



# Dinâmica folicular em ovelhas leiteiras dentro e fora da estação reprodutiva, empregando alta ou baixa concentração de progesterona na sincronização do ciclo estral

Follicular dynamics in dairy sheep within and out of the breeding season employing high or low progesterone concentration in estrous cycle synchronization

Cláudio Francisco Brogni\*<sup>1</sup> , Alceu Mezzalana<sup>1</sup> 

<sup>1</sup>Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), Lages, Santa Catarina, Brasil

\*autor correspondente: claudiobrogni@gmail.com

**Resumo:** A dinâmica folicular em ovelhas leiteiras é pouco compreendida. Neste trabalho foi avaliado a dinâmica folicular de ovelhas leiteiras, dentro e fora da estação reprodutiva observando o efeito de duas concentrações de progesterona (60 e 120mg) utilizadas em pessários vaginais na pré-sincronização. O experimento foi realizado nos meses de abril/maio e outubro/novembro, utilizando 40 ovelhas multíparas leiteiras híbridas, predominantemente da raça Lacaune, que foram submetidas a exames ultrassonográficos diários por via transretal. Na estação reprodutiva foram avaliados o número de ovulações (1,35 vs 1,05), o diâmetro(mm) do folículo ovulatório (5,97 vs 5,05), a duração da fase lútea (11 vs 9,14 dias) e a duração do ciclo estral (16,83 vs 16,6 dias) dentro da estação em comparação com fora da estação reprodutiva respectivamente. Fora da estação as ovelhas não apresentaram corpo lúteo no momento da inserção do pessário vaginal, caracterizando anestro. Mesmo com menor duração da fase folicular, o folículo ovulatório apresentou maior diâmetro na estação reprodutiva, sugerindo maior viabilidade e qualidade do oócito ovulado. A aplicação de progesterona exógena amplia a fase lútea na estação reprodutiva (11 vs 9,14 dias). O anestro observado fora de época sugere a necessidade de maior concentração de progesterona nos protocolos reprodutivos. Desta forma, é possível adaptar protocolos reprodutivos para diferentes épocas, sugerindo o uso de pessários vaginais com maior concentração de progesterona (120 mg) fora da estação reprodutiva. Os dados obtidos permitiram caracterizar a dinâmica folicular em ovelhas leiteiras, demonstrando suas diferenças em cada estação a partir do uso de diferentes doses de progesterona na pré-sincronização

**Palavras-chave:** desenvolvimento folicular; ovelha leiteira; implante de progesterona; ultrassonografia; pré-sincronização

Recebido: 22 de agosto, 2023. Aceito: 23 de outubro, 2023. Publicado: 5 de fevereiro, 2024.

**Abstract:** Follicular dynamics in dairy sheep is poorly understood. This study assessed the follicular dynamics of dairy sheep within and out of the breeding season by observing the effect of two progesterone concentrations (60 and 120 mg) used in vaginal pessaries in pre-synchronization. The experiment was conducted in April/May and October/November using 40 healthy multiparous dairy ewes predominantly of the Lacaune breed, which underwent daily transrectal ultrasound examinations. The number of ovulations (1.35 vs 1.05), ovulatory follicle diameter (mm) (5.97 vs 5.05), length of the luteal phase (11 vs 9.14 days), and length of the estrous cycle (16.83 vs 16.6 days) were assessed within and out of the breeding season, respectively. The sheep out of the breeding season did not present a corpus luteum at the time of insertion of the vaginal pessary, characterizing anestrus. The ovulatory follicle had a larger diameter in the breeding season even with the shorter length of the follicular phase, suggesting higher viability and quality of the ovulated oocyte. The application of exogenous progesterone extends the luteal phase in the breeding season (11 vs 9.14 days). The anestrus observed out of season suggests the need for a higher progesterone concentration in reproductive protocols. Therefore, breeding protocols can be adapted for different seasons, suggesting the use of vaginal pessaries with a higher progesterone concentration (120 mg) out of the breeding season. The data allowed the characterization of follicular dynamics in dairy sheep, demonstrating their differences in each season based on the use of different progesterone doses in pre-synchronization.

**Keywords:** follicular development; dairy sheep; progesterone implant; ultrasound; pre-synchronization

## 1. Introdução

A dinâmica folicular em ovelhas vem sendo estudada, embora com controvérsias nos trabalhos iniciais, que descreveram os padrões de desenvolvimento folicular na espécie. Em ovelhas, a ultrassonografia ovariana demonstrou que ocorre a emergência de onda folicular a cada 5 dias, aproximadamente<sup>(8)</sup> e que o corpo lúteo já é sensível à PGF2 $\alpha$  aos 3 dias após a ovulação<sup>(19)</sup> já a dominância folicular apresenta padrões de crescimentos variados. Folículos maiores que 5mm tem padrões de crescimento em ondas, ou seja, aparecem menos dispersos e de forma mais concentrada durante o ciclo estral<sup>(10)</sup>.

A dominância folicular em ovelhas é diferenciada, apresentando padrões de crescimentos variados. Folículos menores que 4mm, crescem de forma aleatória, podendo aparecer em número variado e de várias maneiras durante as ondas de crescimento folicular em um ciclo estral. Já folículos maiores do que 5mm tem padrões de crescimento modulado<sup>5</sup>, ou seja, aparecem menos dispersos durante um ciclo estral e de forma mais concentrada.

Os folículos pré-ovulatórios de cada onda secretam elevada quantidade de inibina A e estradiol, causando a redução da concentração de FSH e a atresia de folículos menores<sup>(3)</sup>. O mecanismo de dominância folicular em ovinos e caprinos é diferente daquele observado em vacas<sup>(16)</sup>, nas quais se tem o conhecimento que o folículo dominante inibe o crescimento

de outros folículos no ovário. Na ovelha, o folículo dominante evita sua própria regressão, ao mudar sua dependência de FSH para LH<sup>(7)</sup>. O folículo pré-ovulatório inibe o crescimento de outros folículos presentes nos ovários no momento da emergência. Entretanto, o surgimento de novos folículos é seja reduzido porém não é inibido, embora seu crescimento subsequente seja suprimido<sup>(9)</sup>. Na fase lútea do crescimento folicular, padrões diferentes são encontrados nos ovários de ovelhas. Quando as concentrações de LH permanecem baixas, os folículos tornam-se criticamente dependente do FSH, sem que seja estabelecida uma dominância. Esta diminuição de LH, explica os efeitos supressores da progesterona do corpo lúteo nos folículos dominantes em ovelhas<sup>(1)</sup>. Há uma falta de dominância durante a fase lútea do ciclo estral ovino até a luteólise, quando a secreção de LH aumenta por um incremento na secreção de estradiol pelos folículos pré-ovulatórios<sup>(3)</sup> determinando que a dominância se torne evidente<sup>(14)</sup>. Baixos níveis de progesterona sérica aumentam a frequência de pulsos de LH, que por sua vez aumenta o tamanho do folículo maior e realiza o feedback positivo do estradiol com o eixo GnRH e LH. Já concentrações sub-luteais de progesterona aumentam os pulsos de LH, mas não o suficiente para que o pico ocorra, determinando a persistência do folículo e prolongando a dominância<sup>(14)</sup>.

A fase lútea interfere no crescimento folicular. Há uma falta de dominância durante a fase lútea, até a luteólise, quando a secreção de LH aumenta por um incremento na secreção de estradiol pelos folículos pré-ovulatórios<sup>(3)</sup>, determinando que a dominância se torne evidente<sup>(14)</sup>. A persistência dos grandes folículos é encurtada quando se aplica um implante de progesterona na presença de um corpo lúteo e é aumentada na ausência de corpo lúteo<sup>(20)</sup>. A persistência destes folículos dominantes ocasiona seu envelhecimento, reduzindo a fertilidade. A alternativa para impedir a ovulação destes folículos velhos é o emprego altas doses de progesterona, as quais causariam a atresia destes folículos s, oportunizando que apenas folículos da última onda pudessem ovular<sup>(5)</sup>.

Desta forma, este estudo teve por objetivos caracterizar a dinâmica folicular de ovelhas leiteiras, dentro e fora da estação reprodutiva após a utilização de pessários vaginais contendo alta (120mg) ou baixa (60mg) concentração de progesterona na pré-sincronização do ciclo estral.

## 2. Materiais e métodos

### 2.1 Local

O experimento foi conduzido dentro da estação reprodutiva nos meses de abril/maio e fora da estação em outubro/novembro, para determinar a dinâmica folicular em cada momento. O experimento foi conduzido em Lages/SC com latitude 27° 48' 58" S e longitude 50° 19' 34" W, junto ao Centro de Ciências Agroveterinárias -CAV/UEDESC.

### 2.2 Seleção dos animais

Foram utilizadas 40 fêmeas ovinas leiteiras predominantemente da raça Lacaune, múltíparas, hígdas, adultas em idade reprodutiva, em ótimo escore corporal, classificadas como 3 em uma escala de 1 a 5<sup>21</sup>. Os animais recebiam concentrado a base de milho, soja e núcleo mineral

à 0,5% do peso vivo, mais sal mineral para ovinos à vontade, além de pastejo de *Pennisetum clandestinum* Hochst (Capim-quicuí) e de *Cynodon* spp. (Tifton-85) e água *ad libitum*.

### 2.3 Avaliação ultrassonográfica

Para o exame, as fêmeas foram manejadas em posição quadrupedal ou em elevação e com a parede abdominal comprimida<sup>(6)</sup>. O equipamento de ultrassom (Mindray/DP50, Shenzhen,) foi utilizado em modo-B tempo real, com transdutor linear retal com frequências variando entre 6 e 8,5MHz, acoplado a um tubo de plástico ligeiramente curvado (medindo 30 cm de comprimento), permitindo a manipulação externa. Inicialmente procedia-se a remoção das fezes do reto, seguido da deposição de 5 a 10 mL de gel no conduto retal e sobre o transdutor.



**Figura 1.** Ultrassonografia transretal em ovelha em estação.

As ovelhas foram submetidas ao acompanhamento ultrassonográfico diário, durante o período de um ciclo estral, aproximadamente 17 dias. As ultrassonografias foram realizadas desde o início do ciclo estral. A avaliação ultrassonográfica foi iniciada 24 horas após a retirada dos implantes, prosseguindo até a ovulação seguinte, definida pela ausência do folículo dominante da última onda folicular observado durante exame ultrassonográfico.

Para determinar o início do ciclo estral, os animais foram pré-sincronizados com pessários vaginais a base de medroxiprogesterona<sup>9</sup> (Merck, Darmstadt, TUDA, Germany) em duas concentrações (60 mg) ou (120 mg), mantidos por seis dias. No momento da retirada dos pessários foi aplicada prostaglandina (75 µg de cloprostenol de sódio (Sincrocio, Ouro Fino,) e gonadotrofina coriônica equina eCG (400UI - Novormon, Zoetis) e a partir de então as ultrassonografias foram realizadas diariamente. Com o aumento do diâmetro folicular e a proximidade da ovulação, as avaliações passaram a ser realizadas a cada 8 h, permitindo detectar o momento da ovulação. A ocorrência da ovulação foi definida pela ausência do folículo dominante detectado nos exames ultrassonográficos anteriores, caracterizando então o

início do ciclo estral. Cada avaliação ultrassonográfica de cada ovário foi registrada em fichas individuais e as imagens obtidas foram gravadas, permitindo a posterior conferência das dimensões e localização de cada estrutura.

Para o estabelecimento da dinâmica folicular, alguns parâmetros de análise foram adotados. A onda folicular foi identificada como um grupo de folículos que crescem a partir de 2 ou 3 mm, sendo que um ou mais atingiram seu diâmetro máximo. O dia da emergência foi considerado quando o maior folículo, ainda com 2 ou 3mm, foi identificado pela primeira vez. O diâmetro máximo folicular foi obtido daquele folículo que excedeu o tamanho dos demais, na mesma onda. Quando mais de um folículo alcançou o mesmo diâmetro máximo, aquele que atingiu primeiro este diâmetro, foi considerado o folículo de diâmetro máximo da onda. O dia da obtenção do diâmetro máximo, foi aquele dia em que o folículo atingiu seu maior diâmetro. A fase de crescimento folicular foi definida como o tempo necessário para que o folículo de maior diâmetro crescesse desde seu menor diâmetro observado. A fase de regressão foi definida como o tempo necessário para que o folículo de maior diâmetro reduzisse o seu tamanho até o seu menor diâmetro. A fase estática foi considerada como sendo o tempo decorrido desde que o folículo atingiu seu maior diâmetro, no final da fase de crescimento, até o início da fase de regressão. A taxa de crescimento foi considerada como a diferença (mm/dia) entre o diâmetro máximo e mínimo, do maior folículo, dividido pela duração do seu crescimento. A taxa de regressão (mm/dia) foi calculada pela diferença entre o diâmetro máximo e mínimo, do maior folículo, dividido pela duração de seu período de regressão (dias). Para a onda ovulatória, além das variáveis descritas, foram computadas: O diâmetro ovulatório, que é a medida obtida na última mensuração do folículo, antes da ovulação. O número de ovulações, avaliadas como simples, duplas ou triplas por ciclo. Na análise da população folicular os folículos foram agrupados pelo tamanho, sendo: pequenos (2 - 3,4mm), médios (3,5 - 4,9mm) e grandes ( $\geq$  5mm), A duração da fase folicular (dias) foi calculada a partir do momento em que o CL desapareceu, até o aparecimento do próximo CL e a duração da fase lútea foi calculada a partir do aparecimento do CL até o dia do seu desaparecimento.

#### 2.4 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o procedimento MIXED do pacote estatístico SAS®. Os dados foram previamente testados para normalidade dos resíduos pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey, com nível de significância de 5%. O modelo estatístico usado incluiu como variáveis explanatórias o efeito da estação, da concentração de progesterona e da interação entre esses.

### 3. Resultados

Como demonstrado na tabela 1, quando comparado apenas o período dos tratamentos, verificou-se maior número de ovulações na estação (1,35), em relação a fora da estação (1,05). Também foi observado maior diâmetro médio dos folículos na estação (5,97mm), em relação a fora da estação (5,05 mm). Ocorreu ainda uma variação na duração da fase lútea,

que foi mais prolongada dentro da estação (11 dias), contra 9,14 dias fora da estação. Como consequência, a duração da fase folicular foi mais curta na estação (6,25 dias), contra 7,37 fora da estação. Por fim, a duração do ciclo estral foi maior na estação (16,83 dias) em relação ao período fora da estação (16,60 dias). Ainda neste quesito, quando foi considerada a concentração de progesterona empregada, verificou-se que a duração do ciclo estral na estação, com a utilização de 60mg progesterona (16,75 dias) foi semelhante a duração do ciclo fora da estação, independente da dose utilizada (Tabela 1). Nas avaliações realizadas fora da estação, as ovelhas não apresentavam corpo lúteo no momento da inserção do pessário vaginal na pré-sincronização, caracterizando uma condição de anestro. Quando correlacionados os dois períodos (estação x fora da estação) e doses (120mg x 60mg) de progesterona, foi observado efeito das doses para número de ovulações, diâmetro do folículo ovulatório, duração da fase lútea, duração da fase folicular e duração total do ciclo estral (Tabela 1).

Fora da estação, os grupos 60mg e 120mg apresentaram valores menores para número de ovulações, diâmetro do folículo ovulatório, duração da fase lútea e duração total do ciclo estral, quando comparadas com as mesmas variáveis e doses na estação reprodutiva. Como se observa na tabela 2, houve influência em uma série de quesitos, em função dos tratamentos serem realizados dentro ou fora da estação reprodutiva. O CL foi observado mais precocemente na estação (4,1 dias) em relação a fora da estação reprodutiva (5,75 dias).

O maior diâmetro do CL foi observado aos 12,47 dias na estação, contra 10,55 dias fora da estação reprodutiva (Tabela 2). Também houve variação em relação ao último dia de observação do CL, que ocorreu com 14,31 dias na estação contra 12,40 dias, fora da estação reprodutiva.

Quando foi correlacionado os períodos de avaliações (estação x fora da estação) e doses de progesterona (60mg x 120mg), observou-se diferenças para as mesmas variáveis acima descritas, sendo que fora da estação, o CL foi inicialmente observado com 5,85 dias com 60mg e 5,65 dias com 120mg de progesterona. Já na estação reprodutiva isto ocorreu mais precocemente, com o CL inicialmente observado com 4,30 dias com 60mg e 4,40 dias com 120mg de progesterona (Tabela 2). O maior diâmetro do CL também foi influenciado pelos grupos (estação x fora da estação) e doses de progesterona (60 x 120mg). Na estação o máximo diâmetro do CL ocorreu aos 12,50 dias com 60mg e aos 12,44 dias com 120mg. Já fora da estação o máximo diâmetro do CL ocorreu mais precocemente, aos 10,57 dias com 60mg e aos 10,53 dias com 120mg (Tabela 2). Finalmente, na estação, o último dia de observação do CL foi mais tardio, ocorrendo aos 14,30 dias do ciclo, com 60mg e aos 14,33 dias com 120mg de progesterona, contra 12,38 dias com 60mg e 12,42 dias com 120mg de progesterona, fora da estação (Tabela 2).

Em relação ao número de folículos que se desenvolvem no ovário, foi observado que o número de folículos menores que 3,4mm é maior dentro da estação, em relação ao período fora da estação, tanto na primeira onda (4,42 versus 2,16), quanto na segunda (3,57 versus 2,08), na terceira onda (4,05 e 1,19) e na quarta onda (4,16 versus 2), respectivamente para dentro e fora da estação. Ainda, na quarta onda, foi observado maior número de folículos médios (3,5-4,9mm), dentro da estação (dois), quando comparado ao período fora de

estação (apenas um). Foram observadas diferenças entre alguns parâmetros das distintas ondas e períodos de avaliação (Tabela 3). Na primeira onda, o folículo dominante alcançou seu tamanho máximo aos 5,51 dias dentro da estação e aos 4,60 dias fora da estação. O mesmo foi observado para o FD da quarta onda que alcançou seu tamanho máximo com 16,85 dias dentro da estação, contra 16,25 dias fora da estação.

O dia de emergência do folículo de maior diâmetro não foi diferente na primeira, segunda e terceira onda, dentro ou fora da estação. Porém, na quarta onda houve diferença, ocorrendo a emergência do folículo ovulatório aos 13,16 dias dentro da estação, e aos 12 dias fora da estação. Também foi observado diferença no diâmetro máximo do folículo ovulatório da quarta onda, sendo maior dentro da estação (5,88mm) e menor fora da estação reprodutiva (5,05mm).

Em relação à duração da fase estática, houve diferença na primeira onda, sendo que dentro da estação essa fase durou 0,98 dias, contra 1,21 dias fora da estação. O mesmo foi observado na quarta onda, onde a duração da fase estática foi menor dentro da estação, com 0,80 dias, comparado com 1,16 dias fora da estação.

A fase de crescimento, que determina por quanto tempo o folículo dominante de cada onda ficou em crescimento, foi maior na terceira onda, onde o período de crescimento foi de 4,06 dias dentro da estação e 3,45 dias fora da estação.

Em relação a fase de regressão, foi observado um período maior na primeira e na segunda onda, dentro da estação, 3,18 e 3,43 dias, respectivamente, quando comparado com o período fora da estação, com 2,61 e 2,65 dias, respectivamente.

Em relação a taxa de crescimento, que relaciona quanto o folículo dominante de cada onda cresceu diariamente, foram observadas diferenças entre a primeira e segunda ondas na estação, com valores menores (0,63 e 0,68mm/dia), em relação ao período fora da estação (1,01 e 0,78mm/dia), respectivamente. Já para a quarta onda foi observado o inverso, valores maiores foram observados na estação (1,25mm/dia), quando comparado ao período fora da estação (0,87mm/dia). Na variável, intervalo entre ondas, não houve diferença entre os períodos nas diferentes ondas.

**Tabela 1.** Valores médios  $\pm$  D.P. para número de ondas foliculares por ciclo estral, taxa de ovulação, diâmetro do folículo ovulatório, duração da fase lútea em dias, duração da fase folicular em dias e duração do ciclo estral em dias, de acordo com a época do ano (dentro e fora da estação) e com duas concentrações de progesterona (60 e 120mg), em ovelhas leiteiras. Ciclo completo após a retirada do implante

Grupos	Ondas por ciclo $\pm$ D.P. (n°)	Número de ovulações (n°) $\pm$ D.P.	Diâmetro do FO (mm) $\pm$ D.P.	Fase lútea dias $\pm$ D.P.	Fase folicular dias $\pm$ D.P.	Ciclo estral dias $\pm$ D.P.
DENTRO	3,35 $\pm$ 0,15	1,35 $\pm$ 0,36 <sup>A</sup>	5,97 $\pm$ 0,058 <sup>A</sup>	11,00 $\pm$ 0,17 <sup>A</sup>	6,25 $\pm$ 0,17 <sup>B</sup>	16,83 $\pm$ 0,05 <sup>A</sup>
FORA	3,16 $\pm$ 0,19	1,05 $\pm$ 0,52 <sup>B</sup>	5,05 $\pm$ 0,078 <sup>B</sup>	9,14 $\pm$ 0,21 <sup>B</sup>	7,37 $\pm$ 0,21 <sup>A</sup>	16,60 $\pm$ 0,06 <sup>B</sup>
DENTRO 60	3,20 $\pm$ 0,21	1,25 $\pm$ 0,33 <sup>A</sup>	5,98 $\pm$ 0,079 <sup>A</sup>	10,95 $\pm$ 0,23 <sup>A</sup>	6,30 $\pm$ 0,23 <sup>B</sup>	16,75 $\pm$ 0,07A <sup>B</sup>

DENTRO 120	3,50±0,23	1,44±0,26A	5,95±0,084A	11,05±0,24A	6,20±0,25B	16,92±0,07A
FORA 60	3,16±0,19	1,00±0,43B	5,03±0,072B	9,12±0,21B	7,35±0,21A	16,62±0,06B
FORA 120	3,18±0,19	1,10±0,48B	5,09±0,075B	9,16±0,25B	7,39±0,24A	16,58±0,08B

<sup>AB</sup> Letras diferentes indicam diferenças estatísticas, quando comparadas entre colunas de mesmo agrupamento (P<0,05).

**Tabela 2.** Valores médios ± D.P. para tamanho máximo do corpo lúteo (mm), ovulação em dias após a observação da emergência do folículo ovulatório (FO), dia da observação do CL, último dia da observação do CL e dia do máximo diâmetro do CL, em função da dose de progesterona (60 e 120mg) e épocas do ano (dentro e fora da estação), em ovelhas leiteiras. Ciclo completo após a retirada do implante

GRUPOS	Tamanho máximo CL (mm) ± D.P	Ovulação em dias após emergência do FO ± D.P	Início da observação do CL dias ± D.P	Final da observação do CL dias ± D.P	Dia do tamanho máximo do CL ±D.P
DENTRO	11,30 ±0,12	4,06±0,15	4,10±0,058 <sup>B</sup>	14,31±0,11 <sup>A</sup>	12,47±0,15 <sup>A</sup>
FORA	11,20 ±0,15	4,42±0,19	5,75±0,078 <sup>A</sup>	12,40±0,14 <sup>B</sup>	10,55±0,19 <sup>B</sup>
DENTRO 60	11,15 ±0,17	3,95±0,21	4,30±0,079 <sup>B</sup>	14,30±0,15 <sup>A</sup>	12,50±0,22 <sup>A</sup>
DENTRO 120	11,45 ±0,18	4,17±0,23	4,40±0,084 <sup>B</sup>	14,33±0,16 <sup>A</sup>	12,44±0,21 <sup>A</sup>
FORA 60	11,22 ±0,15	4,44±0,19	5,85±0,078 <sup>A</sup>	12,38±0,14 <sup>B</sup>	10,57±0,19 <sup>B</sup>
FORA 120	11,18 ±0,17	4,42±0,17	5,65±0,076 <sup>A</sup>	12,42±0,15 <sup>B</sup>	10,53±0,17 <sup>B</sup>

<sup>AB</sup> Letras diferentes indicam diferenças estatísticas, quando comparadas entre colunas de mesmo agrupamento (P<0,05).

**Tabela 3.** Valores médios ±D.P. para dia da emergência do folículo de maior diâmetro, maior diâmetro (mm), do folículo dominante (FD), dia do diâmetro máximo do FD, fase estática em dias do FD, fase de crescimento em dias do FD, fase de regressão do FD em dias, taxa de crescimento mm/dia do FD, taxa de regressão mm/dia do FD e intervalo entre ondas, para cada onda do desenvolvimento folicular, dentro e fora da estação

Variáveis	Onda 1		Onda 2		Onda 3		Onda 4	
	Dentro	Fora	Dentro	Fora	Dentro	Fora	Dentro	Fora
Emergência do Folículo de maior diâmetro (dias)	0,88±0,09 <sup>A</sup>	0,87±0,09 <sup>A</sup>	6,26±0,42 <sup>A</sup>	6,56±0,42 <sup>A</sup>	11,00±1,03 <sup>A</sup>	11,68±1,10 <sup>A</sup>	13,16±0,81 <sup>A</sup>	12,00±0,90 <sup>B</sup>
Maior diâmetro do FD (mm)	4,36±0,16 <sup>A</sup>	4,40±0,15 <sup>A</sup>	4,19±0,16 <sup>A</sup>	4,35±0,16 <sup>A</sup>	5,43±0,53 <sup>A</sup>	5,01±0,60 <sup>A</sup>	5,88±0,15 <sup>A</sup>	5,05±0,15 <sup>B</sup>
diâmetro Máximo do FD (dia)	5,15±0,51 <sup>A</sup>	4,60±0,52 <sup>B</sup>	10,68±0,82 <sup>A</sup>	10,26±0,82 <sup>A</sup>	15,40±1,54 <sup>A</sup>	15,89±1,59 <sup>A</sup>	16,85±0,41 <sup>A</sup>	16,25±0,44 <sup>B</sup>
Fase estática do FD (dias)	0,98±0,21 <sup>A</sup>	1,21±0,23 <sup>B</sup>	1,00±0,09 <sup>A</sup>	1,04±0,09 <sup>A</sup>	0,91±0,11 <sup>A</sup>	0,96±0,15 <sup>A</sup>	0,80±0,31 <sup>B</sup>	1,16±0,38 <sup>A</sup>
Fase de crescimento em dias do FD ( dias)	4,15±0,43 <sup>A</sup>	3,90±0,43 <sup>A</sup>	4,21±0,63 <sup>A</sup>	3,87±0,63 <sup>A</sup>	4,06±0,55 <sup>A</sup>	3,45±0,60 <sup>B</sup>	2,96±0,15 <sup>A</sup>	2,85±0,17 <sup>A</sup>

Fase de regressão do FD (dias)	3,18±0,32 <sup>A</sup>	2,61±0,32 <sup>B</sup>	3,43±0,50 <sup>A</sup>	2,65±0,50 <sup>B</sup>	2,83±1,04 <sup>A</sup>	2,50±1,10 <sup>A</sup>	_____	_____
Taxa de crescimento mm/dia do FD	0,63±0,18 <sup>B</sup>	1,01±0,18 <sup>A</sup>	0,68±0,1 <sup>B</sup>	0,78±0,15 <sup>A</sup>	0,78±0,18 <sup>A</sup>	0,88±0,15 <sup>A</sup>	1,25±0,15 <sup>A</sup>	0,87±0,13 <sup>B</sup>
Taxa de regressão mm/dia do FD	1,30±0,27 <sup>A</sup>	1,40±0,27 <sup>A</sup>	1,06±0,24 <sup>A</sup>	1,09±0,26 <sup>A</sup>	1,16±0,54 <sup>A</sup>	1,10±0,52 <sup>A</sup>	_____	_____
Intervalo entre ondas (dias)	5,56±0,58 <sup>A</sup>	5,46±0,58 <sup>A</sup>	5,03±0,78 <sup>A</sup>	5,51±0,85 <sup>A</sup>	5,10±0,59 <sup>A</sup>	5,25±0,60 <sup>A</sup>	4,18±1,15 <sup>A</sup>	3,80±1,18 <sup>A</sup>

<sup>AB</sup> Letras diferentes indicam diferenças estatísticas, quando comparadas entre linhas de colunas de mesmo agrupamento ( $P < 0,05$ ).

## 4. Discussão

Este é o primeiro relato do comportamento do desenvolvimento folicular ovariano em ovelhas leiteiras. O período de um ciclo estral completo, que dura em média de  $17 \pm 1$  dias<sup>(6),(11)</sup>, também foi observado neste estudo, onde a duração média do ciclo estral foi de  $16,83 \pm 0,05$  dias dentro da estação reprodutiva. Foi observado que a época do ano exerce influência na duração do ciclo estral, havendo uma redução de sua duração fora da estação reprodutiva, de  $16,60 \pm 0,06$  dias para  $16,83 \pm 0,05$  dias na estação reprodutiva ( $P < 0,05$ ), independente das concentrações de progesterona utilizadas na sincronização (Tabela 1).

O número de ondas de desenvolvimento folicular durante o ciclo estral, em cada grupo foi semelhante, mesmo sendo observada uma variação na duração da fase folicular, em função da estação reprodutiva. Isto é explicado pela taxa de regressão entre as ondas ser semelhante nos diferentes grupos, bem como pelo intervalo similar entre as ondas. Outros trabalhos também identificaram diferenças no intervalo entre a emergência dessas ondas, principalmente quando se avaliou ovelhas contendo 3 ou 4 ondas em seu ciclo estral<sup>(22)</sup>. Neste trabalho foi observado que as ovelhas com 4 ondas foliculares apresentaram menores intervalos de emergência quando comparadas com ovelhas que apresentaram 3 ondas foliculares. Um o estudo feito por Oliveira<sup>(18)</sup> no qual afirma que o número de ondas foliculares pode interferir no período de sua emergência, vem de encontro aos dados encontrados neste trabalho. Os ciclos estrais naturais apresentam de 3 a 7 dias de intervalo entre a emergência de ondas foliculares<sup>(15)</sup>, os resultados obtidos neste estudo variaram entre 3,80 e 5,56 dias, não sendo observado qualquer efeito do período em que foram executadas as avaliações (dentro x fora da estação).

As raças leiteiras, em especial a Lacaune, costumam ter grande incidência de partos gemelares, indicando um número alto de ovulações. A raça e a estação podem influenciar a incidência de ovulação em ovelhas<sup>(13)</sup>. Durante o estudo, foi observado uma variação no número de ovulações, com maior taxa de ovulação (1,35) dentro da estação, em comparação com o período fora da estação (1,05). Isso demonstra que, embora as ovelhas de raças leiteiras possam ser induzidas a ter atividade sexual durante todo o ano, no período de atividade reprodutiva natural, existe uma maior sensibilização do protocolo de sincronização, o que proporciona um número maior de duplas ovulações<sup>(2)</sup>.

Na onda ovulatória foi observado maior diâmetro do folículo dominante na estação reprodutiva, com média de 5,97mm. Já fora da estação, o diâmetro máximo foi de 5,05mm, mesmo com uma maior duração da fase folicular nesse período (7,37 dias), o que disponibilizaria mais tempo para o crescimento. Este menor diâmetro deve-se provavelmente, a mecanismos de dominância e feedback, ainda pouco conhecidos em ovelhas<sup>(2)</sup> principalmente as de aptidão leiteira<sup>(23)</sup> bem como ao fato destas fêmeas apresentarem-se em anestro, fora da estação. Em contrapartida, no período reprodutivo, mesmo com uma menor duração da fase folicular (6,25 dias), esse tempo permitiu ao folículo dominante atingir quase 6mm, ainda assim menor do que em ovelhas deslanadas e não leiteiras. Esse fato pode ser devido ao efeito da lactação nessas ovelhas especializadas, que pode interferir na regulação endócrina da dinâmica folicular<sup>(2)</sup>. Também a duração da fase lútea variou em função das estações, sendo que dentro da estação reprodutiva a duração foi de 11 dias, contra 9,14 dias fora da estação. Isto demonstra que a vida do corpo lúteo é menor e que as doses de progesterona testadas, não tem efeito direto fora da estação. A maior duração do CL na estação reprodutiva pode ser explicada pelo atraso na luteólise, devido à alta concentração de progesterona circulante presente durante este período<sup>(4)</sup>. Foi observado que tanto 60 quanto 120mg de progesterona, dentro da estação, mantiveram o corpo lúteo por tempo semelhante, porém muito diferente com as mesmas doses quando empregadas fora da estação. (Tabela 2).

Apesar dessa diferença no tempo de permanência do CL, não foi observado diferença de tamanho dos CLs dentro e fora da estação, evidenciando que a sua funcionalidade não foi afetada pelo período de atividade no ciclo estral<sup>(2)</sup>. Um fato interessante foi a precocidade da observação do CL, após a ovulação, sendo que o CL na estação reprodutiva ocorreu com 4,10 dias, contrastando com os 5,75 dias, fora da estação. Essa precocidade de mais de 1,5 dias pode explicar a maior duração do CL no ciclo estral das ovelhas, dentro da estação reprodutiva. Esses dados ainda sugerem que seria possível sincronizar essas ovelhas com doses de PGF, já a partir de 4 dias após a última ovulação, possibilitando antecipar em alguns dias a realização da cobertura, partindo da ideia que este corpo lúteo já teria resposta à PGF. Foi ainda observado que, apesar do CL emergir em dias diferentes em função das épocas avaliadas, a sua permanência perdura até os 14 dias do ciclo estral, tanto dentro como fora da estação reprodutiva. Porém, o máximo diâmetro do CL ocorreu em dias distintos, em função da estação sendo que na estação reprodutiva o diâmetro máximo foi alcançado aos 12,74 dias, enquanto fora da estação isto foi atingido aos 10,55 dias. O momento da ovulação, após a emergência do folículo ovulatório, não foi diferente estatisticamente, ocorrendo em média aos 4 dias dentro da estação e 4,5 dias, fora da estação. Foi observada uma população de folículos de vários tamanhos, com uma variedade de combinações, o que sugere que o crescimento desses folículos não segue a lógica conhecida para outras espécies, como a bovina<sup>(2)</sup>. Números superiores de pequenos folículos, com diâmetro menor de 3,4 mm, foram encontrados na primeira, segunda e terceira ondas foliculares, durante a estação reprodutiva, quando comparado ao mesmo período fora da estação, o que demonstrando um recrutamento folicular maior, na estação reprodutiva de ovelhas leiteiras. Isto está relacionado com a maior atividade de FSH circulante no período de atividade reprodutiva<sup>(2)</sup>. Já na quarta onda,

os folículos médios, com tamanho entre 3,5 até 4,9mm, sofreram influência do período reprodutivo, sendo encontrados em média 2 folículos na estação reprodutiva, contra 1 folículo fora da estação. Durante o início da fase lútea e da fase folicular do ciclo estral, o maior folículo<sup>(1)</sup> pode suprimir parcialmente o crescimento de folículos menores, porém a emergência de uma nova onda começa antes do início da fase estática da onda anterior. Essa situação de codominância pode ocorrer em ovelhas de múltipla ovulação<sup>(8)</sup>. Como pode ser observado na tabela 3, ocorrem algumas variações no desenvolvimento folicular entre a primeira, a segunda e a terceira ondas, dentro e fora da estação, não respeitando um comportamento padrão entre elas, o que sugere que essas ondas com folículos menores que 4mm, crescem de forma aleatória, podendo aparecer em número variado e de várias maneiras durante as ondas de crescimento folicular. Quando avaliada a quarta onda, responsável pelo folículo ovulatório daquele ciclo, observou-se que o dia da emergência do folículo ovulatório ocorreu mais próximo ao final do ciclo estral, dentro da estação. Isto possibilita que esse oócito seja de melhor qualidade, por não estar envelhecido<sup>(5),(21)</sup>. Esse folículo, mesmo tendo emergido depois, alcança um maior diâmetro, em função de sua maior taxa de crescimento diário e menor duração da fase estática, do que as mesmas avaliações ocorridas fora da estação. Isto determina que folículos ovulatórios na estação reprodutiva, apresentam uma maior viabilidade que aqueles ovulados fora da estação (Tabela 3). A elucidação da variação existente na dinâmica folicular em ovelhas leiteiras possibilita a formulação de protocolos de inseminação/cobertura em tempo fixo, adequados ao momento de sua utilização, aumentando as chances de parições constantes ao longo do ano que, por consequência, resulta em produção de leite homogênea ao longo do tempo.

## 5. Conclusões

Os dados obtidos permitiram caracterizar a dinâmica folicular em ovelhas leiteiras, demonstrando que existem diferenças no seu desenvolvimento em função de ocorrer dentro ou fora da estação reprodutiva. Fora da estação, as ovelhas encontram-se em anestro e após serem protocoladas o diâmetro do folículo ovulatório é menor, assim como o número de ovulações, mas, apesar disto as fêmeas respondem bem ao estímulo dos protocolos de indução e sincronização do ciclo estral, possibilitando obter ciclicidade durante todo o ano.

### Conflito de Interesse:

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

### Contribuições do autor

*Conceituação:* C. F. Brogni. *Curadoria de dados:* C. F. Brogni. *Análise formal:* C. F. Brogni. *Investigação:* C. F. Brogni. *Metodologia:* C. F. Brogni e A. Mezzalira. *Gerenciamento do projeto:* A. Mezzalira. *Visualização:* C. F. Brogni e A. Mezzalira. *Supervisão:* A. Mezzalira. *Redação (rascunho original):* C. F. Brogni e A. Mezzalira. *Redação (revisão e edição):* C. F. Brogni.

### Referências

1. Adams GP. Comparative patterns of follicle development and selection in ruminants. *Journal Reprod Fertil Suppl.* 1999; 54: 17-32. DOI: <https://doi.org/10.1111/rda.14064>.

2. Baby TE, Bartlewski PM. Progesterone as the driving regulatory force behind serum FSH concentrations and antral follicular development in cycling ewes. *Reproduction, Fertility and Development*. 2011; 23: 303– 310. DOI: <https://doi.org/10.1071/RD10121>.
3. Baird DT. Factors regulating the growth of the preovulatory follicle in sheep and human. *Journal Reprod Fertil*. 1983; 69: 343-352. DOI: <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0690343>.
4. Bartlewski PM, Aravindakshan J, Beard AP, Nelson ML, Batiasta-Arteaga S, Cook J. Effects of medroxyprogesterone acetate (MAP) on ovarian antral follicle development, gonadotrophin secretion and response to ovulation induction with gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) in seasonally anoestrous ewes. *Animal Reproduction Science*. 2004. ; 81: 63–75. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2003.10.002> .
5. Bartlewski PM, Sohal J, Paravinja V, Bébé T, Oliveira MEF, Murawski M, Schwarz T, Zieba DA, Keisler DH. Is progesterone the key regulatory factor behind ovulation rate in sheep. *Domestic Animal Endocrinology*. 2017; 58: 30-38. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2016.06.006>.
6. Brogni CF, Souza, AFDE. Ultrasonography in Ovine Follicular Dynamics. *Open Journal of Agricultural Research*. 2021; 1(1): 25–29. DOI: <https://www.scipublications.com/journal/index.php/ojar/article/view/82>.
7. Campbell BK, Scaramuzzi RJ, Webb R. Control of follicle development and selection in sheep and cattle. *Journal of reproduction and fertility-Supplement*. 1995; 49: 335-350. DOI: 10.1530/biosciprocs.3.026.
8. Evans AC. Ovarian follicle growth and consequences for fertility in sheep. *Animal Reproduction Science*. 2003; 78: 289-306. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(03\)00096-4](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(03)00096-4).
9. Gonzalez-Bulnes A, Santiago-Moreno J, Garcia-Garcia RM, Del-Campo A, Gomez-Brunet A, Lopez-Sebastian A. Origin of the preovulatory follicle in Mouflon sheep (*Ovis gmelini musimon*) and effect on the growth of remaining follicles during the follicular phase of oestrous cycle. *Animal Reproduction Science*. 2001; 65: 265-272. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(01\)00076-8](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(01)00076-8).
10. Gonzalez-Bulnes A, Veiga-Lopez A. Ovarian follicular dynamics and dominance effect in sheep. *Societa Italiana di fisiologia Veterinaria. VI congresso Nazionale Stointino*. . 2005; 2–4. DOI: <https://www.sofivet.it/pubblicazioni/cd/SOFIVET/pdf/09.pdf>.
11. Goodman RL. Neuroendocrine control of the ovine estrous cycle. In: Knobil E and Neill JD (eds.), *The Physiology of Reproduction*. New York: Raven Press; 1994; 660–693.
12. Hutchinson JSM, Robertson HA. The growth of the follicle and corpus luteum in the ovary of the sheep. *Research in Veterinary Science*. 1966; 7: 17-24. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0034-5288\(18\)34705-2](https://doi.org/10.1016/S0034-5288(18)34705-2).
13. Lamberson WR, Thomas DL. Effects of season and breed of sire on incidence of estrus and ovulation rate in sheep. *Journal of animal science*. 1982; 54(3): 533-539. DOI: <https://doi.org/10.2527/jas1982.543533x>.
14. Lopez-Sebastian A, Gonzalez-Bulnes A, Santiago-Moreno J, Gomez-Brune A, Townsend EC, Inskeep EK. Effects of follicular status at treatment on follicular development and ovulation in response to FSH in Spanish Merino ewes. *Theriogenology*. 1999; 52: 505-514. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(99\)00147-8](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(99)00147-8).
15. Menchaca A, Vilarino M, Crispo M, De Castro T, Rubianes E. New approaches to superovulation and embryo transfer in small ruminants. *Reproduction, fertility, and development*. 2010; 22(1): 113-118. DOI: <https://doi.org/10.1071/rd09222>.
16. Miura R. Physiological characteristics and effects on fertility of the first follicular wave dominant follicle in cattle. *Journal of Reproduction and Development*. 2019; 65(4): 289 295. DOI: <https://doi.org/10.1262/jrd.2019-027>.
17. Noël B, Bister JL, Paquay R. Ovarian follicular dynamics in Suffolk ewes at different periods of the year. *Journal of reproduction and fertility*. 1993; 99(2): 695-700. DOI: <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0990695>.
18. Oliveira MEF. State-of-the-art in the superovulation of ewes. *Acta Scientiae Veterinariae*. 2011; 39: 65-70. DOI: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=289060016005>.
19. Rubianes E, Menchaca A, Carbajal B. Response of the 1-5 day-aged ovine corpus luteum to prostaglandin F2alpha. *Animal Reproduction Science*. 2003a; 78: 47-55. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(03\)00046-0](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(03)00046-0).

20. Rubianes E, De Castro T, Carvajal B. Effect of high progesterone levels during the growing phase of the dominant follicle of wave 1 in ultrasonographically monitored ewes. *Canadian Journal of Animal Science*. 1996; 76: 473-475. DOI: <https://doi.org/10.4141/cjas96-071>.
21. Russel A.J.F, Doney J.M, GUNN R.G. Subjective assessment of body fat in live sheep. *Journal Agricultural Science*. 1969; 72: 451-454. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0021859600024874>.
22. Seekallu SV, Toosi BM, Duggavathi R, Barrett DMW, Davies KL, Waldner C, Rawlings NC. Ovarian antral follicular dynamics in sheep revisited: comparison among estrous cycles with three or four follicular waves. *Theriogenology*. 2010; 73: 670-680. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.11.007>.
23. Souza CJH., Campbell BK, Baird DT. Follicular dynamics and ovarian steroid secretion in sheep during anoestrus. *Journal of reproduction and fertility*. 1996; 108: 101-106. DOI: <https://doi.org/10.1530/jrf.0.1080101>.
24. Talafha AQ, Ababneh MM. Awassi sheep reproduction and milk production: Review. *Tropical Animal Health and Production*. 2011; 43: 1319-1326. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11250-011-9858-5>.