ROGÉRIO DANTAS GAMA

**Emprego de diferentes doses de LH suíno na indução e
sincronização da puberdade em marrãs**

Pirassununga

2003

ROGÉRIO DANTAS GAMA

**Emprego de diferentes doses de LH suíno na indução e
sincronização da puberdade em marrãs**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária

Orientador:

Prof. Dr. Aníbal de Sant' Anna Moretti

Departamento:

Reprodução Animal

Área de Concentração:

Reprodução Animal

Pirassununga

2003

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.1328
FMVZ

Gama, Rogério Dantas

Emprego de diferentes doses de LH suíno na indução e sincronização da puberdade em marrãs / Rogério Dantas Gama. – Pirassununga : R. D. Dantas, 2003.

77 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Reprodução Animal, 2003.

Programa de Pós-graduação: Reprodução Animal.
Área de concentração: Reprodução Animal.

Orientador: Prof. Dr. Aníbal de Sant' Anna Moretti.

1. Puberdade. 2. Sincronização do cio. 3. Suínos.
4. Gonadotropinas. 5. Ovulação. I. Título.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome do autor: GAMA, Rogério Dantas

Título: Emprego de diferentes doses de LH suíno na indução e sincronização da puberdade em marrãs

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof.Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Julgamento: _____

Prof.Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Julgamento: _____

Prof.Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho ao meu futuro e muito querido filho João Pedro e a
minha amada e dedicada esposa Cris.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço única e exclusivamente a Deus por tudo que vivi em todos esses anos de trabalho;

Por me proporcionar uma família maravilhosa que me deu, sem qualquer contestação, todo apoio que me foi necessário;

Pela experiência profissional e pela experiência de vida adquirida;

Por ter conquistado verdadeiras amizades e;

Por sempre estar ao meu lado e me auxiliando em todos os momentos difíceis da minha vida.

RESUMO

GAMA, R. D. **Emprego de diferentes doses de LH suíno na indução e sincronização da puberdade em marrãs.** [Use of different doses of Swine LH in puberty induction and synchronization in gilts]. 2003. 77 f. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2003.

A pesquisa desenvolvida no Laboratório de Pesquisa em Suínos, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, Campus de Pirassununga, estudou os efeitos de diferentes doses de LH suíno exógeno na indução e sincronização da puberdade em marrãs. Sessenta e sete fêmeas Camborough - 22 Agrocères PIC[®] com 140 dias de idade e 86 kg de peso vivo foram submetidas aos seguintes tratamentos: controle T1 (n = 21) - emprego de 600 UI de eCG (gonadotrofina coriônica eqüina) (Novormon[®]) e 72 horas depois 5,0 mg de LH (hormônio luteinizante) (Lutropin[®] – V); tratamento 2 T2(n = 23) - 600 UI de eCG (Novormon[®]) e, 72 horas depois, 2,5 mg de LH (Lutropin[®] – V) e tratamento 3 T3(n=23) - 600 UI de eCG (Novormon[®]) e, 72 horas depois, 1,25 mg de LH (Lutropin[®] – V). O estímulo com macho adulto era feito duas vezes ao dia, sendo a ovulação detectada pela ultra-sonografia transcutânea e a taxa de ovulação, pela contagem do número de corpos lúteos (CL) ao abate. O percentual de estro foi semelhante entre T1 (42,85%), T2 (60,87%) e T3 (52,18%), não havendo diferença estatística significativa (P=0,418). O percentual de fêmeas com degenerações císticas foi de 33,33% (T1); 39,13%(T2) e 39,13%(T3), não havendo diferença significativa entre os tratamentos (P=0,9057). O melhor intervalo tratamento – ovulação (LH – OV) ocorreu no grupo de fêmeas submetidas ao T2 (38,26 ± 2,84)

demonstrado pela menor dispersão dos desvios comparando com T1 ($37,17 \pm 4,07$) e T3 ($36,25 \pm 5,69$), sendo o valor do desvio padrão diferente estatisticamente do de T3, porém igual ao valor de T1 sendo ainda o valor de T1 igual ao de T3 ($P < 0,05$). O intervalo entre a aplicação de eCG e estro do T1 ($85,33 \pm 12,64$ horas), T2 ($84,40 \pm 17,50$ horas) e T3 ($89,14 \pm 14,66$ horas) foram semelhantes não havendo diferença estatística significativa ($P = 0,6954$). A duração do estro foi semelhante entre os três tratamentos ($P = 0,2653$), sendo de $41,44 \pm 16,30$ horas (T1); $48,57 \pm 16,29$ horas (T2); $39,33 \pm 11,42$ horas (T3). O número de Corpos Lúteos em T1 foi de $9,61 \pm 5,43$ (1-25); em T2 de $9,86 \pm 3,32$ (1-16); em T3 de $8,13 \pm 5,52$ (0-20), não constatando diferença significativa ($P = 0,4259$). Os menores desvios observados no tratamento T2 sugerem que a combinação de 600 UI de eCG seguida por 2,5 mg de LH após 72 horas, foi a mais efetiva na indução e sincronização do estro e ovulação em fêmeas suínas pré-púberes, considerando a metodologia experimental empregada.

Na segunda parte do experimento, foram realizadas inseminações artificiais em tempo fixo em dois esquemas (E) diferentes: O (E1) recebeu uma única dose 36 h após a aplicação de LH e, o (E2) recebeu a primeira dose 24 h e a segunda dose 36 h após a aplicação de LH. As marrãs foram abatidas com 5 dias de gestação e os embriões foram colhidos. Não verificou-se diferença estatística entre os valores obtidos na taxa de recuperação ($36,81 \pm 5,21$ para E1 e $36,91 \pm 4,62$ para E2), taxa de viabilidade embrionária (TVE) ($59,28 \pm 6,91$ para E1 e $62,25 \pm 6,26$ para E2), taxa de fecundação (TF) ($72,60 \pm 7,06$ para E1 e $79,33 \pm 6,26$ para E2) e número de estruturas totais ($3,41 \pm 0,57$ para E1 e $3,77 \pm 0,50$ para E2) entre E1 e E2. Houve interação significativa entre tratamento e número de doses de sêmen para as variáveis TVE

(T1=60,51± 8,18, T2=68,64±7,94 e T3=53,14±7,8) e TF (73,50±8,36 para T1, 89,93±8,11 para T2 e 64,46±8,05 para T3) (P=0,0036). Novos estudos envolvendo aplicação dos hormônios e nº de doses de sêmen, necessitam serem repetidos.

Palavras-chaves: Puberdade. Sincronização do cio. Suínos. Gonadotropinas. Ovulação.

ABSTRACT

GAMA, R. D. **Use of different doses of Swine LH in puberty induction and synchronization in gilts.** [Emprego de diferentes doses de LH suíno na indução e sincronização da puberdade em marrãs]. 2003. 77 f. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2003.

The research carried out at the Swine Research Laboratory, of FMVZ – USP, Campus of Pirassununga, studied the effects of the use of different hormonal doses on the induction and synchronization of puberty in gilts. Sixty-seven Camborough 22 Agrocères PIC[®] females with 140 days of age and 86kg of body weight were submitted to the following treatments: control T1 (n=21) – use of 600 IU of eCG (equine chorionic gonadotrophin) (Novormon[®]) and 72 hours later 5,0 mg of LH (Luteinizing hormone) (Lutropin[®] – V); treatment 2 T2 (n = 23) – 600 UI of eCG (Novormon[®]) and 72 hours later 2,5mg of LH (Lutropin[®] – V) and treatment 3 T3 (n = 23) - 600 UI of eCG (Novormon[®]) and 72 hours later 1,25mg of LH (Lutropin[®] – V). Adult boar stimulation was implemented twice a day, and ovulation was detected through transcutaneous ultrasonography and ovulation rate by *corpora lutea* (CL) counting at slaughter. The percentage of estrus was similar in T1 (42,85%), T2 (60,87%) and T3 (52,18%), and there was no significant statistic difference (P=0,418). The percentage of females with cystic degeneration was 33,33% (T1); 39,13%(T2) and 39,13%(T3), being no significant difference between the treatments (P=0,9057). The best interval between treatment and estrus (LH – OV) occurred in the group of females submitted to T2 (38,26 ± 2,84) demonstrated by lesser dispersion of the deviations comparing to T1 (37,17 ± 4,07) and T3 (36,25± 5,69);

standard deviation was statistically different from T3, but similar to T1, and T1 was also similar to T3 ($P < 0,05$). The interval between the administration of eCG and estrus in T1 ($85,33 \pm 12,64$ hours), T2 ($84,40 \pm 17,50$ hours) and T3 ($89,14 \pm 14,66$ hours) were similar, and there was no significant statistic difference ($P = 0,6954$). The duration of estrous was similar among the three treatments ($P = 0,2653$), being $41,44 \pm 16,30$ hours (T1); $48,57 \pm 16,29$ hours (T2); $39,33 \pm 11,42$ hours (T3). The number Corpus Luteum in T1 was $9,61 \pm 5,43$ (1-25); in T2 was $9,86 \pm 3,32$ (1-16); in T3 was $8,13 \pm 5,52$ (0-20), and there was no significant difference ($P = 0,4259$). The minor deviations observed in treatment T2 suggest that the association of 600 UI of eCG followed by 2,5 mg of LH after 72 hours, was more effective in the induction and synchronization of estrous and ovulation in pre-puberty female swine, considering the experimental methodology used. In the second part of the experiment, artificial insemination was performed at determined timing following two different programs (E). E1 received a single dose 36 hours after administration of LH and E2 received the first dose after 24 hours and the second dose 36 hours after the administration of LH. The gilts were slaughtered with 5 days of pregnancy and the embryos were collected. No statistic difference was observed among the values obtained for recovery rate ($36,81 \pm 5,21$ for E1 and $36,91 \pm 4,62$ for E2), embryonary viability rate (TVE) ($59,28 \pm 6,91$ for E1 and $62,25 \pm 6,26$ for E2), fecundation rate (TF) ($72,60 \pm 7,06$ for E1 and $79,33 \pm 6,26$ for E2) and number of total structures ($3,41 \pm 0,57$ for E1 and $3,77 \pm 0,50$ for E2) among E1 and E2. There was significant interaction between treatment and the number of doses of semen for the values TVE (T1= $60,51 \pm 8,18$, T2= $68,64 \pm 7,94$ and T3= $53,14 \pm 7,8$) and TF ($73,50 \pm 8,36$ for T1, $89,93 \pm 8,11$ for T2

and $64,46 \pm 8,05$ for T3) ($P=0,0036$). New research involving the use of hormones and the number of doses of semen need to be repeated.

Keywords: Puberty. Synchronization of estrus. Swine. Gonadotrophin. Ovulation.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS	17
3	REVISÃO DE LITERATURA	18
3.1	ASPECTOS FISIOLÓGICOS DA PUBERDADE EM MARRÃS	18
3.2	INDUÇÃO DA PUBERDADE EM MARRÃS	20
3.2.1	Efeito do macho na indução da puberdade em marrãs	20
3.2.2	O uso de gonadotrofinas na indução da puberdade em marrãs	22
3.2.3	Efeito nutricional na puberdade	26
3.2.4	Efeito do stress	27
3.3	DURAÇÃO DO CIO E MOMENTO DA OVULAÇÃO	29
3.4	SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO E IA COM TEMPO FIXO	30
3.5	CISTOS OVARIANOS	35
4	MATERIAL E MÉTODO	36
4.1	LOCAL	36
4.2	ANIMAIS E INSTALAÇÕES	36
4.3	MANEJO DOS ANIMAIS	37
4.4	DETECÇÃO DA OVULAÇÃO	39
4.5	TRATAMENTOS	41
4.6	DETECÇÃO DE CIO	41
4.7	INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL	42
4.8	ABATE DOS ANIMAIS	43
4.9	CONTAGEM DE CORPOS LÚTEOS E AVALIAÇÃO DOS EMBRIÕES	43
4.10	ANÁLISE ESTATÍSTICA	44
5	RESULTADOS	46
5.1	INDUÇÃO DA PUBERDADE	46
5.2	MANIFESTAÇÃO DE ESTRO E OCORRÊNCIA DE CISTOS FOLICULARES	47
5.3	DURAÇÃO DO ESTRO (DE), INTERVALOS ENTRE APLICAÇÃO DE eCG E A MANIFESTAÇÃO DE CIO (eCGCIO), ENTRE APLICAÇÃO DE LH E OVULAÇÃO (LHOV) E NÚMERO DE CORPOS LÚTEOS (NCL)	49

5.4	RELAÇÃO ENTRE DOSES DE SÊMEN, QUALIDADE E QUANTIDADE DOS EMBRIÕES	53
6	DISCUSSÃO	56
6.1	MANIFESTAÇÃO DE ESTRO	56
6.2	CISTOS OVARIANOS	60
6.3	NÚMERO DE CORPOS LÚTEOS	62
6.4	INTERVALO LH - OVULAÇÃO	63
6.5	EMBRIÕES	65
7	CONCLUSÕES	68
	REFERÊNCIAS	69

1 INTRODUÇÃO

A suinocultura, nos últimos anos, tem evoluído em direção à melhoria da produtividade e qualidade de sua carne; evolução essa que é acompanhada pela profissionalização do setor produtivo. Esse contexto favorece o surgimento de novas alternativas que possibilitam maior desenvolvimento de tal atividade. Entre essas alternativas, são dignas de nota o desenvolvimento e a utilização de novas tecnologias.

Estudar-se-á no presente trabalho o manejo reprodutivo empregado nas linhagens sintéticas precoces atuais, que visa a indução e a sincronização do primeiro cio à puberdade, trazendo como vantagem o aproveitamento mais rápido da fêmea na sua vida reprodutiva. Essa prática estabelece também, o maior controle da idade das marrãs destinadas à reposição, tendo em vista que a manifestação de estro sincronizada facilita não só a incorporação mais direcionada, homogênea e mais ordenada das fêmeas nos grupos semanais, mas também o próprio manejo para esquemas de inseminação artificial. Oferece ainda, através da formação de lotes sincronizados semanais, melhor aplicação do manejo “all in-all out” com partos mais sincronizados, proporcionando diminuição dos dias não produtivos. Ademais, a reposição de marrãs feita de maneira ineficiente pode contribuir com um percentual de 30% ou até mais do total de dias não produtivos nos rebanhos (FOXCCROFT e AHERNE, 2000). Desta feita, o programa de indução da puberdade deve iniciar-se o mais cedo possível (120 até 140 dias de idade), mediante o acompanhamento até a primeira inseminação artificial condizente com a adequada condição corporal da

fêmea. Nesse caso, os primeiros ciclos estrais ocorrem em benefício ao preparo da fêmea para uma vida útil reprodutiva desejável.

Desse modo, algumas combinações hormonais para indução da puberdade podem ser aplicadas; sendo as gonadotrofinas os hormônios de eleição: PMSG (Gonadotrofina Sérica da Égua Prenhe), o qual possui um efeito semelhante ao do FSH (Hormônio Folículo Estimulante), acompanhado da aplicação do hCG (Gonadotrofina Coriônica Humana) 72 horas após, atuando como LH (Hormônio Luteinizante) ou o próprio LH extraído do suíno. O PMSG e o hCG podem ainda ser utilizados em conjunto, ou seja, em uma única aplicação.

Vários trabalhos testaram diferentes doses de gonadotrofinas, tendo sido preconizadas quantidades correspondentes a 400 UI de PMSG e 200 UI de hCG, quando utilizadas em uma única dose. Quando aplicadas isoladamente, tanto a dose de PMSG quanto a de hCG devem ser mais elevadas, na faixa de 600 a 1500 UI de PMSG e de 500 a 750 UI de hCG (BRUSSOW; JOCHLE; HUHNS, 1996; HÜHN; JOCHLE; BRUSSOW, 1996; WAHNER; HÜHN, 1996; ZIECIK et al., 1996). O LH suíno por sua vez, pode ser empregado no lugar do hCG na dosagem de 5 mg por fêmea (CANDINI et al., 1999; CARBONE, 2002; VIANA, 2001).

Diante do exposto, e, fazendo parte da linha de pesquisa com puberdade em marrãs, o presente estudo propôs avaliar diferentes doses de LH suíno utilizadas em conjunto com o hCG em duas aplicações. As características observadas aliaram-se, inicialmente, à sincronização da puberdade, considerando-se o intervalo entre a aplicação e manifestação do estro, e o intervalo da aplicação até o momento da ovulação, sendo este último acompanhado através de exames ultra-sonográficos. Ao

abate observaram-se aspectos quantitativos ligados aos embriões, além da taxa de ovulação.

2 OBJETIVOS

Com base no exposto, os objetivos deste trabalho podem ser assim sintetizados:

- Avaliar-se a eficácia da indução à puberdade em marrãs com a utilização de gonadotrofinas exógenas, provocando a sincronização do estro e ovulação.
- Averiguar-se a eficiência da metodologia empregada através da taxa de ovulação e da ocorrência de cistos foliculares após a aplicação de diferentes doses de LH, com o objetivo de se aprimorar, tanto funcionalmente quanto economicamente, estratégias de estimulação gonadal.
- Finalmente, avaliar-se, num segundo plano, a diferença entre uma e duas doses de sêmen, através das taxas de fecundação e viabilidade embrionária.

3 REVISÃO DE LITERATURA

Este capítulo subdivide-se nos seguintes itens:

3.1 ASPECTOS FISIOLÓGICOS DA PUBERDADE EM MARRÃS

Paterson (1982) define a puberdade como o período em que ocorre o primeiro estro e ovulação em associação com a função luteal normal. Na marrã, a puberdade representa o início de sua capacidade reprodutiva e, conseqüentemente, o retorno de todo o investimento depositado sobre esta que, até então, era um animal financeiramente não produtivo (HUGHES, 1982).

Segundo Hafez (1993), a puberdade é o resultado de um ajuste gradual entre a atividade crescente gonadotrófica e a habilidade das gônadas de promover a esteroidogênese e gametogênese. De acordo com Hunter (1979), a puberdade nos mamíferos acompanha, geralmente, duas linhas de estudo. Uma enfatiza a capacidade de baixas concentrações de estrógeno (secretado pelas gônadas de fêmeas pré-púberes) de influir na inibição da neurosecreção do fator liberador de gonadotrofinas (GnRH) no hipotálamo. Essa alta sensibilidade do hipotálamo e da pituitária a baixas quantidades de estrógeno, diminui com o desenvolvimento da fêmea. A outra informa que a maturação do eixo hipotálamo-pituitária, ocorre independentemente da atividade gonadal, mas sob a influência de estruturas nervosas cerebrais. A capacidade reprodutiva é alcançada no seu devido tempo, pela liberação de hormônios que ativam a secreção das gonadotrofinas pela pituitária. Nesse modelo, o envolvimento de hormônios esteróides proveniente das

gônadas, é coerentemente secundário ao desenvolvimento de mudanças no sistema nervoso central, embora o “feedback” positivo do estrógeno seja essencial para a liberação do LH. O início da atividade gonadotrófica tem sido discutido em detalhes por Levasseur (1977), que considera a chave do evento uma mudança na sensibilidade hipotalâmica causada por inibição do sistema nervoso central.

Christenson; Ford e Redmer (1984) sugerem um modelo para o desenvolvimento folicular em marrãs. Dos 60 aos 100 dias após o nascimento, folículos tornam-se sensíveis às gonadotrofinas. Em um folículo que está em fase de desenvolvimento ocorre aumento do número de células da granulosa, e, conseqüentemente, é observado um aumento no número de receptores para FSH e estrógeno. Com o avanço do processo, o FSH e pequenas quantidades de estrógeno presentes em folículos terciários estimulam a formação de receptores de LH nas células da teca interna, as quais, em resposta, secretam andrógenos e estrógenos. As células da granulosa sensíveis ao FSH e ao estrógeno aromatizam esses andrógenos à estrógenos, desencadeando o processo de desenvolvimento folicular até a primeira ovulação. Segundo o mesmo autor, a aplicabilidade desse modelo ainda não está completamente confirmada, porém, culturas de células da teca e granulosa de fêmeas suínas pré-púberes, estimuladas com gonadotrofinas exógenas, produziram esteróides de maneira consistente. Evans e Doherty (2001) sugerem ainda que, entre 80 e 120 dias de idade, ocorre um aumento na concentração sérica de LH, o qual seria responsável pelo início do desenvolvimento folicular.

3.2 INDUÇÃO DA PUBERDADE EM MARRÃS

A puberdade, portanto, está associada com a maturação do eixo hipotálamo-pituitária e com a habilidade do ovário em responder às gonadotrofinas e produzir hormônios esteróides e, o momento em que esse evento ocorre, é consistentemente influenciado pela genética, idade, peso corporal, exposição ao macho, manejo e fatores nutricionais (HUGHES, 1982; PATERSON, 1982). Dada a evolução que vem sendo observada na indução do estro em marrãs, estão sendo criadas alternativas que permitem a manipulação do ciclo estral da fêmea, através do uso de gonadotrofinas. Vários são os fatores que reforçam a adoção de tratamentos hormonais, dentre eles pode-se ressaltar o fato de que as fêmeas são mantidas em gaiolas individuais, nos sistemas intensivos de produção, impossibilitando muitas vezes o contato físico das marrãs com o macho.

3.2.1 Efeito do macho na indução da puberdade em marrãs

Já está estabelecido que a exposição de fêmeas pré-púberes a cachacos sexualmente maduros é um efetivo método de indução da puberdade (PATTERSON et. al., 2002). Esse estímulo causado pelo macho sempre foi muito estudado e, com o evoluir da ciência, as observações recentemente obtidas vêm derrubando conceitos antes sedimentados, lançando nova luz sobre teorias que se acreditavam estabelecidas.

Dessa maneira, Hughes (1997) relata que marrãs jovens (menos de 140 dias) levam mais tempo para atingir a puberdade após o contato com machos mais

velhos, entretanto, a idade da puberdade ainda permanece semelhante à de fêmeas expostas a machos pela primeira vez aos 150 - 170 dias. Do mesmo modo, fêmeas mais velhas também apresentam retardo na resposta à exposição ao macho. Como observado por Croning (1983), o primeiro contato das fêmeas com os machos foi mais eficiente quando estas tinham 23 semanas (161 dias), em relação às experiências com fêmeas que tiveram o primeiro contato com 28 semanas (196 dias).

Em geral, a recomendação para o início da estimulação da fêmea pelo macho começa a partir de 150 – 160 dias e, de acordo com Hughes (1997), os machos devem ter no mínimo dez meses para estimular as fêmeas, porque estes, quando jovens, não secretam níveis adequados de feromônios. Segundo Eastham; Dyck e Cole (1986), o atraso no início do estímulo pode resultar apenas em uma pequena redução no intervalo da indução, mas, obviamente, em um aumento na idade e no peso na puberdade.

As instalações também devem ser levadas em consideração quando se faz o uso de macho para indução da puberdade. Patterson et al. (2002) mostram que o contato físico do macho com a fêmea é mais efetivo do que o contato através de grades ou gaiolas, isso porque o efeito do estímulo do macho sobre a fêmea decorre de fatores sensoriais como o contato visual, tátil, olfatório e auditivo. Em estudo feito por Kirkwood; Forbes e Hughes (1981), os bulbos olfatórios de marrãs foram removidos, não havendo resposta ao estímulo do macho.

3.2.2 O uso de gonadotrofinas na indução da puberdade em marrãs

A redução da idade à puberdade, possibilita ao produtor um retorno mais rápido do investimento em marrãs futuras reprodutoras. Para isso, modernas técnicas de manejo vêm sendo empregadas de acordo com a evolução do melhoramento genético. As novas linhagens necessitam ser avaliadas em vários aspectos do período pré e pós-púbere, em razão de sua precocidade. Modernas biotécnicas, como a utilização de gonadotrofinas, aliam-se à esse evoluir, objetivando oferecer as técnicas ideais de incorporação das marrãs no serviço de reprodução do plantel de matrizes.

Foxcroft; Aherne e Kirkwood (1998) acentuam, nesse particular, dois objetivos principais: (a) eficiente indução do primeiro estro e (b) a manutenção da ciclicidade com eficiente colocação das marrãs em grupos semanais.

A importância fundamental desse último item prende-se ao esquema “all in - all out” de higienização e prevenção de doenças, o que é essencial para a higiene dos partos em grupos. Isso é possível quando o parto e o momento da inseminação forem sincronizados (WÄHNER; HÜHN, 1996).

Atingir-se a puberdade o mais precoce possível é uma meta importante e, portanto, devem ser usados todos os meios possíveis. Ótimas técnicas de manejo poderiam levar a uma proporção considerável de marrãs à indução mais precoce do estro, talvez com 120 a 140 dias de idade (FOXCRIFT; AHERNE, 2000).

Segundo Knox et al. (2000), o uso de hormônios pode proporcionar vantagens aos produtores no escalonamento das fêmeas de reposição, em razão dos custos decorrentes de grandes reservas de marrãs, pois, de acordo com Britt et

al. (1989), geralmente há seleção de maior número de marrãs do que o necessário para reposição, e somente as que apresentam estro durante um determinado período de tempo específico é que são cobertas. As fêmeas não aproveitadas acabam sendo comercializadas a preços mais baixos, por extrapolarem o peso de mercado estabelecido (BRITT et al., 1989).

Com o estro induzido sincrônica e previamente, os produtores selecionariam menos marrãs de reposição, adequando-as aos grupos de porcas já formados, comercializando o excedente a preço de mercado (BRITT et al. 1989). Consequentemente, os dias não produtivos seriam diminuídos e os custos nas granjas relacionados às fêmeas de reposição permaneceriam mais baixos (KNOX et al., 2000; KNOX ; TUDOR, 1999).

A programação se estenderia, do mesmo modo, a um esquema de preparo das marrãs mais adequado aos objetivos, principalmente nos períodos iniciais, após a saída da fase de creche (correspondente ao período pré-púbere); ou ainda a períodos anteriores aos da creche, estendendo-se a escolha dos pais e conseqüente acompanhamento da futura reprodutora, no aleitamento e creche.

Britt (1998), em sua análise sobre a manipulação do ciclo estral da fêmea suína, acentua que os principais objetivos dos tratamentos hormonais seriam: (a) obter-se a devida eficiência na cobertura e/ou inseminação artificial de porcas e marrãs; e (b) reduzir-se os dias não produtivos, atingindo-se, assim, níveis aceitáveis de fertilidade e fecundidade. Foxcroft e Aherne (2000) acrescentam ainda que a estimulação precoce da marrã daria a esta a oportunidade de experimentar maior número de ciclos antes da cobertura, o que melhoraria o tamanho da primeira leitegada.

A indução de estro em marrãs pré - púberes vem sendo estudada desde 1935 (PATERSON et al., 1984), já com a utilização de eCG (Gonadotrofina coriônica Eqüina) e hCG (Gonadotrofina Coriônica Humana), em várias doses e diferentes formas de administração. Obteve-se, desde aquela época à atual, os mais variados resultados, chegando-se a atingir até 100% das fêmeas que demonstraram estro de 3 a 7 dias após o tratamento (SCHILLING; CERNE, 1972).

De acordo com Paterson (1982), o processo ovulatório em resposta ao eCG em roedores é iniciado pela atividade semelhante à do FSH (Hormônio Folículo Estimulante) da gonadotrofina, que estimula a maturação de folículos ovarianos. Os folículos em crescimento produzem estrógeno cujos níveis circulantes aumentam até um certo nível, sendo o hipotálamo estimulado a liberar o hormônio liberador de LH (GnRH), o qual, por sua vez, age na glândula pituitária anterior para liberação de LH (Hormônio Luteinizante). A ovulação ocorre algumas horas depois. Em suínos, tem-se obtido análises hormonais similares (PATERSON, 1982).

A habilidade do PMSG, em estimular o desenvolvimento folicular, e do hCG, em controlar precisamente o momento da ovulação, foram utilizadas para sincronizar a ovulação e permitir a inseminação em tempo fixo (WEBEL; DAY, 1982).

Paterson (1982), em sua revisão sobre a indução da puberdade em marrãs, refere que a combinação mais comumente usada de PMSG/HCG é de 400 UI de eCG e 200 UI de hCG, obtendo-se bons resultados em vários experimentos, nos quais cerca de 85% das fêmeas tratadas demonstraram estro (PATERSON; LINDSAY, 1981) embora existam trabalhos em que nenhuma fêmea tenha demonstrado estro (BAKER; COGGINS, 1968).

Já Tilton; Bates e Prather (1995) afirmam que a porcentagem de fêmeas que demonstra estro em um grupo pode variar. Porém, notou-se que a maioria ovula, mesmo sem demonstrar estro. Britt (1998) pondera que as fêmeas respondem melhor se forem transportadas e receberem a injeção de gonadotrofina no mesmo dia e, além disso, receberem estimulação através de contato físico com machos diariamente. Afirmam, ainda, que fêmeas selecionadas para puberdade precoce respondem melhor ao tratamento com gonadotrofinas .

Knox et al. (2000) afirmam que 16% das fêmeas, mesmo não tratadas em granjas, ovulam sem demonstrar sinais de estro. Os mesmos autores encontraram, por outro lado, um percentual de 52% de fêmeas ovulando sem demonstrar estro quando estas receberam intramuscularmente PG 600[®] (400 UI de eCG e 200 UI de hCG), sugerindo, por isso, o envolvimento de estrógeno. Carbone (2002) testou três combinações hormonais em marrãs com 126 dias de idade; são elas: 400 UI de PMSG + 200 UI de HCG (T1) aplicados em uma mesma dose; 400 UI de PMSG e, 72 horas após, 200 UI de HCG (T2); 600 UI de PMSG e, 72 horas depois, 5,0 mg de LH (T3); e finalmente o grupo controle apenas com uma aplicação de 2,0 ml de solução fisiológica (T4). A combinação hormonal mais efetiva foi a do grupo T3, uma combinação hormonal inédita em marrãs, por meio da qual 82,61% das fêmeas mostrou cio e 100% ovulou, contra 87,5% de fêmeas que demonstrou cio e 91,67% de fêmeas que ovulou para o grupo T2, em que foi usada uma combinação hormonal amplamente estudada. No grupo T2, os resultados não foram satisfatórios, muito provavelmente devido à baixa dose de PMSG usada para indução do crescimento folicular (30,43% de porcas que demonstrou cio e 78,26% de marrãs que ovulou, números esses significativamente menores do que os dos grupos T1 e

T3). Nesse mesmo experimento, 40,91% das marrãs do grupo controle entrou em cio, e 45,45% das marrãs ovulou. Em relação ao intervalo tratamento – estro, houve uma variação de 3 a 6 dias em T1, 4 a 10 dias em T2, 3 a 5 dias em T3 e de 8 a 45 dias em T4, demonstrando-se maior sincronização e menor dispersão entre as fêmeas tratadas quando comparadas com as do grupo controle.

3.2.3 Efeito nutricional na puberdade

O aspecto nutricional das marrãs tem uma significativa influência quando falamos sobre reprodução em uma criação de suínos (KIRKWOOD; AHERNE, 1985). A seleção genética na suinocultura traz um aperfeiçoamento no que diz respeito ao aspecto nutricional. Modernos genótipos são extremamente sensíveis a modestas reduções na alimentação, o que pode retardar a puberdade por mais de 3 semanas (LUNEN; AHERNE, 1987). Anderson e Melampy (1972), avaliaram vários trabalhos nessa área e observaram os efeitos da quantidade ingerida de energia na idade e no peso de marrãs. Notaram, na restrição de ingestão de energia, ocorrência de um atraso de 11 a 16 dias em média, até que as marrãs atingissem a puberdade. O modelo nutricional usado nas marrãs de reposição de uma determinada granja tem significativa influência na idade em que as marrãs exteriorizam o primeiro estro (DIZUIK, 1991; PRUNIER, 1991). Modernos genótipos, atualmente utilizados por criadores, preconizam a diminuição do tecido gorduroso e o aumento da massa muscular. Essa diminuição nas reservas de gorduras desses animais selecionados geneticamente, teoricamente, resulta em marrãs com reduzida taxa de ovulação e, subsequentemente, uma lactação prejudicada. Uma das possibilidades para se

resolver esse problema seria adotar-se estratégias alimentares apropriadas, como o “flushing” nutricional, o qual consiste no aumento do consumo de alimento ou energia pelas marrãs durante um período do ciclo estral (RHODES; DAVIS; STEVENSON, 1991). O “flushing” nutricional permite um aumento na taxa de ovulação, muito embora não se caracterize uma superovulação (BELTRANENA et al, 1991). Ao mesmo tempo, estudos recentes citam uma estabilização como fruto da ação do incremento alimentar nos níveis hormonais, tendo possível ação no desenvolvimento folicular (FOXCROFT; AHERNE, 2000).

3.2.4 Efeito do stress

Estudos recentes referem-se ao modo como a fêmea seria estimulada pelo macho para alcançar a puberdade. Alguns autores afirmavam que o “stress” agudo poderia estimular a reprodução em fêmeas suínas (TURNER et al., 1998). De acordo com Huges; Philip e Siswadi (1997), o transporte de marrãs aumenta a resposta do estímulo do macho para indução mais precoce da puberdade, enquanto que o transporte sem o estímulo do macho torna-se insuficiente. O transporte, o deslocamento das marrãs para outros baias e a exposição dessas fêmeas ao macho, certamente resultam em stress. Sendo assim, o fator stress está fortemente relacionado à presença do macho. Segundo Pearce e Hughes (1987), o êxito da presença do macho é o aumento das concentrações de LH no plasma de marrãs pré-pubescentes. Sugere-se, ainda, que o cortisol seja o mediador desse efeito do stress nas marrãs. Em um experimento feito com 12 marrãs de 135 dias de idade, as concentrações de LH foram significativamente maiores 6 horas após a exposição

das fêmeas ao macho, do que 6 horas antes (KINGSBURY; RAWLINGS, 1993). Em um outro experimento, 11 dias antes do provável estro, marrãs começaram a ser testadas de duas formas: (a) com o método de pressão no dorso, através de contato físico direto do macho, que foi colocado dentro da baia junto das marrãs; e (b) com o macho através de grades sem o contato físico. Então, mediu-se a concentração de cortisol em cada um dos dias 15 minutos após o teste. As fêmeas que tiveram a presença física do macho em seu tratamento mostraram uma concentração de cortisol significativamente maior do que as fêmeas que tiveram contato com o macho através de grades. No mesmo experimento, as marrãs que tiveram contato direto com o macho apresentaram uma taxa de ovulação maior e um ciclo estral mais curto do que as marrãs que tiveram contato com o macho através de grades, mostrando-nos que, apesar da concentração de cortisol ter sido maior nas fêmeas que tiveram contato físico, estas apresentaram características reprodutivas melhores do que o outro grupo de fêmeas (TURNER et al., 1998). Infusões de cortisol podem aumentar as concentrações de LH em marrãs pré-púberes (PEARCE; PATERSON; HUGHES, 1988). No entanto, a administração de cortisol nas mesmas concentrações obtidas em fêmeas estimuladas por macho foram ineficientes para se estimular a puberdade (PEARCE; PATERSON, 1992). Apesar de termos um grande número de informações a esse respeito, o mecanismo endócrino, pelo qual o cortisol interferiria na puberdade de marrãs, ainda precisa ser estabelecido.

Em resumo, de acordo com Evans e Doherty (2001), flutuações nas concentrações de LH são consistentemente relatadas na maturação do sistema reprodutivo até a primeira ovulação em marrãs. O aumento inicial da concentração de LH pode ser devido à maturação da atividade hipotalâmica, assim como a outros

fatores que regulariam a atividade do hipotálamo. Por outro lado, o aumento da concentração do LH no período peri-puberal, pode ser atribuído à diminuição na sensibilidade do feed-back negativo do estrógeno, como relatado anteriormente por Hunter (1979).

3.3 DURAÇÃO DO CIO E MOMENTO DA OVULAÇÃO

Segundo Anderson (1982) e Soede et al. (1995_a), o estro dura 54 horas, variando entre 24 e 72 horas, podendo, em alguns casos, chegar a 96 horas (WEITZE, 1994). Em fêmeas pré-puberes, a duração do cio é menor (47 horas) do que em porcas adultas (56 horas). A duração do cio pode ser afetada também pela raça, estação climática e ainda por anormalidades endócrinas (ANDERSON, 1982).

O questionamento sobre a necessidade de identificação de um preditor do momento da ovulação tem estimulado inúmeras pesquisas.

Alguns autores observaram que o momento da ovulação está relacionado à duração do cio. No experimento de Soede; Helmond e Kemp (1994), a ovulação ocorreu aos $72 \pm 8\%$ da duração do cio com variação entre 54% e 86%; aos $72 \pm 15\%$, variando entre 39% e 133%, no experimento de Soede et al. (1995_a); e 71,14% no experimento de Nissen et al. (1997). Estes resultados confirmam que, independentemente da duração do cio, a ovulação ocorre sempre em um momento relativamente constante, isto é, no terço final do estro. Além disso, foi verificado que porcas com duração de cio mais longo ovulam mais tardiamente que porcas que apresentam o período de cio mais curto (HECK et al., 1997).

O pico pré-ovulatório do hormônio luteinizante (LH) tem se mostrado um interessante parâmetro endócrino para determinação do momento da ovulação, a qual ocorre 42 ± 5 e 44 ± 3 horas após o pico do LH, segundo Helmond; Aarnink e Oudenaarden, (1986) e Soede; Helmond e Kemp (1994), respectivamente.

Entretanto, Dalin et al. (1995), estudando o desenvolvimento do estro e a atividade ovariana, através de ultra-sonografia trans-retal e de níveis plasmáticos de LH, mostraram que as ovulações ocorreram $28 \pm 8,4$ horas (8 a 32 horas) após o pico pré-ovulatório de LH. Este pico de LH, por sua vez, aconteceu, em média, $13 \pm 12,5$ horas após o início do cio, com variações individuais entre 4 horas antes e 36 horas depois.

Mburu et al. (1995) também verificaram larga variação entre o surgimento do pico de LH e o início do cio (12 horas, com variação entre -10 e + 32 horas). As ovulações, segundo a mesma pesquisa, ocorreram 35 horas (27 a 48 horas) após o pico de LH.

3.4 SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO E IA COM TEMPO FIXO

Devido à dificuldade de se saber o momento da ovulação e, conseqüentemente, o momento ideal da IA, tratamentos hormonais para a sincronização do estro e ovulação têm sido estudados. Essa sincronização seria uma interessante alternativa para facilitar o manejo no sistema de produção de suínos, e melhorar a performance reprodutiva, permitindo, assim, maior facilidade na observação de cio, uma IA extremamente precisa em relação à ovulação e, ainda,

uma diminuição do número de doses de sêmen (HÜHN; JOCHLE; BRUSSOW, 1996).

Dois caminhos básicos têm sido tomados para o controle farmacêutico do período de estro. Um dos métodos consiste na administração de hormônios para se induzir o cio e a ovulação ao mesmo tempo, em grupos de fêmeas em anestro ou pré-púberes. O outro seria a supressão da atividade ovariana para se retardar o estro. Com este método, o cio e a ovulação seriam retardados até a retirada do agente que impede a atividade ovariana. Ao se remover esta combinação, o estro e a ovulação aconteceriam sincronicamente em grupo de animais sexualmente maduros (DAY, 2000).

A gonadotrofina coriônica eqüina (eCG) adquire papel relevante em vários desses tratamentos, pois é uma glicoproteína que contém funções endógenas de LH e FSH, predominantemente de FSH (WAHNER; HÜHN, 1996). Seu uso assegura a sincronização de cios e a diminuição do intervalo desmama - cio.

Segundo Huhn; Jochle e Brussow (1996), o uso de eCG promoveu manifestação de cio em mais de 95% das marrãs e porcas com um intervalo desmama – cio (IDC) médio de 4,5 dias, e duração de cio de 53 horas.

Esses resultados são muito importantes, pois sabe-se que uma alta performance reprodutiva é alcançada quando o IDC estiver entre 3 e 5 dias. Uma simples dose de 750-800 UI de eCG, aplicada 24 horas após a remoção dos leitões, é capaz de promover suficiente crescimento folicular, induzindo o início do estro e a ovulação. Dependendo da ordem de parto, do estado nutricional e da raça do animal, essa dose pode ser ajustada entre 600 e 1000 UI (HÜHN; JOCHLE; BRUSSOW, 1996).

Segundo Wahner e Huhn (1996), as primíparas devem receber preferencialmente 1000 UI e as múltiparas 750-800 UI de eCG, 24 horas após o desmame.

A estimulação do estro com eCG pode ser complementada pela aplicação da gonadotrofina coriônica humana (hCG), do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) ou ainda do hormônio luteinizante (LH) para a indução da ovulação (BRUSSOW; RATKY, 1996; CARBONE, 2001; CANDINI et al., 1999; HÜHN; JOCHLE; BRUSSOW, 1996; PORTELLA, 2003; VIANA, et al., 2003; WAHNER; HÜHN, 1996; ZIECIK et al., 1996).

Em se tratando de indutores da ovulação, de acordo com Huhn; Jochle e Brussow (1996), as ovulações ocorreram, em média, 37 horas (24 a 40 horas), 36 horas (33 a 40 horas) e $35,1 \pm 4,8$ horas após injeção de 500 UI de hCG, de 300 UI de hCG associadas a 300 µg de GnRH e de 75 µg de GnRH, respectivamente. Resultados semelhantes, relacionados ao momento da ovulação, a qual foi induzida com 75 µg de GnRH (36,4 horas, com variação entre 29 e 38,5 horas), foram demonstrados também por Brussow et al. (1996). Nissen et al. (1995) relataram início das ovulações 40 ± 1 horas após tratamento com 750 UI de hCG. Os mesmos autores discutem sobre alguns problemas relacionados à aplicação de tratamentos hormonais. Segundo eles, o elevado grau de diversidade embrionária encontrado em fêmeas tratadas com hCG 76 horas após o desmame pode ter relação com a influência hormonal sobre a maturação dos oócitos. Tratamentos com hCG, assim como com GnRH, 76 horas após o desmame, podem causar sinais inconsistentes de estro, além disso, o uso de GnRH, antes dos primeiros sinais do estro, pode resultar em alta incidência de folículos anovulatórios. Já Lago demonstra que $8,39 \pm 4,58$

embriões por fêmea foram viáveis para o grupo que utilizou a combinação hormonal de 600 UI de eCG e 72 horas após 2,5 mg de LH. Comparando-se com o grupo controle, em que $11,25 \pm 4,58$ embriões foram classificados como viáveis, o trabalho indicou valores significativamente menores ($P = 0,028$) para o grupo em que foi usada a combinação hormonal (em fase de elaboração)¹. No experimento realizado por Portella (2003), os valores médios e desvios padrão do número total de leitões nascidos variaram entre $11,7 \pm 2,69$ e $10,86 \pm 2,31$ para fêmeas controles e tratadas, respectivamente, em que $P = 0,14$ não mostrou diferença estatística significativa, apesar da diferença numérica ser de 0,84 leitão a mais para as fêmeas do grupo controle, indicando também uma queda do número de leitões, quando usou-se a combinação hormonal de 600 UI de eCG e 5,0 mg de LH 72 horas após. Finalmente, o estudo indicou que a utilização de protocolos hormonais pode levar a uma discreta diminuição da fertilidade da fêmea.

Hunter e Picton (1995) demonstraram que a aplicação de 500 UI de hCG no início do cio em marrãs da raça Meishan não afetou a taxa de ovulação, mas tendeu a reduzir significativamente a porcentagem de sobrevivência embrionária, redução essa que é acompanhada, também, pelo aumento do comprimento e do peso placentário. Esses resultados indicaram que o encurtamento do intervalo entre início do cio e ovulação, e consequente alteração na maturação dos oócitos, são críticos para a prolificidade das fêmeas Meishan.

No entanto, Lambert et al. (1991) não notaram mudanças na sobrevivência embrionária em marrãs Large-White, após aplicação de hCG no início do cio.

¹ LAGO, V. **Efeitos combinados de gonadotrofinas exógenas e flusshing sobre o número de ovulações, viabilidade embrionária e cistos ovarianos, em marrãs púberes.** A ser editado pela EDUSP, 2003.

Provavelmente, este fato deva estar ligado à maior proximidade de ocorrência do pico pré-ovulatório de LH ao início do cio nestas fêmeas (DALIN et al., 1995; MBURU et al., 1995), ao contrário do que observado em fêmeas da raça Meishan, nas quais o pico de LH é tardio em relação ao início do cio (HUNTER et al., 1993).

O melhor intervalo para realização da IA, mantendo ótimos índices de fertilização, segundo Soede et al. (1995_a), seria entre 0 h e 24 h antes do momento da ovulação e, de acordo com Nissen et al. (1997), entre 28 h antes e 4 h após a ovulação. Huhn; Jochle; Brussow (1996) e Wahner e Huhn (1996) recomendam que a primeira IA seja realizada de 24 a 26 horas, e a segunda, de 40 a 42 horas após aplicação do indutor de ovulação.

Em contrapartida, Brussow e Ratky (1992) sugerem maiores estudos sobre a sincronização de ovulações e o uso de uma única IA na espécie suína.

A droga mais recentemente utilizada para sincronização da ovulação é o hormônio luteinizante (LH) suíno. Candini et al. (1999) utilizaram 5 mg de LH, promovendo uma boa sincronização da ovulação, $37,3 \pm 3,7$ horas após a aplicação de LH, Carbone (2002), utilizando também 5,0 mg de LH, obteve $116,17 \pm 9,89$ horas após o eCG, que foi aplicado 72 horas antes do LH, e Portella (2003) obteve um menor intervalo desmama – estro, quando fez o uso da combinação hormonal 600 UI de eCG no momento do desmame e, depois de 72 horas, 5,0 mg do mesmo LH ($97,46 \pm 11,39$ horas), comparando-se com o grupo controle ($104,1 \pm 16,04$ horas).

3.5 CISTOS OVARIANOS

A literatura que faz referência à ocorrência de cistos foliculares relacionados à puberdade em marrãs é escassa, além de apresentar citações que revelam resultados bastante variados. Tilton; Bates e Prather (1995) observaram a presença de cistos em 79% das fêmeas tratadas com 400 UI de eCG e 200 UI de hCG, enquanto que no grupo controle o índice foi de 12%.

Em marrãs à puberdade, tratadas com a mesma combinação hormonal utilizada no estudo, Gama (2003) refere-se à ocorrência de uma média de 1,32 cistos por animal. Carbone (2002), trabalhando também com marrãs à puberdade, para a mesma combinação hormonal, mas com dosagem diferenciada de LH, encontrou percentual de 8,72 % entre os animais tratados.

Os autores Knox et al.(2000), trabalhando com marrãs pré-puberes, citam freqüências de 9 e 13 % de cistos foliculares, maiores de 12 mm, utilizando PG 600 (400 UI eCG e 200 UI hCG) em aplicação intramuscular e subcutânea, respectivamente. Por outro lado, Tilton; Bates e Prather (1995) observaram em fêmeas impúberes de 140 a 150 dias de idade, induzidas a ovular com PG 600 (eCG), o percentual de 79% de incidência de cistos, enquanto que, no grupo controle, o índice foi de 12%.

4 MATERIAL E MÉTODO

Este capítulo subdivide-se nos seguintes itens:

4.1 LOCAL

O experimento foi realizado nas instalações do Laboratório de Pesquisa em Suínos da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, localizado no campus de Pirassununga.

4.2 ANIMAIS E INSTALAÇÕES

O Laboratório possui uma unidade de crescimento e terminação com 48 baias dotadas de comedouros individuais, bebedouros tipo chupeta e lâmina d'água. Cada baia tem capacidade para alojar 3 fêmeas (marrãs), na lotação de 1,5m²/fêmea. A unidade de Gestação conta com 84 gaiolas individuais, com bebedouro e comedouro do tipo canaleta.

Um total de 67 fêmeas pré-púberes da linhagem Camboroug 22 - Agrocères PIC[®], provenientes da Fazenda Paraíso Município de Patos de Minas - MG, foram divididas em três lotes de acordo com peso e idade. As fêmeas do primeiro lote foram levadas imediatamente para as gaiolas de gestação, enquanto que as demais foram alojadas nas baias de crescimento e terminação por 15 dias (segundo lote) e 30 dias (terceiro lote), aproximadamente, até completarem 140 dias de idade. No dia da transferência para o galpão de gestação, as fêmeas foram pesadas e, assim

como a idade, o peso foi levado em consideração para que houvesse uma distribuição de forma homogênea entre os tratamentos, de maneira que cada tratamento tivesse animais dos três lotes. Usou-se a média e o desvio padrão do peso e idade na hora da transferência, para a obtenção de lotes homogêneos.

4.3 MANEJO DOS ANIMAIS

As fêmeas pertencentes ao terceiro grupo e alojadas na unidade de crescimento e terminação receberam ração de recria *ad libitum* por 12 dias. Durante 3 dias, a ração de recria foi misturada com a de reposição e, em seguida, somente ração de reposição foi oferecida por mais 23 dias até o momento do abate. As formulações preconizadas pela empresa de genética dos animais (Agroceres[®]) foram baseadas em estudos precedentes, conduzidos nas instalações do Laboratório (CARBONE, 2002; MUNIZ, 2000).

As fêmeas do 1º e 2º grupos receberam apenas ração de reposição, oferecida *ad libitum* por 10 e 27 dias respectivamente, até o momento do abate.

Nas instalações de gestação, as fêmeas permaneceram por 10 dias até o abate.

Na tabela 1 são mostradas as formulações das rações de recria e reposição e, na tabela 2, os níveis nutricionais usados durante o período experimental.

Tabela 1 - Formulações das rações de recria e reposição fornecidas às fêmeas do experimento

Macro Ingredientes	Recria (%)	Reposição (%)
milho moído	64,10	66,64
farelo de soja 46/80	29,80	24,20
farelo de trigo	-	4,40
fosfato bicálcico	1,75	1,75
Calcário	1,05	0,85
Sal	0,50	0,50
óleo vegetal	2,00	1,00
Mineral suínos ^{® 1} 1 kg	0,10	0,10
Micro Ingredientes		
Px suínos Reprodução ^{® 1}	0,35	0,30
Pig Casc ^{® 1}	0,20	0,10
Pig Max ^{® 1}	0,05	0,06
Promocobre suínos MI ^{® 1}	0,10	0,10
Total	100,00	100,00

¹Produtos Agrocere[®]

Tabela 2 - Níveis nutricionais das rações de recria e reposição

	Recria	Reposição
Umidade (%)	12,17	12,30
Proteína (%)	18,70	17,00
Gordura (%)	4,91	4,10
Fibra bruta (%)	3,07	3,17
Cinzas (%)	6,06	5,78
Cálcio (%)	0,95	0,87
Fósforo total (%)	0,66	0,68
HOG M. E. (kcal/kg)	3.262,17	3.186,46

4.4 DETECÇÃO DA OVULAÇÃO

Para a determinação do momento da ovulação, foi utilizada a técnica de ultra-sonografia trans-cutânea na frequência de 5,0 MHz ou 3,5 MHz, fazendo-se uso do aparelho Scanner 100 Pie Medical®, com transdutor linear convexo.

Os exames ultra-sonográficos foram realizados no momento da aplicação do eCG, do LH e, 24 horas após aplicação do LH, seguiram-se novos exames a cada 6 horas, até a ocorrência da ovulação, de acordo com a representação esquemática (Figura 1).

As fêmeas foram alojadas em gaiolas de forma a permanecerem em estação. Quando apresentaram inquietude, prontamente ofereceu-se ração para evitar-se movimentos evasivos. No momento do exame, o transdutor foi coberto por gel (Carboximetilcelulose) para garantir-se a propagação do som, posicionando-se o aparelho no flanco direito, próximo ao ponto médio entre a articulação fêmuro-tíbio-patelar e a última costela, 10 cm acima do úbere. Foi feita uma varredura completa do abdômen na tentativa de se achar a melhor imagem do ovário (foto 1). A foto 2 mostra os pontos de referência considerados para localização dos ovários: a bexiga na posição cranial e as alças intestinais na posição caudal.

O momento da ovulação foi definido como o período de tempo médio entre os exames, quando da ocorrência da ovulação. O diagnóstico da ovulação foi determinado quando, em resposta ao exame ultra-sonográfico, nenhum folículo foi encontrado, ou quando o número de folículos foi menor que no exame anterior.

Foto 1 - Presença de folículos pré ovulatórios na área demarcada pela circunferência

Foto 2 - Folículos pré ovulatórios na área demarcada pela circunferência, com a bexiga localizada cranialmente e alças intestinais localizadas caudalmente

4.5 TRATAMENTOS

As fêmeas foram distribuídas em três grupos de tratamentos:

Grupo 1 – controle, com aplicação intramuscular de 600 UI de eCG^a e de 5 mg de LH^b, 72 horas após.

Grupo 2 - aplicação intramuscular de 600 UI de eCG^a e 2,5 mg de LH^b, 72 horas após.

Grupo 3 – aplicação intramuscular de 600 UI de eCG^a e de 1.25 mg de LH^b, 72 horas após.

Obs: ^aNovormon 5000[®], Syntex S.A., Argentina; ^bLutropin – V[®], Vetrepharm Canada Inc., Canadá.

4.6 DETECÇÃO DE CIO

O diagnóstico de estro foi realizado duas vezes ao dia, com intervalos de 8 horas (8:00 e 16:00), e definido através do teste de tolerância positivo na presença do macho, com ou sem apresentação prévia de edema e hiperemia da vulva, ou comportamento característico de pré-estro. Iniciou-se a observação dos sinais de estro no dia da aplicação do eCG, sendo que o final foi caracterizado pelo término do reflexo de tolerância ao macho. O macho foi conduzido até as gaiolas onde se encontravam as fêmeas, estimulando-as através do contato naso-nasal para identificar o estro. Dois cachacos com idade aproximada de 18 meses foram utilizados alternadamente.

Figura 1 - Representação esquemática dos tratamentos com gonadotrofinas e momento da realização do ultra-som.

LH: 5 mg de LH (tratamento 1), 2,5 mg de LH (tratamento 2) e 1.25 mg de LH (tratamento 3).

eCG: momentos da aplicação do eCG para todos tratamentos.

US: exames ultra-sonográficos na aplicação de eCG, na aplicação de LH; 24 h após aplicação de LH e, depois, à cada 6 h, até a ocorrência da ovulação.

4.7 INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL

As fêmeas foram inseminadas em dois esquemas, (E1) e (E2). (E1) com apenas uma dose de sêmen e (E2) com duas doses. O sêmen foi oriundo da central de inseminação artificial de uma granja comercial localizada na cidade de Descalvado, com as doses inseminantes na concentração de 3×10^9 de espermatozoides por 100 ml de sêmen. Os exames andrológicos foram realizados logo após a colheita para garantir uma boa qualidade do sêmen. O esquema (E1)

recebeu uma única dose 36h após a aplicação de LH. O esquema (E2) recebeu a primeira dose 24h e a segunda dose 36 h após a aplicação de LH. No momento da inseminação, os procedimentos de higienização da vagina foram aplicados. Em seguida, foi colocado gel lubrificante (KY gel johnson&johnson®) na ponta das pipetas para que fossem introduzidas sem provocar lesões no trato genital das fêmeas. A pipeta foi fixada na cérvix e o sêmen deslocado para o útero lentamente (cerca de 3 min.).

4.8 ABATE DOS ANIMAIS

Os animais foram abatidos cinco dias após a inseminação artificial, no próprio abatedouro Escola do Campus, com aproximadamente 150 dias de idade. Foi feito o atordoamento com choque elétrico e, em seguida, a sangria. Após certificar-se que o animal estava morto, abriu-se a cavidade abdominal e retirou-se o aparelho reprodutivo completo com o animal ainda em decúbito. Em seguida, todos os aparelhos reprodutivos foram levados ao laboratório.

4.9 CONTAGEM DE CORPOS LÚTEOS E AVALIAÇÃO DOS EMBRIÕES

No laboratório, os ovários foram separados dos cornos uterinos, ocasião em que contou-se o número de corpos lúteos, assim como o número de cistos presentes. Quando necessário, os ovários foram abertos para certificar-se que não havia corpos lúteos inclusos.

Cada oviduto foi lavado com 10 ml de solução salina fosfato (PBS), aquecida em banho maria a 37°C, do infundíbulo em direção ao útero. Posteriormente, os ovidutos foram separados do útero e cada corno uterino foi lavado duas vezes, sendo que na primeira lavagem, foi utilizado 20ml e, na segunda, 30ml de PBS. A colheita foi feita em duas placas separadas para quantificação e qualificação das estruturas encontradas. A taxa de recuperação (TR) foi determinada pelo número total de embriões e oócitos encontrados (ET) em relação ao número total de corpos lúteos (STEVERINK et al., 1997). A avaliação dos embriões foi realizada por estéreo-microscopia, em aumento de 40 x e baseada, primeiramente, na presença e uniformidade do espaço perivitelíneo, com blastômeros uniformemente distribuídos, nos estágios de desenvolvimento correspondentes ao tempo entre a ovulação e a colheita (HUNTER, 1974). Embriões que não obedeceram aos dois primeiros critérios de avaliação foram classificados como degenerados. A taxa de fecundação (TF) foi calculada com base no número de embriões (degenerados e viáveis) dividido pelo número total de embriões mais oócitos, e a taxa de viabilidade embrionária (TVE), pelo número de embriões com desenvolvimento normal dividido pelo número total de embriões mais oócitos.

4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados utilizando-se o programa computacional Statistic Analysis System (SAS INSTITUTE, 1996), sendo apresentadas as médias, os desvios padrão e valores mínimo e máximo. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado.

Todas as variáveis foram submetidas ao teste de normalidade dos resíduos, para se verificar se estas obedeciam à distribuição normal, e ao teste de Bartlett para verificação da homogeneidade das variâncias.

Para as características idade e peso das marrãs, fêmeas que apresentaram estro, ocorrência de cistos foliculares, duração do estro, intervalo entre aplicação de eCG – estro, intervalo entre aplicação de LH – ovulação, número de corpos lúteos, taxa de fecundação, taxa de recuperação, taxa de viabilidade embrionária e estruturas totais, utilizou-se análise de variância. Para as variáveis que envolveram as averiguações relacionadas aos embriões, incluindo as taxas de fecundação, recuperação, viabilidade embrionária e as estruturas totais, o esquema de análise incluiu um outro fator além da aplicação hormonal, que foi a inseminação artificial, realizada em 1 ou 2 inseminações em tempo fixo. Deste modo, além dos efeitos isolados, houve análise da interação correspondente a um esquema fatorial com 3 níveis para aplicação hormonal e 2 níveis para inseminação artificial.

5 RESULTADOS

Quanto aos resultados, o trabalho subdivide-se nos seguintes itens:

5.1 INDUÇÃO DA PUBERDADE

Na tabela 3 são apresentados os valores médios, desvios padrão e índices máximos e mínimos (entre parênteses) da idade (em dias) e peso (em quilogramas) das marrãs tratadas com diferentes doses de LH.

Tabela 3 - Valores médios da idade (dias), peso (Kg), desvio padrão e índices mínimos e máximos no momento da aplicação dos tratamentos

	Tratamentos		
	T1	T2	T3
Idade	137,19± 3,97	137,69± 4,00	137,26± 4,74
(d)	(131 - 144)	(131 – 144)	(130 – 144)
Peso	87,05± 7,64	86,40±6,47	86,72± 6,58
(kg)	(71,00 – 102,00)	(70,60 – 97,80)	(72,60 – 97,80)

Estes valores, aqui mostrados num momento prévio aos efeitos dos tratamentos, retratam o grau de homogeneização da amostra na metodologia experimental proposta.

5.2 MANIFESTAÇÃO DE ESTRO E OCORRÊNCIA DE CISTOS FOLICULARES

Observou-se percentual de fêmeas em estro de 42,85% no T1, 60,87% no T2 e 52,18% no T3, os quais foram semelhantes entre si ($P=0,4181$), indicando que não houve diferença estatística entre os três tratamentos.

Em relação às fêmeas que apresentaram cistos ovarianos (no exame macroscópico dos ovários no dia do abate), os percentuais de cada tratamento foram 33,33% (7 fêmeas de 21) para o T1, 39,13% (9 fêmeas de 23) para o T2 e, finalmente, 39,13% (9 fêmeas de 23) para o T3 ($P=0,9057$), não havendo diferença estatística entre os três tratamentos.

A tabela 4, e figuras 2 e 3, indicam valores relacionados aos percentuais médios de fêmeas que manifestaram estro e daquelas que apresentaram cistos.

Tabela 4 - Percentuais médios de fêmeas em estro e que apresentaram cistos ovarianos de acordo com os tratamentos

Variável	Tratamento			
	T1	T2	T3	P
Estro (%)	42,85%	60,87%	52,18%	$P=0,4181$
N	9/21	14/23	12/23	
Cistos (%)	33,33%	39,13%	39,13%	$P=0,9057$
N	7/21	9/23	9/23

Figura 2 - Distribuição das fêmeas de acordo com os tratamentos em relação ao percentual de estro observado

Figura 3 - Distribuição das fêmeas que apresentaram cistos foliculares de acordo com os tratamentos

5.3 DURAÇÃO DO ESTRO (DE), INTERVALOS ENTRE APLICAÇÃO DE eCG E A MANIFESTAÇÃO DE CIO (eCGCIO), ENTRE APLICAÇÃO DE LH E OVULAÇÃO (LHOV) E NÚMERO DE CORPOS LÚTEOS (NCL)

Em relação à duração do estro (DE), os tratamentos não evidenciaram diferença estatística significativa entre si, com duração média de $41,44 \pm 16,30$ horas (T1), $48,57 \pm 16,29$ horas (T2) e $39,33 \pm 11,42$ horas (T3) ($P = 0,2653$).

No intervalo entre a aplicação do eCG aos 140 dias de idade e manifestação de estro (eCGCIO) em horas, não verificou-se diferença estatística entre os tratamentos ($P=0,6954$).

No intervalo entre o tratamento e a ovulação (LHOV), não foram observados valores significativamente diferentes entre as médias dos tratamentos, sendo (T1) $37,17 \pm 4,07$, (T2) $38,26 \pm 2,84$ e (T3) $36,25 \pm 5,69$ ($P=0,3733$). Porém, quando foi aplicado o teste de Bartlett para homogeneidade das variâncias, os desvios padrões mostraram-se estatisticamente diferentes entre si ($P=0,0189$), com valor significativamente menor para o tratamento 2, em relação aos tratamentos 1 e 3.

Quanto ao número de corpos lúteos (NCL), nas marrãs do (T1) o valor médio foi de $9,61 \pm 5,43$, semelhante ao encontrado nas fêmeas pertencentes ao (T2) $9,86 \pm 3,32$ e (T3) $8,13 \pm 5,52$ ($P=0,4295$).

Na tabela 5 são mostradas, além dos valores médios, as dispersões através do desvio padrão e dos índices máximos e mínimos das características: intervalo entre aplicação do eCG e a apresentação do estro, intervalo entre aplicação de LH e ovulação, duração do estro e número de corpos lúteos.

Tabela 5 - Valores médios, desvios padrão e índices mínimos e máximos das características: Intervalo aplicação do eCG – estro (eCGCIO horas), intervalo tratamento – ovulação (LHOV, horas), duração do estro (DE, horas) e número de corpos lúteos (NCL)

	Tratamento			
	T1	T2	T3	P
ECGCIO	85,33 ± 12,64	84,40 ± 17,50	89,14 ± 14,66	0,6954
(horas)	(72 - 104)	(48 - 106)	(48 - 104)	
LHOV*	37,17 ± 4,07 ^{a b}	38,26 ± 2,84 ^b	36,25 ± 5,69 ^a	0,3733
(horas)	(29 - 43,5)	(32 - 44)	(26 - 44)	
DE	41,44 ± 16,30	48,57 ± 16,29	39,33 ± 11,42	0,2653
(horas)	(17 - 72)	(24 - 72)	(24 - 56)	
NCL	9,61 ± 5,43	9,86 ± 3,32	8,13 ± 5,52	0,4295
(n°)	(1 - 25)	(1 - 16)	(0 - 20)	

Desvios padrão seguidos de letras sobrescritas diferentes na mesma linha diferem estatisticamente entre si (P < 0,05).

* teste de Bartlett .

Nas figuras 4, 5, 6 e 7 são mostradas as distribuições das fêmeas de acordo com os tratamentos relacionados às características observadas: duração do estro, intervalo aplicação do eCG – estro, intervalo tratamento – ovulação e número de corpos lúteos.

Figura 4 - Distribuição das fêmeas de acordo com os tratamentos em relação à duração do estro, dados em horas

Figura 5 - Distribuição das fêmeas de acordo com os tratamentos em relação ao intervalo entre aplicação do eCG e manifestação do estro, dados em horas

Figura 6 - Distribuição das fêmeas de acordo com os tratamentos em relação ao intervalo entre tratamento e ovulação, dados em horas

Figura 7 - Distribuição das fêmeas de acordo com os tratamentos em relação ao número de corpos lúteos

5.4 RELAÇÃO ENTRE DOSES DE SÊMEN, QUALIDADE E QUANTIDADE DOS EMBRIÕES

Quando analisamos as variáveis taxas de recuperação (TR), taxa de fecundação (TF), taxa de viabilidade embrionária (TVE) e estruturas totais (ET), tanto em relação ao número de doses de sêmen quanto em relação à dose de LH, não observamos diferenças estatísticas entre os valores. Porém, foram observadas interações entre dose de LH e número de inseminações (TRAT X NIA), para as variáveis TVE ($P=0,0036$) e TF ($P= 0,0116$), como ilustrado nas figuras 8 e 9, respectivamente. Os valores médios e desvios padrão da taxa de fecundação, taxa de viabilidade embrionária, taxa de recuperação e estruturas totais, de acordo com o número de doses de sêmen, são indicados na tabela 6. Na tabela 7, são apresentados os valores das mesmas variáveis de acordo com a dose de LH.

Tabela 6 - Valores médios e desvios padrão da taxa de fecundação (TF), taxa de viabilidade embrionária (TVE), taxa de recuperação (TR) e estruturas totais (ET), de acordo com uma ou duas inseminações

Nº de IA	Variáveis			
	TVE(%)	TR(%)	TF(%)	ET
1	59,28 ± 6,91	36,81 ± 5,21	72,60 ± 7,06	3,41 ± 0,57
2	62,25 ± 6,26	36,91 ± 4,62	79,33 ± 6,26	3,77 ± 0,50
P	0,7492	0,9883	0,4793	0,6376

Tabela 7 - Valores médios e desvios padrão da taxa de fecundação (TF), taxa de viabilidade embrionária (TVE), taxa de recuperação (TR) e estruturas totais (ET), de acordo com o tratamento (dose de LH)

Nº de doses de LH	Variáveis			
	TVE(%)	TR(%)	TF(%)	ET
T1	60,51 ± 8,18	38,09 ± 6,17	73,50 ± 8,36	3,56 ± 0,67
T2	68,64 ± 7,94	40,28 ± 5,98	89,93 ± 8,11	3,95 ± 0,65
T3	53,14 ± 7,8	32,20 ± 5,94	64,46 ± 8,05	3,26±0,65
P	0,3889	0,6150	0,0867	0,7541

Figura 8 - Gráfico das interações entre tratamento e nº de doses de sêmen para a variável TVE

Figura 9 - Gráfico das interações entre tratamento e nº de doses de sêmen para a variável TF

6 DISCUSSÃO

Procurando dar continuidade à linha de estudos envolvendo indução da puberdade e sincronização da ovulação em marrãs, a pesquisa objetivou averiguar a indução da maturidade sexual em fêmeas de uma linhagem sintética híbrida, através da utilização de gonadotrofinas exógenas, intentando mimetizar a resposta endógena. A indução, de certa forma, foi aplicada numa idade da marrã mais precoce e menos convencional do que comumente se realiza nos sistemas intensivos de produção. Desta feita, o que se objetivou, pela metodologia experimental implantada, foi averiguar-se a menor e mais eficiente dose de LH suíno para indução tanto da puberdade quanto do estro, sincronização da ovulação e indução do primeiro estro real, aos 140 dias de idade, e não o observado na prática, a partir dos 150 dias. Os efeitos da aplicação das gonadotrofinas foram avaliados quanto à positividade na resposta da própria indução e sincronização com medição de parâmetros específicos. Desse modo, no discorrer da discussão, procuramos apresentá-los em itens específicos que caracterizam os parâmetros estudados.

6.1 MANIFESTAÇÃO DE ESTRO

O emprego da combinação hormonal eCG e LH suíno purificado tem sido desenvolvido no Laboratório de Pesquisas em Suínos da FMVZ-USP, em trabalhos envolvendo tanto marrãs, fêmeas de primeiro, segundo ou mais partos, com

resultados que, de certa forma, validam o uso das referidas gonadotrofinas. No primeiro estudo, Candini et al. (1999) utilizaram porcas de terceiro ou mais partos, e os resultados mostraram intervalos desmama-estro significativamente menores nas porcas tratadas com a combinação hormonal eCG – LH, em comparação às porcas controle que não receberam nenhum tratamento hormonal, comprovando-se a sincronização pela menor dispersão dos valores, que se evidenciou em 90,97% das fêmeas com manifestação de estro. No estudo de Carbone (2002), testando a referida combinação hormonal contra a aplicação de eCG e HCG em dose única ou em doses separadas, concluiu-se que a aplicação de 600 UI de eCG e 5 mg de LH porcino mostrou-se mais eficiente na indução e sincronização do estro e ovulação em marrãs com 126 dias de idade. Em seguida, o modelo proposto avaliou os efeitos da redução das doses de LH purificado para se diminuir o custo da combinação.

Verificou-se que os tratamentos T1, T2 e T3 (respectivamente, 5,0 mg, 2,5 mg e 1,25 mg de LH suíno 72 horas depois da aplicação de 600 UI de eCG), induziram semelhante percentual de fêmeas ao primeiro estro, sendo os valores, respectivamente, de 42,85%, 60,86% e 52,17% ($P = 0,4181$), resultados estes inferiores aos obtidos por Carbone (2002), que, aplicando o mesmo protocolo hormonal, encontrou percentual de 82,61% de fêmeas que manifestaram estro em marrãs com 126 dias de idade. Lago, no entanto, usando o mesmo protocolo hormonal com 2,5 mg de LH, obteve valores semelhantes, com percentual de 43% das marrãs manifestando estro, com 152 dias de idade em média (em fase de elaboração)¹. Comparando-se com dados da literatura, há semelhança nos percentuais, uma vez que são citados valores que oscilam entre 50 a 70% (BRITT et

¹LAGO, V. **Efeitos combinados de gonadotrofinas exógenas e flusshing sobre o número de ovulações, viabilidade embrionária e cistos ovarianos, em marrãs púberes.** A ser editado pela EDUSP, 2003.

al., 1989; KNOX et al., 2000; KNOX e TUDOR, 1999; TILTON; BATES; PRATHER, 1995), utilizando-se diferentes combinações hormonais.

É importante ressaltar que o percentual de fêmeas que manifesta estro, após aplicação de gonadotrofinas, representa o grau diferenciado de sincronização, pois a resposta à aplicação é manifestada num período curto de até 4 dias, concentrada entre o 3º e o 4º dia. Essa resposta vem representada principalmente por fêmeas que manifestam estro numa expressão precoce de sua maturidade sexual, em comparação às demais; percentual esse que é equivalente ao dobro da resposta obtida quando a indução é feita somente pela presença do macho, conforme confronto com dados de dispersão apresentados por Muniz (2000).

Acrescente-se, de outro modo, que a indução do estro e da ovulação em fêmeas suínas depende do hormônio aplicado, da dose e da via de administração. Diferenças na manifestação do estro e não da ovulação sugerem o envolvimento de estrógeno (KNOX et. al., 2000). Por sua vez, Gunthrie et al. 2(1997; apud KNOX et al., 2000) relatam que muitas fêmeas pré-púberes tratadas com gonadotrofinas não expressam sinais de estro, mesmo quando há desenvolvimento folicular o que é confirmado por Viana et al. (2003), que verificaram em 66 marrãs sincronizadas aos 146 dias de idade, utilizando-se do mesmo protocolo hormonal (eCG e LH), a não manifestação do estro subsequente em 26 delas. Em 15 fêmeas das 26 houve presença de Corpos Lúteos e/ou Corpos Álbicans, sendo que nas 11 fêmeas restantes não foram evidenciadas nos ovários estruturas que caracterizassem a maturidade sexual. Já Hughes (1998) relatou maior dispersão de manifestação de

² GUNTHERIE, H. D., PURSEL, V. G., WAL, R. J. **Porcine follicle-stimulating hormone treatment of gilts during na altrenogest-synchronized follicular phase: Effects on follicles growth, hormone secretion, ovulation, and fertilization.** *Journal Animal Science*, v. 75, p. 3246-3254.

estro na medida em que diminuía-se a idade à indução. Informações sobre fêmeas híbridas de modernas linhagens revelam que a maioria delas manifesta o estro após o início da indução com o macho, em período de três a quatro semanas (FOXCROFT e AHERNE, 2000; MUNIZ, 2000). Gunthrie³ et al. (1997; apud KNOX et al., 2000) comentam que as concentrações de estradiol plasmático geralmente são menores para alguns tratamentos com gonadotrofinas, o que se relaciona à menor manifestação de estro. Porém, a concentração de estradiol folicular não diferiu entre os tratamentos. Sugere-se que a liberação de estrógeno pelos folículos é, de alguma maneira, dependente do tipo de estimulação gonadal.

A habilidade para ovular e expressar estro, em resposta a uma determinada dose de hormônio, pode depender também do estágio de maturidade ovariana e hipotalâmica (KNOX et al., 2000). Driancourt (2001) infere que a razão pela qual marrãs pré-púberes são induzidas ao estro 4 a 5 dias após a aplicação de gonadotrofinas, deve-se ao fato de que os hormônios atuam sobre folículos médios e grandes, que se encontram nos ovários no momento da indução. Estes folículos, uma vez presentes, têm a capacidade de dar continuidade ao processo de maturação, de produzirem estrógeno e de ovularem e, se em número suficiente, produzirem níveis adequados de estrógeno para induzir o estro.

Uma justificativa para a não manifestação de estro poderia estar associada à ação das gonadotrofinas em induzir a ovulação dos folículos com tamanho suficiente para responderem. O curto intervalo entre aplicação e ovulação pode impedir o

³GUNTHRIE, H. D., PURSEL, V. G., WAL, R. J. **Porcine follicle-stimulating hormone treatment of gilts during an altrenogest-synchronized follicular phase: Effects on follicles growth, hormone secretion, ovulation, and fertilization.** *Journal Animal Science*, v. 75, p. 3246-3254.

estrógeno de atingir concentrações altas o suficiente para induzir estro, ou ter falhado em induzir o estro na duração normal (YANG 4 et al., 1987; apud KNOX et al., 2000). As diferentes respostas de marrãs de idades semelhantes à mesma dose de hormônio sugerem que, conforme a maturação sexual, os sistemas de controle da ovulação e estro desenvolvem-se gradualmente, de forma independente e em momentos distintos (KNOX et al., 2000). Estas observações são interessantes pelo fato de que as respostas em percentuais de fêmeas manifestando estro após aplicação de hormônios exógenos são variadas.

Tais informações fundamentam os aspectos endócrinos ligados à maturidade sexual, demonstrando a dispersão natural que ocorre nas fêmeas, na faixa etária de indução realizada.

6.2 CISTOS OVARIANOS

A ocorrência de cistos ovarianos é, de um modo geral, freqüente em fêmeas suínas induzidas à ovulação com ou sem aplicação hormonal, havendo maior variação nos casos de uso de hormônios exógenos. Na maioria dos trabalhos relacionados à indução da puberdade em marrãs, os autores não observaram ou não relataram a ocorrência de cistos foliculares. O experimento revelou percentual de 33,33% para o T1, 39,13% para o T2 e 39,13% para o T3 ($P=0,9057$) de marrãs que apresentaram cistos no momento do abate, não havendo diferença estatística significativa entre os tratamentos. Porém, estes resultados são superiores aos encontrados por Carbone (2002), em que o tratamento com aplicação de 5,0 mg de

⁴YANG, H., RODWAY, R. G., VARLEY, M. A. The influence of different doses of oestradiol benzoate on the attainment of puberty in gilt. **Animal Production**, V. 44, p. 285-291.

LH 72 horas depois do eCG obteve 8,7% de fêmeas que apresentaram cistos ovarianos. O experimento de Carbone (2002) foi realizado em condições idênticas ao presente experimento, com animais de mesma genética, no mesmo local, com o mesmo protocolo hormonal e com a mesma alimentação, porém, seu objetivo era testar diferentes combinações hormonais, sendo que os melhores resultados foram obtidos com a aplicação de eCG e LH. Já Lago, trabalhando com linhagem distinta, observou percentual de 18,42% para o tratamento sem aplicação hormonal, e 15,15% para o tratamento com hormônio ($P=0,71$), usando-se a dose já diminuída de LH (2,5 mg) (em fase de elaboração)⁵. Os resultados relacionados a cistos ovarianos ressaltam a necessidade de estudos aprofundados sobre a gênese da degeneração cística, pois não podemos inferir a sua influência na fertilidade futura da fêmea. No estudo realizado por Lago, as marrãs foram induzidas à puberdade com 152 dias de idade e, em adição, receberam uma nova aplicação da combinação hormonal no segundo estro, quando foram inseminadas e abatidas com 5 dias de gestação (em fase de elaboração)⁵. Os resultados de Lago (em fase de elaboração)⁵ assemelham-se aos de Carbone (2002), porém diferenciam-se dos percentuais encontrados no presente experimento. Estudos mais concretos e específicos com cistos ovarianos estão sendo realizados no LPS. Averiguações preliminares constataram que a combinação de eCG e LH revelou menor incidência de cistos em apenas um dos ovários, em marrãs que atingem a puberdade aos 130 dias de idade, cujo percentual foi de 15,05%, valor este dentro da faixa de incidência de cistos encontrada na literatura, a qual oscila de 4,6% a 18,5% em marrãs

⁵ LAGO, V. **Efeitos combinados de gonadotrofinas exógenas e flusshing sobre o número de ovulações, viabilidade embrionária e cistos ovarianos, em marrãs púberes.** A ser editado pela EDUSP, 2003.

descartadas por infertilidade (CARBONE et. al., 2001). Para os outros parâmetros medidos, como peso dos ovários, número de cistos e presença de ovário policístico, não houve diferença estatística significativa. Nesse estudo foi apresentada uma classificação da degeneração, considerando ovário policístico direito, ovário policístico esquerdo, presença de cistos nos dois ovários e presença de cistos em um dos ovários. Os percentuais maiores nesta faixa etária foram os que se encontravam nas classificações em que cistos estavam presentes em um ou dois ovários. Essas informações são importantes para se definir os efeitos do cisto na fertilidade futura da fêmea. Estudos seqüenciais estão sendo realizados para se definir a gênese do processo da degeneração cística, bem como a influência da presença de cistos no processo reprodutivo.

6.3 NÚMERO DE CORPOS LÚTEOS

O número de ovulações representado pela quantidade de Corpos Lúteos (CL) não mostrou diferença estatística significativa ($P=0,4295$) entre os três tratamentos propostos. Obteve-se $9,61 \pm 5,043$ para T1, $9,86 \pm 3,32$ para T2 e $8,13 \pm 5,52$ para T3, assemelhando-se aos de Carbone (2002), sendo $12,61 \pm 4,92$ CLs no tratamento que utilizou 600 UI de eCG e 5,0 mg de LH em marrãs com 126 dias de idade (1º estro); aos de Viana et al. (2003), que usou a mesma combinação hormonal aplicada em marrãs com 146 dias e encontrou valores de $16,31 \pm 2,91$ CLs para marrãs ao segundo estro; e aos de Lago, que encontrou $13,23 \pm 4,92$ CLs

utilizando 2,5 mg de LH 72 horas após 600 UI de eCG em marrãs com 156 dias de idade e também no segundo estro (em fase de elaboração)⁶.

Os resultados obtidos no estudo, indicados pela não significância, demonstram a não influência da dose do LH nesse parâmetro, havendo um pequeno diferencial numérico em favor do tratamento 2, relacionado à média e também ao desvio padrão, sendo este último indicativo de maior homogeneidade de respostas da dosagem. Em fêmeas induzidas somente com auxílio do macho, aos 154 dias, e submetidas ou não à restrição alimentar, utilizando-se flushing e inseminação nos 2º e 3º cios, revelaram no 2º estro valores de $14,60 \pm 5,78$ CLs (MUNIZ, 2000). De certa forma, assemelham-se aos valores de Lago, o que ratifica a semelhança com dados obtidos no 1º estro dentro de uma escala de aumento da taxa de ovulação do 1º ao 2º estro (em fase de elaboração)⁶.

6.4 INTERVALO LH - OVULAÇÃO

No presente experimento, os intervalos LH – ovulação foram: $37,17 \pm 4,07$ horas para T1, $38,26 \pm 2,84$ horas para T2 e, para T3, $36,25 \pm 5,69$ horas. Apesar das médias não terem mostrado diferença estatística significativa entre si ($P=0,3733$), as variâncias, segundo o teste de Bartlett, foram estatisticamente diferentes, sendo que o tratamento em que foi usado 2,5 mg de LH foi o que obteve o menor desvio padrão, mostrando que as fêmeas tiveram um grau de sincronização da ovulação maior do que em T1 e T3. Esses dados são importantes para definirmos a

⁶ LAGO, V. **Efeitos combinados de gonadotrofinas exógenas e flushing sobre o número de ovulações, viabilidade embrionária e cistos ovarianos, em marrãs púberes.** A ser editado pela EDUSP, 2003.

inseminação artificial em tempo fixo, pois quanto menor a dispersão, mais próximo será a IA da ovulação.

Os dados do presente experimento assemelham-se aos resultados obtidos por Viana (2001), em que foram usadas porcas de segundo parto em diante, com o intervalo entre aplicação de LH e ovulação de $39,22 \pm 7,6$ horas. Tais dados também estão de acordo com o experimento de Candini et al. (1999) e com os resultados obtidos por Viana et al. (2003), em que o intervalo aplicação de LH – ovulação foi de $36,09 \pm 3,99$. O protocolo hormonal usado nos três últimos experimentos citados foi a aplicação de 600 UI de eCG e, 72 horas depois, 5,0 mg de LH. Vale notar que o experimento de Viana et al. (2003) foi realizado com marrãs de mesma genética, no mesmo local, com o mesmo aporte nutricional, induzindo-se as marrãs à puberdade com 146 dias de idade em média, condições essas muito semelhantes às do presente estudo, o que possibilita uma comparação efetiva entre os resultados.

O pico pré-ovulatório do hormônio luteinizante (LH) tem se mostrado um interessante parâmetro endócrino para determinação do momento da ovulação, a qual ocorre 42 ± 5 e 44 ± 3 horas após o pico do LH, segundo Helmond; Aarnink e Oudenaarden (1986); Soede; Helmond e Kemp (1994), respectivamente. Entretanto, Dalin et al. (1995), estudando o desenvolvimento do estro e a atividade ovariana através de ultra-sonografia trans-retal e níveis plasmáticos de LH, mostraram que as ovulações ocorreram $28 \pm 8,4$ horas (8 a 32 horas) após o pico pré-ovulatório de LH. Este pico de LH, por sua vez, aconteceu, em média, $13 \pm 12,5$ horas após o início do cio, com variações individuais entre 4 horas antes e 36 horas depois. Esses dados

referentes à ovulação nos levam a inferir que, apesar da ovulação na fêmea suína possuir uma certa variabilidade, a determinação mais precisa do momento da inseminação é essencial para a otimização da fertilização. A esse respeito, os resultados aqui obtidos com indução da puberdade e sincronização da ovulação encontram-se fundamentados nas informações de Dalin et. al. (1995), quanto ao intervalo início do cio – ovulação, considerando-se que, após a aplicação do LH, o início do estro tornou-se bem próximo, sendo, desse modo, um indicativo de predição para o momento da ovulação. A partir da interpretação dos estudos de Dalin et. al. (1995), nos foram oferecidos subsídios para que pudéssemos dar continuidade aos nossos estudos com sincronização da ovulação no sentido de se estabelecer com maior precisão o momento ideal para a IA e a fertilização.

Em relação ao hCG e GnRH (HUNTER, 1967; DZIUK, 1970; SOEDE; NOORDHUIZEN; KEMP, 1992; HÜHN; JOCHLE; BRUSSOW, 1996), os dados também mostram concordância.

6.5 EMBRIÕES

No experimento, os valores das variáveis TVE e TF relativas à classe número de inseminações artificiais, para 1 dose de sêmen foram $59,28 \pm 6,91$ e $72,60 \pm 7,06$, respectivamente, e para 2 doses, $TVE=62,25 \pm 6,26$ e $TF=79,33 \pm 6,26$, não havendo diferença estatística significativa e mostrando-nos que a quantidade de oócitos que foram fecundados foi semelhante tanto para 1 IA quanto para 2 IAs. No estudo realizado por Portella (2003), com mesma combinação hormonal (eCG e LH) em porcas de 1º e 2º partos, inseminadas em tempo fixo, também não foi observada

diferença no tamanho de leitegada para 1 e 2 IAs, da mesma forma que no experimento de Candini et al. (1999), em porcas de 3 ou mais partos.

Independentemente do número de doses de sêmen, os valores relativos às doses de LH, nas variáveis TVE e TF, não revelam diferença estatística significativa, destacando-se o diferencial do T2 para T1 e T3 de aproximadamente 8% e 15%, respectivamente.

As médias gerais das TR e TF foram de 36,89% e 75,96%, respectivamente, sendo que a TR não foi satisfatória quando comparamos com os dados de Viana (2001), que utilizou porcas de 1º parto em diante e a mesma combinação hormonal, obtendo 84,52% de TR, e também quando comparamos com os dados já obtidos anteriormente por Soede et al., (1995_b); Steverink et al., (1997). A TF, por outro lado, esteve de acordo com o valor obtido por Viana (2001) (79%). A taxa de recuperação de embriões foi semelhante para número de doses de sêmen e, apesar de ter sido baixa, não deve ter influenciado os resultados das taxas de fecundação e de viabilidade embrionária.

Segundo os resultados de TF e TVE obtidos por Viana (2001), é possível a ocorrência de espermatozóides viáveis no trato genital da fêmea suína, em um intervalo de até 36 horas entre as inseminações. Na literatura consultada, o tempo máximo de viabilidade espermática foi de 24 horas (NISSEN et al., 1997; SOEDE et al., 1995_a), ou ainda, para outros autores, de 16 horas (UEMOTO et al., 1999) ou 12 horas (WABERSKI et al., 1994). Considerando-se que as inseminações ocorreram dentro de um intervalo de até 2 horas antes da ovulação, podemos afirmar que, no momento da ovulação, havia espermatozóides viáveis no trato genital das fêmeas, tanto para marrãs inseminadas com 1 dose ou 2 doses de sêmen.

Houve uma interação significativa entre número de doses de sêmen e Tratamento, conforme bem demonstra as figuras 8 e 9, indicando que, na medida em que aumentava a dose de LH para 2 IAs, a TVE igualmente aumentava. O contrário ocorria para 1 IA, em que verificava-se queda da viabilidade na medida em que era aumentada a dose de LH. Para a variável TF, com 2 IAs, ocorreu um aumento de T1 para T2 e, em seguida, queda de T2 para T3. Quando utilizamos 1 IA, a queda da TF ocorreu de T1 para T2 e T3. Observa-se da análise desses dados que, aumentando-se a dose de LH, verifica-se diminuição da TVE e da TF quando realizada 1 IA. Ao serem utilizadas 2 IAs, o aumento da dose de LH provocou aumento das TVE e TF, seguido de posterior decréscimo.

O experimento não pressupunha e nem tampouco esperava a interação desses fatores. Ao contrário, o objetivo inicial consistia na análise individual dos dados, de forma a se isolar os resultados relativos à variável “doses de LH” da variável “número de doses de sêmen”. Tal interação passou a ser um efeito não justificado, daí porque necessitar-se de estudos mais aprofundados e mais elaborados, relacionados à metodologia e ao delineamento experimental para que essas evidências possam ser avaliadas com segurança, quando falamos sobre inseminação artificial em tempo fixo em marrãs pré-púberes.

7 CONCLUSÕES

Os resultados do presente estudo permitem as seguintes conclusões:

- A indução da puberdade em fêmeas suínas, realizada a partir dos 140 dias de idade, através da utilização das gonadotrofinas eCG e LH, mostrou-se efetiva.
- A combinação hormonal eCG e LH constitui um instrumento eficiente na sincronização do estro em marrãs, influenciando na manifestação da maturidade sexual precoce.
- A dose de 2,5 mg de LH porcino na combinação hormonal utilizada é mais eficaz do que 5,0 mg e 1,25 mg, na indução e sincronização da puberdade em marrãs.

REFERÊNCIAS

ANDERSON, L. L. Ciclos reprodutivos: suínos. In: HAFEZ, E. S. E. **Reprodução animal**. 4. ed. Detroit: Manole, 1982. p. 412-446.

ANDERSON, L. L.; MELAMPY, R. M. Factors affecting ovulation rate in the pig. In: COLE, D. J. A. (Ed.), **Pig Production**. London. Butterworths. 1972, p. 329–366.

BAKER, R. D.; COGGINS, E. G. Control of ovulation rate and fertilization on prepuberal gilts. **Journal of Animal Science**, v. 27, p. 1607-1610, 1968.

BELTRANENA, E.; FOXCROFT, G. R.; AHERNE, F. X.; KIRKWOOD, R. N. Endocrinology of nutritional flushing in gilt. **Canadian Journal Animal Science**, n. 71, p. 1063-1071, 1991.

BRITT, J. H.; DAY, B. N.; WEBEL, S. K.; BRAUER, M. A . Induction of fertile estrus in prepubertal gilts by treatment with a combination of pregnant mare's serum gonadotropin and human chorionic gonadotropin. **Journal of Animal Science**, v. 67, p. 1148-1153, 1989.

BRÜSSOW, K. P.; JÖCHLE, W.; HÜHN, U. Control of ovulation with a GnRH analog in gilts and sows. **Theriogenology**, v. 46, p. 925-934, 1996.

BRÜSSOW, K. P.; RATKY, J. The duration of ovulation in GnRH - treated gilts following seminal plasma infusion. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 28, p.119-22, 1992.

CANDINI, P. H.; ZANELLA, E. L.; SILVEIRA, P. R. S.; MORETTI, A. S.; VIANA, C. H. C.; VALENTIN, R. Utilização de gonadotrofinas (eCG e LH) para sincronização da ovulação em fêmeas suínas desmamadas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 9., 1999, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: Associação Brasileira de Veterinários Especialistas em Suínos, 1999. p. 375-376.

CARBONE, A.; MORETTI, A. S.; PORTELLA, G.; VIANNA, W. L.; CAMPOS, D. F. S.; FERRARI, F. C.; CHUCID, F. Influência da Utilização de Gonadotrofinas em diferentes protocolos de sincronização de cio sobre a incidência de cistos ovarianos em leitoas. In: Congresso Brasileiro de Veterinários Especialistas em Suínos, 10., Porto Alegre. **Anais...** Associação Brasileira de Veterinários Especialistas em Suínos, 2001. p. 223-224.

CARBONE, A. **Emprego de gonadotrofinas exógenas na indução e sincronização da puberdade em marrãs**. 2002. 60 f. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

CHRISTENSON, R. K.; FORD, J. J.; REDMER, D. A. Maturation of ovarian follicles in the prepuberal gilt. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 33, p. 21-36, 1985.

CRONIN, G. M. The effect of early contact with mature boars on reproductive efficiency in the gilt. **Animal Reproduction Science**, v. 6, p. 51-57, 1983.

DALIN, A. M.; NANDA, T.; HULTÉN, F.; EINARSON, S. Ovarian activity at naturally attained oestrus in the sow. An ultrasonographic and LH study. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 36, p. 377-382, 1995.

DAY, B. N. Controlled synchronization of estrus and ovulation in swine. In: SIMPÓSIO DE REPRODUÇÃO E INSEMINAÇÃO ARTIFICIA EM SUINOS, 7., 2000, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu, 2000. p. 29-38.

DRIANCOURT, M. A., Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. **Theriogenology**, v. 55, p. 1211-1239, 2001.

DZIUK, P. Estimation of optimum time for insemination of gilts and ewes by double mating at certain times relative to ovulation. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 22, n. 2, p. 277-282, 1970.

DZIUK, P. J., Reproduction in domestic animals. In: CUPS, P. T. (Ed.). **Reproduction in the pig**. New York : Academic Press, 1991. p. 471-489.

EASTHAM, P. R.; DYCK, G. W.; COLE, D. J. A. The effect of age at stimulation by relocation and first mature boar contact on the attainment of puberty in the gilt. **Animal Reproduction Science**, v. 12, p. 31-38, 1986.

EVANS, A. C. O.; O'DOHERTY, J. V. Endocrine changes and management factors affecting puberty in gilts. **Livestock Production Science**, v. 68, p.1-12, 2001.

FOXCROFT, G. ; AHERNE, F. Manejo da marrã de reposição e da porca de primeiro parto. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO E INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM SUINOS, 7., 2000, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu, 2000. p. 91-98.

FOXCROFT, G.; AHERNE, F.; KIRKWOOD, R. Natural and hormonal synchronization of puberty, estrus and farrowing. Congresso Internacional de Reprodução. 1998, México, **Anais...** México, 1998. p. 250-262.

GAMA, R. D.; VIANNA, W. L.; MORETTI, A. S.; CARBONE, A.; PORTELLA, G.; CANDINI, P. H.; VIANA, C. H. C.; PINESE, M. A.; ROSSETO, A. C.; LAGO, V. Avaliação da utilização do LH porcino (Lutropin®) para indução e sincronização da puberdade em fêmeas suínas. In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE SUINOCULTURA, 1., 2002, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu, 2002. p. 149-150.

HAFEZ, E. S. E. **Reproduction in farm animals**. 6. Ed. Malvern. Lea & Febiger, 1993.

HECK, A.; BORTOLOZZO, F. P.; WENTZ, I.; MARTINI, R. L.; STAHLBERG, R.; GUIDONI, A. L.; NAGAE, R. Determinação do momento da ovulação em porcas de granjas comerciais via diagnóstico ultra-sonográfico transcutâneo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 8., 1997, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: Associação Brasileira de Veterinários Especialistas em Suínos, 1997. p. 333-334.

HELMOND, F.; AARNINK, A; OUDENAARDEN, C. Periovulatory hormone profiles in relation to embryonic development and mortality in pigs. In: SREENAN, J. N.; DISKIN, M. G. **Embryonic mortality in farm animals**. Dordrecht: Martinus Nijhoff , 1986. p. 119-125.

HUGHES, P. E. Factors affecting the natural attainment of puberty in the gilt. In: COLE, D. J. A.; FOXCROFT, G. R. (Ed.). **Control of Pig Reproduction**. London: Butterworths. 1982. p. 117-138.

HUGHES, P. E.; PHILIP, G.; SISWADI, R. The effects of contact frequency and transport on the efficacy of the boar effect. **Animal Production Science**, v. 46, p. 159-165, 1997.

HUGHES, P. E. Reproductive management of the gilt. **The Pig Journal. Proceedings Section**, v. 39, p. 69-79, 1998.

HÜHN, U.; JÖCHLE, W.; BRÜSSOW, K. P. Techniques developed for the control of estrus, ovulation and parturition in the east german pig industry: a review. **Theriogenology**, v. 46, p. 911-924, 1996.

HUNTER, M. G.; BIGGS, C.; FOXCROFT, G. R.; McNEILLY, A. S.; TILTON, J. E. Comparisons of endocrinology and behavioural events during the periovulatory period in Meishan and Large-White hybrid gilts. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 97, p. 475-480, 1993.

HUNTER, M. G.; PICTON, H. M. Effect of hCG administration at the onset of oestrus on early embryo survival and development in Meishan gilts. **Animal Reproduction Science**, v. 38, p. 231-238, 1995.

HUNTER, R. H. F. Physiology and technology of reproduction in female domestic animals. London: Academic Press, 1979. p. 14-16.

HUNTER, R. H. F. Chronological and cytological details of fertilization and early embryonic development in the domestic pig, *Sus scrofa*. **Anatomical Records**, v. 178, p. 169-186, 1974.

HUNTER, R. H. F. Porcine ovulation after injection of human chorionic gonadotropin. **Veterinary Record**, v. 81, n. 1, p. 21-23, 1967.

KINGSBURY, D. L.; RAWLINGS, N. C. Effect of exposure to a boar on circulating concentrations of LH, FSH, cortisol and oestradiol in prepubertal gilts. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 98, p. 245-250, 1993.

KIRKWOOD, R. N.; AHERNE, F. X. Energy intake, body composition and reproductive performance of the gilt. **Journal of Animal Science**, n. 60, p. 1518-1529, 1985.

KIRKWOOD, R. N.; FORBES, J. M.; HUGHES, P. E. Influence of boar contact on attainment of puberty in gilts after removal of the olfactory bulbs. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 61, p. 193-196, 1981.

KNOX, R. V.; TUDOR, K. W. Influence of norgestomet in combination with gonadotropins on induction of estrus and ovulation in prepubertal gilts. **Journal of Animal Science**, v. 77, p. 1348-1352, 1999.

KNOX, R. V.; TUDOR, K. W.; RODRIGUEZ-ZAS, S. L.; ROBB, J. A. Effect of subcutaneous vs intramuscular administration of P.G. 600 on estrual and ovulatory responses of prepubertal gilts. **Journal of Animal Science**, v. 78, p. 1732-1737, 2000.

LAMBERT, E.; WILLIAMS, D. H.; LYNCH, P. B.; HANRAHAN, T. J.; Mc GEADY, T. A.; AUSTIN, F. H.; BOLAND, M. P.; ROCHE, J. F. The effects of administration of gonadotrophins and estrogens on prenatal survival in gilts. **Theriogenology**, n. 36, p. 77-85, 1991.

LEVASSEUR, M. C. Thoughts on puberty. I initiation of the gonadotrophic function. **Annals Biology Animal Biochemistry Biophysics**, v. 17, p. 345-361, 1977.

MBURU, J. N.; EINARSSON, S.; DALIN, A. M.; RODRIGUEZ-MARTINEZ, H. Ovulation as determined by transretal ultrasonography in multiparous sows: relationships with oestrous symptoms and hormonal profiles. **Journal of Veterinary Medicine Association**, v. 42, p. 285-292, 1995.

MUNIZ, A. **Relação de fatores nutricionais na puberdade e eficiência reprodutiva, em fêmeas suínas**. 2000. 76 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2000.

NISSEN, A. K.; SOEDE, N. M.; HYTTEL, P.; SCHMIDT, M.; D'HOORE, L. The influence of time of insemination relative to time of ovulation on farrowing frequency and litter size in sows, as investigated by ultrasonography. **Theriogenology**, v. 47, n. 8, p. 1571-1582, 1997.

PATERSON, A . M. The controled induction of puberty. In: Cole, D. J. A.; Foxcroft, G. R. (Ed.). **Control of Pig Reproduction**. London: Butterworths, 1982. p. 139-159.

PATERSON, A .M.; LINDSAY, D. R. Induction of puberty in gilts 2. The effect of boars on maintenance of cyclic activity in gilts induced to ovulate with pregnant mare's serum gonadotrophin and human chorionic gonadotrophin. **Animal Production**, v. 32, p. 51-54, 1981.

PATERSON, A . M., PEARCE, G. P., FOXCROFT, G. R., REED, H. C. B. Reproductive performance of gilts induced into puberty with oestradiol benzoate or a combination of pregnant mare's serum gonadotropin and human chorionic gonadotropin. **Animal Production**, v. 38, p.121-128, 1984.

PATTERSON, J. L.; WILLIS, H. J.; KIRKWOOD, R. N.; FOXCROFT, G. R. Impact of boar exposure on puberty attainment and breeding outcomes in gilts. **Theriogenology**, v. 57, p. 2015-2025, 2002.

PEARCE, G. P.; HUGHES, P. E. The influence of male contact on plasma cortisol concentrations in the prepubertal gilt. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 80, p. 417-424, 1987.

PEARCE, G. P.; PATERSON, A. M. Physical contact with the boar is required for maximum stimulation of puberty in the gilt because it allows transfer of boar pheromones and not because it induces cortisol release. **Animal Production Science**, v. 27, p. 209-224, 1992.

PEARCE, G. P.; PATERSON, A. M., HUGHES, P. E. Effect of short-term elevations in plasma cortisol concentrations on LH secretion in prepubertal gilts. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 83, p. 413-418, 1988.

PORTELLA, G. A. **Utilização de gonadotrofinas exógenas (eCG e LH) na sincronização de ovulações e determinação de tempo fixo para a realização da inseminação artificial em fêmeas suínas desmamadas de 1º e 2º partos**. 2003. 64 f. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2003.

PRUNIER, A. Influence of age at nutritional restriction on growth and sexual development of gilts. **Reproduction Nutritional Development**, v. 31, 647-653, 1991.

RHODES, M. T.; DAVIS, D. L.; STEVENSON, J. S. Flushing and altrenogest affect litter. **Journal Animal Science**, v. 69, p. 34-44, 1991.

SCHILLING, E.; CERNE, F. Induction and synchronization of oestrus in prepubertal gilts and anoestrous sows by a PMS/HCG-compound. **Veterinary Record**, v. 91, p. 471-474, 1972.

SAS INSTITUTE. **SAS User's guide**: Statistical Analysis System, release 6.12. Cary, 1996.

SOEDE, M. N.; HELMOND, F. A.; KEMP, B. Periovalutary profiles oestradiol, LH and progesterone in relation to oestrus and embryo mortality in multiparous sows using transrectal ultrasonography to detect ovulation. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 101, n. 3, p. 633-641, 1994.

SOEDE, M. N.; NOORDHUIZEN, J. P. T. M.; KEMP, B. The duration of ovulation in pigs, studied by transrectal ultrasonography, is not related to early embryonic diversity. **Theriogenology**, v. 38, n. 4, p. 653-666, 1992.

SOEDE, M. N.; WETZELS, C. C. H.; ZONDAG, W.; HAZELEGER, W.; KEMP, B. Effects of a second insemination after ovulation on fertilization rate and accessory sperm count in sows. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 105, n. 1, p. 135-140, 1995b.

SOEDE, M.N.; WETZELS, C.C.H.; ZONDAG, W.; DE KONING, M.A.I.; KEMP, B. Effects of time of insemination relative to ovulation, as determined by ultrasonography, on fertilization rate and accessory sperm count in sows. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 104, n. 1, p. 99-106, 1995a.

STEVERINK, D. W. B.; SEODE, N. M.; BOUWMAN, E. G.; KEMP, B. Influence of insemination to ovulation interval and sperm cell dosage on fertilization in sows. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 11, n. 1, p. 165-171, 1997.

TILTON, S. L.; BATES, R. O. ; PRATHER, R. S. Evaluation of response to hormonal therapy prepubertal gilts of different genetic lines. **Journal of Animal Science**, v. 73, p. 3062-3068, 1995.

TURNER, A. I.; HEMSWORTH, P. H.; HUGES, P. E.; CANNY, B. J.; TILBROOK, A. J. The effect of repeated boar exposure on cortisol secretion and reproduction in gilts. **Animal Reproduction Science**, v. 51, p. 143-154, 1998.

UEMOTO, D. A.; BORTOLOZZO, F. P.; WENTZ, I.; POZZOBON, M. C.; BARIONI Jr., W. Sobrevivência embrionária e número de embriões viáveis em leitoas submetidas à inseminação artificial em diferentes intervalos pré-ovulatórios. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 9., 1999, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: Associação Brasileira de Veterinários Especialistas em Suínos, 1999. p. 359-360.

VAN LUNEN, T. A.; AHERNE, F. X. Effect of long – term feed restriction on age at puberty of gilts. **Journal Animal Science**, n. 67, p. 797-801, 1987.

VIANA, C. H. C. **Efeito do momento da inseminação relativo à ovulação, diagnosticada pela ultra-sonografia, e do intervalo entre e número de inseminações sobre a taxa de fecundação, número de espermatozóides acessórios, taxa de parição e tamanho de leitegada.** 2001. 52 f. Tese (Doutorado em Reprodução Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

VIANA, W. L.; PINESE, M. E.; ROSSETO, A. C.; MORETTI, A. S. Indução da puberdade e sincronização do cio subsequente em fêmeas suínas pré-púberes utilizando gonadotrofinas exógenas In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 11., 2003, Goiânia. **Anais...** Goiânia: Associação Brasileira de Veterinários Especialistas em Suínos, 2003. p. 163-164.

WABERSKI, D.; WEITZE, K. F.; GLEUMES, T.; SCHWARS, M.; WILLMEN, T.; PETZOLDT, R. Effect of time of insemination relative to ovulation on fertility with liquid and frozen boar semen. **Theriogenology**, v. 42, n. 5, p. 831-40, 1994.

WÄHHNER, M.; HÜHN, U. New aspects of the management of reproduction in pig. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 31, p. 477-482, 1996.

WEBEL, S. K.; DAY, B. N. The control of ovulation. In: Cole, D. J. A.; Foxcroft, G. R. (Ed.). **Control of pig reproduction.** London: Butterworths, 1982. p. 197-209.

WEITZE, K. F.; WAGNER-RIETSCHEL, H.; WABERSKI, D.; RICHTER, L.; KRIETER, J. The onset of heat after weaning, heat duration, and ovulation as major factors in IA timing in sows. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 29, n. 7, p. 433-443, 1994.

ZIECIK, A. J.; DYBALA, J.; MARTIN RILLO, S.; KAPELANSKI, W.; BIEGNIIEWSKI, S.; DE ALBA, C.; GAJEWSKI, Z. Induction of fertile estrus in prepuberal gilts and weaned sows. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 31, p. 469-472, 1996.