) ^a	10/30 (33.33) ^a	25/30 (83.33) ^A

Different letters, lowercase and uppercase in the same row in the same column, indicate difference ($P \leq 0,05$).

Table 3 contains data regarding ovarian activity, where it can be noted that larger follicles ($P < 0.05$) were found in ewes from SI24, but second largest follicle were within similar sizes for all groups. Moreover, mean number of ovulations was similar between groups ($P > 0.05$).

Table 3 – Mean values for follicular size (mm) and number of ovulations in Santa Inês ewes, that delivered within 45 to 60 days, without suckling interruption (SI0), suckling interruption for 24 (SI24) and suckling interruption 48 (SI48) hours before breeding season onset.

Group	Ovarian Activity			
	Larger Follicle ($\bar{x} \pm s$)	Second Larger Follicle ($\bar{x} \pm s$)	Follicular Growth ($\bar{x} \pm s$)	Number of ovulations ($\bar{x} \pm s$)
SI0	6.51±0.34 ^a	6.06±0.40 ^a	6.34±0.46 ^a	1.33±0.51 ^a
SI24	7.45±0.65 ^b	6.45±0.18 ^a	6.95±0.69 ^b	1.66±0.51 ^a
SI48	6.55±0.39 ^a	6.21±0.22 ^a	6.38±0.35 ^a	1.16±0.40 ^a

Different superscript letters on same line denote statistical difference ($P \leq 0.05$).

Table 4 contains data relative to pregnancy rates, based upon pregnancy on first and second services. Only ewes on SI24 displayed higher pregnancy rate on first service ($P \leq 0.05$). Overall pregnancy rates were similar between groups ($P \geq 0.05$).

Table 4 - Pregnancy rates per number of services in Santa Inês ewes, that delivered within 45 to 60 days, without suckling interruption (SI0), suckling interruption for 24 (SI24) and 48 (SI48) hours before breeding season onset.

Group	Pregnancies per Service		
	First n/n (%)	Second n/n (%)	Total n/n (%)
SI0	11/18 (61.11) ^{aA}	06/07 (85.71) ^a	17/25 (68.00) ^A
SI24	22/24 (91.66) ^{aAB}	05/06 (83.33) ^b	27/30 (90.00) ^A
SI48	06/15 (40.00) ^{aAC}	07/10 (70.00) ^a	13/25 (52.00) ^A

Different letters, lowercase and uppercase in the same row in the same column, indicate difference ($P \leq 0,05$).

Table 5 demonstrates that 93% ewes diagnosed as pregnant delivered, as singleton or twi deliveries, with no difference between delivery types ($P \geq 0.05$). Moreover, prolificacy rates did not differ between groups ($P \geq 0.05$).

Table 5 - Delivery type and prolificacy in Santa Inês ewes, that delivered within 45 to 60 days, without suckling interruption (SI0), suckling interruption for 24 (SI24) and suckling interruption for 48 (SI48) hours before breeding season onset.

Group	Delivery Type			Prolificidade ($\bar{x} \pm s$)
	Singletons n/n (%)	Twins n/n (%)	Total n/n (%)	
SI0	12/17 (70.59)	5/17 (29.41)	17/17 (100.00)	1.29±0.46
SI24	14/27 (51.86)	13/27 (48.14)	27/27 (100.00)	1.48±0.50
SI48	10/13 (76.92)	2/13 (15.38)	12/13 (92.30)	1.16±0.38

4 - Discussion

Mean concentrations of P4 immediately before establishment of male effect on all three groups were in accordance to females in anestrus, as suggested by Morales et al. (2003). Moreover, mean values registered after contact between genders were within range for cyclicity, and demonstrated the efficiency of male effect to induce fertile estrus in females under postpartum anestrus.

Estrus were followed by ovulation, due to LH preovulatory peaks, with no effect of suckling interruption period. Other authors, such as Martin et al. (1983), Atkinson and Williamson (1985), Minton et al. (1991), Okamura et al. (2010) and Hawken and Martin

(2012) described the role of male effect on immediate increase in LH pulse frequency and concentration after male effect. It was initially expected that suckling interruption would ease ovulation, since suckling inhibits LH secretion. Moreover, another important factor in this process would be energetic deficiency caused by lambing that was not corrected or minimized by nutritional flushing.

Preovulatory LH peaks occurred in a dispersed fashion, and became evident that suckling interruption did not contribute to LH preovulatory peak anticipation, since it occurred at earlier time points in control lambing females. The LH preovulatory peak was registered in these females in time points within 22 hours. This period is shorter than previously described by Oldham et al. (1979), whom registered high percentages of females ovulating within 72 hours after male effect, probably due to, higher LH basal concentrations. However, the fact that all females were responsive to male effect suggests that it may not be related to cyclicity, since females were under postpartum anestrus. Under this condition, females should not display high basal LH concentration before male effect. This hypothesis is contrary to Martin et al. (1986), whom mentioned higher basal LH levels immediately before contact between genders, a condition which would contribute to increasing female susceptibility to male effect. Since the work described here did not evaluate LH concentration before the BS, it can be hypothesized that male effect responsiveness was established solely by males, and high variation within LH concentrations may be due to LH instability (Lima, 2006).

Estrus distribution occurred until day 40 of the BS in females without suckling interruption. Moreover, suckling interruption was efficient to concentrate estrus and matings, since SI24 and SI48 estrus were concentrated within, 20 and 15 days, respectively. This significant reduction in time for estrus and mating events points out to a possible BS shortening. This reduction in BS duration would lead to savings with costs related to BS management (e.g. technicians), concentrating deliveries under favorable periods throughout the year. This fact generates more uniform lots of lambs and further allows adjustments on production planning in order to meet market demands (Fonseca, 2005). It could also be noted that within this time period, most SI24 females displayed a single estrus, demonstrating the efficiency of suckling interruption to induce fertile estrus after male effect. These findings are different from those described by Chemineau et al. (2006) and Ungerfeld et al. (2008), which found first estrus as anovulatory. Another aspect that deserves to be outlined is mean follicular size in SI24 ewes. They were larger than other groups, probably due to factors such as suckling interruption stimulus at higher efficiency, to increased FSH secretion and higher

E2 production. These factors lead to increased follicular diameters and corpus luteum formation with higher P4 production. Using wooled sheep, Guinther et al. (1995) and Evans et al. (2000, 2001) found ovulatory follicles varying from 5.1 to 5.7 mm. As described here, ovulatory follicle diameter was also higher than previously described by Cavalcanti (2008) and Saunders et al. (2010) for Santa Inês ewes.

Results on pregnancy rates are in agreement with previous recommendations for semiarid conditions in the northeast of Brazil (EMBRAPA, 1989). Pregnancy rates in Santa Inês ewes were equivalent to an 42% rate, previously described by Silva et al. (1987). Differently than observed on SI0 and SI48, pregnancy rates on SI24 were higher on first service. This finding rules out the observation that the first estrus after male effect is anovulatory (UNGERFELD et al., 2004) or, if ovulation occurs, leads to a fragile corpus luteum, that ultimately leads to a short estrous cycle (CHEMINEAU et al., 2006). Estrus were concentrated within initial fifteen days of the BS, a fact that led to a high demand from males, in order to mate all females under estrus. This fact may have contributed to higher pregnancy rates in the second service for most groups. However, pregnancy rates on SI24 demonstrated that this suckling interruption period was efficient, and that stress related to this practice did not affect fertility yields. Moreover, males were of proven fertility, further subjected to andrology exam and used under a recommended male to female ratio (Nogueira et al., 2011). Collectively, males meeting those requirements may have probably contributed to good reproductive efficiencies, as described here.

Contrary to observations on SI0 and SI48, there were similar numbers in singleton and twin deliveries on SI24, a finding that does not agree with reports by Vinagre et al. (1992), Pereira et al. (1998) and Mexia et al. (2004). In contrast, prolificacy was in agreement with a report by Machado et al. (1999) using pluriparous Santa Inês ewes.

Finally, results described here allow the conclusion that male effect associated to suckling interruption is efficient and should be recommended to induce and concentrate estrus in ewes under postpartum anestrus, with no effect on pregnancy and prolificacy.

5 – References

ALMEIDA IRMAO, J.M., SILVA, J. C. F., SILVA, P. G. C., FREITAS NETO, L M., MOURA, M.T., OLIVEIRA, L. R. S., LIMA, P.F., OLIVEIRA, M.A.L. Efeito do desaleitamento temporário e do efeito macho sobre a reprodução de caprinos. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, v.8, p.24 - 30, 2014.

ALVES, CARLOS G.T., FERREIRA-SILVA, JOSÉ C., ALMEIDA-IRMÃO, JOSÉ M., MOURA, MARCELO T., BARTOLOMEU, CLÁUDIO C., LIMA, PAULO F., OLIVEIRA, MARCOS A.L. Reproductive outcomes using different distances for preconditioning for the male effect in Anglo Nubian goats during two distinct climate seasons. **Boletim de Indústria Animal**, v.72, p.69 -76, 2015.

ATKINSON, S. e WILLIAMSON, P. Ram-induced growth of ovarian follicles and gonadotrophin inhibition in anoestrous ewes. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.73, p.185-189, 1985.

CALDAS, E.L.C., FERREIRA-SILVA, J.C., FREITAS NETO, L M., VELOSO NETO, H.F., MOURA, M.T., LIMA, P.F., SANTOS, M.H.B., OLIVEIRA, M.A.L. Male effect associated with suckling interruption on the reproductive performance of santa inês ewes. **Boletim de Indústria Animal**, v.72, p.117-123, 2015a.

CALDAS, E.L.C., FREITAS NETO, L M., ALMEIDA-IRMÃO, J.M., SILVA, J.C.F., SILVA, P. G. C., VELOSO NETO, H.F., NEVES, J.P., MOURA, M.T., LIMA, P.F., OLIVEIRA, M.A.L. The influence of separation distance during the preconditioning period of the male effect approach on reproductive performance in sheep. **Veterinary Science Development**, v.4, p.1-9, 2015b.

CAVALCANTI, A. S. **Avaliação do uso de GnRH em protocolos curtos de indução e sincronização do estro e da ovulação em ovelhas**. 2008. 111f. 2008. (Doutorado. em Clínica e Reprodução Animal) Universidade Federal Fluminense, Niterói.

CBRA - COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. 3.ed. Belo Horizonte, 2013. 104 p.

CHEMINEAU, P.; PELLICER-RUBIO, M.T.; LASSOUED, N.; KHALDI, G. E MONNIAUX, D. Male-induced short oestrous and ovarian cycles and sheep and goats: a working hypothesis. **Reproduction Nutrition Development**, v.46, p.417-429, 2006.

COHEN-TANNOUDJI, J., LAVENET, C., LOCATELLI, A., TILLET, Y., SIGNORET, J.P. Non-involvement of the accessory olfactory system in the LH response of anoestrous ewes to male odour. **Journal of reproduction and fertility**, v.86, n.1, p.135-144, 1989.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Recomendações tecnológicas para a produção de caprinos e ovinos no Estado do Ceará**. Sobral, CE: EMBRAPA-CNPC, 1989, 58p.

EVANS, A.C.O.; DUFFY, P.; HYNES, N.; BOLAND, M.P. Waves of follicle development during the estrous cycle in sheep. **Theriogenology**, v.53, p. 699-715, 2000.

EVANS, A.C.O.; FLYNN, J.D.; QUINN, K.M.; DUFFY, P.; QUINN, P.; MADGWICK, S.; CROSBY, T.F.; BOLAND, M.P.; BEARD, A.P. Ovulation of aged follicles does not affect embryo quality or fertility after a 14-day progestogen estrous synchronization protocol in ewes. **Theriogenology**, n.56, p.923-936, 2001.

FALCÃO, D.P., SANTOS, M.H.B.D., FREITAS NETO, L.M., NEVES, J.P., LIMA, P.F., OLIVEIRA, M.A.L. Uso da PGF2 α no puerpério para reduzir o anestro pós-parto de cabras em aleitamento contínuo e controlado. **Ciência Animal Brasileira**, v.9, n.2, p.512-518, 2008.

FERREIRA-SILVA, J.C. **Avaliação de parâmetros reprodutivos de ovelhas da raça Santa Inês submetidas ao efeito macho**. 2015. 61p. Monografia (Estágio Supervisionado Obrigatório) – Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife. 2015.

FONSECA, J.F. Estratégias para o controle do ciclo estral e superovulação em ovinos e caprinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.16, p.1-9, 2005.

GINTHER, O.J.; KOT, K.; WILTBANK, M.C. Associations between emergence of follicular waves and fluctuations in FSH concentrations during the estrous cycle in ewes. **Theriogenology**, v.43, p.689-703, 1995.

GONZÁLES-STAGNARO, C. Comportamento Reproductivo de Ovejas y Cabras Tropicales. **Revista Científica**, v.3, n.3, p.173-190, 1993.

GONZALEZ-STAGNARO, C. Control y manejo de los factores que afectan al comportamiento reproductivo de los pequeños rumiantes en el medio tropical. **Isotope and related techniques in animal production and health**, IAEA, p.405-421, 1991.

GUNN, R.G., MAXWELL, T.J., SIM, D.A., JONES, J.R., JAMES, M.E. The effect of level of nutrition prior to mating on the reproductive performance of ewes of two welsh breeds in different levels of body condition. **Animal Production**, v.52, p.157-163, 1991.

HAWKEN, P.A.R.; MARTIN, G.B. Sociosexual stimuli and gonadotropin-releasing hormone/luteinizing hormone secretion in sheep and goats. **Domestic animal endocrinology**, v.43, n.2, p.85-94, 2012.

KENYON, P.R., MALONEY, S.K., BLACHE, D. Review of sheep body condition score in relation to production characteristics. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, v.57, n.1, p.38-64, 2014.

KNIGHT, T.W.; TERVIT, H.R.; LYNCH, P.R. Effect of boar pheromones, ram's wool and presence of bucks on ovarian activity in anovular ewes early in the breeding season. **Animal Reproduction Science**, v.6, p.129-134, 1983.

LIMA, S.A. **O efeito macho sobre a manifestação de estro em ovelhas Merino e Santa Inês**. 2006. 132p. Tese (Doutorado em Ciência Veterinária) – Programa de Pós Graduação em Ciência Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco.

MACHADO, I.B.B., FERNANDES, A.A.O., SELAIVE- VILLARROEL, A.B. Parâmetros reprodutivos de ovinos deslanados Morada Nova e Santa Inês mantidos em pastagem cultivada no estado do Ceará. **Revista Científica de Produção Animal**, v.1, p. 81-87,1999.

MARTIN, G.B.; OLDHAM, C.M.; COGNIÉ, Y.; PEARCE, D.T. The physiological responses of anovulatory ewes to the introduction of rams-A review. **Livestock Production Science**, v.15, p.219-247, 1986.

MARTIN, G.B.; SCARAMUZZI, R.J.; HENSTRIDGE, J.D. Effects of oestradiol, progesterone and androstenedione on the pulsatile secretion of luteinizing hormone in ovariectomized ewes during spring and autumn. **Journal of Endocrinology**, v.96, n.2, p.181-193, 1983.

MEXIA, A.A.; MACEDO, F.A.F.; ALCALDE C.R.; SAKAGUTI, MARTINS, E.S.; E.N.; ZUNDT, M.; YAMAMOTO, S.M.; MACEDO, R.M.G. Desempenhos Reprodutivo e Produtivo de Ovelhas Santa Inês Suplementadas em Diferentes Fases da Gestação, **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.3, p.658-667, 2004.

MINTON, J. E., COPPINGER, T. R., SPAETH, C. W., MARTIN, L. C. Poor reproductive response of anestrus Suffolk ewes to ram exposure is not due to failure to secrete luteinizing hormone acutely. **Journal of Animal Science**, v.69, n.8, p.3314-3320, 1991.

MORALES, J.U.; VÁQUEZ, H.G.G.; ANDRADE, B.M.R. Influencia del pastoreo restringido en el efecto macho em cabras em baja condición corporal durante la estación de anestro. **Técnica Pecuaria e México**, n.41, p.251-260, 2003.

NOGUEIRA, D.M.; ELOY, A.M.X.; SÁ, C.O.; LOPES JÚNIOR, E.S.; FIGUEIREDO, H.O.S.; SÁ, J.L.; SOUZA, P.H.F. Manejo Reprodutivo, In: VOLTOLINE, T.V. **Produção de Caprinos e Ovinos no Semiárido**, Petrolina: Embrapa Semiárido, 2011.

OKAMURA, H., MURATA, K., SAKAMOTO, K., WAKABAYASHI, Y., OHKURA, S., TAKEUCHI, Y., & MORI, Y. Male Effect Pheromone Tickles the Gonadotrophin-Releasing Hormone Pulse Generator. **Journal of neuroendocrinology**, v.22, n.7, p.825-832, 2010.

OLDHAM, C.; MARTIN, G. B.; KNIGHT, T. W. Stimulation of seasonally anovular Merino ewes by rams. I. Time from introduction of the rams to the preovulatory LH surge and ovulation. **Animal Reproduction Science**, v.1, n.4, p.283-290, 1979.

PEARCE, D.T.; OLDHAM, C.M. The "Ram Effect", its Mechanism and Application to the Management of Sheep. In: *Reproduction in Sheep*. Cambridge University Press Australia and New Zealand, p.26-34, 1984.

PEREIRA, R.G.A.; MAGALHÃES, J.A.; COSTA, N.A. Ovinos deslanados: Alternativa para a agricultura familiar. Resultados e discussão. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, Anais... São Paulo: Gmosis, 1998.

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

RUBIANES, E.; UNGERFELD, R. Perspectivas de la investigación sobre reproducción ovina em América Latina em El marco de las actuales tendencias productivas. **Archivos Latinoamericanos de Producción Animal**, v. 10, p. 117-125, 2002.

SANTOS, M.H.B.; OLIVEIRA, M.A.L.; MORAES, E.P.B.X.; MOURA, R.T.D.; LIMA P.F.; REICHENBACH, H-D. (2004). **Diagnóstico de gestação por ultra-sonografia de tempo real**. In SANTOS, M.H.B.; OLIVEIRA, M.A.L.; LIMA P.F. Diagnóstico de gestação por ultra-sonografia de tempo real. São Paulo, Brasil: Varela, p.97-116, 2004.

SASA, A.; NONAKA, K.O.; BALIEIRO, J.C.C.; COELHO, L.A. Progesterona plasmática de ovelhas submetidas ao efeito-macho e mantidas sob diferentes condições nutricionais. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.63, n.5, p.1066-1072, 2011.

SAUNDERS, G.D.A.; ALVES, N.G.; PÉREZ, J.R.O.; SOUZA, J.C.D.; MUNIZ, J.A.; JOSÉ NETO, A. Effect of flushing with sources of protein with different degradableity on ovulation in Santa Inês ewes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.12, p.2731-2738, 2010.

SIGNORET, J.P. Sexual pheromones in the domestic sheep: importance and limits in the regulation of reproductive physiology. **The Journal of steroid biochemistry and molecular biology**, v.39, n.4, p.639-645, 1991.

STAGG, K., SPICER, L.J., SREENAN, J.M., ROCHE, J.F., DISKIN, M.G. Effect of calf isolation on follicular wave dynamics, gonadotropin and metabolic hormone changes, and interval to first ovulation in beef cows fed either of two energy levels postpartum. **Biology of Reproduction**, v.59, n.4, p.777-783, 1998.

TENÓRIO FILHO, F.; SANTOS, M.H.B.; CARRAZZONI, P.G.; BARTOLOMEU, C.C.; LIMA, P.F.; OLIVEIRA, M.A.L. Follicular dynamics in Anglo-Nubian goats using transrectal and transvaginal ultrasound. **Small Ruminant Research**, v.72, p.51-56, 2007.

UNGERFELD, R.; FORSBERG, M.; RUBIANES, E. Overview of the response of anoestrous ewes to the ram effect. **Reproduction Fertility and Development**, v.16, n.4, p.479-490, 2004.

UNGERFELD, R.; RAMOS, M.A.; GONZÁLEZ-PENSADO, S.P. Ram effect: Adult rams induce a greater reproductive response in anestrous ewes than yearling rams. **Animal Reproduction Science**, v.103, p.271-277, 2008.

VINAGRE, O.T.; SILVEIRA, J.B.; SIMPLÍCIO, J.B. Parâmetros de avaliação do comportamento reprodutivo de ovinos Santa Inês, no Agreste Paraíbano. In: REUNIÃO ANUAL DE ZOOTECNIA, 29, 1992, Lavras. **Anais...** Lavras: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1992. p.231.

EXPERIMENTO V

Hormone profiles in hair sheep under postpartum anestrus and subjected to male effect associated with insulin and progesterone

José Carlos Ferreira-Silva¹; Maiana Silva Chaves¹, Fernando Tenório Filho², Leopoldo Mayer Freitas Neto¹; José Monteiro Almeida Irmão³, Marcos Antonio Lemos de Oliveira¹

¹Laboratório de Biotécnicas Aplicadas à Reprodução. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife-PE/Brasil.

²Instituto Agrônômico de Pernambuco. Estação Experimental de Itambé-PE/Brasil.

³Instituto de Educação Ciência e Tecnologia de Pernambuco; Campus Barreiros, Barreiros-PE/Brasil

Abstract

It was aimed to evaluate the reproductive performance of Santa Inês and Morada Nova ewes postpartum anestrus submitted to the male effect, with or without hormonal protocols. Females (n = 120), isolated from the males for 30 days, were evenly distributed in the experimental treatments constituted by the control group (T1) and previously treated with insulin (T2) and progesterone (T3). Mean P4 concentrations (ng/mL), respectively, before and after contact with males were $0.51 \pm 0.22/3.78 \pm 0.68$ (T1), $0.65 \pm 0.21/3.77 \pm 0.78$ (T2) and $0.52 \pm 0.21/3.84 \pm 0.84$ in Santa Inês females and $0.74 \pm 0.19/3.71 \pm 0.56$ (T1), $0.70 \pm 0.21/3.79 \pm 0.75$ (T2) and $0.81 \pm 0.14/3.87 \pm 0.80$ in Morada Nova females, registering lower concentrations ($P \leq 0.05$) before bread season onset. Estrous were detected in 85.00% (T1), 90.00% (T2) and 95.00% (T3) of Santa Inês females and 95.00% (T1 and T2) and 100% (T3) of Morada Nova females. After exposure to males pre-ovulatory peaks of LH (ng/mL) occurred at 34 (T1), 50 (T2) and 54 (T3) hours in Santa Inês females and at 70 (T1), 46 (T2) e 50 (T3) hours in Morada Nova female. The mean ovulatory follicle was 7.4 ± 0.65 (T1), 7.2 ± 0.47 (T2) e 7.6 ± 0.24 mm (T3) in Santa Inês females and 6.9 ± 0.50 (T1), 6.7 ± 0.36 (T2) e 7.0 ± 0.35 mm (T3) in Morada Nova females. The mean number of ovulations were 1.3 ± 0.51 (T1), 1.5 ± 0.54 (T2) e de 1.6 ± 0.51 (T3) in Santa Inês females and 1.3 ± 0.51 (T1), 1.6 ± 0.51 (T2) 1.6 ± 0.51 (T3) in Morada Nova females. The pregnancy was 94.11% (T1), 88.88% (T2) and 94.73% (T3) in females Santa and 89.47% (T1), 89.47% (T2), and 90.00% (T3) in females Morada Nova. The mean prolificacy was 1.37 ± 0.50 (T1) 1.43 ± 0.51 (T2) and 1.38 ± 0.50 (T3) in Santa Inês females and 1.41 ± 0.61 (T1) 1.41 ± 0.50 (T2) and 1.44 ± 0.51 (T3) in Morada Nova females. There was no difference ($P \geq 0.05$) between treatments for all evaluated parameters. The results allow the conclusion that the male effect is effective to induce and synchronize estrus sheep in postpartum anestrus without compromising pregnancy and prolificacy and its association with P4 and insulin is not recommended because it adds cost to the program and does not contribute to improvement reproductive rates.

Keywords: biostimulation, P4, LH, ovulation, pregnancy, prolificacy.

1 – Introduction

The control of reproductive events by simple procedures and of low cost, that excludes pharmacals, such as male effect, is supported by public demands with growing concerns about food production and animal welfare. At practical and economical standpoints, male effect holds several advantages such as anticipation of puberty, cyclicity onset in anestrus females, postpartum or seasonal, as well as the possibility to synchronize deliveries and weanings (MARTIN et al., 1986). The application of such reproductive management approach may

allow producers to increase production standardization and regularity throughout the year (SIMPLÍCIO, 2008).

The possibility to maximize male effect efficiency by association by pharmacals has been investigated in detail, aiming , mainly, reduce incidence of short estrous in ewes under o postpartum or seasonal anestrus (MONREAL et al., 2010).

Progesterone (P4) is required for induction GnRH synthesis before ovulation in postpartum ewes (CARATY e SKINNER, 1999; SKINNER et al., 2000). Moreover, when ewes are previously treated with P4, they display increased receptivity to males, a incidence of fertile estrus and shorter time intervals between deliveries (MARTIN et al., 1986, FABRE-NYS and MARTIN, 1991ab).

Besides P4, insulin is another pharmacal with potential to be used for reproduction, particularly for females under postpartum anestrus (MANN et al., 2003) that are normally under negative energy balance due to, among several factors, lactation (Caldas et al., 2015a). This substance, when added to the diet (MANN et al., 2003), or when administered in continuous shots, acts indirectly on GnRH and LH synthesis and release by hypothalamic-pituitary axis, by local gonadotropin modulation and metabolic signaling (DOWNING and SCARAMUZZI, 1997).

Ewes under postpartum anestrus are directly depended upon P4, and indirectly on insulin, for GnRH and LH pre-ovulatory synthesis. Moreover, association between these compounds and male effect increases reproductive efficiency in sheep. Due to the limited understanding of these events and their interactions, it was aimed to evaluate the influence of this association on P4 levels, LH pre-ovulatory peak, ovarian activity, pregnancy and prolificacy in Santa Inês and Morada Nova ewes under postpartum anestrus.

2 - Material and Methods

Experiments were conducted in Escada, Pernambuco state, Brazil. Geographic coordinates are latitude 08° 21' 33" S, longitude 35° 13' 25" O, altitude of 109 m, mean annual temperature of 24.4 oC and mean annual rainfall of 1.763 mm3. The weather conditions are tropical semi humid, with rainy period from May until August.

Animals were raised under pasture conditions during the day and kept in pens during the night. Cultivated pastures were composed of *Brachiaria humidicola*, where native pastures contained several plants (*Paspalum maritimum*, *Chloris orthonton*, *Cynodon dactylon*, *Brachiaria tunnergrass*). Animals were further supplemented with *Pennisetum purpureum*

when kept in pens. Mineral salt and water were offered ad libitum.

Lambing females from 2 to 3 years of age were initially evaluated for body condition score (Gonzalez-Stagnaro, 1993), where ewes were pre-selected when scored as 2 or 3. Anestrus condition was evaluated by ultrasonography of female reproductive tract (Santos et al., 2004). Selected ewes were identified accordingly (numbered ear tags and necklaces), and isolated from rams for 36 days apart within a distance of 10 m, in order to establish male effect preconditioning (Caldas et al., 2015b). Santa Inês (n = 3) and Morada Nova (n = 3) rams with proven fertility were used in the experiment. Rams were subjected to andrology test (CBRA, 2013) one week before breeding season (BS) onset.

Anestrus was determined by progesterone (P4) levels. Blood samples were collected from all ewes on days 10, 20 and 30 after establishment of male effect preconditioning. Blood plasma was stored in duplicates at -20 °C, until further use on P4 measurements by radioimmunoassay. Ewes were considered in anestrus when displayed P4 levels lower than 1 ng mL⁻¹ for two consecutive measurements (Morales et al, 2003).

After P4 evaluations, ewes (n = 138) were randomly and evenly allocated to experimental groups (T1, T2 and T3). T1 used male effect only (control), on T2 male effect associated to 25 IU insulin (NPH - Biobrás) by intramuscular shot on BS onset, and T3 where male effect was associated to 0.33 g P4 in an intravaginal dispositive (Eazi Breed CIDR® - Pfizer / São Paulo - SP) for 6 days. Immediately after CIDR® removal, males were introduced into ewe flocks.

Rams were marked with a mixture of grease and ink (4:1) around the sternum before the BS. Rams were marked with different ink colors and exchanged between ewe flocks on days 10, 20 and 30 of the BS. Rams were marked with ink of different colors and further exchanged within groups on days 10, 20 and 30 of the BS.

Three ewes from each group were randomly chosen for LH analysis after BS onset. Blood sampling for LH analysis was performed throughout an 98-hour period in four hour intervals. Ewes used for LH measurements were further excluded from BS, in order to avoid any detrimental effect of excessive handling on further evaluations. Blood plasma for LH analysis was collected as described above for P4. LH concentrations were determined by radioimmunoassay. Differences were considered significant when varied more higher than 20 ng mL⁻¹ for two consecutive samples (Martin et al., 1983).

Ovulation was confirmed by measurements of P4 levels on days 10, 20 and 30 after male effect onset by methods described above. Ewes were considered cycling when displayed P4 levels of 1 ng mL⁻¹ or higher, for two consecutive samples.

Ovarian activity was evaluated by daily ultrasonographic exam after estrus behavior in 6 ewes of each group. Exams were performed by same technician and the moment of ovulation was defined as previously described (Tenório Filho et al., 2007).

Estrus was observed daily during two periods of 60 minutes (6:00 and 16:00 hours) by trained technicians during a BS of 35 days. Estrus were considered synchronized when detected within initial five days of the BS. Pregnancy diagnosis was performed by ultrasonography on day 35 and confirmed on day 60 after the last mating (Santos et al., 2004).

Parametric variables were submitted to Analysis of Variance (ANOVA) and means were compared by SNK test from Statistical Analysis (SAEG) software. Results were presented as means and standard deviation ($\bar{x} \pm s$). Non-parametric variables were evaluated by chi-square test, and results presented as percentages (%). Differences were considered significant when displayed probabilities lower than 5%.

3 – Results

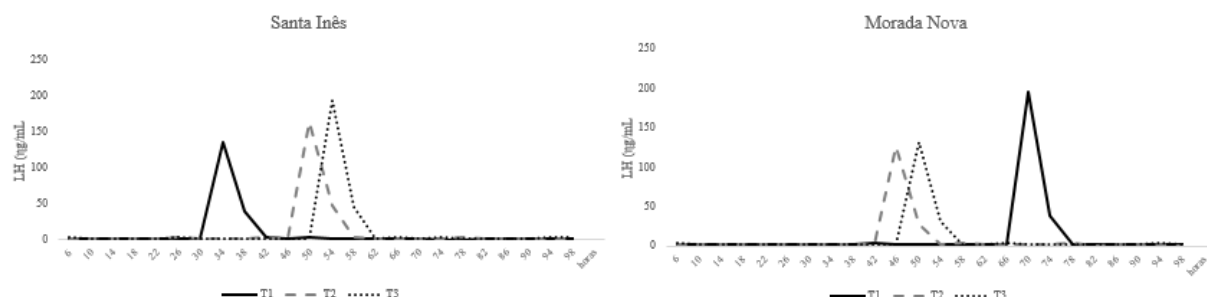
Table 1 shows that there was no variation on mean progesterone (P4) concentration between groups, both on Santa Inês and Morada Nova ewes. However, it was observed that mean P4 concentration increased significantly ($P < 0.05$) immediately after introduction of males into female flocks.

Table 1 - Mean P4 concentration, before and after male effect in Santa Inês and Morada Nova ewes under postpartum anestrus and subjected to male effect associated a with hormone protocols.

Breed	Group	Animals (n)	P4 Concentration ($\eta\text{g mL}^{-1}$)	
			Before ($\bar{x} \pm s$)	After ($\bar{x} \pm s$)
Santa Inês	T1	20	0.51 \pm 0.22 ^a	3.78 \pm 0.68 ^b
	T2	20	0.65 \pm 0.21 ^a	3.77 \pm 0.78 ^b
	T3	20	0.52 \pm 0.21 ^a	3.84 \pm 0.84 ^b
Morada Nova	T1	20	0.74 \pm 0.19 ^a	3.71 \pm 0.56 ^b
	T2	20	0.70 \pm 0.21 ^a	3.79 \pm 0.75 ^b
	T3	20	0.81 \pm 0.14 ^a	3.87 \pm 0.80 ^b

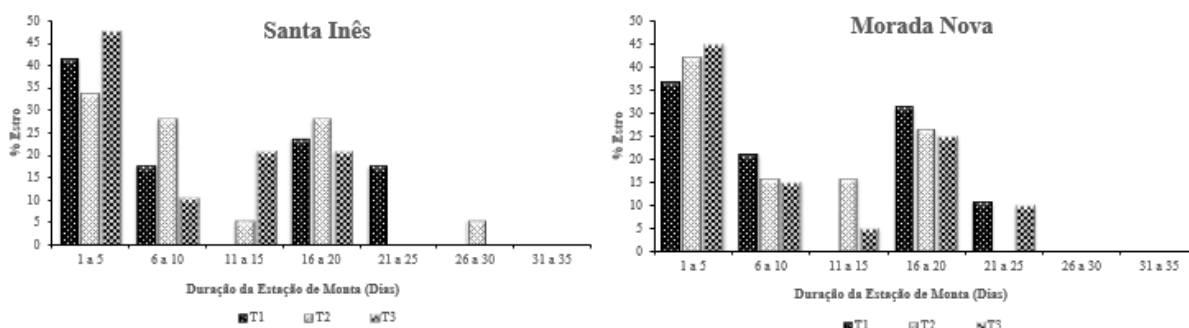
Letters with different superscripts on same line denotes statistical difference ($P < 0.05$).

Graphic 1 describes the data regarding LH serum concentrations after male effect onset. It became evident that, irrespectively of breed and group, biostimulation induced a LH pre-ovulatory peak, between 34 and 70 hours of contact between genders.



Graphic 1 - LH Concentration (ng mL^{-1}) from 6 to 98 hours after breeding season onset in Santa Inês and Morada Nova ewes under postpartum anestrus and subjected to male effect and hormone protocols, where T1 (Control), T2 (Male effect + Insulin) and T3 (Male effect + Progesterone).

Graphic 2 displays the data concerning estrus dispersion that happened until day 35 of the breeding season. Estrus manifestation occurred in a dispersed fashion in 90.0% in Santa Inês ewes and 96.6% in Morada Nova ewes, showing that estrus synchronization irrespectively of breed and group, with no difference ($P > 0.05$) between groups.



Graphic 2 - Estrus distribution in Santa Inês and Morada Nova ewes under postpartum anestrus subjected to male effect associated with hormone protocols.

Table 2 contains data regarding estrus detection as single and double events. It can be noted that for both Santa Inês and Morada Nova ewes, incidence of single estrus was higher ($P < 0.05$) than double estrus.

Table 2 - Percentages of single and double estrus in Santa Inês and Morada Nova ewes under postpartum anestrus and subjected to male effect associated with hormone protocols.

Breed	Group	Tipo de Estro		
		Single n/n (%)	Double n/n (%)	Total n/n (%)
Santa Inês	T1	14/20 (70.0) ^a	3/20 (15.0) ^b	17/20 (85.00)
	T2	17/20 (85.0) ^a	1/20 (5.0) ^b	18/20 (90.00)
	T3	19/20 (95.0) ^a	0/20 (0.0) ^b	19/20 (95.00)
Morada Nova	T1	17/20 (85.0) ^a	2/20 (10.0) ^b	19/20 (95.00)
	T2	19/20 (95.0) ^a	0/20 (0.0) ^b	19/20 (95.00)
	T3	18/20 (90.0) ^a	2/20 (10.0) ^b	20/20 (100.00)

Letters with different superscripts on same line denotes statistical difference ($P < 0.05$).

Table 3 contains data relative to ovarian activity, where is possible to note that no difference ($P > 0.05$) was observed between groups regarding follicular diameter. Moreover, mean number of ovulations was similar between groups ($P > 0.05$).

Table 3 – Mean follicular diameter (mm) and number of ovulations in Santa Inês and Morada Nova ewes under postpartum anestrus and subjected to male effect associated with hormone protocols.

Breed	Group	Ovarian Activity			
		Larger Follicle ($\bar{x} \pm s$)	2º largar Follicle ($\bar{x} \pm s$)	Mean follicular size ($\bar{x} \pm s$)	Number of ovulations ($\bar{x} \pm s$)
Santa Inês	T1	7.4±0.65 ^a	6.1±0.17 ^b	6.7±0.79	1.3±0.51
	T2	7.2±0.47 ^a	6.4±0.30 ^b	6.8±0.55	1.5± 0.54
	T3	7.6±0.24 ^a	6.5±0.43 ^b	7.0±0.67	1.6±0.51
Morada Nova	T1	6.9±0.50 ^a	5.6±0.21 ^b	6.2±0.77	1.3±0.51
	T2	6.7±0.36 ^a	5.8±0.34 ^b	6.2±0.59	1.6±0.51
	T3	7.0±0.35 ^a	5.7±0.13 ^b	6.3±0.70	1.6±0.51

Letters with different superscripts on same line denotes statistical difference ($P < 0.05$).

Table 4 contains dada relative to total pregnancy rates, and its relative rates con first and second services. It can be noted that an increased number of ewes ($P < 0.05$) became pregnant on fist services, irrespectively of breed and group.

Table 4 - Pregnancy rates per service in Santa Inês and Morada Nova ewes under postpartum anestrus and subjected to male effect associated with hormone protocols.

Breed	Group	Pregnancy per Service		
		First n/n (%)	Second n/n (%)	Total n/n (%)
Santa Inês	T1	13/14 (92.85) ^a	3/3 (100.00) ^b	16/17 (94.11)
	T2	15/17 (88.23) ^a	1/1 (100.00) ^b	16/18 (88.88)
	T3	18/19 (94.73) ^a	0/19 (0.00) ^b	18/19 (94.73)
Morada Nova	T1	15/17 (88.23) ^a	2/2 (100.00) ^b	17/19 (89.47)
	T2	17/19 (89.47) ^a	0/19 (0.00) ^b	17/19 (89.47)
	T3	16/18 (88.88) ^a	2/2 (100.00) ^b	18/20 (90.00)

Letters with different superscripts on same line denotes statistical difference ($P < 0.05$).

Table 5 shows that 100.0% Santa Inês and 98.0% Morada Nova ewes diagnosed as pregnant, indeed delivered, singletons or twins, with no difference between delivery type ($P > 0.05$). Moreover, prolificacy did not differ between groups ($P \geq 0.05$).

Table 5 - Delivery types and prolificacy in Santa Inês and Morada Nova ewes under postpartum anestrus and subjected to male effect associated to hormone protocols.

Breed	Group	Delivery Types			
		Singletons n/n (%)	Twins n/n (%)	Total n/n (%)	Prolificacy ($\bar{x} \pm s$)
Santa Inês	T1	10/16 (62.50)	6/16 (37.50)	16/16 (100.00)	1.37±0.50
	T2	9/16 (56.25)	7/16 (43.75)	16/16 (100.00)	1.43±0.51
	T3	11/18 (61.11)	7/18 (38.89)	18/18 (100.00)	1.38±0.50
Morada Nova	T1	8/17 (47.05)	8/17 (47.05)	16/17 (94.11)	1.41±0.61
	T2	10/17 (58.82)	7/17 (41.18)	17/17 (100.00)	1.41±0.50
	T3	10/18 (55.55)	8/18 (44.45)	18/18 (100.00)	1.44±0.51

Letters with different superscripts on same line denotes statistical difference ($P < 0.05$).

4 - Discussion

Mean P4 concentrations before BS onset were in accordance with anestrus condition, as suggested by Morales et al. (2003), and mean values after matings were suggestive of return to cyclicity. This transition on cyclicity demonstrates male effect effectiveness on ewes under postpartum anestrus. Lima (2006) had described relatively high P4 concentrations after male

effect usage, although it can be stated as a significant increase, since P4 measurements were not done before the BS.

The immediate increase in pulse frequency and subsequent elevation of LH concentration occurred after contact between genders, irrespectively of breed and experimental group. Several authors have described increased LH pulse frequency and concentration after male effect approach (Martin et al., 1983; Atkinson and Williamson, 1985; Minton et al., 1991). Estrus subsequent to male effect usage lead to LH preovulatory peaks and ovulations in a moderately dispersed fashion. It was initially envisioned that anticipation of LH preovulatory peaks would be due to increased P4 concentration before the BS, since this later hormone is required for return to cyclicity. However, despite statistical inference, it is possible to note that Morada Nova ewes displayed higher values before the BS and were the ones that showed the most postponed LH preovulatory peaks. Another important factor was the breed specific differences on LH preovulatory peaks. Santa Inês ewes had LH preovulatory peaks quite early on control group, while Morada Nova ewes were exactly the opposite. However, as observed for both breeds, LH preovulatory peaks on P4-treated ewes was observed on later time points than those treated with insulin, showing that exogenous hormone usage does not anticipate LH preovulatory peaks.

As described here, LH peaks occurred within 62 hours after initial contact between genders, as previously described (Oldham et al., 1979), who registered high percentages of ewes that ovulated within 72 hours after male effect usage, probably due to, at this time point, high basal LH concentration. However, due to the fact that all females had shown responsiveness to male effect may not be related to cyclicity status, since all females were under postpartum anestrus conditions. Based on this observation, it is very unlikely that ewes had high basal LH concentration before exposure to males. This hypothesis is contrary to previous evidences (Martin et al., 1980), that suggested that elevated basal levels of LH immediately before exposure to males contributes to increased sensibility of ewes to male effect. Since the work described here did not evaluate LH concentration before male effect, it is possible that response to the stimuli was induced by rams, and the high variation in LH concentration within animals was also reported by others (Lima, 2006), who suggested that this high concentration variability should be attributed to the short half life of LH.

Estrus distribution was observed until day 30 of the BS for Santa Inês ewes and until day 25 for Morada Nova ewes. During this period, it was possible to note that the number of females that had two estrus was similar to those that displayed one. Moreover, it is important to highlight the high incidence of estrus synchronization. This fact demonstrates the potential

of male effect to, irrespectively of P4 or insulin treatment, is capable to concentrate deliveries in favorable periods, making animal lots more uniform and further allows production planning to better supply market demands, while reducing production costs (Fonseca, 2005). Most females of both breeds displayed a single fertile estrus and treatment with exogenous P4 or insulin did not increase estrus incidence.

It is important to consider that neither the size of ovulatory follicle and number of ovulations was similar between groups, showing that male effect is not dependent upon previous hormonal treatments. Guinther et al. (1995) and Evans et al. (2000) found ovulatory follicles varying in size from 5.1 to 5.7 mm in wooled sheep breeds. As described here, ovulatory follicle diameter was greater than described by Cavalcanti (2008) and Saunders et al. (2010) for Santa Inês ewes, fact that can be due to male effect usage, leading to higher frequencies of, FSH production that ultimately leads to increased E2 production, concomitant with increased follicular growth.

Pregnancy rates are in accordance with expected efficiencies under semiarid conditions (EMBRAPA, 1989). Pregnancy rates in Santa Inês ewes was near identical to the 42% obtained by an independent group (Silva et al., 1987). Pregnancy at first service was higher than on second service, under all experimental conditions. This finding rules out the observation that first estrus after male effect could be anovulatory (UNGERFELD et al., 2004) or, if ovulation occurs, corpus luteum is less functional, regresses rapidly and ultimately leads to short estrous cycles (CHEMINEAU et al., 2006). Estrus were observed in multiple females and concentrated in short time periods, making a high demand on rams within initial weeks of the breeding season. This fact could have contributed to pregnancy on second service was similar or more efficient than the first service, since estrus were later more evenly distributed during the second half of the BS. Since ewes were lambing during the BS, it is possible that animals showed energetic deficiency, however, forage was in good availability, minimizing possible negative effect of low energy levels. The fact that rams of proven fertility were used throughout the experiment, under recommended male to female ratio (Nogueira et al., 2011), are factors that probably have contributed to encouraging reproductive efficiency described here.

Findings described here showed significant prevalence of singletons compared to twin deliveries, which are not in agreement with Vinagre et al. (1992), Pereira et al. (1998) and Mexia et al. (2004) and prolificacy data are in accordance with Machado et al. (1999) using Santa Inês and Morada Nova ewes.

In conclusion, evidences described here demonstrate that male effect is efficient to induce and synchronize estrus in ewes under postpartum anestrus, without compromising pregnancy and prolificacy. Furthermore, male effect associated with P4 and insulin is not encouraged since it increases production costs without improving reproductive rates.

5 – References

ATKINSON, S. e WILLIAMSON, P. Ram-induced growth of ovarian follicles and gonadotrophin inhibition in anoestrous ewes. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.73, p.185-189, 1985.

CALDAS, E.L.C., FERREIRA-SILVA, J.C., FREITAS NETO, L M., VELOSO NETO, H.F., MOURA, M.T., LIMA, P.F., SANTOS, M.H.B., OLIVEIRA, M.A.L. Male effect associated with suckling interruption on the reproductive performance of santa inês ewes. **Boletim de Indústria Animal**, v.72, p.117-123, 2015a.

CALDAS, E.L.C., FREITAS NETO, L M., ALMEIDA-IRMÃO, J.M., SILVA, J.C.F., SILVA, P. G. C., VELOSO NETO, H.F., NEVES, J.P., MOURA, M.T., LIMA, P.F., OLIVEIRA, M.A.L. The influence of separation distance during the preconditioning period of the male effect approach on reproductive performance in sheep. **Veterinary Science Development**, v.4, p.1-9, 2015b.

CARATY, A., SKINNER, D.C. Progesterone priming is essential for the full expression of the positive feedback effect of estradiol in inducing the preovulatory gonadotropin-releasing hormone surge in the ewe. **Endocrinology**, v.140, n.1, p.165-170, 1999.

CAVALCANTI, A. S. **Avaliação do uso de GnRH em protocolos curtos de indução e sincronização do estro e da ovulação em ovelhas**. 2008. 111f. 2008. (Doutorado. em Clínica e Reprodução Animal) Universidade Federal Fluminense, Niterói.

CBRA - COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL. Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. 3.ed. Belo Horizonte, 2013. 104 p.

CHEMINEAU, P.; PELLICER-RUBIO, M.T.; LASSOUED, N.; KHALDI, G. E MONNIAUX, D. Male-induced short oestrous and ovarian cycles and sheep and goats: a working hypothesis. **Reproduction Nutrition Development**, v.46, p.417-429, 2006.

DOWNING, J. A.; SCARAMUZZI, R. J. The effect of the infusion of insulin during the luteal phase of the estrous cycle on the ovulation rate and on plasma concentrations of LH, FSH and glucose in ewes. **Theriogenology**, v. 47, n. 3, p. 747-759, 1997.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Recomendações tecnológicas para a produção de caprinos e ovinos no Estado do Ceará**. Sobral, CE: EMBRAPA-CNPC, 1989, 58p.

EVANS, A.C.O.; DUFFY, P.; HYNES, N.; BOLAND, M.P. Waves of follicle development during the estrous cycle in sheep. **Theriogenology**, v.53, p. 699-715, 2000.

FABRE-NYS, C., MARTIN, G.B. Hormonal control of proceptive and receptive sexual behavior and the preovulatory LH surge in the ewe: reassessment of the respective roles of estradiol, testosterone, and progesterone. **Hormones and behavior**, v.25, n.3, p.295-312, 1991a.

FABRE-NYS, C., MARTIN, G.B. Roles of progesterone and oestradiol in determining the temporal sequence and quantitative expression of sexual receptivity and the preovulatory LH surge in the ewe. **Journal of endocrinology**, v.130, n.3, p.367-379, 1991b.

FONSECA, J.F. Estratégias para o controle do ciclo estral e superovulação em ovinos e caprinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.16, p.1-9, 2005.

GINTHER, O.J.; KOT, K.; WILTBANK, M.C. Associations between emergence of follicular waves and fluctuations in FSH concentrations during the estrous cycle in ewes. **Theriogenology**, v.43, p.689-703, 1995.

GONZÁLES-STAGNARO, C. Comportamento Reproductivo de Ovejas y Cabras Tropicales. **Revista Científica**, v.3, n.3, p.173-190, 1993.

LIMA, S.A. **O efeito macho sobre a manifestação de estro em ovelhas Merino e Santa Inês**. 2006. 132p. Tese (Doutorado em Ciência Veterinária) – Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco.

MACHADO, I.B.B., FERNANDES, A.A.O., SELAIVE- VILLARROEL, A.B. Parâmetros reprodutivos de ovinos deslanados Morada Nova e Santa Inês mantidos em pastagem cultivada no estado do Ceará. **Revista Científica de Produção Animal**, v.1, p. 81-87,1999.

MANN, G.E., GREEN, M.P., SINCLAIR, K.D., DEMMERS, K.J., FRAY, M.D., GUTIERREZ, C.G., WEBB, R. Effects of circulating progesterone and insulin on early embryo development in beef heifers. **Animal reproduction science**, v.79, n.1, p.71-79, 2003.

MARTIN, G. B.; OLDHAM, C. M.; LINDSAY, D. R. Increased plasma LH levels in seasonally anovular Merino ewes following the introduction of rams. **Animal Reproduction Science**, v.3, n.2, p.125-132, 1980.

MARTIN, G.B.; OLDHAM, C.M.; COGNIÉ, Y.; PEARCE, D.T. The physiological responses of anovulatory ewes to the introduction of rams-A review. **Livestock Production Science**, v.15, p.219-247, 1986.

MARTIN, G.B.; SCARAMUZZI, R.J.; HENSTRIDGE, J.D. Effects of oestradiol, progesterone and androstenedione on the pulsatile secretion of luteinizing hormone in ovariectomized ewes during spring and autumn. **Journal of Endocrinology**, v.96, n.2, p.181-193, 1983.

MEXIA, A.A.; MACEDO, F.A.F.; ALCALDE C.R.; SAKAGUTI, MARTINS, E.S.; E.N.; ZUNDT, M.; YAMAMOTO, S.M.; MACEDO, R.M.G. Desempenhos Reprodutivo e Produtivo de Ovelhas Santa Inês Suplementadas em Diferentes Fases da Gestação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.3, p.658-667, 2004.

MINTON, J. E., COPPINGER, T. R., SPAETH, C. W., MARTIN, L. C. Poor reproductive response of anestrous Suffolk ewes to ram exposure is not due to failure to secrete luteinizing hormone acutely. **Journal of Animal Science**, v.69, n.8, p.3314-3320, 1991.

MONREAL, A.C.D., CARNEIRO, L.O.H.B., REDONDO, M.V.D.S. Efeito macho associado ao emprego de progesterona intravaginal em ovelhas, sob latitude 20 52'sul. **Agrarian**, v.2, n.4, p.143-152, 2010.

MORALES, J.U.; VÁQUEZ, H.G.G.; ANDRADE, B.M.R. Influencia del pastoreo restringido en el efecto macho em cabras em baja condición corporal durante la estación de anestro. **Técnica Pecuaria e México**, n.41, p.251-260, 2003.

NOGUEIRA, D.M.; ELOY, A.M.X.; SÁ, C.O.; LOPES JÚNIOR, E.S.; FIGUEIREDO, H.O.S.; SÁ, J.L.; SOUZA, P.H.F. Manejo Reprodutivo, In: VOLTOLINE, T.V. **Produção de Caprinos e Ovinos no Semiárido**, Petrolina: Embrapa Semiárido, 2011.

OLDHAM, C.; MARTIN, G. B.; KNIGHT, T. W. Stimulation of seasonally anovular Merino ewes by rams. I. Time from introduction of the rams to the preovulatory LH surge and ovulation. **Animal Reproduction Science**, v.1, n.4, p.283-290, 1979.

PEREIRA, R.G.A.; MAGALHÃES, J.A.; COSTA, N.A. Ovinos deslanados: Alternativa para a agricultura familiar. Resultados e discussão. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, **Anais...** São Paulo: Gmosis, 1998.

SANTOS, M.H.B.; OLIVEIRA, M.A.L.; MORAES, E.P.B.X.; MOURA, R.T.D.; LIMA P.F.; REICHENBACH, H-D. (2004). **Diagnóstico de gestação por ultra-sonografia de tempo real**. In SANTOS, M.H.B.; OLIVEIRA, M.A.L.; LIMA P.F. Diagnóstico de gestação por ultra-sonografia de tempo real. São Paulo, Brasil: Varela, p.97-116, 2004.

SAUNDERS, G.D.A.; ALVES, N.G.; PÉREZ, J.R.O.; SOUZA, J.C.D.; MUNIZ, J.A.; JOSÉ NETO, A. Effect of flushing with sources of protein with different deგრatability on ovulation in Santa Inês ewes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.12, p.2731-2738, 2010.

SILVA, A.E.D.F.; FOOTE, W.C.; RIERA, S.G.; UNANIAN, M.M. Efeito do manejo nutricional sobre a taxa de ovulação e de folículos, no decorrer do ano, em ovinos deslanados no Nordeste do Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.22, n.6, p.635-645, 1987.

SIMPLÍCIO, A.A. **Estratégias de manejo reprodutivo como ferramenta para prolongar o período de oferta de carnes caprina e ovina no Brasil**. *Tecnologia & Ciência Agropecuária*, v.2, n.3, p.29-39, 2008.

SKINNER, D.C.; HARRIS, T.G.; EVANS, N.P. Duration and amplitude of the luteal phase progesterone increment times the estradiol-induced luteinizing hormone surge in ewes. **Biology of reproduction**, v.63, n.4, p.1135-1142, 2000.

TENÓRIO FILHO, F.; SANTOS, M.H.B.; CARRAZZONI, P.G.; BARTOLOMEU, C.C.; LIMA, P.F.; OLIVEIRA, M.A.L. Follicular dynamics in Anglo-Nubian goats using transrectal and transvaginal ultrasound. **Small Ruminant Research**, v.72, p.51-56, 2007.

UNGERFELD, R.; FORSBERG, M.; RUBIANES, E. Overview of the response of anoestrous ewes to the ram effect. **Reproduction Fertility and Development**, v.16, n.4, p.479-490, 2004.

VINAGRE, O.T.; SILVEIRA, J.B.; SIMPLÍCIO, J.B. Parâmetros de avaliação do comportamento reprodutivo de ovinos Santa Inês, no Agreste Paraíbano. In: REUNIÃO ANUAL DE ZOOTECNIA, 29, 1992, Lavras. **Anais...** Lavras: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1992. p.231.

