



**UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

ANA LUCIA ROSA E SILVA MAIA

**USO DO D-CLOPROSTENOL EM DIFERENTES INTERVALOS DE
APLICAÇÃO PARA SINCRONIZAÇÃO DO ESTRO EM CABRAS SAANEN**

NITERÓI

2014

ANA LUCIA ROSA E SILVA MAIA

**USO DO D-CLOPROSTENOL EM DIFERENTES INTERVALOS DE
APLICAÇÃO PARA SINCRONIZAÇÃO DO ESTRO EM CABRAS SAANEN**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Medicina Veterinária. Área de Concentração: Clínica e Reprodução Animal.

Orientador: Prof. Dr. Felipe Zandonadi Brandão

Coorientador: Dr. Jeferson Ferreira da Fonseca

NITERÓI
2014

M217u Maia, Ana Lucia Rosa e Silva

Uso do d-cloprostenol em diferentes intervalos de aplicação para sincronização do estro em cabras Saanen / Ana Lucia Rosa e Silva Maia; orientador Felipe Zandonadi Brandão. – 2014.

98 f.

Dissertação (Mestrado em Clínica e Reprodução Animal) - Universidade Federal Fluminense, 2014.
Orientador: Felipe Zandonadi Brandão

1. Reprodução animal. 2. Reprodução de caprino.
3. Inseminação artificial. 4. Prostaglandina. I.
Título.

CDD 591.16

USO DO D-CLOPROSTENOL EM DIFERENTES INTERVALOS DE APLICAÇÃO PARA SINCRONIZAÇÃO DO ESTRO EM CABRAS SAANEN

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Medicina Veterinária. Área de Concentração: Clínica e Reprodução Animal.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Felipe Zandonadi Brandão – Orientador
Faculdade de Veterinária – UFF

Dr. Jeferson Ferreira da Fonseca – Coorientador
Embrapa Caprinos e Ovinos / Núcleo Regional Sudeste

Prof. Dr. Ângelo José Burla Dias
Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF

Prof. Dr. André Luís Rios Rodrigues
Faculdade de Veterinária – UFF

Dr^a. Joanna Maria Gonçalves de Souza-Fabjan
Universidade Estadual do Ceará – UECE

NITERÓI
2014

Ao meu pai e eterno mestre Irajá, ao meu querido irmão Carlos Eduardo e a minha avó Marília, que de alguma forma sempre farão parte da minha história.

“O que vale na vida não é o ponto de partida e sim a caminhada.
Caminhando e semeando, no fim terás o que colher”
(Cora Coralina)

AGRADECIMENTOS

Ao meu marido Cleber, por ter sempre me apoiado em relação aos estudos, entendendo a minha vontade de seguir em frente.

As minhas filhas Clara, Beatriz e Alice, meus grandes amores, e o meu maior motivo de orgulho. Sem a presença delas na minha vida, eu não teria me tornado uma pessoa tão disposta a lutar pelos meus sonhos, pois mesmo sem querer, elas me fazem compreender que a vida sempre segue seu caminho de uma forma muitas vezes diferente do que imaginamos.

Aos meus pais, por terem me ensinado a ser uma pessoa honesta, persistente e pelos valores fundamentais que me transmitiram.

Ao empresário Paulo Cordeiro por ter me apresentado aos criadores de cabra de Nova Friburgo com os quais eu aprendi muito.

Ao Dr. Dagoberto José da Silva por todos os preciosos ensinamentos teóricos e práticos sobre a criação de cabras leiteiras e pelas ótimas conversas sobre Nova Friburgo.

Ao pessoal do Capril Rancho Grande pela confiança, amizade e queijos de cabra deliciosos que eu tive a oportunidade de provar.

A todos os colegas do mestrado, e em especial, aos amigos Gustavo e Mário, pelo aprendizado, carinho, incentivo, ajuda e companheirismo indispensáveis na realização de um experimento. As “gateiras” Chris e Mônica pelas dicas em clínica de felinos e pelo reencontro mais que especial.

A amiga Joanna, por ter me mostrado que o entusiasmo pela vida, a persistência e a busca constante por novos conhecimentos são fundamentais para a realização de qualquer projeto. Pelos e-mails, conselhos e pelo apoio que me fizeram chegar até aqui.

Ao Programa de Pós-graduação em Clínica e Reprodução Animal da Universidade Federal Fluminense, pela oportunidade de realizar o curso de mestrado.

Aos professores da graduação e pós-graduação da Universidade Federal Fluminense por todo o conhecimento transmitido.

Aos proprietários dos criatórios onde realizei meu projeto, Eduardo, Rodrigo, Marcélio, Marquinhos e Caetano. Pela compreensão, boa vontade, paciência e colaboração na realização dos experimentos. Sem vocês nada disso seria possível!!!

Aos funcionários Walter, Beto, Seu Zé, Cristina, Zé Geraldo, Vítor e Gabriel, pela ajuda e participação fundamental no experimento.

A Embrapa Caprinos e Ovinos (02.08.02.005.00.04 - Inseminação Artificial em Caprinos Leiteiros) e ao Conselho Nacional de Pesquisa - CNPq (Projeto 310166/2012-8 - Estudo de pontos estratégicos para elevação da eficiência da técnica de inseminação artificial em caprinos leiteiros) pelo apoio financeiro e pela concessão da bolsa de estudos.

Aos funcionários da Embrapa Gado de Leite, em especial ao amigo Del pelo carinho, colaboração, parceria e auxílio nas inseminações e a Lourdes pelo sorriso e boa vontade constantes.

Aos pesquisadores da Embrapa Gado de Leite, Dr. João Henrique Viana e Dr. Luiz Sérgio Camargo por possibilitarem a realização da dosagem de progesterona indispensável para esse estudo.

A Prof^a. Dr^a. Nadia Almosny, pela capacidade de transformar assuntos complexos em aulas maravilhosas. E, além disso, transformar a Faculdade de Veterinária da UFF em um local cada dia mais bonito.

Ao meu coorientador Dr. Jeferson Ferreira da Fonseca pela oportunidade de realizar o mestrado com cabras leiteiras.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Felipe Zandonadi Brandão, por ter despertado em mim durante a graduação a paixão pela reprodução animal especialmente a de caprinos e ovinos. Pelo seu caráter, amizade e apoio aos alunos e por sua dedicação ao Departamento de Reprodução da Faculdade de Veterinária da UFF que a cada dia vem se tornando mais eficiente.

Por fim, a todas as pessoas que, direta ou indiretamente, colaboraram, incentivaram e torceram por mim ao longo deste trajeto.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a eficiência de duas aplicações de 37,5 µg de d-cloprostenol via laterovulvar, com intervalos de 7, 10 ou 11,5 dias para sincronização do estro em cabras Saanen durante a estação reprodutiva. Na primeira etapa que ocorreu em março de 2013, 25 cabras foram divididas equitativamente nos grupos: G_{7dias}, G_{10dias} e G_{11,5dias}. A partir da 1ª aplicação de d-cloprostenol foram coletadas amostras de sangue para dosagem de P₄ plasmática e realizadas avaliações diárias dos ovários por meio de US transretal. Após a 2ª aplicação, o estro foi monitorado duas vezes ao dia. O percentual de manifestação de estro encontrado nos grupos G_{7dias}, G_{10dias} e G_{11,5dias} foi de 25% (2/8), 50% (4/8) e 55,5% (5/9) respectivamente (P>0,05). Foi observado intervalo médio de 53,9 ± 16,9 h da 2ª aplicação da PGF_{2α} ao início do estro que apresentou duração média de 23,1 ± 18,5 h. Pela análise do perfil de P₄, verificou-se que o percentual de cabras que possuía CL ativo (P₄ > 1 ng/mL) no momento da 1ª e 2ª aplicação da PGF_{2α} foi de 20% (5/25) e 44% (11/25), respectivamente. Durante a IA, 44% (4/9) das cabras possuíam muco estriado, alcançando uma taxa de concepção de 25% (1/4). Na segunda etapa, realizada de abril a junho de 2013, 54 fêmeas foram divididas equitativamente nos três grupos. A partir da 1ª aplicação de d-cloprostenol, 23 cabras foram acompanhadas duas vezes ao dia para detecção de estro e tiveram o sangue coletado nos dois dias de aplicação do d-cloprostenol. O percentual de cabras que manifestou estro após a 1ª e a 2ª aplicação da PGF_{2α} foi de 69,6% (16/23) e 90,7% (49/54), respectivamente. Não houve diferença (P>0,05) entre os grupos. O percentual de manifestação de estro foi de 94,7% - G_{7dias}, 88,9% - G_{10dias} e 88,2% - G_{11,5dias}. Notou-se que a maior concentração de estro ocorreu no período entre 48 e 60 horas, tanto após a primeira (68,8% - 11/16) quanto após a segunda aplicação de PGF_{2α} [G_{7dias} - 83,3% (15/18); G_{10dias} - 75,0% (12/16) e G_{11,5dias} - 93,3% (14/15)]. Não houve diferença entre os grupos nos intervalos da 1ª e 2ª aplicação da PGF_{2α} ao início do estro (51,9 ± 16,6 h e 47,1 ± 10,8 h), e na duração do 1º e do 2º estro (28,5 ± 14,4 h e 24,5 ± 11,4 h). Todas as fêmeas apresentaram P₄ > 1 ng/mL no momento das duas aplicações da PGF_{2α}. Na IA, 69,4% (34/49) das fêmeas possuía muco estriado, obtendo-se uma taxa de concepção de 38,2% (13/34). Não houve efeito (P>0,05) dos grupos nas características de muco, assim como não houve efeito de muco na taxa de concepção geral. Porém, verificou-se que a taxa de concepção do G_{7dias} (55,6%) que foi superior (P=0,0584) aos grupos G_{10dias} (18,8%) e G_{11,5dias} (26,7%). Concluiu-se que, embora os três protocolos tenham sido eficientes na sincronização do estro em cabras Saanen durante a estação reprodutiva, o protocolo com intervalo de 11,5 dias resultou em maior concentração de estro em um período de 12 horas e o protocolo com intervalo de 7 dias obteve melhores resultados na taxa de concepção.

Palavras-chave: caprinocultura, prostaglandina F_{2α}, estação reprodutiva, inseminação artificial

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the efficiency of two doses of 37.5 µg d-cloprostenol through laterovulvar via, with intervals of 7, 10 or 11.5 days for estrus synchronization in Saanen goats during the breeding season. In the first experiment, which occurred in March of 2013, 25 female goats were allocated into three groups: $G_{7\text{days}}$, $G_{10\text{days}}$ or $G_{11.5\text{days}}$. Since the first administration of d-cloprostenol, blood samples were collected for plasma P_4 and transrectal ultrasound exams for ovaries evaluation were daily performed. After the second administration, estrus was monitored twice per day. The percentage of estrus response for $G_{7\text{days}}$, $G_{10\text{days}}$ and $G_{11.5\text{days}}$ was 25.0% (2/8), 50.0% (4/8) and 55.5% (5/9), respectively ($P>0.05$). The average interval from the second administration to estrous onset was 53.9 ± 16.9 h whereas the average duration of estrus was $23.1 \pm 18/5$ h. The P_4 profile revealed that the percentage of goats which had active CL ($P_4 > 1$ ng/mL) in the moment of the first and second $\text{PGF}_{2\alpha}$ administration was 20% (5/25) and 44% (11/25), respectively. During AI, 44% (4/9) of the goats demonstrated striated mucus, reaching a conception rate of 25% (1/4). The second experiment was performed from April to June of 2013, and 54 females were allocated in the same three groups. From the first d-cloprostenol administration, 23 goats were subjected to estrus detection and had their blood collected in both days of d-cloprostenol administration. The percentage of goats in estrus after the first and second $\text{PGF}_{2\alpha}$ was 69.6% (16/23) and 90.7% (49/54), respectively. There was no difference ($P>0.05$) between all groups. Estrus response was 94.7% - $G_{7\text{days}}$, 88.9% - $G_{10\text{days}}$ and 88.2% - $G_{11.5\text{days}}$. It was observed that the largest concentration of estrus was between 48 and 60 hours, both after the first (68.8% - 11/16) or the second $\text{PGF}_{2\alpha}$ [$G_{7\text{days}}$ - 83.3% (15/18); $G_{10\text{days}}$ - 75.0% (12/16) and $G_{11.5\text{days}}$ - 93.3% (14/15)]. There was no difference among groups for intervals from the first and second $\text{PGF}_{2\alpha}$ to estrous onset (51.9 ± 16.6 h and 47.1 ± 10.8 h), and for duration of first and second estrus (28.5 ± 14.4 h and 24.5 ± 11.4 h). All females shows $P_4 > 1$ ng/mL in the moment of both $\text{PGF}_{2\alpha}$ administrations. At the moment of AI, 69.4% (34/49) of females demonstrated striated mucus, reaching a conception rate of 38.2% (13/34). There was no effect ($P>0.05$) in the different groups for mucus characteristics, thus, it did not affect overall conception rate. However, conception rate of $G_{7\text{days}}$ (55.6%) was superior ($P=0.0584$) to $G_{10\text{days}}$ (18.8%) and $G_{11.5\text{days}}$ (26.7%). It can be concluded that although all three treatments have been efficient for estrus synchronization for Saanen goats during breeding season, the protocol with interval of 11.5 days resulted in higher concentration of estrus in a 12 h period and the protocol with 7 days interval had the best results in conception rate.

Key-words: goat production, prostaglandin $F_{2\alpha}$, breeding season, artificial insemination

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Esquema representativo dos diferentes eventos fisiológicos que ocorrem durante o ciclo estral em cabras. Adaptado de Fatet et al. (2011). p.23

Figura 2. Representação esquemática do protocolo Sinchrovine™ de acordo com o estágio folicular no momento da primeira dose de PGF_{2α} em duas situações: Painel A - Crescimento; Painel B - Regressão. Adaptado de Menchaca e Rubianes (2004). p.39

Figura 3. Sinais característicos de estro. A - vocalização; B - micção frequente; C - procura pelo macho; D - imobilização; E - aceitação da monta. p.49

Figura 4. Classificação do muco. A - muco 1: cristalino; B - muco 2: cristalino/estriado; C - muco 3: estriado; D - muco 4: estriado/ caseoso; E - muco 5: caseoso (Fonte: Jeferson Ferreira da Fonseca/ Embrapa Caprinos e Ovinos - 2008/adaptado). p.51

Figura 5. Etapas do procedimento de inseminação artificial: A- visualização da cérvix; B- pinçamento da cérvix com a pinça de Allis modificada; C - introdução do aplicador (Fotos: Mário Balara). p.51

Figura 6. Divisão dos bodes entre os três grupos. A - Etapa 1 e B - Etapa 2. p.53

Figura 7. Representação esquemática das duas aplicações de d-cloprostenol, coletas de sangue, avaliações ultrassonográficas, acompanhamento do comportamento sexual e inseminação artificial realizados em cabras da raça Saanen (Etapa 1). p.54

Figura 8. Representação esquemática das duas aplicações de d-cloprostenol, coletas de sangue, avaliações ultrassonográficas, acompanhamento do comportamento sexual e inseminação artificial realizados em cabras da raça Saanen (Etapa 2). p.57

Figura 9. Perfil plasmático de P_4 em cabras com CL ativo (5/25) no momento da primeira aplicação de d-cloprostenol ($P_4 > 1,0$ ng/mL no D0). p.62

Figura 10. Perfil plasmático de P_4 em cabras sem CL (20/25) no momento da primeira aplicação de d-cloprostenol ($P_4 < 1,0$ ng/mL no D0). p.63

Figura 11. Perfil plasmático de P_4 de cabras que manifestaram ou não estro após a segunda aplicação de d-cloprostenol. A - $G_{7\text{dias}}$ (n=8); B - $G_{10\text{dias}}$ (n=8) e C - $G_{11,5\text{dias}}$ (n=9). p.64 - 65

Figura 12. Percentual (%) de animais em estro de acordo com o momento (horas) de manifestação após a 1ª ($G_{7\text{dias}} + G_{10\text{dias}} + G_{11,5\text{dias}}$) e a 2ª ($G_{7\text{dias}}/G_{10\text{dias}}/G_{11,5\text{dias}}$) aplicações de d-cloprostenol em protocolos de sincronização com diferentes intervalos. p.69

Figura 13. Percentual (%) de animais em estro de acordo com o turno no qual foi verificado após a segunda aplicação de d-cloprostenol em diferentes intervalos. p.70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Avaliação do sêmen comercial utilizado no experimento. p.52

Tabela 2. Parâmetros de controle da Etapa 1. Peso e ECC de cabras da raça Saanen submetidas a protocolos de sincronização do estro com duas aplicações de d-cloprostenol em diferentes intervalos (média \pm desvio padrão) p.55

Tabela 3. Parâmetros de controle da Etapa 2. Peso e ECC de cabras da raça Saanen submetidas a protocolos de sincronização do estro com duas aplicações de d-cloprostenol em diferentes intervalos (média \pm desvio padrão). p.57

Tabela 4. Percentual (%) de muco cristalino - 1, cristalino estriado - 2, estriado - 3, estriado caseoso - 4 e caseoso - 5, durante a realização da IA vs taxa (%) de concepção por tipo de muco em cabras da raça Saanen submetidas a protocolos de sincronização do estro com duas aplicações de d-cloprostenol em diferentes intervalos (Etapa 1). p.67

Tabela 5. Parâmetros comportamentais de cabras da raça Saanen submetidas a protocolos de sincronização do estro com duas aplicações de d-cloprostenol em diferentes intervalos (média \pm desvio padrão). p.72

Tabela 6. Percentual de cabras (%) que apresentou estro ou não de acordo com a concentração plasmática de progesterona (ng/mL) no momento da primeira (D0) e da segunda aplicação de d-cloprostenol (7, 10 e 11,5 dias). p.74

Tabela 7. Percentual (%) de muco cristalino - 1, cristalino estriado - 2, estriado - 3, estriado caseoso - 4 e caseoso - 5, durante a realização da IA vs taxa (%) de concepção por tipo de muco em cabras da raça Saanen submetidas a protocolos de sincronização do estro com duas aplicações de d-cloprostenol em diferentes intervalos (Etapa 2). p.76

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CE – Ciclo Estral
CL – Corpo Lúteo
CLG – Células Lúteas Grandes
CLP – Células Lúteas Pequenas
Dr – Doutor
Dr^a – Doutora
ECC – Escore de Condição Corporal
eCG – Gonadotrofina Coriônica Equina
EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
et al. – E colaboradores
E₂ – Estrogênio
FSH – Hormônio Folículo Estimulante
GnRH – Hormônio Liberador de Gonadotrofina
G_{7dias} – Grupo com intervalo de 7 dias nas aplicações de d- cloprostenol
G_{10dias} – Grupo com intervalo de 10 dias nas aplicações de d- cloprostenol
G_{11,5dias} – Grupo com intervalo de 11,5 dias nas aplicações de d- cloprostenol
hCG – Gonadotrofina Coriônica Humana
HDL – Lipoproteínas de alta densidade
IA – Inseminação Artificial
IATF – Inseminação Artificial em Tempo Fixo
IM – Intramuscular
IVSM – Intravulvosubmucosal
kg – Quilograma
LH – Hormônio Luteinizante
LDL – Lipoproteínas de baixa densidade
MAP – Acetato de Medroxiprogesterona
MHz – Megahertz
mL – Mililitro
mm – Milímetro
NSQ – Núcleo Supraquiasmático

NUL – Nulíparas

ng/mL – Nanograma por mililitro

p – Página

PGF_{2α} – Prostaglandina F_{2α}

PLU – Pluríparas

Pr – Professor

PV – Peso Vivo

P>0,05 – Probabilidade de erro

P₄ – Progesterona

RPCL – Regressão Prematura do Corpo Lúteo

UFF – Universidade Federal Fluminense

US – Ultrassonografia

vs – Versus

X – Vezes

μg – micrograma

° – Graus

% – Porcentagem

± – Mais ou menos

SUMÁRIO

- 1. INTRODUÇÃO**, p.17
- 2. REVISÃO DE LITERATURA**, p.19
 - 2.1 FISIOLOGIA DA REPRODUÇÃO DA FÊMEA CAPRINA, p.19
 - 2.1.1 Estacionalidade reprodutiva e ciclo estral**, p.19
 - 2.1.2 Puberdade e comportamento sexual**, p.25
 - 2.2 DINÂMICA FOLICULAR OVARIANA, p.27
 - 2.2.1 Ultrassonografia e onda folicular**, p.27
 - 2.3 CORPO LÚTEO, p.30
 - 2.3.1 Luteogênese, síntese e secreção de progesterona**, p.30
 - 2.3.2 Luteólise e liberação de prostaglandina $F_{2\alpha}$** , p.34
 - 2.3.3 Regressão prematura do corpo lúteo**, p.35
 - 2.4 SINCRONIZAÇÃO DO ESTRO COM PROSTAGLANDINA $F_{2\alpha}$, p.36
 - 2.5 INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL NA ESPÉCIE CAPRINA, p.40
 - 2.5.1 Técnicas de inseminação artificial**, p.41
 - 2.5.2 Técnica Embrapa de inseminação artificial transcervical com fixação cervical em caprinos**, p.41
 - 2.5.3 Avaliação do muco, tipo de sêmen e categoria da fêmea**, p.42
- 3. MATERIAL E MÉTODOS**, p.45
 - 3.1 LOCALIZAÇÃO E PERÍODO EXPERIMENTAL, p.45
 - 3.2 ANIMAIS EXPERIMENTAIS, p.45
 - 3.2.1 Cabras**, p.45
 - 3.3 SISTEMA DE PRODUÇÃO E MANEJO DOS ANIMAIS, p.46
 - 3.4 SINCRONIZAÇÃO DO ESTRO, p.47
 - 3.5 COLETA DE SANGUE PARA DOSAGEM PLASMÁTICA DE PROGESTERONA, p.47
 - 3.6 AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA, p.48
 - 3.7 COMPORTAMENTO SEXUAL E DETECÇÃO DE ESTRO, p.49
 - 3.8 INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL, p.50
 - 3.9 DIAGNÓSTICO DE GESTAÇÃO, p.53
 - 3.10 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL, p.54

3.10.1 Etapa 1, p.54

3.10.1.1 Sincronização do estro, p.55

3.10.1.2 Coleta de sangue, p.55

3.10.1.3 Avaliação ultrassonográfica, p.55

3.10.1.4 Comportamento sexual, p.56

3.10.1.5 Inseminação artificial, p.56

3.10.2 Etapa 2, p.56

3.10.2.1 Sincronização do estro, p.57

3.10.2.2 Coleta de sangue, p.58

3.10.2.3 Avaliação ultrassonográfica, p.58

3.10.2.4 Comportamento sexual, p.58

3.10.2.5 Inseminação artificial, p.58

3.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA, p.58

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO, p.60

4.1 ETAPA 1, p.60

4.1.1 Sincronização do estro e comportamento sexual, p.60

4.1.2 Concentração plasmática de progesterona, p.61

4.1.4 Inseminação artificial e taxa de concepção, p.66

4.2 ETAPA 2, p.68

4.2.1 Sincronização do estro e comportamento sexual, p.68

4.2.2 Concentração plasmática de progesterona, p.74

4.2.3 Inseminação artificial e taxa de concepção, p.75

5. CONCLUSÕES, p.78

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS, p.79

7. ANEXOS, p.95

1. INTRODUÇÃO

A caprinocultura leiteira na Região Sudeste do Brasil teve início durante a década de 70 quando animais de raças especializadas na produção de leite (Saanen, Toggenburg e Alpina) foram trazidos da Suíça para criatórios próximos as cidades de Belo Horizonte, São Paulo e Rio de Janeiro (FONSECA e BRUSCHI, 2009). Apesar de possuir um rebanho caprino pequeno (2,51%), frente ao plantel nacional (IBGE, 2010) a região Sudeste é considerada uma importante bacia leiteira, composta em sua grande maioria por animais da raça Saanen, criados em sistema de produção intensivo (LÔBO et al., 2010). Segundo Facó et al. (2011), os estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo e Espírito Santo destacam-se por apresentar uma produção de leite de cabra e derivados fortemente voltada para o mercado consumidor.

Devido à estacionalidade reprodutiva, característica fisiológica de cabras de raças originárias de regiões de clima temperado (CHEMINEAU et al., 1992), criadores do Sudeste brasileiro, encontram dificuldades para alcançar uma produção uniforme de leite durante todo o ano (TRALDI et al., 2007). Com o objetivo de aumentar a eficiência produtiva de seus animais e/ou de introduzir machos geneticamente superiores com o uso da inseminação artificial (IA) no seu rebanho, produtores utilizam protocolos de indução e sincronização do estro, tanto no período de anestro quanto na estação de acasalamento natural (HOLTZ et al., 2008).

A sincronização do estro (concentração de fêmeas em estro no intervalo de 24 a 72 horas) na espécie caprina pode ser obtida pelo prolongamento da fase lútea por meio de progestágenos em associação a outros hormônios, como eCG, hCG e o FSH, ou pela redução desta fase, com o uso de agentes luteolíticos como análogos de prostaglandina ($PGF_{2\alpha}$) (AMOAHA e GELAYE, 1990). Desta forma, no período de acasalamento natural, quando as fêmeas já estão ciclando, existe a possibilidade de se alcançar uma sincronização apenas com a utilização de análogos de $PGF_{2\alpha}$. Estes, além de possibilitarem uma diminuição no custo, não apresentam problemas já observados em outros protocolos, como por exemplo, a produção de anticorpos (BARIL et al., 1996;

ROY et al., 1999), o desenvolvimento de enfermidades ovarianas como cistos foliculares (SANTIAGO et al., 1999) e enfermidades uterinas como a hidrometra (PUGH, 2005; SOUZA et al., 2013). Em alguns países, devido a preocupações na área da saúde pública e do bem estar animal, têm sido limitado o uso de progestágenos e eCG, o que enfatiza ainda mais a necessidade de se encontrar alternativas viáveis que associadas à inseminação artificial possam trazer um ganho genético importante para a caprinocultura leiteira (MENCHACA e RUBIANES, 2004; VÁZQUEZ et al., 2010).

Vários estudos têm preconizado a utilização de duas aplicações de $\text{PGF}_{2\alpha}$ (d-cloprostenol) com intervalo de 10 dias (SIQUEIRA et al., 2009; VÁZQUEZ et al., 2010; FONSECA et al., 2012; ESTEVES et al., 2013). Porém, protocolos com este intervalo nem sempre atingem o êxito esperado devido à possível ocorrência de um ciclo estral de curta duração, fenômeno considerado frequente em cabras (BAIRD, 1992; CHEMINEAU et al., 2006; HOLTZ et al., 2008). Desta forma, a diminuição do intervalo entre as aplicações de d-cloprostenol para sete dias pode ser um meio de contornar este problema. Menchaca et al. (2004), relataram bons resultados utilizando duas aplicações de análogo de $\text{PGF}_{2\alpha}$ (delprostenate) com intervalo de sete dias para sincronização do estro em ovelhas. Assim, o corpo lúteo (CL) formado após a primeira aplicação da $\text{PGF}_{2\alpha}$ se encontra responsivo a atuação luteolítica no momento da segunda aplicação, mesmo que este possua uma função luteal comprometida. Com o mesmo objetivo, uma alternativa que também pode ser utilizada é o aumento do intervalo entre as aplicações de $\text{PGF}_{2\alpha}$ para 11 dias. Desta vez, porém, optando pela aplicação do d-cloprostenol no turno da tarde, o que torna possível a realização da IA entre 18 e 24 horas após o início do estro, período no qual já foram alcançados resultados bastante satisfatórios (FONSECA et al., 2010). O uso de um intervalo de 11,5 dias das aplicações de $\text{PGF}_{2\alpha}$ possibilita o desenvolvimento de uma nova onda a partir da primeira aplicação e a lise do CL na metade ou no início da fase luteal, caso haja regressão prematura do corpo lúteo (RPCL), quando o CL se encontra responsivo a atuação da $\text{PGF}_{2\alpha}$.

A partir da formulação de uma hipótese na qual a presença de ciclos de curta duração (frequentes em cabras), pode prejudicar a sincronização do estro com intervalo de 10 dias. O presente estudo teve como objetivo avaliar os resultados de diferentes intervalos de aplicação de d-cloprostenol (7, 10 e 11,5 dias), durante o período de acasalamento natural da espécie caprina na região Sudeste do Brasil.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 FISIOLOGIA DA REPRODUÇÃO DA FÊMEA CAPRINA

2.1.1 Estacionalidade reprodutiva e ciclo estral

A fisiologia reprodutiva da cabra possui algumas particularidades que foram desenvolvidas pelo fato dessa espécie ter se adaptado a uma grande variedade de regiões geográficas, mesmo as de clima mais adverso (DELGADILLO et al., 1997; FATET et al., 2011). No Brasil, país de dimensão continental, localizado entre a latitude 5°16' ao Norte e 33°44' ao Sul, com variações expressivas no relevo, clima e conseqüentemente na disponibilidade de alimentos, são criados mais de nove milhões de caprinos (IBGE, 2012) espalhados por diferentes regiões brasileiras.

Em países de clima temperado a espécie caprina, utiliza-se do fotoperíodo (período de luminosidade diária) como uma estratégia de seleção natural, ou mecanismo de restrição (ROCHA et al., 2011), definido por Lincoln e Short (1980), como “método contraceptivo natural”. Ao apresentar uma concentração na atividade ovariana apenas durante o outono, seguida por um período gestacional de aproximadamente 150 dias, a fêmea garante que o nascimento de suas crias ocorra na primavera, época mais favorável do ano, com melhores condições de temperatura e maior disponibilidade de alimento, propiciando a sobrevivência e o crescimento de sua prole (GOLDMAN, 2001; JAINUDEEN et al., 2004; SIQUEIRA, 2006; EBLING et al., 2010).

Assim, raças caprinas originárias de latitudes altas ou temperadas (superiores a 40°), onde existe uma variação anual muito grande do número de horas de luz diária, exibem uma estacionalidade reprodutiva bem evidente em ambos os sexos (ORTAVANT et al., 1985; CHEMINEAU et al., 1992). Em latitudes medianas (25 a 40°), a raça terá um efeito importante na presença ou ausência de uma estacionalidade reprodutiva (LOPES JÚNIOR et al., 2001). Desta forma, no sudeste brasileiro, cabras de raças leiteiras de origem européia, são classificadas como poliéstricas estacionais de dias curtos (CHEMINEAU et al., 1992, LOPES JÚNIOR et al., 2001) ou fotoperíodo negativas. Iniciam seu ciclo reprodutivo em função da diminuição do número de horas de luz diária, apresentando um padrão estacional de atividade reprodutiva, relacionado às variações anuais do fotoperíodo (FONSECA, 2005).

Durante a noite, na ausência de luz, a glândula pineal sintetiza e secreta o hormônio melatonina, neurotransmissor responsável por mediar às informações relativas ao ciclo de luz/escuridão para que ocorra a regulação fisiológica do animal (TRALDI et al., 2007; ROCHA et al., 2011).

O ritmo de secreção de melatonina funciona como um sinal interno, representando a duração do dia, capaz de definir as variações na fisiologia e no comportamento dos animais (GOLDMAN, 1999). Arendt et al. (1988), relataram que a retirada cirúrgica ou desnervação da glândula pineal em algumas espécies de animais orientados pelo fotoperíodo destrói sua capacidade em perceber as alterações na duração do dia, o que pode ser demonstrado por uma série de parâmetros comportamentais e fisiológicos, mas principalmente pela alteração na função reprodutiva, não havendo dúvida que ambos procedimentos extinguem o ritmo de produção de melatonina.

Captada por fotorreceptores da retina, a informação quanto à diminuição da luz é transmitida para o núcleo supraquiasmático (NSQ) do hipotálamo, seguindo para o gânglio cervical superior e para a glândula pineal (SENGER, 1999). O NSQ funciona então, como um relógio biológico interno que comanda o ritmo circadiano endógeno, e a glândula pineal atua traduzindo as informações neurais a respeito do ciclo de luz/escuridão em um sinal hormonal, alterando o tempo de secreção de melatonina (LINCOLN, 1992). Desta forma,

o ritmo circadiano é mantido no período de escuridão e suprimido pela presença de luz. E, a duração da secreção de melatonina, de forma mais importante do que sua amplitude, é o sinal que define a influência do fotoperíodo sobre a fisiologia reprodutiva (MORELLO e CHEMINEAU, 2008). A presença de melatonina por um período maior, indica uma amplitude menor do dia (dia curto), aumentando a liberação pulsátil de GnRH. Este aumento, resulta na estimulação coordenada da síntese e secreção das gonadotrofinas hipofisárias (FSH e LH) (DELGADILLO et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2013), ou seja, a melatonina exerce um efeito estimulatório no eixo reprodutivo das espécies de dias curtos, determinando o início da estação reprodutiva.

A função reprodutiva em cabras manifesta-se por meio de um ciclo de atividade ovariana anual, que compreende dois períodos marcados (dependendo da latitude de origem da fêmea) que são: a estação de atividade sexual, ou época de acasalamento natural e a estação de anestro ou contra estação. Durante o período de atividade reprodutiva temos a ocorrência de diversos ciclos estrais (MORELLO e CHEMINEAU, 2008). De forma complementar, Fonseca (2005), divide a atividade reprodutiva na região sudeste, em estações de anestro (início do inverno ao início do verão), de transição (verão) e de acasalamento natural (final do verão ao início do inverno) com maior concentração de estros durante o outono.

Além do fotoperíodo, fatores ambientais e fisiológicos, tais como, clima, oferta de alimento e sistema de produção podem exercer influência no início e na duração do período fértil durante todo o ano (FATET et al., 2011).

A palavra **ciclo** vem do grego *kýklos* (círculo) definido como uma série de fenômenos ordenados, que se repete de tempos em tempos, enquanto a palavra **estro** derivada do latim *oestrus* (inspiração), significa estímulo, ardor, calor. Sendo assim, ciclo estral tem como significado a demonstração de estro e comportamento de aceitação do macho pela fêmea por um determinado período e o retorno a este comportamento (quando não gestante) depois de uma fase sem receptividade e/ou atração (SUMANO e CERVANTES, 2008).

Durante a estação de acasalamento natural, a fêmea apresenta vários ciclos estrais que se repetem sucessivamente e a quantidade destes ciclos

depende da duração desta estação e da raça da cabra (FATET et al., 2011). O ciclo estral (intervalo de dois estros consecutivos) na fêmea caprina, dura em média 21 dias (EVANS e MAXWELL, 1987; GONZÁLEZ, 2002; PINEDA, 2003; HAFEZ, 2004; FATET et al., 2011), podendo variar de 17 a 25 dias (GORDON, 1997; RICARTE e SILVA, 2010). Após o início da puberdade, ciclos estrais podem ser caracterizados como curtos (< 17 dias), normais (17 - 25 dias) e longos (> 25 dias), sendo a idade a puberdade definida como a data da primeira apresentação de estro seguida por um CL funcional (GORDON, 1997; FREITAS et al., 2004).

De acordo com Pineda (2003), no início da estação de acasalamento existe uma alta ocorrência de pequenos ciclos de apenas oito dias, tanto em cabras adultas quanto púberes, devido a uma fase luteal curta (cinco a seis dias), este ciclo, no entanto, é seguido por um de duração normal. Ciclos curtos, após o anestro estacional, a partir da introdução do bode junto às fêmeas, podem estar associados a folículos de qualidade inferior que geram corpos lúteos com baixa produção de progesterona (P_4) (CHEMINEAU et al., 2006; BARBOSA et al., 2013). Por outro lado, ciclos de longa duração (> 25 dias) geralmente ocorrem devido à presença de cistos foliculares luteinizados (De CASTRO et al., 1999). Perdas embrionárias também podem justificar a ocorrência de ciclos longos. Cerca 25 a 50% dos embriões mamíferos são perdidos durante a gestação inicial (NISWENDER et al., 1994), porém na maioria das vezes estas perdas não são verificadas devido à necessidade da utilização da US para realização do diagnóstico.

Segundo Viñoles (2003), o ciclo estral é formado por eventos endócrinos interligados, regulados sequencialmente pelo GnRH hipotalâmico, FSH e LH hipofisários, hormônios esteróides e inibina foliculares, P_4 e ocitocina luteais e $PGF_{2\alpha}$ uterina. Fatet et al. (2011), descrevem o ciclo estral como todas as mudanças morfológicas e fisiológicas que ocorrem nos ovários e no trato genital feminino, levando a demonstração do comportamento de estro, ovulação, preparação do trato genital para a cópula, fertilização e implantação embrionária.

Simplificadamente o ciclo estral pode ser dividido em duas fases: (1) fase folicular que dura aproximadamente quatro dias (período de crescimento dos folículos) e (2) fase lútea (ou luteal) com duração média de 17 dias (desenvolvimento e regressão do corpo lúteo) (EVANS e MAXWELL, 1987).

Alguns autores preferem dividir o ciclo estral em quatro fases: (1) **proestro**, que compreende o desenvolvimento da onda folicular ovulatória e tem início logo após a regressão do CL do ciclo anterior (2) **estro**, período de receptividade sexual da fêmea. Geralmente a ovulação ocorre no final desta fase; (3) **metaestro**, desenvolvimento inicial do CL (luteogênese); (4) **diestro**, período de atividade do CL maduro, finalizando com a luteólise (GONZÁLEZ, 2002) (Figura 1).

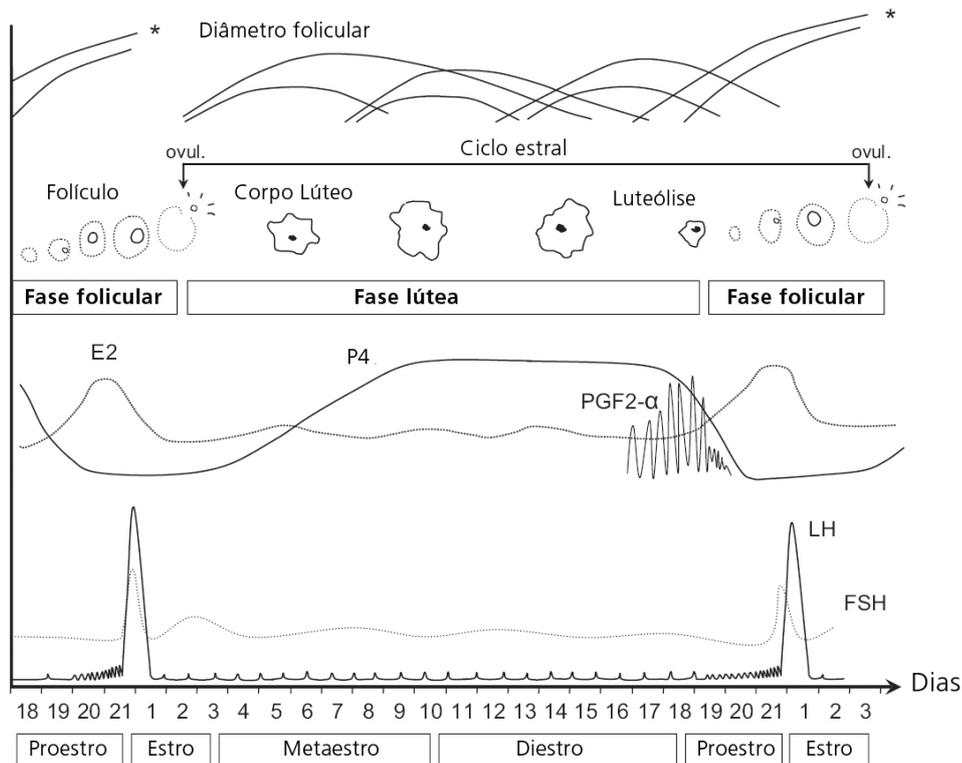


Figura 1: Esquema representativo dos diferentes eventos fisiológicos que ocorrem durante o ciclo estral em cabras. Adaptado de Fatet et al. (2011).

O proestro começa logo após a luteólise, quando a concentração plasmática de P_4 fica abaixo de 1,0 ng/mL devido à ação da prostaglandina uterina, o que permite um aumento da frequência dos pulsos da secreção tônica de LH e também na secreção de FSH. Desse modo, as gonadotrofinas hipofisárias estimulam a foliculogênese, ocorrendo uma elevação na síntese e liberação de estradiol na corrente sanguínea. A concentração inicialmente baixa de estrogênio (E_2) gera um *feedback* negativo sobre o eixo hipotalâmico-hipofisário. Porém, a partir do aumento na produção de E_2 pelo folículo pré-ovulatório, ocorrem mudanças típicas do estro tanto no trato genital, como no comportamento das fêmeas, possibilitando a receptividade sexual e o acasalamento. No final do estro, as concentrações elevadas de E_2 inibem a liberação de FSH e estimulam a liberação maciça de LH necessária para que ocorra a ovulação. Em cabras, a secreção de LH, aumenta até atingir um pico entre 6 e 16 horas após o início do estro. Essa descarga de LH produz uma ou mais ovulações e transforma o tecido folicular que produz estradiol em tecido lúteo que irá produzir progesterona (GONZÁLEZ, 2002, MORELLO e CHEMINEAU, 2008).

A fase lútea estende-se desde a ovulação até a luteólise e caracteriza-se pela presença de um ou mais corpos lúteos no(s) ovário(s), responsáveis pela produção de progesterona. Correspondendo a cerca de 80% do ciclo estral, esta fase pode ser subdividida em metaestro e diestro. O principal evento que ocorre durante o metaestro é a formação do CL. No diestro (período mais extenso do ciclo estral) o CL já se apresenta funcional produzindo e secretando elevadas concentrações de P_4 , cujos valores plasmáticos aumentam entre os dias 4 e 5, podendo alcançar um platô de até 12,0 ng/mL no oitavo dia do ciclo. Caso ocorra a fecundação e o reconhecimento materno, os valores de P_4 se mantêm altos durante toda a gestação. Na ausência de uma sinalização positiva de prenhez, o CL sofre regressão dando início a uma nova fase folicular (MORELLO e CHEMINEAU, 2008).

2.1.2 Puberdade e comportamento sexual

Para que os ciclos reprodutivos tenham início, as fêmeas devem passar por um período denominado puberdade (CUNNINGHAM, 1999). De acordo com Hafez (2004), uma fêmea pode ser considerada púbere, quando se torna capaz de ovular e apresentar um comportamento sexual completo.

Porém, a chegada da puberdade não é um acontecimento repentino e sim um processo gradual de amadurecimento dos sistemas endócrino e reprodutivo (eixo hipotalâmico-hipofisário) levando a maturidade sexual e a capacidade de perpetuar a espécie (PINEDA, 2003). Ocorre então, um ajuste entre o aumento da atividade gonadotrófica e a habilidade dos ovários em assumir simultaneamente a gametogênese e a esteroidogênese (HAFEZ, 2004). Ainda, segundo Greyling (2000), a maturidade sexual apresentada na puberdade é determinada pela elevação na produção de hormônios pela hipófise tornando maior o tamanho e a atividade dos ovários.

Um dos principais fundamentos para a ocorrência da puberdade está ligado a maturação do hipotálamo, que resulta em uma menor sensibilidade a retroalimentação negativa exercida pelo E_2 , elevando a síntese e liberação de GnRH em quantidade e frequência apropriadas, o que determina a secreção de FSH e LH e o crescimento folicular (LOPES JÚNIOR et al., 2001; PINEDA, 2003).

Segundo Hafez (2004), a idade para que a fêmea atinja a puberdade pode ser influenciada por vários fatores como: ambiente, fotoperiodismo, padrão racial, peso corpóreo (afetado pela nutrição) e taxa de crescimento antes e depois do desmame. O autor ainda destaca que níveis de nutrição podem modular a idade à puberdade, antecipando-a devido à supernutrição (crescimento acelerado), ou retardando-a pela subnutrição (atraso no crescimento). Greyling e Van Niekerk (1990), em estudo realizado na África do Sul com cabras da raça Boer, relataram que estas iniciam a puberdade mais precocemente do que cabras da raça Saanen, geralmente púberes em média aos 218 dias. Salles et al. (2001), comparando cabras das raças Saanen e Anglo-Nubiana, criadas sob as mesmas condições, em Sobral, Ceará, encontraram uma média para idade e peso à puberdade, de 180,53 dias e 22,78

kg para as fêmeas Saanen e 294,29 dias e 26,68 kg para as Anglo Nubianas, havendo diferença ($P < 0,05$) entre as raças nos dois parâmetros avaliados.

De acordo com González-Stagnaro (1984), uma cabrita se torna púbere apenas depois de atingir de 50 a 70% do peso vivo de uma fêmea adulta de sua respectiva raça. Destacando-se que, fêmeas cobertas antes de alcançarem o peso mínimo, podem ter seu desenvolvimento corporal prejudicado, resultando ainda em efeitos adversos quanto à prolificidade, assim como o nascimento de crias fracas (DEVENDRA e BURNS, 1983; SALLES et al., 2001).

Como já visto anteriormente, entre a metade e o final da fase folicular do o ciclo estral, ocorre o estro ou cio, período em que a fêmea manifesta um comportamento de atividade sexual e aceitação da monta. A secreção de E_2 proveniente dos grandes folículos é responsável pelas alterações anatômicas e comportamentais apresentadas pelas fêmeas neste período (EVANS e MAXWELL, 1987).

Na cabra adulta o estro pode ser facilmente identificado a partir da aproximação de um bode adulto apresentando o odor característico do reprodutor da espécie caprina (SMITH e SHERMAN, 2009). No macho nota-se a demonstração de interesse e tentativa de seguir a fêmea de três a cinco dias antes do início do estro (fase considerada como proestro) (PINEDA, 2003). De acordo com Evans e Maxwell (1987), apesar da apresentação de um comportamento sexual “agressivo” ser geralmente observada no reprodutor, durante o período de estro, a cabra adulta procura e chama a atenção do bode, sendo comum a competição com outras fêmeas da baia. Desta forma, cabritas púberes que estão iniciando a atividade sexual, se colocadas próximas de cabras adultas, muitas vezes não conseguem apresentar um comportamento tão característico sendo mais difícil identificar o início do estro nesta categoria. Em estudo sobre comportamento reprodutivo utilizando ovelhas jovens sexualmente inexperientes, Gelez et al. (2004), relataram que um alto nível de estresse durante o estro pode explicar a dificuldade desta categoria em manter a atenção no macho.

Vários critérios podem ser utilizados para se determinar o estro na cabra, tais como: vulva hiperêmica, edemaciada e com presença de muco,

movimento da cauda (para liberar feromônios), inquietação, vocalização, comportamento homossexual (monta entre fêmeas), busca pelo macho, micções frequentes, diminuição no apetite e na produção de leite. Porém o sinal confirmatório é a imobilidade e permissão da monta (EVANS e MAXWELL, 1987; GORDON, 1997; MORELLO e CHEMINEAU, 2008; SMITH e SHERMAN, 2009).

Além dos sinais citados acima, durante o período de estro observa-se também a presença de muco vaginal devido ao aumento do fluxo sanguíneo e da atividade secretora das glândulas do útero, cérvix e vagina e, por ser liberado em grande quantidade, este pode ficar armazenado na vagina e/ou fluir para a vulva (EVANS e MAXWELL, 1987).

Segundo Fatet et al. (2011), o comportamento de estro na cabra, tem uma duração aproximada de 36 horas (de 24 a 48 horas), apresentando um intervalo mais curto do que 16 a 50 horas relatado por Evans e Maxwell (1987). Porém, os mesmos autores concordam na existência de fatores que possam alterar a duração deste comportamento, entre eles: idade, raça, características individuais, localização geográfica, estação e contato com o macho. Fêmeas jovens apresentam uma duração de estro de 18 a 30 horas e adultas de 20 a 40 horas.

Na cabra a ovulação é espontânea, podendo ser única ou múltipla e ocorre no final do estro, aproximadamente 30 a 36 horas após seu início. Porém em fêmeas que apresentam estro de curta duração, a ovulação pode ocorrer já no metaestro (EVANS e MAXWELL, 1987; FONSECA 2002).

2.2 DINÂMICA FOLICULAR OVARIANA

2.2.1 Ultrassonografia e onda folicular

Durante o ciclo estral para que ocorra a ovulação, os ovários passam por uma sequência de mudanças morfológicas (recrutamento e crescimento folicular), bioquímicas (maturação folicular) e fisiológicas (regulações endócrinas), denominadas de ciclo ovariano (FATET et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2013). A dinâmica folicular ovariana pode ser definida como um processo

contínuo de crescimento e regressão de folículos antrais até o desenvolvimento do folículo pré-ovulatório (LUCY et al., 1992).

Inicialmente, os estudos sobre as alterações ovarianas em cabras e ovelhas eram realizados a partir de procedimentos cirúrgicos, como a laparotomia ou a laparoscopia, ou por meio de material obtido de abatedouros (RUBIANES e MENCHACA, 2003). Segundo Medan et al. (2003), o estudo do padrão de desenvolvimento folicular era feito a partir da contagem, mensuração e avaliação histológica do ovário de animais eutanasiados em diferentes momentos do ciclo estral, ou ainda pela marcação de folículos com tinta durante procedimentos de laparoscopia seriada. Em 1983, com o intuito de acompanhar a dinâmica ovariana em cabras, Camp et al. (1983), utilizando a técnica de laparoscopia, fotografaram as mudanças morfológicas que ocorreram em dez cabras pluríparas, durante o ciclo estral. Apesar de apresentarem conclusões ainda um pouco limitadas, este estudo teve grande importância para as pesquisas subsequentes.

Em contraste, a partir da utilização da ultrassonografia (US) transretal para visualização dos ovários, houve um rápido avanço na compreensão da dinâmica de desenvolvimento e regressão folicular. A US transretal permitiu uma forma de monitoramento direto, seriado, não invasivo, com a possibilidade inclusive de estimar o tamanho aproximado dos folículos ≥ 2 mm (independente da sua profundidade) nos ovários (De CASTRO et al., 1999; MEDAN et al., 2003; RUBIANES e MENCHACA, 2003).

De acordo com Ginther e Kot (1994), o acompanhamento de forma contínua da dinâmica folicular por meio de imagens ultrassonográficas, possibilitou a elucidação de vários aspectos, entre eles: o padrão de crescimento dos folículos ovarianos, a ocorrência de emergência de ondas foliculares (determinação do dia de emergência), o fenômeno da dominância, ovulação, formação do CL e a luteólise. E, desta forma, ao realizarem um dos primeiros estudos na espécie caprina, confirmaram a existência de um padrão de desenvolvimento folicular em ondas, como o descrito na espécie bovina dez anos antes (PIERSON e GINTHER, 1984).

A onda folicular consiste na emergência de um grupo de pequenos folículos antrais, do qual um ou mais são selecionados para continuar seu desenvolvimento até alcançar um diâmetro maior que 5 mm, enquanto os outros irão regredir. De acordo com vários autores, na cabra, existe uma variação entre duas a cinco ondas foliculares por ciclo estral (de duração normal), predominando um padrão de quatro ondas. A emergência das ondas 1, 2, 3 e 4 (onda ovulatória) geralmente ocorre nos dias: 0, 5-6, 10-11, e 15, respectivamente (RUBIANES e MENCHACA, 2003). Para Medan et al. (2003), em cabras com três ondas foliculares o aumento da quantidade de folículos com 3 mm, acontece nos dias 0, 7 e 11, enquanto em fêmeas que apresentam quatro ondas, a quantidade máxima de folículos de 3 mm ocorre nos dias -1, 5, 11 e 15. Evans (2004), observou que em qualquer dia do ciclo estral, podem ser encontrados nos ovários, de cinco a dez folículos ≥ 3 mm de diâmetro, e que os folículos ovulatórios em cabras, atingem um diâmetro de 6 a 9 mm.

Em cada onda folicular podem ser identificados três eventos: (1) **recrutamento ou emergência:** esta fase é controlada pelo aumento nas concentrações de FSH e resulta no recrutamento de um grupo de folículos saudáveis, com aproximadamente 2 mm, para continuarem seu desenvolvimento; (2) **seleção:** do grupo de folículos recrutados na fase anterior, poucos (de um a quatro) são selecionados a completarem seu desenvolvimento, os outros folículos tornam-se subordinados e entram em atresia. A seleção provavelmente está ligada ao desenvolvimento de receptores de LH nas células da granulosa; (3) **dominância:** folículos selecionados exercem então uma dominância sobre os demais e continuam seu desenvolvimento até atingirem um tamanho pré-ovulatório (≥ 5 mm), a partir do qual iniciarão um processo de crescimento e ovulação, ou de regressão (DRIANCOURT, 2001).

Existem estudos que comprovam a ocorrência de dominância folicular em caprinos especialmente durante a primeira e a última onda. O aumento na produção de E_2 durante o início da fase luteal e posteriormente ao final desta fase, está associado com o desenvolvimento da primeira onda e da onda ovulatória, respectivamente. Esse aumento no E_2 leva a uma relação de

dominância do maior folículo com os demais (GINTHER et al., 1996; De CASTRO et al., 1999; RUBIANES e MENCHACA, 2003).

No entanto, nas ondas foliculares que ocorrem no meio do ciclo, a dominância não consegue ser estabelecida devido à ausência de uma grande elevação da concentração circulante de E_2 (De CASTRO et al., 1999). Diante do exposto, alguns autores sugerem que o fenômeno de dominância em pequenos ruminantes não seja tão forte, quanto na espécie bovina, gerando assim a ocorrência de uma codominância, o que justifica a possibilidade de uma ou mais ovulações (GINTHER e KOT 1994; BARTLEWSKI et al., 1999; MEDAN et al., 2005). Dois mecanismos foram propostos por Scaramuzzi et al. (1993), para explicar a múltipla ovulação em ovelhas: um aumento no número de folículos responsivos as gonadotrofinas e um maior tempo de atuação do FSH sobre estes folículos. Para Jarrell e Dziuk (1991), cabras são potencialmente prolíficas devido ao elevado número de ovulações, gerando partos com mais de uma cria.

Do ponto de vista hormonal são relatadas quatro classes de folículos de acordo com a dependência e sensibilidade as gonadotrofinas: (1) gonadotrofina independente; (2) FSH dependente; (3) FSH - LH dependente e (4) LH dependente (GINTHER et al., 1996).

2.3 CORPO LÚTEO

2. 3. 1 Luteogênese, síntese e secreção de progesterona

O corpo lúteo é uma glândula endócrina, dinâmica e temporária que se desenvolve após a ovulação a partir de células remanescentes do folículo de Graaf (SMITH et al., 1994; SHANGA et al., 2002). Suas principais funções são a regulação do ciclo estral e o estabelecimento e manutenção da gestação, ambos relacionados à presença da P_4 , que é sintetizada e liberada na circulação sanguínea, por células luteínicas esteroideogênicas (BAIRD, 1992; SMITH et al., 1994; GONZÁLEZ, 2002, SALLES e ARAÚJO, 2010). A manutenção da gestação na cabra é essencialmente dependente do CL, de

forma diferente ao que ocorre em fêmeas ovinas e bovinas, que contam com a produção de P₄ placentária no terço final da gestação (GORDON, 1997; PROSPERI et al., 2006).

A complexa função luteal é controlada pela ação recíproca de vários fatores, tais como, gonadotrofinas (LH, prolactina), PGF_{2α} e E₂. O principal hormônio luteotrófico é o LH, e o aumento da secreção desta gonadotrofina é essencial para induzir a ovulação e iniciar o processo de luteinização (SHANGA et al., 2002). Desta forma, partir do pico pré-ovulatório de LH, ocorre uma ruptura no folículo de Graaf e a expulsão do oócito. Em seguida, a parede do folículo se fecha e capilares invadem o corpo lúteo em desenvolvimento sob a influência de vários fatores angiogênicos e mitogênicos (McCRACKEN et al., 1999).

Embora o principal hormônio esteróide secretado pelo CL seja a P₄, as células lúteas também possuem a capacidade de secretar pequenas quantidades de estradiol-17β, prostaglandinas e vários hormônios peptídeos, como, relaxina, ocitocina, vasopressina e inibina, que agem de forma autócrina e parácrina na regulação da fisiologia luteal (GURAYA, 2000).

A luteogênese envolve mudanças morfológicas e bioquímicas nas células foliculares até sua transformação em células esteroideogênicas do corpo lúteo. Durante a formação do CL, vários tipos de célula iniciam um processo de hiperplasia, hipertrofia e/ou migração (SMITH et al., 1994; SMITH et al., 1999).

Após várias pesquisas utilizando métodos morfológicos e imunológicos, pesquisadores passaram a classificar as células esteroideogênicas do CL em dois tipos: as células lúteas pequenas (CLP) derivadas das células da teca interna e as células lúteas grandes (CLG) provenientes das células da granulosa. Além das células esteroideogênicas, o corpo lúteo contém células endoteliais, fibroblastos, pericitos e células originárias da corrente sanguínea (McCRACKEN et al., 1999; NISWENDER et al., 2000; SHANGA et al., 2002).

No desenvolvimento luteal ocorre uma proliferação celular tão intensa que foi comparada a tumores de crescimento rápido (JABLONKA-SHARRIF et al., 1993). Desta forma, o folículo ovulatório cujo tecido pesa cerca de 40 mg, em poucos dias se transforma em um CL com peso de cerca 600 - 700 mg (NISWENDER et al., 2000).

Na espécie ovina, as CLP têm a capacidade de estimular a angiogênese, enquanto CLG são as responsáveis por responder a ação luteolítica da $PGF_{2\alpha}$, mostrando haver uma comunicação bioquímica entre estes dois tipos de células. Durante o ciclo estral, as CLP (menores que 20 μm), aumentam em número, mas não em tamanho, constituindo aproximadamente 20 a 30% do volume do CL. De forma oposta, as CLG (20 - 30 μm), hipertrofiam-se, porém não se multiplicam e apesar de estarem em menor número, ocupam cerca de 70% da área total do CL, secretando mais de 85% da P_4 produzida (FARIN et al., 1986; SMITH et al., 1994; SALLES e ARAÚJO, 2010).

A luteogênese envolve a transição de um folículo pré-ovulatório em um CL altamente vascularizado, capaz de secretar uma grande quantidade de P_4 . Um componente essencial do desenvolvimento do CL é o aumento no suprimento sanguíneo (SMITH et al., 1994). Desta forma, a luteinização das células da granulosa é controlada pelo LH e pela capacidade do sistema vascular em transportar oxigênio, nutrientes, hormônios e diversos fatores (NISWENDER et al., 2000).

No início do ciclo estral ocorre a maior taxa de crescimento vascular do CL que ao atingir a metade do ciclo já se encontra maduro e amplamente vascularizado. A variação no tamanho das células luteais é uma indicação direta da atividade esteroidogênica, evidenciado pelo seu crescimento entre os dias 6 e 8 a partir dos quais permanece praticamente inalterado até o dia 15 do ciclo estral (CUNNINGHAM, 1999). Após o 16º dia tem início a regressão das células luteais exibindo uma série de mudanças na sua morfologia características de apoptose (JUENGUEL et al., 1993).

De acordo com Niswender et al. (2000), a progesterona age no trato reprodutivo de modo a prepará-lo para a iniciação e manutenção da gestação. Porém, para que haja essa ação progesterônica, é necessária uma exposição prévia ao E_2 , o qual induz a produção de receptores para a P_4 .

A biossíntese de P_4 é modulada pela disponibilidade de colesterol e pela expressão de enzimas esteroidogênicas específicas (SMITH et al., 1994). Em condições normais, a maior parte do colesterol é sintetizada no fígado e transportada para tecidos esteroidogênicos, como o córtex adrenal, folículos,

corpo lúteo e testículos, sob a forma de lipoproteínas. Lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e lipoproteínas de alta densidade (HDL) são as fontes mais comuns de colesterol para a produção de hormônios esteróides pelo corpo lúteo, porém em condições de privação lipídica as células lúteas são capazes de sintetizar colesterol a partir de acetato (NISWENDER et al., 2000).

Segundo González (2002), as concentrações de P_4 plasmática são indetectáveis logo após a ovulação, mas aumentam gradualmente a partir do 3º dia do ciclo estral, mantendo-se elevadas durante 12 dias na maioria das espécies.

Para Pineda (2003), durante o anestro e o início do estro da cabra as concentrações de P_4 no sangue se encontram baixas (menores que 1,0 ng/mL), porém após a ovulação aumentam rapidamente atingindo um pico de 6 a 10 ng/mL no meio do ciclo estral e caem de forma abrupta com o fim do diestro. Caso a fêmea esteja gestante as concentrações permanecem altas chegando de 10 a 12 ng/mL durante o 21º dia da gestação. De acordo com Evans e Maxwell (1987) na fêmea caprina, a concentração de P_4 sérica atinge seu pico cerca de seis dias após a ovulação, permanecendo alta durante toda a gestação. Caso ocorra alguma falha no processo de fecundação ou implantação embrionária, entre o 16º ou 17º dia após a ovulação, as prostaglandinas uterinas, provocam a luteólise e conseqüentemente a queda nas concentrações plasmáticas de P_4 (FREITAS e LOPES JÚNIOR, 2002). Como já foi visto anteriormente, em circunstâncias nas quais ocorre o estabelecimento ou recomeço da atividade reprodutiva como, puberdade, pós-parto e início da estação reprodutiva, é comum a ocorrência de ciclos estrais anormais, associados a uma fase lútea com baixas concentrações de P_4 (inferior a 1,5 ng/mL) que podem ou não estar associadas à RPCL (BAIRD, 1992).

Arashiro et al. (2010a), em estudo realizado na Zona da Mata Mineira durante o início da estação de acasalamento utilizando cabras da raça Toggenburg, observaram que a concentração plasmática de P_4 aumentou progressivamente até o 9º dia do ciclo, alcançando o nível máximo ($8,3 \pm 0,4$ ng/mL) no 14º dia, quando ocorreu uma queda acentuada na concentração plasmática de P_4 , que atingiu valores inferiores a 1,0 ng/mL (cerca de 24 horas após o início da luteólise).

2.3.2 Luteólise e liberação de prostaglandina $F_{2\alpha}$

A luteólise ou regressão do CL caracteriza-se por uma diminuição inicial da secreção de P_4 definida como luteólise funcional. Em seguida ocorre a luteólise estrutural ou morfológica, quando há uma modificação na estrutura celular da glândula e sua involução gradual no ovário até formar uma pequena cicatriz (*corpus albicans*) composta apenas de tecido conjuntivo. Visto como um mecanismo evolutivo para aumentar a eficiência reprodutiva, a luteólise permite que na maioria das fêmeas mamíferas cíclicas, em caso negativo de gestação, um novo ciclo recomeça a partir da regressão do CL (McCRACKEN et al., 1999).

As prostaglandinas podem ser secretadas por uma grande variedade de tecidos orgânicos. Porém, por terem sido primeiramente isoladas de fluidos das glândulas sexuais acessórias, acabaram por receber uma denominação associada à glândula prostática (HAFEZ, 2004).

De acordo com Pineda (2003), em cabras e ovelhas a $PGF_{2\alpha}$ uterina é definida como o agente luteolítico natural e a ocitocina ovariana possui um papel importante na secreção de $PGF_{2\alpha}$. Algumas evidências já foram encontradas deixando clara a atuação da $PGF_{2\alpha}$ como um fator luteolítico em ovelhas, tais como: (1) a capacidade do endométrio em sintetizar e secretar a prostaglandina, (2) a detecção da sua presença na veia uterina no momento da luteólise, (3) a existência de um mecanismo de transferência entre a veia uterina e artéria ovariana, tornando possível a passagem da $PGF_{2\alpha}$ de um órgão para o outro sem a sua entrada na circulação periférica e (4) a ocorrência da luteólise após administração de $PGF_{2\alpha}$ (GONZÁLEZ, 2002).

O padrão de liberação episódica da $PGF_{2\alpha}$ uterina parece ser controlado indiretamente pelos hormônios esteróides ovarianos estradiol- 17β e P_4 . No final da fase lútea, devido à redução de receptores para P_4 , esta deixa de agir no hipotálamo e no útero, permitindo o retorno de uma ação estrogênica. O E_2 estimula concomitantemente, o aumento da frequência de secreção de ocitocina pelo hipotálamo e a formação de receptores de ocitocina endometriais. A interação da ocitocina proveniente da neurohipófise com os

receptores presentes no endométrio determina a secreção de pulsos luteolíticos de $\text{PGF}_{2\alpha}$ uterina. Desta forma, o útero pode ser considerado como um transdutor que converte os sinais neurais intermitentes do hipotálamo, sob a forma de secreção episódica da ocitocina, em pulsos luteolíticos de $\text{PGF}_{2\alpha}$ uterina. Inicialmente, pequenas quantidades de $\text{PGF}_{2\alpha}$ são liberadas pelo endométrio, sendo suficientes para iniciar a liberação suplementar de ocitocina pelo tecido luteal, o que provoca uma amplificação na liberação endometrial de $\text{PGF}_{2\alpha}$. A síntese e liberação de $\text{PGF}_{2\alpha}$ pelo útero passam a ser altas o bastante, para ativar os receptores de $\text{PGF}_{2\alpha}$ de baixa sensibilidade, inibindo a secreção de P_4 e promovendo a liberação suplementar de ocitocina pelo CL, formando um sistema cíclico de retroalimentação positiva (BAIRD, 1992; McCracken et al., 1999).

2.3.3 Regressão prematura do corpo lúteo

A ocorrência de ciclos de curta duração é um fato evidente na cabra (HOLTZ et al., 2008). Segundo Baird (1992), esse fenômeno costuma ser observado com maior frequência em períodos onde a atividade reprodutiva está sendo inicialmente estabelecida (puberdade) ou reiniciada (após o anestro estacional e no pós-parto). Para Chemineau (2006), a introdução de um macho no rebanho durante a estação de anestro pode provocar a indução e sincronização do estro e ovulação. Porém segundo o autor, a ocorrência de ciclos curtos (de cinco ou seis dias) após a primeira ovulação causada pela presença do macho, está muito ligada à condição nutricional e corporal em que a fêmea se encontrava anteriormente. Lassoued et al. (1997), afirmam que a proporção deste tipo de ciclo varia e depende de fatores como nutrição, estacionalidade e raça já que todos estes elementos podem influenciar diretamente em uma situação mais profunda de anestro. Fatores endócrinos aos quais o folículo é exposto antes da ovulação têm uma influência fundamental sobre a função adequada do corpo lúteo (BAIRD, 1992). Segundo Armstrong et al. (1982), uma das prováveis causas de uma RPCL pode ser um desenvolvimento folicular muito rápido. Desta forma, ocorre a ovulação de

folículos nos quais as células da granulosa não tenham adquirido uma maturidade necessária para uma luteinização ideal em resposta a onda de LH. Corpos lúteos inadequados funcionalmente podem ser classificados em dois grupos. O primeiro seria o CL de curta duração e o segundo o CL de duração normal, porém com reduzida secreção de P_4 (GARVERICK e SMITH, 1986).

2.4 SINCRONIZAÇÃO DO ESTRO COM PROSTAGLANDINA $F_{2\alpha}$

A programação do manejo reprodutivo de uma propriedade por meio da sincronização do estro e da ovulação é a base para alcançar um sistema de produção eficiente (VÁZQUEZ et al., 2010). O controle do ciclo estral permite ao produtor dividir seu rebanho de acordo com a sua capacidade de manejo (instalações, mão de obra) e organizar a sua produção voltada para a demanda do mercado consumidor (TRALDI et al., 2007; BARBOSA et al., 2013). A concentração do estro em um rebanho durante a estação reprodutiva facilita a identificação de fêmeas, propicia a programação da IA em um período pré-determinado e tem ainda como vantagem, no caso das fêmeas não gestantes, o retorno ao estro também de forma sincronizada, portanto muito mais fácil de ser detectado.

Como já foi dito anteriormente, a utilização de protocolos com base no uso de progestágenos para indução e sincronização do estro além de serem caros para o produtor, podem causar danos à saúde das fêmeas (vaginítes, cistos, hidrometra) (SANTIAGO et al., 1999; SOUZA et al., 2013). Em alguns países da Europa e nos EUA já existe a proibição do uso de progesterona em animais voltados para a produção de leite e carne devido ao limite máximo de resíduo permitido nos alimentos (VÁZQUEZ et al., 2010). Durante a estação reprodutiva um método alternativo para a sincronização do estro em cabras e ovelhas é a indução da luteólise, eliminando o CL presente e iniciando assim uma nova fase folicular e posterior ovulação (ABECIA et al., 2012). Em ruminantes o principal fator luteolítico é a $PGF_{2\alpha}$ (McCRACKEN et al., 1999) sendo assim a administração exógena de $PGF_{2\alpha}$ ou seus análogos é capaz de causar a luteólise desejada.

Os agentes luteolíticos mais utilizados na cabra são o cloprostenol e o dinoprost. O cloprostenol é um análogo especializado na luteólise que possui a mesma estrutura geral da $PGF_{2\alpha}$, tendo uma meia-vida em torno de três horas. O dinoprost possui uma meia-vida de uma a duas horas (FREITAS e LOPES JÚNIOR, 2002).

Várias pesquisas já foram realizadas com o objetivo de sincronizar o estro e a ovulação a partir de protocolos nos quais a prostaglandina sintética foi utilizada para causar a regressão do CL durante o ciclo estral, iniciando assim uma nova onda de crescimento folicular (EVANS e MAXWELL, 1987). A luteólise funcional pode ser demonstrada a partir da redução na produção de P_4 até a metade da concentração normal, de uma a duas horas após a aplicação de $PGF_{2\alpha}$ (McCRACKEN et al., 1999).

Acritopoulou e Haresing (1980), analisaram a aplicação de apenas uma dose de 100 μg de análogo de $PGF_{2\alpha}$ via intramuscular em diferentes momentos (dias 3, 5, 8, 11, 14 e 16) do ciclo estral em ovelhas e observaram que apenas as fêmeas que receberam a $PGF_{2\alpha}$ nos dias 3 e 16 não responderam ao tratamento. A partir dos dados obtidos neste estudo, os autores, concluíram que a aplicação de uma única dose de $PGF_{2\alpha}$ em qualquer dia do ciclo estral resulta na sincronização de 66% das ovelhas, com um intervalo médio de $37,7 \pm 1,6$ horas entre a aplicação do fármaco e o início do estro. Para garantir que todas as fêmeas respondam ao tratamento, os autores sugeriram o uso de duas doses de $PGF_{2\alpha}$ administradas com intervalos de 9 a 10 dias possibilitando que as ovelhas estejam responsivas a prostaglandina no dia da segunda aplicação independente da resposta à primeira.

Mgongo (1987), utilizando cabras da raça africana (EASH) acompanhou a resposta a duas aplicações de cloprostenol, alterando as doses da segunda aplicação (125 μg , 62,5 μg e 31,25 μg) e os locais de administração (intramuscular – IM ou intravulvosubmucosal – IVSM). Antes do início do experimento, durante dois ciclos estrais as fêmeas foram observadas quanto ao comportamento de estro, confirmado ainda pela determinação da concentração sérica de P_4 dosada no diestro. Uma primeira aplicação de 125 μg de cloprostenol (IM) foi realizada entre os dias 11 e 14 do ciclo estral para

assegurar que todas as fêmeas estivessem responsivas à segunda dose de PGF_{2α}. Após a segunda aplicação, o autor concluiu que ao utilizar uma dose de 62,5 µg de d-cloprostenol pela via IVSM obteve-se o mesmo resultado atingido com 125 µg do luteolítico pela via IM, demonstrando que a via de administração exerceu um efeito importante em seu estudo.

Fonseca (2002), utilizando duas doses de 22,5 µg de d-cloprostenol (submucosa vulvar), intervaladas de 10 dias em cabras nulíparas das raças Alpina e Saanen, verificou resposta ao tratamento com manifestação de estro em 73,7% das fêmeas, com intervalo de 44,5 ± 15,9 horas entre a aplicação e o início do estro e duração média do estro de 31,7 ± 11,1 horas, após a primeira dose da PGF_{2α} e 89,5% de manifestação de estro após a segunda aplicação com um intervalo médio de 49,9 ± 11,9 horas até o início do estro e duração média do estro de 16,2 ± 10,8 horas. Segundo o autor, a diferença significativa apresentada em relação à duração do estro após as duas aplicações, pode ter ocorrido devido ao estágio de crescimento final do folículo dominante da segunda onda do ciclo estral apresentado na segunda aplicação, tornando assim menor a duração do estro.

Menchaca et al. (2004), avaliaram um protocolo de sincronização em ovelhas (Synchrovine™) nulíparas e pluríparas, contendo duas doses de análogo de PGF_{2α} (160 µg de delprostenate via IM) intervaladas de sete dias com posterior inseminação artificial em tempo fixo (IATF), realizada em diferentes horários (42, 48 ou 54 horas). A maioria das fêmeas (80%), respondeu a sincronização iniciando o estro entre 25 e 48 horas após a segunda aplicação de PGF_{2α}. Segundo os pesquisadores, protocolos tradicionais contendo duas doses de PGF_{2α} com intervalos de 10 a 14 dias não são uma alternativa viável em programas de IATF em rebanhos numerosos. Isto porque apesar da manifestação de estro após a segunda dose ocorrer em grande parte das fêmeas, esta acontece de forma dispersa em um período de 120 horas, impedindo o uso da IATF. A redução do intervalo das aplicações de PGF_{2α} para sete dias tem como objetivo alcançar uma maior sincronia de ovulações após a segunda dose. Desta forma, a primeira dose de PGF_{2α} é realizada sem que se saiba a condição ovariana no momento da aplicação.

Neste caso a ovulação ocorre em um intervalo de 2 a 4 dias, determinando a emergência da primeira onda folicular do ciclo seguinte. O maior folículo desta onda continuará crescendo por um período de 4 a 7 dias e simultaneamente haverá o desenvolvimento de um CL. Sendo assim, se a aplicação da 2ª $\text{PGF}_{2\alpha}$ for feita sete dias após a primeira, ocorrerá entre o 3º e o 5º dia depois da ovulação, quando o maior folículo ainda está crescendo e o CL já se encontra responsivo a prostaglandina (Figura 2).

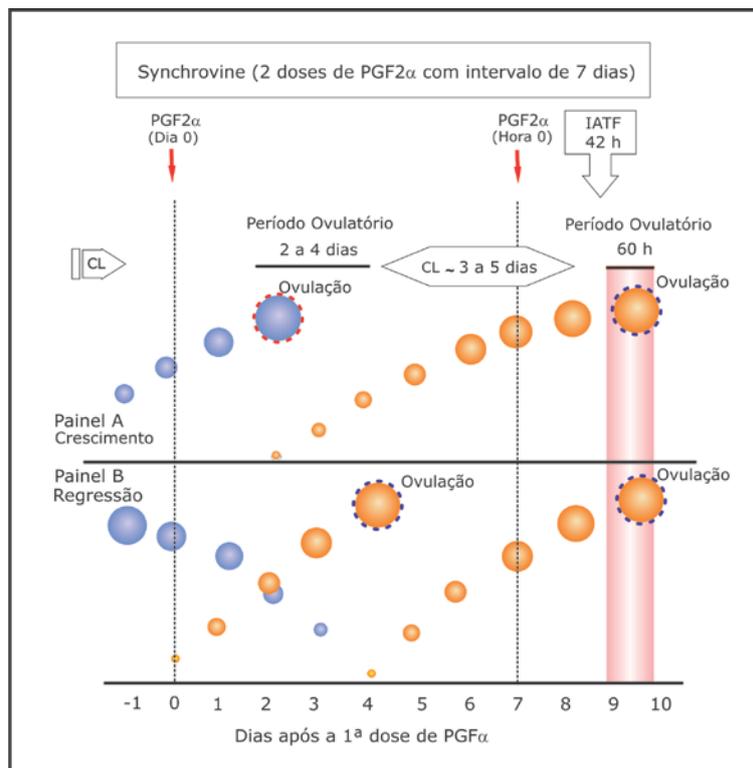


Figura 2: Representação esquemática do protocolo Sincrovine™ de acordo com o estágio folicular no momento da primeira dose de $\text{PGF}_{2\alpha}$ em duas situações: Painel A - Crescimento; Painel B - Regressão. Adaptado de Menchaca e Rubianes (2004).

Siqueira et al. (2009), ao utilizarem o mesmo protocolo com cabras da raça Toggenburg nulíparas e pluríparas, não lactantes e lactantes, encontraram valores semelhantes em relação à manifestação de estro (85,5% e 88,7%). Porém, concluíram que houve uma influência ($P < 0,05$) da aplicação da $\text{PGF}_{2\alpha}$

no início ($41,0 \pm 20,3$ e $45,7 \pm 9,3$ horas) e na duração do estro ($40,0 \pm 15,9$ e $32,2 \pm 12,1$ horas), após a primeira e segunda aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$ respectivamente.

Esteves et al. (2013), avaliaram a eficiência da administração de duas doses contendo $30 \mu\text{g}$ de $\text{PGF}_{2\alpha}$ (d-cloprostenol) laterovulvar, intervaladas de 10 dias, associadas ou não à 250 UI de hCG aplicadas no momento do estro, sobre os parâmetros reprodutivos de cabras leiteiras (Toggenburg, Alpina, Saanen). Não foram encontradas diferenças ($P > 0,05$) entre os grupos experimentais (hCG e solução salina) em relação à manifestação de estro após a primeira e a segunda administração de $\text{PGF}_{2\alpha}$ (76% e 79%). Porém em outros parâmetros como intervalo da primeira ($75,8 \pm 53,9$ horas) e segunda ($47,7 \pm 10,1$ horas) aplicação ao estro e duração do primeiro ($35,4 \pm 15,9$ horas) e segundo ($26,8 \pm 15,0$ horas) estro, foram observadas diferenças ($P < 0,05$), demonstrando maior duração nos períodos avaliados após a primeira aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$, o que indica que houve uma melhor sincronização do estro após a segunda dose.

2.5 INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL NA ESPÉCIE CAPRINA

A inseminação artificial é a biotécnica da reprodução mais difundida em todo o mundo. Em países como a França, a busca por um melhoramento genético na caprinocultura leiteira fez com que a IA tenha se tornado uma rotina no sistema atual de produção (BALDASSARE e KARATZAS, 2004; HOLTZ, 2005).

No Brasil, sua utilização ainda continua restrita aos animais denominados de elite, geralmente caprinos de leite e de corte e a atual proibição na importação de sêmen (FONSECA e SIMPLÍCIO, 2008), torna indispensável o aprimoramento em testes de progênie que possam garantir a introdução de uma genética melhoradora nos rebanhos.

2.5.1 Técnicas de inseminação artificial

Na cabra, durante o acasalamento natural, o sêmen é depositado no interior da vagina e apesar do grande número de espermatozóides presentes no ejaculado, apenas uma pequena parte consegue alcançar e ultrapassar a cérvix, atingindo o útero e as tubas uterinas (EVANS e MAXWELL, 1987).

Na IA, a deposição do material seminal em cabras e ovelhas pode ser realizada por meio de diversas técnicas que diferem entre si devido a sua complexidade, custo e expectativas de êxito. No entanto, todas têm como objetivo, depositar os espermatozóides no aparelho genital da fêmea, no local e no momento mais adequado para que alcancem os ovidutos e fecundem os oócitos ali presentes. De acordo com a localização de deposição do sêmen, a IA pode ser dividida em: vaginal, cervical superficial, cervical profunda e intrauterina por via transcervical ou por laparoscopia (AISEN, 2008).

As técnicas mais simples podem ser realizadas como rotina a partir da aquisição do material necessário e do treinamento de mão-de-obra especializada. A inseminação feita no corno uterino pela técnica de laparoscopia, no entanto, apresenta um custo elevado, devido ao preço do instrumental e a necessidade de ser realizada exclusivamente por médicos veterinários (FONSECA e SIMPLÍCIO, 2008).

2.5.2 Técnica Embrapa de inseminação artificial transcervical com fixação cervical em caprinos

A técnica Embrapa de inseminação artificial em caprinos tem atingido índices extremamente favoráveis de deposição uterina, conforme resultados já publicados (FONSECA et al., 2007; SIQUEIRA et al., 2009). Sendo inclusive, superiores aos resultados alcançados com a utilização do método tradicional realizado com a fêmea em apoio bipedal anterior (FONSECA et al., 2011).

A técnica deve ser conduzida com a fêmea em posição quadrupedal e contida em tronco individual, ou no próprio canzil da sala de ordenha. Esta é considerada um excelente local para a realização da IA, já que o animal

encontra-se em posição elevada em relação ao inseminador, que pode permanecer de pé ou sentado. Além disso, é um ambiente limpo e rotineiramente frequentado pelas cabras.

Para a realização da IA é necessária a ajuda de um auxiliar que mantenha a cauda da fêmea levantada, enquanto o inseminador faz a limpeza a seco da genitália externa e estimulação do clitóris com a massagem da parte inferior da vulva, ambos com toalha de papel. Durante o procedimento são utilizados espéculos do tipo Collin nos tamanhos 0, 1, 2 e 3 (dependendo da categoria e da dilatação vaginal da cabra). Antes que o espéculo seja introduzido na vagina da fêmea, deve ser lubrificado com gel para facilitar a penetração. Com auxílio de uma fonte de luz, posiciona-se o espéculo até a visualização da cérvix, fixando-a com uma pinça de Allis de 26 cm, desprovida de serrilhas. Neste momento o muco cervical pode ser classificado. Com uma das mãos o inseminador deve segurar o espéculo, a fonte de luz e a pinça, sem tracioná-los, e com a outra mão o aplicador de sêmen previamente montado, que é introduzido no orifício cervical, com movimentos para os lados, para cima e para baixo. A passagem dos anéis cervicais deve ser feita delicadamente até a perda da resistência, ou até o local mais profundo atingido, onde o sêmen deve ser depositado. Este procedimento não deve ultrapassar 60 segundos (FONSECA et al., 2011).

2.5.3 Avaliação do muco, tipo de sêmen e categoria da fêmea

O muco atua de forma importante na função da cérvix, controlando e direcionando a migração espermática. Desta forma, durante o estro, o muco cervical encontra-se mais aquoso e permeável, permitindo a migração dos espermatozóides no trajeto até o útero. No período pós-ovulatório, ocorre um aumento da P₄ sérica que inibe a secreção de muco cervical, diminuindo a sua quantidade (FATET et al., 2011).

O muco vai apresentar visíveis variações em relação ao seu aspecto e consistência durante o período de estro. Pode ser classificado de 1 a 5, em função dos horários referentes ao início do estro, sendo assim utilizado para

determinar o momento mais adequado para a realização da inseminação artificial (EVANS e MAXWELL, 1987).

No início do estro (de 0 a 6 horas após detecção), o muco caracteriza-se por um aspecto límpido e transparente (muco 1 = cristalino). No intervalo de 6 a 12 horas passa a apresentar um pouco de turvação (muco 2 = cristalino/estriado) e de 12 e 18 horas, encontra-se turvo com estrias brancas (muco 3 = estriado). Entre 18 e 24 horas o muco apresenta-se opaco (muco 4 = estriado/caseoso) e com mais de 24 horas começa a formar grumos esbranquiçados (muco 5 = caseoso) (EVANS e MAXWELL, 1987; OLIVEIRA et al., 2013).

Os gametas masculinos só sobrevivem no útero e tubas uterinas por aproximadamente 10 a 12 horas e a sobrevivência dos gametas femininos após a ovulação é de 12 a 24 horas. Desta forma é muito importante que a IA seja realizada num momento muito próximo à ovulação, que na cabra, ocorre geralmente de 30 a 36 horas após o início do estro (EVANS e MAXWELL, 1987).

O sêmen caprino após ser coletado pode ser utilizado a fresco, fresco diluído (ampliando sua capacidade de utilização), fresco diluído resfriado (mantido a 4°C por um curto período) e congelado (mantido a -196°C por longo tempo). O tipo de sêmen a ser utilizado, deve ser avaliado em função do momento da IA referente ao início do estro. Sendo assim, é recomendável que o sêmen fresco seja utilizado para muco 1 e 2 (até 12 horas após o início do estro), devido a necessidade de permanência por um maior período no trato genital para que os espermatozóides se tornem aptos para a fecundação (capacitação espermática) e sêmen congelado para muco 3 e 4 (NUNES, 2002; FONSECA e SIMPLÍCIO, 2008).

Segundo Siqueira et al. (2009), em estudo utilizando sêmen resfriado, o melhor momento encontrado para a realização da IA foi quando o muco apresentava-se estriado e abundante, correspondendo ao período entre 12 e 18 horas após o início do estro (Figura 7). Ainda de acordo com Simplício (1987), citando Bonfert (1964), caso no momento da inseminação o muco observado seja cristalino, recomenda-se uma segunda IA de 12 a 14 horas após a primeira.

Cruz (2011), acompanhou a variação do muco (duas vezes ao dia) durante cinco dias, iniciando a observação 24 horas após a retirada da esponja. Ao confrontar o momento médio da ovulação, com o intervalo do estro ao aparecimento do muco 4, encontrou 32 e 30 horas respectivamente. A partir destes dados concluiu que o muco 4 é identificado em um período próximo a ovulação. Assim, pôde prever que o melhor momento para IA com sêmen congelado, no qual os gametas possuem uma longevidade menor do que no sêmen resfriado, seja entre o muco 3 e 4, devendo-se evitar o muco 2 e 5.

Outro aspecto que deve ser levado em consideração durante a IA é a categoria da fêmea. Segundo Azevedo et al. (1995), em cabras nulíparas, devido a dificuldade de transposição dos anéis cervicais, pode ocorrer uma taxa de fertilidade inferior as fêmeas pluríparas. Para o pesquisador, em experimento realizado com cabras da raça Moxotó no estado do Ceará, apesar da condição reprodutiva não ter influenciado na profundidade de deposição do sêmen na cérvix ($P>0,05$), verificou-se uma frequência de 36,4% de deposições vaginais nas fêmeas nulíparas em contraste a 1,7% observado nas fêmeas pluríparas. Em relação à fertilidade ao parto, houve diferença ($P<0,01$), e as cabras pluríparas apresentaram fertilidade superior às nulíparas. Além disso, durante o procedimento de IA, notou-se maior nível de estresse em cabras nulíparas, dificultando ainda mais a transposição dos anéis cervicais.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal Fluminense sob o número 116/11.

3.1 LOCALIZAÇÃO E PERÍODO EXPERIMENTAL

O estudo foi dividido em duas etapas conduzidas em dois municípios da Zona da Mata do Estado de Minas Gerais, Brasil.

A Etapa 1 foi integralmente realizada no Capril da Ladeira, localizado no município de Rio Novo, situado a 21°27' de latitude S e 43°07' de longitude W, a uma altitude média de 418 m. O clima é do tipo Cwa pela classificação de Köppen (inverno seco e verão chuvoso), com temperatura média anual de 19,3°C e índice pluviométrico médio anual de 1.647 mm³.

A Etapa 2 foi realizada em três criatórios: Capril Primavera localizado no município de Rio Novo; Capril Triqueda e Capril Santa Clara, ambos localizados no município de Coronel Pacheco, situado a 21°35' de latitude S e 43°15' de longitude W, a uma altitude média de 484 m, temperatura média anual de 21°C, índice pluviométrico médio anual de 1.581 mm³ e clima tipo Cwa (inverno seco e verão chuvoso), pela classificação de Köppen.

O período experimental ocorreu entre os meses de março e junho de 2013, durante a estação de acasalamento natural da espécie caprina (outono) na região sudeste do Brasil.

3.2 ANIMAIS EXPERIMENTAIS

3.2.1 Cabras

Foram estudadas 79 cabras (*Capra hircus*) da raça Saanen, sendo 46 nulíparas (NUL) e 33 pluríparas (PLU), com idades variando entre oito meses e seis anos, média de peso vivo (PV) de 40,3 ± 8,7 kg (NUL) e 61,1 ± 11,7 kg

(PLU) e escore de condição corporal (ECC) médio de $3,0 \pm 0,3$ (NUL) e $3,0 \pm 0,4$ (PLU) (escala 1 = muito magra a 5 = obesa; SUITER, 1994) (Anexo 1).

A estimativa do PV e a avaliação do ECC foram realizadas em sequência, com as fêmeas contidas em estação dentro da própria baia. O cálculo do PV foi feito pela mensuração da circunferência torácica. Para tal, contornou-se o tórax da cabra com a fita para pesagem (Caprine Supply/Dairy Goat Tape) posicionada na região imediatamente posterior a escápula e cotovelo. Logo após foi avaliado o ECC pela palpação da região das costelas, do esterno e dos processos espinhosos e transversos da região lombar. A partir da obtenção destes dados, foram escolhidas fêmeas com ECC entre 2,25 e 4,0. No caso das nulíparas, foram incluídas cabritas a partir de oito meses de idade e com o mínimo de 32 kg.

Todas as fêmeas passaram por avaliação ultrassonográfica para detectar gestação ou algum tipo de enfermidade reprodutiva.

3.3 SISTEMA DE PRODUÇÃO E MANEJO DOS ANIMAIS

Em três propriedades (Capril da Ladeira, Capril Primavera e Capril Triqueda) os animais foram mantidos em sistema de produção intensivo com confinamento total em baias coletivas, alimentados no cocho com capim Elefante picado (*Pennisetum purpureum*), silagem de milho, feno de Tifton (*Cynodon* spp) e concentrado comercial. No Capril Santa Clara as fêmeas nulíparas também foram mantidas em baias coletivas, porém com acesso ao pasto formado de *Brachiaria* spp, capim gordura (*Melinis minutiflora*) e grama estrela africana (*Cynodon* spp) e receberam no cocho uma suplementação com concentrado balanceado no próprio criatório. Em todas as propriedades água e sal mineral (Caprinofós[®] Tortuga, São Paulo, Brasil) foram fornecidos *ad libitum*.

3.4 SINCRONIZAÇÃO DO ESTRO

Para a sincronização do estro foram utilizados três protocolos contendo duas aplicações de 37,5 µg de prostaglandina sintética na região laterovulvar com intervalos de 7 dias ($G_{7\text{dias}}$), 10 dias ($G_{10\text{dias}}$) e 11,5 dias ($G_{11,5\text{dias}}$). A divisão das fêmeas nos três grupos ($G_{7\text{dias}}$, $G_{10\text{dias}}$ e $G_{11,5\text{dias}}$) foi feita de forma equitativa levando-se em consideração a categoria reprodutiva (nulíparas e pluríparas), o PV e ECC.

Nas duas etapas a prostaglandina $F_{2\alpha}$ utilizada foi o d-cloprostenol, porém, com uma alteração no fornecedor do fármaco. Na primeira etapa foi utilizado Croniben[®] (Biogénesis-Bagó, Curitiba, Brasil) e na segunda etapa, Prolise[®] (Tecnopec LTDA, São Paulo, Brasil).

Com o intuito de que todas as cabras fossem inseminadas com o menor intervalo de tempo possível, as primeiras aplicações (D0) de d-cloprostenol foram feitas em ordem decrescente do $G_{11,5\text{dias}}$ para o $G_{7\text{dias}}$. Desta forma as fêmeas dos três grupos receberam a segunda aplicação (D7, D10 e D11,5) no mesmo dia (manhã e tarde), aproveitando inclusive o “efeito fêmea” para a sincronização.

3.5 COLETA DE SANGUE PARA DOSAGEM PLASMÁTICA DE PROGESTERONA

Amostras de sangue foram coletadas para posterior determinação da concentração plasmática de P_4 . As coletas foram feitas através da punção da veia jugular utilizando tubos com vácuo (BD Vacutainer[®] Plus com Heparina, São Paulo, Brasil), contendo heparina como anticoagulante. Após a coleta as amostras foram imediatamente centrifugadas a 2000 x g por 15 minutos para separação do plasma, que foi dividido em duas alíquotas, colocado em frascos tipo *ependorf* e acondicionado a -20°C . As análises da concentração plasmática de P_4 foram realizadas no Laboratório de Dosagem Hormonal da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense, utilizando-se

kits comerciais de radioimunoensaio de fase sólida (Immunotech® Progesterone, Marseille, France).

3.6 AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA

Para a realização das avaliações ultrassonográficas dos ovários foi utilizado um aparelho portátil da marca Mindray modelo DP-2200 VET, com transdutor transretal multifrequencial de 5,0/7,5/10,0 MHz adaptado para uso em pequenos ruminantes. Esta adaptação foi feita com um tubo de PVC (30 cm de comprimento) ligeiramente curvado, fixado ao transdutor para possibilitar a movimentação do mesmo no interior do reto.

Com o objetivo de não veicular nenhum tipo de patógeno entre as fêmeas, foram usadas camisas sanitárias para probe retal (NTB Indústria e Comércio de Produtos para Pecuária LTDA, São Paulo, Brasil), trocadas a cada mudança de animal.

As cabras permaneceram em estação, contidas em um tronco específico para pequenos ruminantes. Em seguida as fezes foram retiradas manualmente da ampola retal e com o auxílio de uma seringa de 60 mL, uma pequena quantidade de gel (Carbogel UTL®, Carbogel Indústria e Comércio LTDA, São Paulo, Brasil) foi depositada no reto do animal para lubrificar e aumentar a superfície de contato. Após a introdução do transdutor e inicial visualização da bexiga urinária, teve início a avaliação do útero e dos ovários (rotacionando delicadamente o transdutor para esquerda e direita) e mensuração dos folículos. Para melhor compreensão da dinâmica folicular ovariana, o número, a posição relativa e o tamanho dos folículos ovarianos maiores ou iguais a 3 mm foram devidamente anotados em fichas individuais (Anexo 2). Considerou-se como dia da ovulação quando o folículo ou os folículos dominantes, não estivessem mais presentes.

3.7 COMPORTAMENTO SEXUAL E DETECÇÃO DE ESTRO

Para a avaliação do comportamento sexual das fêmeas, foram utilizados como base três parâmetros:

(-) ausência de qualquer um dos sinais característicos de estro: vulva hiperêmica e edematosa, aumento da atividade da fêmea (inquietação e estado de alerta), vocalização frequente, micção frequente, batimento lateral da cauda, procura pelo macho, imobilização e aceitação da monta.

(±) presença de algum dos sinais, porém não do confirmatório;

(+) aceitação da monta pelo macho (sinal confirmatório).

Na figura 3 são apresentados alguns dos sinais característicos de estro usados para avaliação do comportamento sexual.

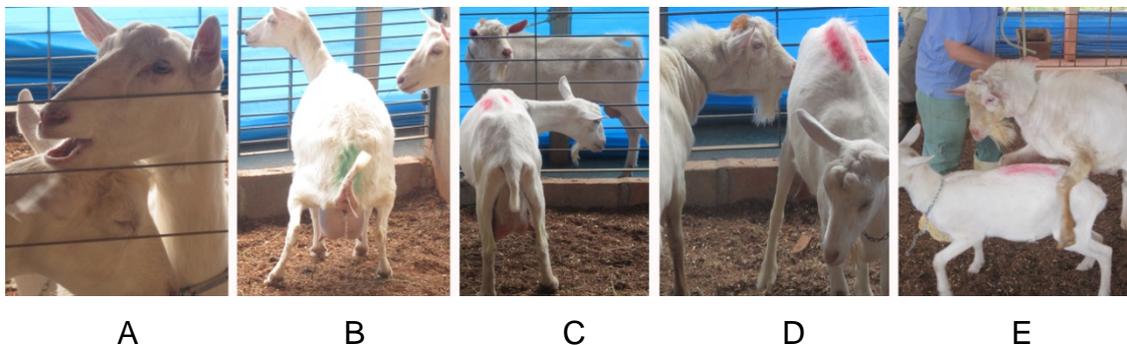


Figura 3: Sinais característicos de estro. A - vocalização; B - micção frequente; C - procura pelo macho; D - imobilização; E - aceitação da monta.

Cada cabra foi observada duas vezes ao dia por aproximadamente 15 minutos, na presença de um bode com libido comprovada. Foi considerado início do estro o momento em que a fêmea aceitou a monta. O acompanhamento prosseguiu até que a fêmea não aceitasse mais a monta pelo macho, caracterizando o final do estro. Os dados obtidos foram anotados em fichas (data e período do dia - manhã/09:00 h e tarde/16:00 h) (Anexo 3).

Essas avaliações foram realizadas de acordo com o proposto para cada etapa, tendo como objetivo definir o intervalo de tempo entre a aplicação do d-cloprostenol e o início do estro, turno de manifestação (manhã ou tarde), duração do estro e momento adequado para efetuar a IA.

3.8 INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL

A inseminação artificial foi realizada com sêmen congelado, em um período entre 18 e 24 horas após a detecção do estro (a partir da 2ª aplicação de d-cloprostenol). Foi utilizado o método de pinçamento da cérvix (FONSECA et al, 2011), com a fêmea em estação contida na sala de ordenha.

O procedimento de inseminação foi feito de acordo com as seguintes etapas: higienização a seco da vulva e massageamento do clitóris; introdução do espéculo fechado lubrificado com um pouco de gel paralelamente em relação aos lábios vulvares em sentido dorso-cranial (no caso das fêmeas nulíparas inicialmente foi introduzido o menor espéculo para desvirginá-las); abertura do espéculo e com auxílio de uma lanterna visualização da abertura caudal da cérvix; pinçamento da cérvix com uma pinça de Allis (modificada) e avaliação do muco (1 - 5) (Figura 4) ou observação da ausência do mesmo; introdução do aplicador tentando com cuidado ultrapassar o maior número possível de anéis até não encontrar mais nenhuma resistência e deposição lenta do sêmen.

Na figura 5 estão demonstradas algumas etapas da realização da IA.

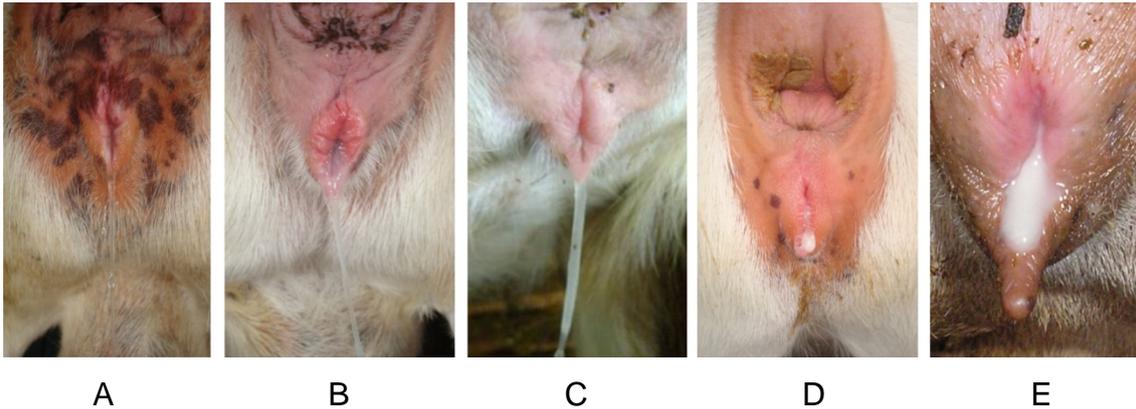


Figura 4: Classificação do muco

A - muco 1: cristalino; B - muco 2: cristalino/estriado; C - muco 3: estriado; D - muco 4: estriado/ caseoso; D - muco 5: caseoso (Fonte: Jeferson Ferreira da Fonseca/ Embrapa Caprinos e Ovinos - 2008/adaptado).

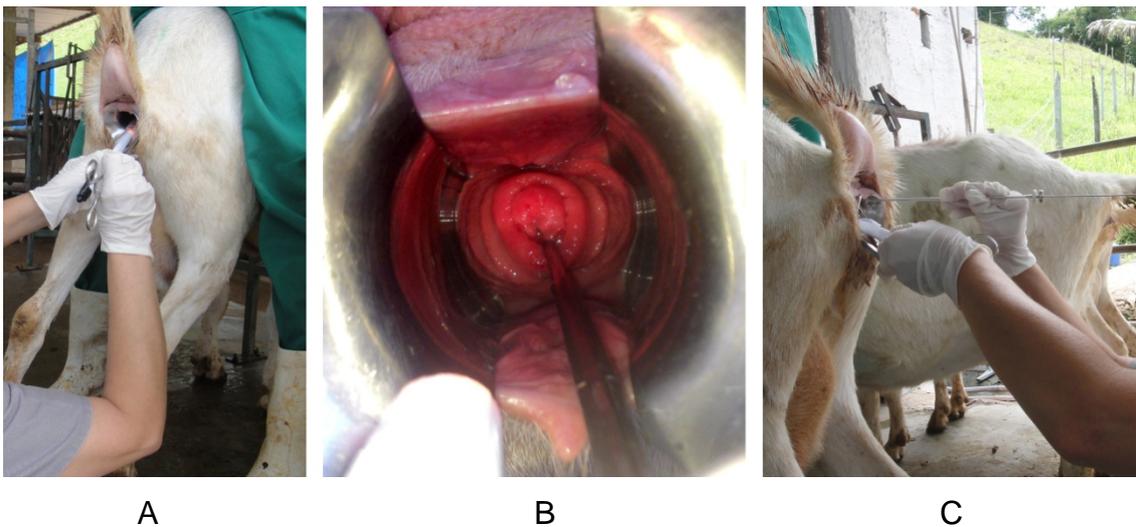


Figura 5: Etapas do procedimento de inseminação artificial: A- visualização da cérvix; B- pinçamento da cérvix com a pinça de Allis modificada; C - introdução do aplicador (Fotos: Mário Balara).

Para a inseminação o sêmen foi previamente descongelado a uma temperatura de 35°C por 30 segundos em aparelho próprio para este uso (Fertilize[®], Uberaba, Brasil). Imediatamente após o descongelamento do sêmen, seguiu-se a montagem do aplicador e retorno deste ao descongelador

(protegido com uma camisa sanitária), onde permaneceu até o pinçamento da cérvix. Entre as inseminações de um animal para o outro, as bainhas foram descartadas e o material utilizado lavado em água corrente, colocado em água fervente e posteriormente em solução higienizante (Kilol[®]L Quinabra, São José dos Campos, Brasil).

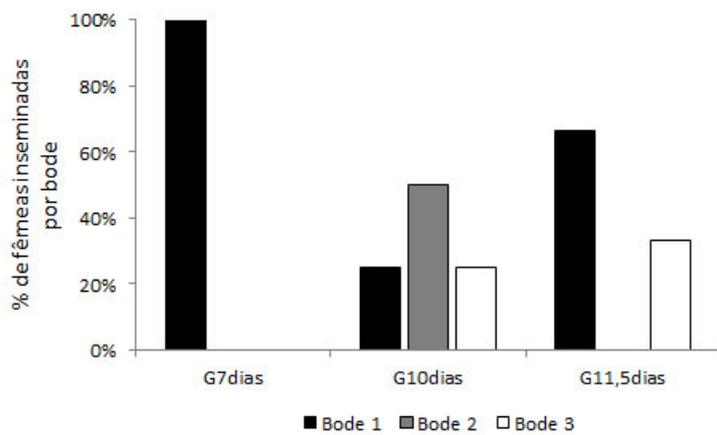
Todos os dados obtidos foram anotados em fichas (Anexo 4).

Foi utilizado sêmen congelado comercial de três bodes, seguindo-se uma ordem (Bode 1, Bode 2, Bode 3) no momento da IA.

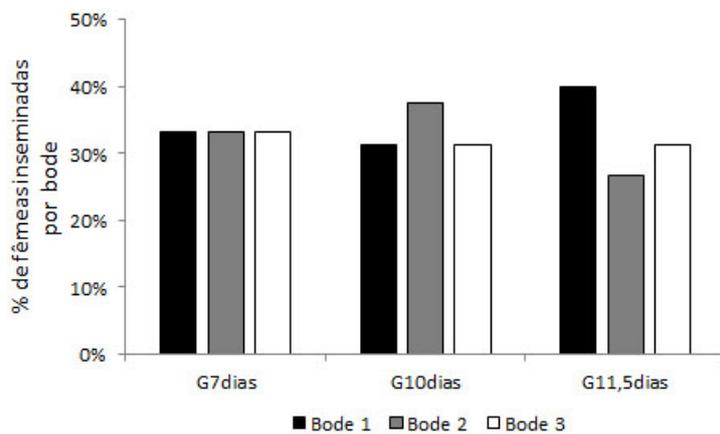
Na tabela 1 e na figura 6 são apresentados os dados sobre a qualidade do sêmen e a divisão dos bodes entre os grupos respectivamente.

Tabela 1: Avaliação do sêmen comercial utilizado no experimento

Avaliação	Bode 1	Bode 2	Bode 3
Motilidade pós-descongelamento (0-100)%	55	80	65
Vigor (0-5)	3,00	3,00	3,00
Concentração espermática/dose	80,0 x 10 ⁶	132,5 x 10 ⁶	127,5 x 10 ⁶
Defeitos Maiores (%)	9,5	0,5	5,5
Defeitos Menores (%)	9,5	17,5	3,0
Hiposmótico	40,5% reativo 59,5% não reativo	50,0% reativo 50,0% não reativo	35,0% reativo 65,0% não reativo
Eosina/Negrosina	50,0% intacto 50,0% lesado	62,5% intacto 37,5% lesado	54,5% intacto 45,5% lesado



A



B

Figura 6: Divisão dos bodes entre os três grupos. A - Etapa 1 e B - Etapa 2.

3.9 DIAGNÓSTICO DE GESTAÇÃO

Em ambas as etapas a gestação foi verificada com o mínimo de 30 dias após à IA, por meio de US transretal. Foi utilizado um aparelho modelo KX2000G Vet, da marca Kaixin, com transdutor translinear multifrequencial de 4,5 a 7,5 MHz, adaptado para uso em pequenos ruminantes. As fêmeas foram consideradas gestantes, a partir da visualização da vesícula embrionária, de placentomas viáveis e do feto apresentando batimentos cardíacos.

3.10 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

3.10.1 Etapa 1

Nesta primeira etapa foram obtidas informações sobre a função e dinâmica ovariana por meio da análise da concentração plasmática de P_4 e avaliação ultrassonográfica seriada do desenvolvimento folicular nos ovários.

O período experimental compreendeu o mês de março de 2013.

Na figura 7 estão representadas as atividades realizadas na Etapa 1.

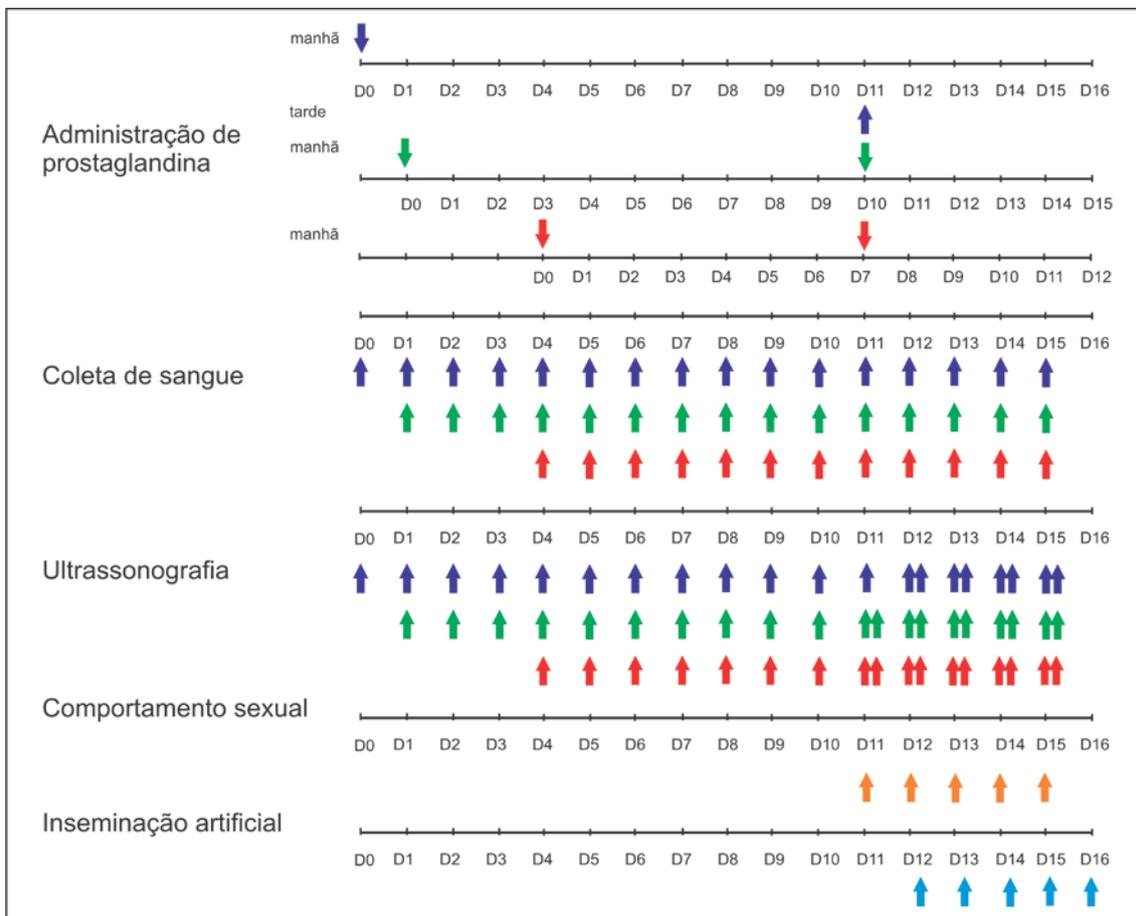


Figura 7: Representação esquemática das duas aplicações de d-cloprostenol, coletas de sangue, avaliações ultrassonográficas, acompanhamento do comportamento sexual e inseminação artificial realizados em cabras da raça Saanen (Etapa 1).

3.10.1.1 Sincronização do estro

Vinte e cinco fêmeas (15 nulíparas e 10 pluríparas) foram divididas entre os grupos: G_{7dias} (n=8); G_{10dias} (n=8) e G_{11,5dias} (n=9) (Tabela 2).

Tabela 2: Parâmetros de controle da Etapa 1. Peso e ECC de cabras da raça Saanen submetidas a protocolos de sincronização do estro com duas aplicações de d-cloprostenol em diferentes intervalos (média ± desvio padrão)

Etapa 1		G _{7dias}	G _{10dias}	G _{11,5dias}	Total
Peso (kg)	Nulíparas	46,1 ± 11,7 (5)	45,0 ± 10,8 (5)	42,6 ± 7,6 (5)	44,6 ± 9,5 (15)
	Pluríparas	51,4 ± 3,5 (3)	49,3 ± 3,2 (3)	51,6 ± 8,1 (4)	50,8 ± 5,3 (10)
	Total	48,1 ± 9,4 (8)	46,6 ± 8,6 (8)	46,6 ± 8,7 (9)	47,1 ± 8,6 (25)
ECC (1-5)	Nulíparas	3,00 ± 0,31 (5)	2,95 ± 0,21 (5)	3,10 ± 0,29 (5)	3,02 ± 0,26 (15)
	Pluríparas	2,75 ± 0,25 (3)	3,08 ± 0,29 (3)	2,94 ± 0,24 (4)	2,93 ± 0,26 (10)
	Total	2,91 ± 0,30 (8)	3,00 ± 0,23 (8)	3,03 ± 0,26 (9)	2,98 ± 0,26 (25)

3.10.1.2 Coleta de sangue

Uma amostra de sangue de cada animal foi coletada diariamente (08:00 h) por meio de venopunção jugular em tubos com vácuo e heparinizados. As coletas foram realizadas a partir do D0 de cada grupo experimental, momento em que as fêmeas recebiam a primeira administração de d-cloprostenol e prosseguiu até 96 horas após a segunda aplicação (D7, D10 e D11,5).

3.10.1.3 Avaliação ultrassonográfica

As avaliações ultrassonográficas dos ovários começaram a ser realizadas diariamente na parte da manhã, a partir da primeira aplicação de d-cloprostenol (D0). Após a segunda aplicação, as ultrassonografias passaram a ser feitas duas vezes ao dia (manhã e tarde), no máximo por cinco dias ou até que ocorresse a ovulação (determinada pela ausência do folículo dominante).

3.10.1.4 Comportamento sexual

Após a realização da segunda aplicação de d-cloprostenol, as cabras foram acompanhadas duas vezes ao dia (09:00 e 16:00 h) para detecção de estro.

3.10.1.5 Inseminação Artificial

A inseminação artificial foi realizada com sêmen congelado entre 18 e 24 horas após a detecção do estro. As cabras foram inseminadas conforme a Técnica Embrapa de inseminação artificial transcervical com fixação cervical em caprinos (FONSECA et al, 2011).

3.10.2 Etapa 2

Além de avaliar os três protocolos de sincronização do estro, a Etapa 2 teve como objetivo a obtenção de maiores informações sobre comportamento sexual das fêmeas desde a primeira aplicação de d-cloprostenol até o fim do estro.

O período experimental ocorreu durante os meses de abril a junho de 2013. Na figura 8, estão representadas as atividades realizadas na Etapa 2.

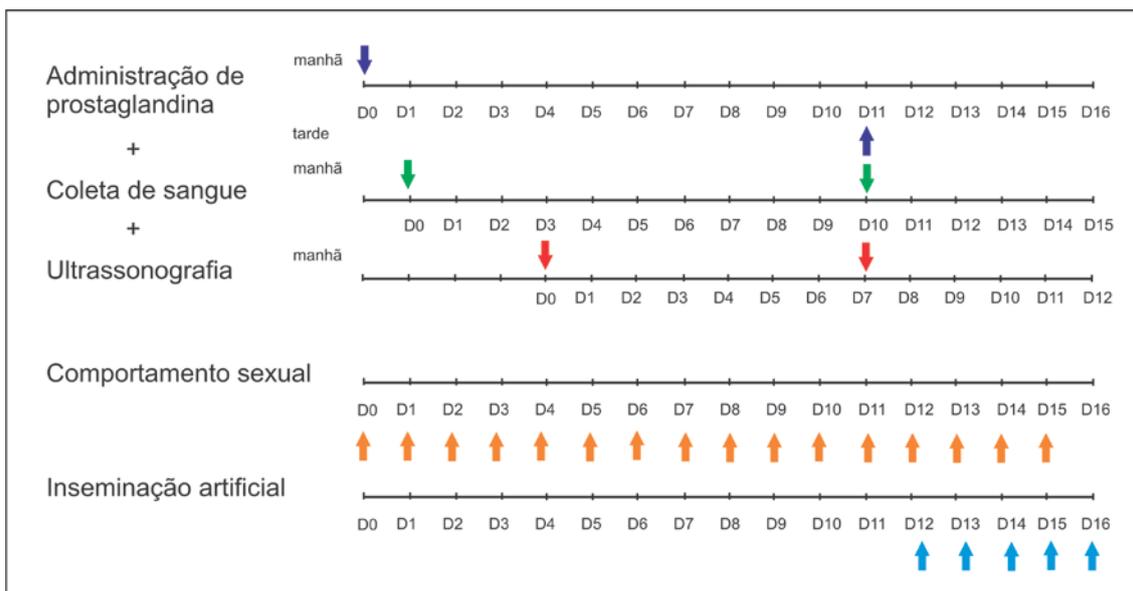


Figura 8: Representação esquemática das duas aplicações de d-cloprostenol, coletas de sangue, avaliações ultrassonográficas, acompanhamento do comportamento sexual e inseminação artificial realizados em cabras da raça Saanen (Etapa 2).

3.10.2.1 Sincronização do estro

Cinquenta e quatro cabras (31 nulíparas e 23 pluríparas) foram divididas entre os grupos: G_{7dias} (n=19); G_{10dias} (n=18); G_{11,5dias} (n=17) (Tabela 3).

Tabela 3: Parâmetros de controle da Etapa 2. Peso e ECC de cabras da raça Saanen submetidas a protocolos de sincronização do estro com duas aplicações de d-cloprostenol em diferentes intervalos (média ± desvio padrão)

Etapa 2		G _{7dias}	G _{10dias}	G _{11,5dias}	Total
Peso (kg)	Nulíparas	38,8 ± 10,2 (11)	38,7 ± 6,9 (11)	37,1 ± 4,5 (9)	38,3 ± 7,5 (31)
	Pluríparas	65,2 ± 9,6 (8)	66,7 ± 11,5 (7)	64,6 ± 12,9 (8)	65,5 ± 10,9 (23)
	Total	49,9 ± 16,5 (19)	49,6 ± 16,5 (18)	50,0 ± 16,8 (17)	49,8 ± 16,3 (54)
ECC (1-5)	Nulíparas	2,95 ± 0,35 (11)	3,05 ± 0,27 (11)	3,03 ± 0,23 (9)	3,01 ± 0,28 (31)
	Pluríparas	3,03 ± 0,34 (8)	3,14 ± 0,66 (7)	3,03 ± 0,51 (8)	3,07 ± 0,49 (23)
	Total	2,99 ± 0,34 (19)	3,08 ± 0,45 (18)	3,03 ± 0,37 (17)	3,03 ± 0,38 (54)

3.10.2.2 Coleta de sangue

Nos dias das aplicações do d-cloprostenol (D0, D7, D10 e D11,5), foram coletadas amostras de sangue de 23 cabras escolhidas ao acaso (11 nulíparas e 12 pluríparas), divididas entre G_{7dias} (n= 8); G_{10dias} (n= 8) e G_{11,5dias} (n= 7).

3.10.2.3 Avaliação ultrassonográfica

As análises ultrassonográficas dos ovários foram realizadas pela manhã, nos dias das aplicações do d-cloprostenol, nas mesmas 23 cabras que tiveram o sangue coletado.

3.10.2.4 Comportamento sexual

Para obter maiores informações sobre o comportamento sexual das fêmeas e não apenas com o objetivo de detectar o estro para realizar a inseminação, a rufiação foi realizada duas vezes ao dia (09:00 h e 16:00 h) tanto após a primeira (D0 - 23 fêmeas), quanto após a segunda aplicação de d-cloprostenol (D7, D10, D11,5).

No capril Triqueda não foi possível acompanhar a duração do estro. Desta forma na tabela 5 apresentada na Etapa 2, o parâmetro duração de estro tomou por base 41 cabras dos capris Primavera e Santa Clara.

3.10.2.5 Inseminação artificial

A inseminação foi conduzida da mesma forma que na Etapa 1.

3.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise dos dados foi realizada na Universidade Federal Fluminense utilizando-se o programa SAEG 9.0 (Sistema para Análises Estatísticas e

Genéticas) desenvolvido pela Universidade Federal de Viçosa. Foram avaliados os seguintes parâmetros:

- Peso corporal (kg);
- Escore de condição corporal (1- 5);
- Percentual (%) de animais em estro após a primeira aplicação de d-cloprostenol (D0), somente na Etapa 2;
- Percentual (%) de animais em estro após a segunda aplicação de d-cloprostenol (D7, D10 e D11,5);
- Concentração (%) de animais em estro entre 0 e 96 horas após a primeira (D0) e segunda aplicação de d-cloprostenol (D7, D10 e D11,5), somente na Etapa 2;
- Intervalo (horas) da primeira aplicação de d-cloprostenol (D0) ao início do estro, somente na Etapa 2;
- Intervalo (horas) da segunda aplicação de d-cloprostenol (D7, D10 e D11,5) ao início do estro;
- Duração (horas) do estro após a primeira (D0) e a segunda aplicação de d-cloprostenol (D7, D10 e D11,5), tempo entre a primeira e a última aceitação da monta, somente na Etapa 2;
- Intervalo (horas) do início do estro à IA, tempo entre a primeira aceitação da monta e a IA;
- Percentual (%) de cabras que manifestaram estro de manhã e à tarde;
- Percentual (%) de cabras apresentando concentrações plasmáticas de P₄ maiores ou menores que 1 ng/mL no D0, D7, D10 e D11,5 que manifestaram estro em decorrência do uso dos protocolos de sincronização com duas aplicações de d-cloprostenol;
- Percentual (%) de cabras de acordo com o tipo de muco cervical (1- 5) no momento da IA;
- Taxa (%) de concepção por grupo: número de cabras gestantes em relação ao tipo do muco.

As variáveis quantitativas foram submetidas ao teste Lilliefors de normalidade. Posteriormente foi realizada análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste Tukey (5% de significância). As variáveis qualitativas foram avaliadas por meio do teste Exato de Fisher (5% de

significância). A variável qualitativa taxa de concepção por grupo foi avaliada pelo teste Qui-quadrado.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ETAPA 1

4.1.1 Sincronização do estro e comportamento sexual

Após a segunda aplicação de d-cloprostenol, 25,0% (2/8), 50,0% (4/8) e 55,5% (5/9) das fêmeas dos grupos $G_{7\text{dias}}$, $G_{10\text{dias}}$ e $G_{11,5\text{dias}}$ apresentaram estro, resultando em uma manifestação de estro total de 44,0% (11/25), valor muito inferior ao esperado, inclusive diferindo do percentual de animais que apresentaram estro após a segunda aplicação de d-cloprostenol na Etapa 2 deste mesmo estudo. Talvez esse resultado possa ser atribuído ao fato de algumas fêmeas estarem no início da estação reprodutiva no período em que foi realizado o presente estudo. Segundo Moraes et al. (2002), um fator limitante para o uso de $\text{PGF}_{2\alpha}$ como método de sincronização é a necessidade de que os animais estejam ciclando e apresentem um CL funcional.

Nas fêmeas que responderam aos protocolos de sincronização, o intervalo da segunda aplicação de d-cloprostenol ao início do estro foi em média de $53,9 \pm 16,9$ horas, não apresentando diferença em relação aos grupos ($P > 0,05$). Estes resultados foram semelhantes a $52,0 \pm 3,0$ horas relatado por Ott et al. (1980), em 94% das cabras estudadas e $50,0 \pm 14,8$ horas observado por Fonseca et al. (2012), em 88,9% do total de cabras Saanen e Alpinas, ambos após a segunda aplicação de prostaglandina.

Não foi encontrada diferença entre os grupos ($P > 0,05$) em relação à duração média do estro que foi de $23,1 \pm 18,5$ horas. Valores inferiores ($16,2 \pm 10,8$ horas) foram observados por Fonseca (2002), após a segunda aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$ e superiores ($40,0 \pm 15,9$ e $32,2 \pm 12,1$ horas) foram encontrados por

Siqueira et al. (2009), após a primeira e segunda aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$ respectivamente.

Apesar de também não ter sido encontrada diferença entre as categorias reprodutivas em decorrência do baixo número de animais, os resultados de duração de estro obtidos nos grupos $G_{10\text{dias}}$ e $G_{11,5\text{dias}}$ em cabras nulíparas ($10,3 \pm 19,7$ horas e $8,5 \pm 12,0$ horas) foram inferiores aos observados nos mesmos grupos em cabras pluríparas ($24,0$ horas e $34,3 \pm 0,2$ horas). Possivelmente, a curta duração do estro possa ser explicada pela dificuldade em determinar exatamente o início da sua manifestação em fêmeas que não tiveram contato com o reprodutor anteriormente. Gelez et al. (2004), em estudo sobre comportamento reprodutivo utilizando ovelhas jovens sexualmente inexperientes, relataram que o alto nível de estresse pode explicar a dificuldade desta categoria em manter a atenção no macho durante a primeira estação reprodutiva.

4.1.2 Concentração plasmática de progesterona

Para avaliar a resposta aos protocolos de sincronização, as fêmeas foram divididas em dois grupos, de acordo com a concentração plasmática de P_4 no início dos tratamentos, considerando-se $P_4 > 1,0$ ng/mL para animais com CL ativo e $P_4 < 1,0$ ng/mL para animais sem CL ativo. A média dos dados obtidos a partir da análise do perfil plasmático de P_4 após a primeira aplicação de d-cloprostenol, encontram-se nas figuras 9 e 10.

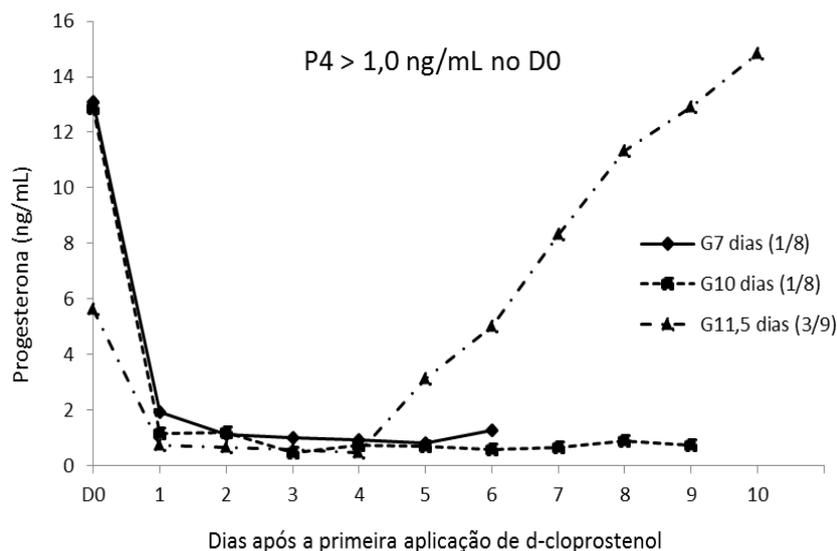


Figura 9: Perfil plasmático de P₄ em cabras com CL ativo (5/25) no momento da primeira aplicação de d-cloprostenol (P₄ > 1,0 ng/mL no D0).

De vinte e cinco fêmeas que participaram dos três protocolos de sincronização, apenas cinco (20,0%) possuíam CL ativo no dia da primeira aplicação de d-cloprostenol, apresentando uma variação de 3,2 a 13,1 ng/mL na concentração plasmática de P₄ (média de $8,6 \pm 4,6$ ng/mL). Nestas cinco cabras a resposta à administração de prostaglandina exógena foi rápida podendo ser observado no segundo dia após sua administração uma queda brusca da P₄ sérica que atingiu uma média de $1,2 \pm 0,8$ ng/mL.

Na figura 9, pode-se observar que quatro dias após a ação luteolítica da PGF_{2 α} , inicia-se uma elevação na P₄ do G_{11,5 dias} (3/9), que atinge uma média de $14,8 \pm 5,9$ ng/mL no dia anterior a segunda aplicação de PGF_{2 α} . Esse aumento na P₄ demonstra ter ocorrido o desenvolvimento de um novo CL funcional, após a ovulação causada pela primeira administração de d-cloprostenol. Vazquez et al. (2010), em estudo com cabras Anglo Nubianas cíclicas, compararam morfológica e funcionalmente os CLs formados após ovulação espontânea e após duas aplicações de PGF_{2 α} intervaladas de 10 dias. Relataram que, em média, a primeira visualização ultrassonográfica dos CLs foi feita no dia $4,5 \pm 0,3$ apresentando um crescimento linear até o D15.

Em contraste, a figura 10 mostra o perfil plasmático de P₄ de 80% das fêmeas tratadas (20/25) que apresentaram uma concentração de P₄ média de 0,5 ng/mL no dia da primeira aplicação de d-cloprostenol.

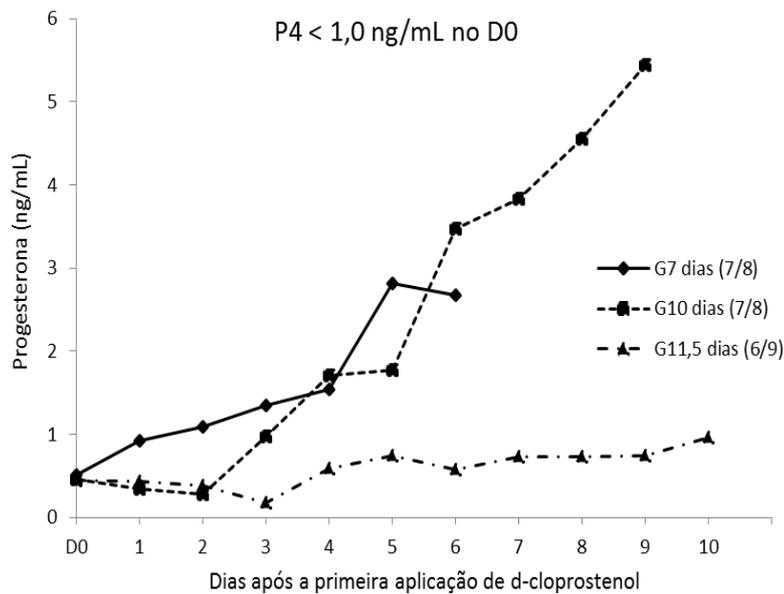


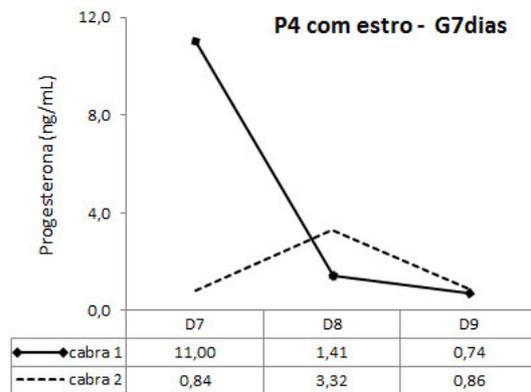
Figura 10: Perfil plasmático de P₄ em cabras sem CL (20/25) no momento da primeira aplicação de d-cloprostenol (P₄ < 1,0 ng/mL no D0).

Este fato pode reforçar a possibilidade de que 80% das fêmeas ainda estivessem no período de transição durante o início da Etapa 1, ou que no momento da primeira aplicação do d-cloprostenol se encontravam no proestro ou no final do estro (P₄ < 1,0 ng/mL).

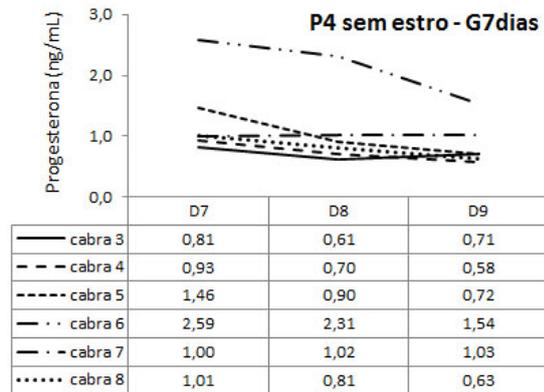
Ao observar o perfil plasmático de P₄ do G_{11,5 dias} (6/9), nota-se que não houve uma elevação da P₄ como no ocorreu no G_{7 dias} e no G_{10 dias}. Desde o D0 até o D9, manteve-se uma média de 0,6 ng/mL, chegando próxima a 1,0 ng/mL apenas no dia anterior a segunda dose. Segundo Pineda (2003), durante o anestro e o início do estro da cabra, as concentrações de P₄ plasmática se encontram menores do que 1,0 ng/mL, aumentando rapidamente após a ovulação, até atingir um pico de 6,0 a 10,0 ng/mL no meio do ciclo estral e caem de forma abrupta com o fim do diestro. De acordo com Baird (1992), em fases como, puberdade e início da estação reprodutiva, é comum a ocorrência

de ciclos estrais anormais, associados a uma fase lútea com baixas concentrações de P₄ (inferior a 1,5 ng/mL).

Prosseguindo a análise do perfil plasmático de P₄ a figura 11 apresenta uma relação entre a ocorrência de estro (com ou sem) e a concentração de P₄ plasmática de cada animal (dos três grupos) no dia da segunda aplicação de d-cloprostenol e nos dois dias subsequentes.

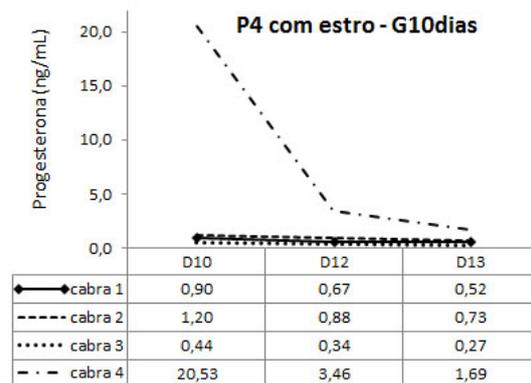


Dias após a segunda aplicação de d-cloprostenol

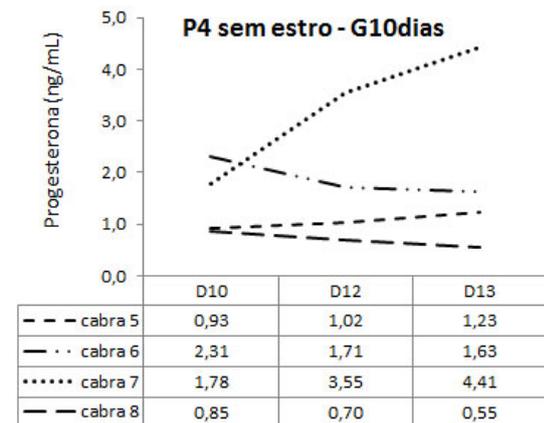


Dias após a segunda aplicação de d-cloprostenol

A

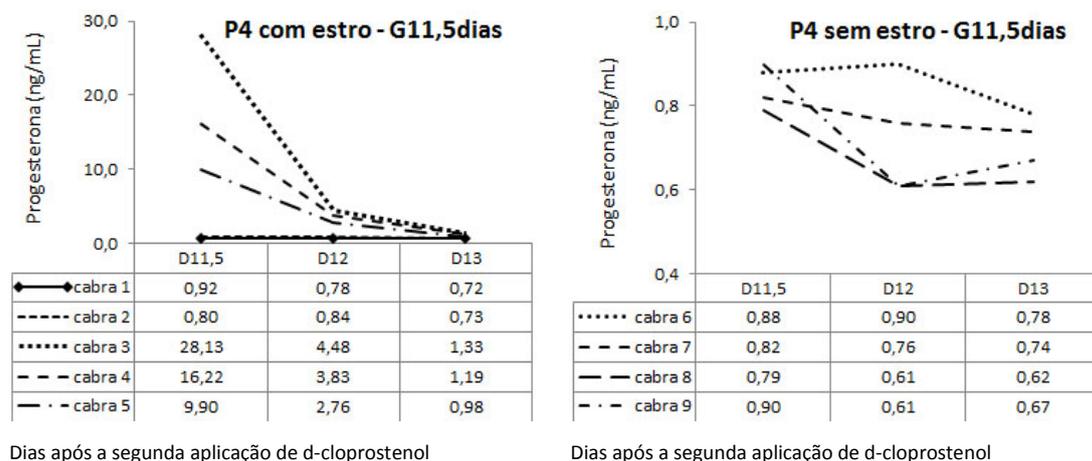


Dias após a segunda aplicação de d-cloprostenol



Dias após a segunda aplicação de d-cloprostenol

B



C

Figura 11: Perfil plasmático de P₄ de cabras que manifestaram ou não estro após a segunda aplicação de d-cloprostenol. A - G_{7dias} (n=8); B - G_{10dias} (n=8) e C - G_{11,5dias} (n=9).

Nas figuras 11A e 11B pode-se verificar que nos grupos G_{7dias} e G_{10dias} apesar da presença de CL ativo (P₄ > 1,0 ng/mL), não foi observada manifestação de estro por parte de algumas fêmeas. Por outro lado, nos três grupos foi detectado estro em algumas cabras que possuíam uma concentração plasmática de P₄ < 1,0 ng/mL.

Com os resultados encontrados a partir da análise plasmática de P₄ após a primeira e a segunda aplicação de d-cloprostenol, podemos especular que tenham ocorrido as seguintes situações nas fêmeas estudadas: (1) possuíam um CL ativo e responderam a primeira aplicação de PGF_{2α}, já demonstrando novamente concentrações acima de 1,0 ng/mL no momento da segunda aplicação com posterior manifestação de estro, (2) não possuíam um CL responsivo (início da fase lútea) no momento da primeira aplicação de d-cloprostenol, porém, pode-se notar pelo aumento na concentração plasmática de P₄, a presença de um CL ativo na data da segunda aplicação de d-cloprostenol seguida de apresentação de estro, (3) possuíam um CL ativo, mas não foi detectado estro, possivelmente devido a um cio silencioso ou inexperiência da fêmea, (4) apresentavam-se ainda em anestro no momento da

primeira $PGF_{2\alpha}$ e ainda não possuíam CL ativo na data da segunda aplicação (5) apresentavam um CL com desenvolvimento inadequado com baixa produção de P_4 , característico de início de estação reprodutiva ou (6) estavam com um CL em regressão natural na primeira aplicação e manifestaram estro após a segunda aplicação, independente da ação da $PGF_{2\alpha}$ exógena.

Existe um consenso entre vários autores (EVANS e MAXWELL, 1987; GORDON, 1997; CHEMINEAU e DELGADILLO, 1993; MORELLO e CHEMINEAU, 2008) ao considerar que apenas na espécie ovina o primeiro estro da estação reprodutiva ocorra de forma silenciosa. Este fato deve-se a necessidade de um período prévio de ação da progesterona (impregnação) para que o estradiol desencadeie o comportamento de estro. Ao contrário dos conceitos já estabelecidos para o início do comportamento de estro em ovelhas, ainda não há uma teoria conclusiva em relação à espécie caprina. Além disso, tanto em fêmeas púberes quanto em cabras adultas, no início da estação reprodutiva, podem ocorrer ciclos curtos de apenas oito dias, devido a uma pequena fase luteal com duração aproximada de cinco a seis dias, sugerindo assim que da mesma forma que nas fêmeas ovinas, para que ocorra uma atividade cíclica regular em cabras, o eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal necessita da impregnação da progesterona, tanto na fase pós-puberal quanto no início da estação reprodutiva (PINEDA, 2003).

4.1.3 Inseminação artificial e taxa de concepção

A avaliação e classificação do muco presente na cérvix no procedimento da IA foram anotados para posterior análise. Os dados referentes ao tipo de muco variando de cristalino (muco 1) a caseoso (muco 5) segundo classificação proposta por Fonseca e Simplício (2008), e a taxa de concepção obtida de acordo com o muco apresentado, estão expostos na tabela 4.

Tabela 4: Percentual (%) de muco cristalino - 1, cristalino estriado - 2, estriado - 3, estriado caseoso - 4 e caseoso - 5, durante a realização da IA vs taxa (%) de concepção por tipo de muco em cabras da raça Saanen submetidas a protocolos de sincronização do estro com duas aplicações de d-cloprostenol em diferentes intervalos (Etapa 1)

Protocolos de Sincronização	Tipo de muco	Tipo de muco no momento da IA (%)	Taxa de Concepção por tipo de muco (%)
G₇dias	Cristalino	50,0 (1/2)	0,0 (0/1)
	Cristalino/estriado	0,0	0,0
	Estriado	50,0 (1/2)	100,0 (1/1)
	Estriado/caseoso	0,0	0,0
	Caseoso	0,0	0,0
G₁₀dias	Cristalino	0,0	0,0
	Cristalino/estriado	25,0 (1/4)	0,0 (0/1)
	Estriado	75,0 (3/4)	0,0 (0/3)
	Estriado/caseoso	0,0	0,0
G_{11,5}dias	Caseoso	0,0	0,0
	Cristalino	33,3 (1/3)	100,0 (1/1)
	Cristalino/estriado	33,3 (1/3)	0,0 (0/1)
	Estriado	0,0	0,0
	Estriado/caseoso	33,3 (1/3)	100,0 (1/1)
Total	Caseoso	0,0	0,0
	Cristalino	22,2 (2/9)	50,0 (1/2)
	Cristalino/estriado	22,2 (2/9)	0,0 (0/2)
	Estriado	44,4 (4/9)	25,0 (1/4)
	Estriado/caseoso	11,1 (1/9)	100,0 (1/1)
	Caseoso	0,0	0,0

Neste estudo, foi estabelecida a realização de apenas uma inseminação entre 18 e 24 horas após detecção de estro.

O muco encontrado na maior parte das fêmeas (44,4%) foi classificado como estriado (muco 3). Segundo Evans e Maxwell (1987), as alterações em relação ao aspecto e consistência do muco durante o período de estro podem ser utilizadas para determinar o momento mais adequado para a realização da IA. Sabendo-se que a ovulação em cabras ocorre no final do estro, quando se utiliza sêmen congelado o ideal é que o muco apresente-se entre 3 e 4 (estriado e estriado caseoso) no momento da IA (FONSECA e SIMPLICIO, 2008).

Siqueira et al. (2009), ao utilizarem sêmen resfriado relataram que entre 12 e 18 horas após o início do estro, a maioria das fêmeas encontrava-se com uma grande quantidade de muco estriado, revelando um momento excelente para o procedimento de IA. Nestes animais foi alcançada uma taxa de concepção de 80%.

No G_{11,5dias}, das cinco cabras que responderam a sincronização, duas não puderam ser inseminadas. Uma foi acasalada pelo bode durante a rufiação e a outra apresentou secreção fétida sugestiva de vaginite no momento da IA.

Devido ao pequeno número de fêmeas inseminadas não foi possível determinar se houve uma influência do tipo de muco na taxa de concepção encontrada.

4.2 ETAPA 2

4.2.1 Sincronização do estro e comportamento sexual

O comportamento sexual foi observado após a primeira e a segunda administração de d-cloprostenol em 23 e 54 cabras, respectivamente.

Na figura 12 estão expostos os dados referentes à distribuição do início do estro após as aplicações de d-cloprostenol.

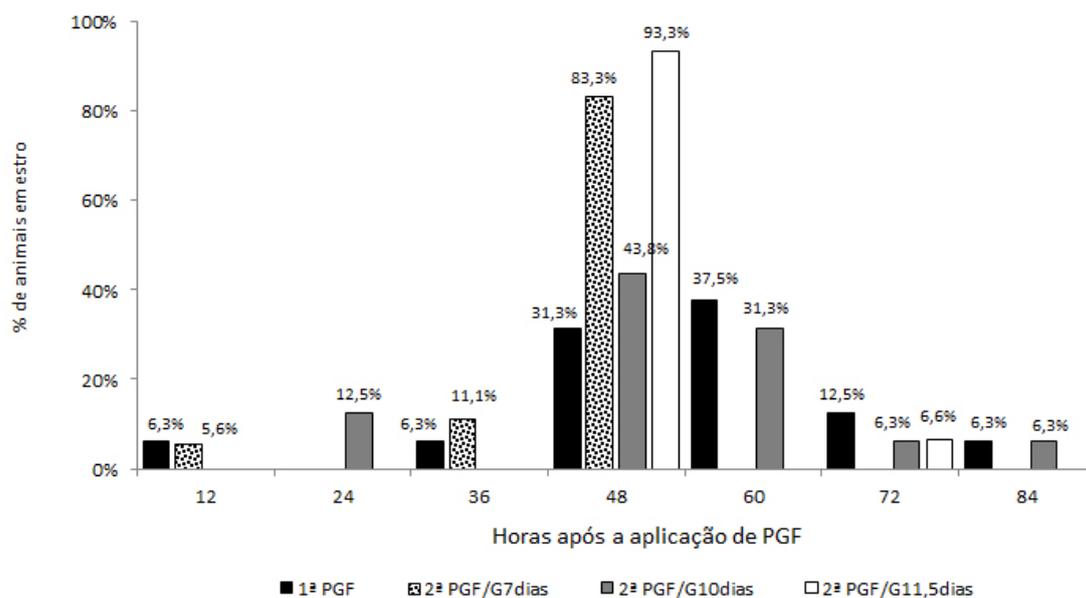


Figura 12: Percentual (%) de animais em estro de acordo com o momento (horas) de manifestação após a 1ª (G_{7dias} + G_{10dias} + G_{11,5dias}) e a 2ª (G_{7dias}/G_{10dias}/G_{11,5dias}) aplicações de d-cloprostenol em protocolos de sincronização com diferentes intervalos.

Doze horas após a primeira e a segunda aplicação de d-cloprostenol, algumas cabras já apresentaram estro. No entanto, este curto intervalo encontrado, sugere que esta manifestação de estro tenha ocorrido independente da ação da PGF_{2α} exógena. Siqueira (2006), encontrou diferença (P<0,05) no intervalo das duas aplicações de d-cloprostenol ao estro. Foram relatados intervalos mínimos e máximos de 6 e 111 horas e de 21 e 78 horas após a primeira e segunda aplicação de PGF_{2α} ao estro, respectivamente.

Sessenta horas após a primeira aplicação de d-cloprostenol o comportamento de estro foi observado em 81,4% das cabras. No mesmo intervalo (0 a 60 horas), porém após a segunda aplicação de d-cloprostenol, o percentual de manifestação de estro encontrado nos três grupos foi de, 100% - G_{7dias}, 87,6% - G_{10dias} e 93,3% - G_{11,5dias}, correspondendo a um total de 93,9% de cabras em estro.

A maior concentração de manifestação de estro ocorreu no período entre 48 e 60 horas, tanto após a primeira (68,8% - 11/16) quanto após a segunda

aplicação de PGF_{2α} [G_{7dias} - 83,3% (15/18); G_{10dias} - 75,0% (12/16) e G_{11,5dias} - 93,3% (14/15)].

Menchaca et al. (2004), utilizando protocolo de sincronização com intervalo de sete dias em ovelhas, observaram que 78,8% das fêmeas iniciaram estro entre 25 e 48 horas após a segunda aplicação de PGF_{2α}. Neste mesmo estudo, dentro de um período de 72 horas, 91,1% das fêmeas já haviam manifestado estro (93,9% - multíparas e 82,4% - nulíparas).

Não houve diferença nos três grupos experimentais quanto à manifestação do estro após a aplicação da segunda prostaglandina (P>0,05). Porém, o resultado obtido no G_{11,5dias} com 93,3% das cabras em estro em um período de apenas 12 horas (de 48 a 60 horas após a aplicação da PGF_{2α}), sugere que o protocolo de duas aplicações de d-cloprostenol com intervalo de 11,5 dias possa ser testado em um programa de IATF.

Prosseguindo com a avaliação do comportamento sexual após a segunda aplicação de d-cloprostenol, na figura 13, estão expostos os dados referentes à verificação do turno (manhã ou tarde) no qual o estro foi inicialmente detectado.

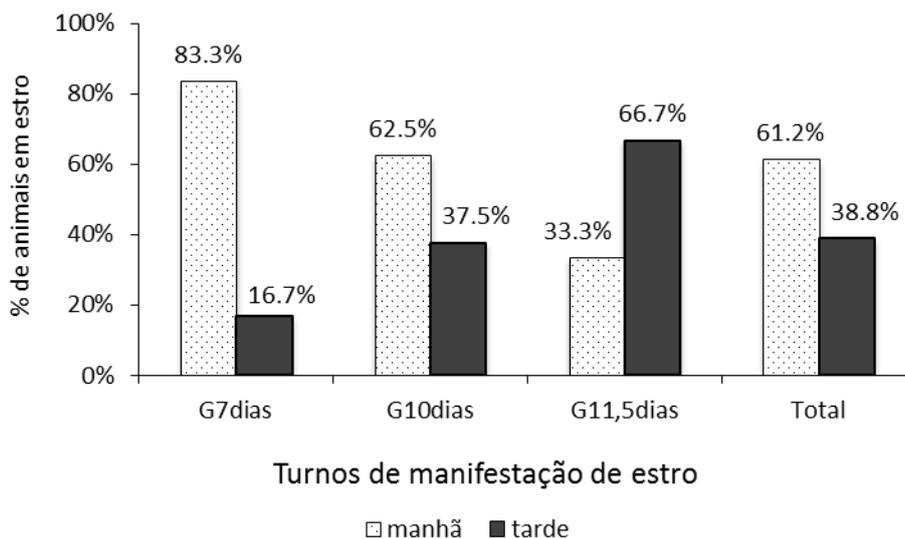


Figura 13: Percentual (%) de animais em estro de acordo com o turno no qual foi verificado após a segunda aplicação de d-cloprostenol em diferentes intervalos.

Os dados obtidos mostram que a maior parte das fêmeas (61,2%) entrou em estro durante a noite, já que este foi inicialmente observado no turno da manhã. Estes dados estão de acordo com o que foi descrito em estudos anteriores.

Siqueira (2006), ao acompanhar a manifestação de estro três vezes ao dia (6:00, 12:00 e 18:00 horas) verificou que 50% ocorreram pela manhã (6:00 horas) e, a outra metade, foi observada de forma proporcional durante o restante do dia (23,9% - 12:00 horas e 26,16% - 18 horas). Fonseca et al. (2008), utilizando protocolo de indução de estro com progestágenos, observou que 73,8% das cabras tiveram o estro inicialmente observado no turno da manhã e 26,2% no turno da tarde, e relatou que nesta espécie, a manifestação de estro seja um fenômeno predominantemente noturno quando ocorre espontaneamente na natureza. Esteves et al. (2013), obteve um resultado de 91% de estros noturnos e 9% de estros diurnos, quando inicialmente identificados no turno da manhã e no turno da tarde, respectivamente.

Vale ressaltar que no presente estudo a maior parte das manifestações de estro ($G_{7\text{dias}}$: 83,3%; $G_{10\text{dias}}$: 62,5% e $G_{11,5\text{dias}}$: 66,7%), foi identificada inicialmente no mesmo turno em que foi realizada a segunda aplicação do d-cloprostenol. Este fato reforça a eficiência de sincronização dos tratamentos e, pode sugerir que haja uma influência do momento da segunda administração de d-cloprostenol (manhã ou tarde), no turno de ocorrência do estro.

Os resultados obtidos em relação aos parâmetros comportamentais observados nos três criatórios estão representados na tabela 5.

Tabela 5: Parâmetros comportamentais de cabras da raça Saanen submetidas a protocolos de sincronização do estro com duas aplicações de d-cloprostenol em diferentes intervalos (média ± desvio padrão)

Parâmetros de Sincronização		G₇dias	G₁₀dias	G_{11,5}dias	Total
Cabras em estro após a 1ª aplicação de d-cloprostenol (%)	Nulíparas	75,0 (3/4)	50,0 (2/4)	0,0 (0/3)	45,5 (5/11)
	Pluríparas	75,0 (3/4)	100,0 (4/4)	100,0 (4/4)	91,7 (11/12)
	Total	75,0 (6/8)	75,0 (6/8)	57,1 (4/7)	69,6 (16/23)
Intervalo da 1ª aplicação de d-cloprostenol ao estro (h)	Nulíparas	52,7 ± 24,3 (3)	48,0 ± 0,0 (2)	-	50,8 ± 17,4 (5)
	Pluríparas	55,0 ± 0,0 (3)	57,5 ± 10,2 (4)	45,5 ± 27,6 (4)	52,5 ± 17,1 (11)
	Total	53,8 ± 15,4 (6)	54,3 ± 9,3 (6)	45,5 ± 27,6 (4)	51,9 ± 16,6 (16)
Duração do 1º estro (h)	Nulíparas	21,7 ± 8,1 (3)	48,0 ± 0,0 (2)	-	32,2 ± 15,5 (5)
	Pluríparas	27,3 ± 12,3 (3)	19,7 ± 8,5 (4)	33,5 ± 19,4 (4)	26,8 ± 14,2 (11)
	Total	24,5 ± 9,8 (6)	29,2 ± 16,0 (6)	33,5 ± 19,4 (4)	28,5 ± 14,4 (16)
Cabras em estro após a 2ª aplicação de d-cloprostenol (%)	Nulíparas	100,0 (11/11)	90,9 (9/11)	100,0 (9/9)	93,5 (29/31)
	Pluríparas	87,5 (7/8)	100,0 (7/7)	75,0 (6/8)	87,0 (20/23)
	Total	94,7 (18/19)	88,9 (16/18)	88,2 (15/17)	90,7 (49/54)
Intervalo da 2ª aplicação de d-cloprostenol ao estro (h)	Nulíparas	41,2 ± 13,2 (11)	55,7 ± 11,8 (9)	48,3 ± 6,9 (9)	47,9 ± 12,4 (29)
	Pluríparas	48,0 ± 0,0 (7)	44,1 ± 14,1 (7)	45,7 ± 3,6 (6)	45,9 ± 8,3 (20)
	Total	43,8 ± 10,7 (18)	50,6 ± 13,7 (16)	47,3 ± 5,8 (15)	47,1 ± 10,8 (49)
Duração do 2º estro (h)	Nulíparas	26,5 ± 13,6 (11)	21,0 ± 9,0 (9)	25,1 ± 14,0 (9)	24,4 ± 12,3 (29)
	Pluríparas	28,7 ± 4,0 (3)	24,6 ± 13,4 (5)	20,5 ± 4,0 (4)	24,3 ± 9,1 (12)
	Total	27,0 ± 12,1 (14)	22,3 ± 10,4 (14)	23,7 ± 11,8 (13)	24,3 ± 11,4 (41)
Intervalo da 2ª aplicação de d-cloprostenol a IA (h)	Nulíparas	65,9 ± 12,7 (11)	74,9 ± 3,4 (9)	70,3 ± 2,0 (9)	70,1 ± 8,7 (29)
	Pluríparas	71,0 ± 0,7 (7)	68,4 ± 14,3 (7)	69,0 ± 3,9 (6)	69,7 ± 8,4 (20)
	Total	68,1 ± 10,1 (18)	72,1 ± 9,9 (16)	69,8 ± 2,9 (15)	69,9 ± 8,5 (49)
Intervalo do início do 2º estro a IA (h)	Nulíparas	24,7 ± 1,6 (11)	19,2 ± 9,4 (9)	22,0 ± 6,1 (9)	22,2 ± 6,5 (29)
	Pluríparas	23,5 ± 0,3 (7)	24,3 ± 0,5 (7)	23,3 ± 1,1 (6)	23,7 ± 0,8 (20)
	Total	24,3 ± 1,4 (18)	21,5 ± 7,4 (16)	22,5 ± 4,7 (15)	22,8 ± 5,1 (49)

Não houve influência ($P>0,05$) dos protocolos utilizados em nenhum dos parâmetros avaliados.

A partir de uma comparação entre vários estudos, pode-se notar uma variação relevante entre os valores do intervalo da primeira administração de d-cloprostenol ao início do estro. Desta forma, o valor médio de $51,9 \pm 16,6$ horas encontrado nesta etapa, foi superior a $41,04 \pm 20,32$ horas verificado por Siqueira et al. (2009), semelhante a $50,6 \pm 17,2$ horas relatado por Fonseca et al. (2012), e inferior a $75,8 \pm 53,9$ horas observado por Esteves et al. (2013). No entanto, em relação ao intervalo médio de $47,1 \pm 10,8$ horas encontrado da segunda aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$ ao estro, se comparado com os dados relatados pelos autores anteriormente citados [$45,67 \pm 9,28$ horas - Siqueira et al. (2009); $50,0 \pm 14,8$ horas - Fonseca et al. (2012), e $47,7 \pm 10,1$ - Esteves et al. (2013)], percebe-se a ocorrência de uma variação menor. Este fato pode ser explicado pela resposta de algumas cabras à primeira aplicação de d-cloprostenol, gerando o início de uma nova onda folicular. Assim, no momento da segunda aplicação já não existe uma variabilidade na resposta entre as fêmeas, possibilitando o efeito luteolítico da $\text{PGF}_{2\alpha}$ de forma sincronizada em quase todos os animais.

Em relação à manifestação de estro observada após a segunda aplicação do d-cloprostenol, não houve diferença ($P>0,05$) entre os grupos experimentais $G_{7\text{dias}}$ (94,7%), $G_{10\text{dias}}$ (88,9%) e $G_{11,5\text{dias}}$ (88,2%).

A duração média do primeiro e do segundo estro foi de $28,5 \pm 14,4$ e $24,3 \pm 11,4$ horas respectivamente. Estes valores foram semelhantes a $23,1 \pm 18,5$ horas encontrado na Etapa 1 do presente estudo e $26,8 \pm 15,0$ horas relatado por Esteves et al. (2013), após a segunda dose de $\text{PGF}_{2\alpha}$, em protocolo contendo duas doses de $30 \mu\text{g}$ de d-cloprostenol com intervalos de 10 dias.

O intervalo médio do início do segundo estro a IA foi de $22,8 \pm 5,1$ horas, estando assim, de acordo com o protocolo estabelecido.

4.2.2 Concentração plasmática de progesterona

Utilizando-se uma divisão entre fêmeas que apresentaram concentrações circulantes de P_4 plasmática acima e abaixo de 1,0 ng/mL, na tabela 6 encontra-se o percentual de cabras que manifestou ou não estro após a segunda aplicação de d-cloprostenol.

Tabela 6: Percentual de cabras (%) que apresentou estro ou não de acordo com a concentração plasmática de progesterona (ng/mL) no momento da primeira (D0) e da segunda aplicação de d-cloprostenol (7, 10 e 11,5 dias)

Dia	Progesterona	Apresentaram estro		Não apresentaram estro	
		% (n)		% (n)	
0	> 1,0 ng/mL	Nulíparas:	26,1 (6/23)	Nulíparas:	21,7 (5/23)
		Pluríparas:	52,2 (12/23)	Pluríparas:	0,0 (0/23)
		Total:	78,3 (18/23)	Total:	21,7 (5/23)
7	> 1,0 ng/mL	Nulíparas:	50,0 (4/8)	Nulíparas:	0,0 (0/8)
		Pluríparas:	37,5 (3/8)	Pluríparas:	12,5 (1/8)
		Total:	87,5 (7/8)	Total:	12,5 (1/8)
10	> 1,0 ng/mL	Nulíparas:	37,5 (3/8)	Nulíparas:	12,5 (1/8)
		Pluríparas:	50,0 (4/8)	Pluríparas:	0,0 (0/8)
		Total:	87,5 (7/8)	Total:	12,5 (1/8)
11,5	> 1,0 ng/mL	Nulíparas:	42,9 (3/7)	Nulíparas:	0,0 (0/7)
		Pluríparas:	57,1 (4/7)	Pluríparas:	0,0 (0/7)
		Total:	100,0 (7/7)	Total:	0,0 (0/7)

Nesta etapa, as coletas de sangue para análise da concentração plasmática de progesterona foram realizadas em 23 cabras nos dois dias de administração de prostaglandina de cada grupo (D0, D7, D10 e D11,5). Todas as fêmeas apresentaram concentração de P_4 > 1,0 ng/mL, demonstrando possuírem um CL ativo tanto no momento da primeira como da segunda aplicação de d-cloprostenol. Da mesma forma que na Etapa 1 do presente estudo, algumas fêmeas não manifestaram estro, apesar do valor de progesterona encontrado.

Vale relatar que durante o acompanhamento do comportamento sexual realizado após a primeira aplicação de d-cloprostenol nas fêmeas do $G_{11,5\text{dias}}$ e $G_{10\text{dias}}$, pode-se observar que duas cabras do $G_{7\text{dias}}$ também apresentaram

estrogeno. Este fato foi observado 65 e 41 horas antes da aplicação do d-cloprostenol do G_{7dias}. Sendo assim, aproximadamente três e dois dias após a observação de estro, as concentrações de P₄ encontradas para os referidos animais (no momento da 1ª aplicação de PGF_{2α}) foram de 2,53 ng/mL e 1,34 ng/mL. Apesar de estarem acima de 1,0 ng/mL e serem definidos como valores de P₄ de animais com CL ativo, essas fêmeas não voltaram a apresentar sinais de estro nos dias subsequentes à aplicação, demonstrando que o CL no início de sua formação não respondeu ao poder luteolítico da PGF_{2α}.

Segundo Jarrell e Dziuk (1991), ao estudar o efeito do número de CLs na concentração plasmática de P₄, relataram que houve uma variação na idade do CL encontrado quando relacionado ao início do estro, já que em seu estudo a ovulação foi verificada em média entre o D0 (estro) e o D2. De acordo com Rubianes et al.(2003), em ovelhas existe uma refratariedade do CL recém formado a ação da PGF_{2α} apenas nos dois primeiros dias após a ovulação.

Os valores acima de 1,0 ng/mL encontrados fêmeas do G_{7dias} podem sugerir a ocorrência de dupla ou tripla ovulação dando origem a formação de mais de um CL (JARRELL e DZIUK, 1991).

4.2.3 Inseminação artificial e taxa de concepção

Os dados obtidos durante a IA estão expostos na tabela 7

Tabela 7: Percentual (%) de muco cristalino - 1, cristalino estriado - 2, estriado - 3, estriado caseoso - 4 e caseoso - 5, durante a realização da IA vs taxa (%) de concepção por tipo de muco em cabras da raça Saanen submetidas a protocolos de sincronização do estro com duas aplicações de d-cloprostenol em diferentes intervalos (Etapa 2)

Protocolos de Sincronização	Tipo de muco	Tipo de muco no momento da IA (%)	Taxa de concepção por tipo de muco (%)
G _{7dias}	Cristalino	0,0	0,0
	Cristalino/estriado	0,0	0,0
	Estriado	77,7 (14/18)	64,3 (9/14)
	Estriado/caseoso	16,6 (3/18)	33,3 (1/3)
	Caseoso	5,5 (1/18)	0,0 (0/1)
G _{10dias}	Cristalino	0,0	0,0
	Cristalino/estriado	25,0 (4/16)	25,0 (1/4)
	Estriado	68,8 (11/16)	18,2 (2/11)
	Estriado/caseoso	6,3 (1/16)	0,0 (0/1)
	Caseoso	0,0	0,0
G _{11,5dias}	Cristalino	0,0	0,0
	Cristalino/estriado	33,3 (5/15)	20,0 (1/5)
	Estriado	60,0 (9/15)	22,2 (2/9)
	Estriado/caseoso	6,7 (1/15)	100 (1/1)
	Caseoso	0,0	0,0
Total	Cristalino	0,0	0,0
	Cristalino/estriado	18,5 (9/49)	22,2 (2/9)
	Estriado	69,4 (34/49)	38,2 (13/34)
	Estriado/caseoso	10,2 (5/49)	40,0 (2/5)
	Caseoso	2,0 (1/49)	0,0 (0/1)

Não houve diferença ($P > 0,05$) entre os grupos G_{7dias}, G_{10dias} e G_{11,5 dias} e entre as categorias reprodutivas (nulíparas e pluríparas) em relação ao tipo de muco apresentado no momento da IA. Nos três grupos a maioria das cabras (69,4%) apresentou muco 3 (estriado). Conforme descrito por Cruz (2011), ao se utilizar sêmen congelado, deve-se priorizar a presença de muco 3 a 4 no momento da IA.

A taxa de concepção do G_{7dias} [55,6% (10/18)] foi superior ($P = 0,0584$) à do G_{10dias} [18,8% (3/16)] e à do G_{11,5dias} [26,7% (4/15)]. Resultado semelhante ao obtido com o protocolo do G_{7dias}, foi encontrado por Siqueira et al. (2009), utilizando sêmen fresco armazenado por 12 horas (55,7% - 15/27), em uma única IA realizada 12 horas após a identificação do estro manifestado a partir

da segunda aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$. Da mesma forma, Esteves et al. (2013), observaram uma taxa de concepção de 55% (6/11) no grupo tratado sem hCG com IA realizada 16 horas após manifestação de estro. Fonseca (2002) encontrou resultado superior na taxa de concepção de cabras da raça Alpina (75,0% - 6/8) e inferior (50% - 4/8) em cabras Saanen, gerando um total de 62,5% (10/16) de fêmeas gestantes, sendo a IA realizada após a verificação da ovulação. De acordo com Menchaca e Rubianes (2004), o intervalo de sete dias entre as duas aplicações de $\text{PGF}_{2\alpha}$, promove uma sincronização da ovulação em ovelhas, sendo assim boas taxas de concepção podem ser alcançadas até mesmo após uma única IA em tempo fixo.

5. CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos no presente estudo, pode-se concluir que:

1. Os protocolos testados em cabras nulíparas e pluríparas da raça Saanen, contendo duas aplicações de 37,5 µg de d-cloprostenol na região laterovulvar com intervalos de 7, 10 e 11,5 dias, são eficientes na sincronização do estro, desde que as fêmeas tenham iniciado efetivamente a estação de acasalamento.
2. O protocolo com intervalo de sete dias obteve melhores resultados na taxa de concepção.
3. O protocolo com intervalo de 11,5 dias apresentou uma grande concentração de cabras em estro (93,3%) no período entre 48 e 60 horas após a segunda aplicação de d-cloprostenol. Desta forma, torna-se bastante interessante para ser utilizado em um programa de IA, ou mesmo, avaliado em um programa de IATF.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACRITOPPOULOU, S.; HARESIGN, W. Response of ewes to a single injection of an analogue of PGF₂ α given at different stages of the oestrous cycle. *Journal of Reproduction and Fertility*, v.58, p.219-221, 1980.

ARENDR, J.; SYMONS, A.M.; ENGLISH, J.; POULTON, A.L.; TOBLER, I. How does melatonin control seasonal reproductive cycles? *Reproduction Nutrition Development*, v.28, p.387-397, 1988.

AISEN, E.G. Reproduccion Ovina y Caprina – 1^a édition. Buenos Aires: Inter-Médica Editorial, 2008. 203p.

AMOA, E.A.; GELAYE, S. Superovulation, synchronization and breeding of does. *Small Ruminant Research*, v.3, n.1, p.63-72, 1990.

ARASHIRO, E.K.N. Função Luteal em Caprinos: Características Morfológicas, Endócrinas e atributos de Imagem. 106p. Niterói, RJ: Universidade Federal Fluminense. Dissertação (Master of Science) – Universidade Federal Fluminense. 2008.

ARASHIRO, E.K.; FONSECA, J.F.; SIQUEIRA, L.G.B.; FERNANDES, C.A.; BRANDÃO, F.Z.; OBA, E.; VIANA, J.H. Assessment of luteal function in goats by ultrasonographic image attribute analysis. *Small Ruminant Research*, v.94, p.176-179, 2010a.

ARASHIRO, E.K.N.; VIANA, J. H. M.; J.F. FONSECA; CAMARGO, L. S. A.; FERNANDES, C. A. C., BRANDÃO, F.Z. Luteal dynamics in goats: morphological and endocrine features. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.39, n.9, p.1937-1942, 2010b.

AZEVEDO, H.C.; MACHADO, R.; SIMPLÍCIO, A.A. Franqueamento cervical e taxa de concepção em cabras Moxotó inseminadas artificialmente com diferentes doses inseminantes. In: Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 11; Belo Horizonte. *Anais...Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal*, p.333, 1995.

BAIRD, D.T. Luteotropic control of the corpus luteum. *Animal Reproduction Science*, v.28, n.1, p. 95-98, 1992.

BALDASSARRE, H.; KARATZAS, C.N. Advanced assisted reproduction technologies (ART) in goats. *Animal Reproduction Science*, v.82-83, p.255-266, 2004.

BARBOSA, L. P.; BISCARDE, C.E.A.; DUTRA, P.A.; CARDOSO NETO, B.M.; SOUZA, D.O. Sincronização e inseminação artificial em sistemas de produção de caprinos. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.37, n.2, p.151-155, 2013.

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

BARTLEWSKI, P.M.; BEARD, A.P.; COOK, S.J.; CHANDOLIA, R.K.; HONARAMOOZ, A.; RAWLINGS, N.C. Ovarian antral follicular dynamics and their relationships with endocrine variables throughout the oestrous cycle in breeds of sheep differing in prolificacy. *Journal of Reproduction and Fertility*, v.115, p.111-124, 1999.

BONFERT, A. Experiences dans l'insemination des chevres avec du sperm congelé. *Elevage Insemination*, v.83, p.3-6, 1964.

BRETZLAFF, K.N.; OTT, R.S.; WESTON, P.G.; HIXON, J.E. Doses of prostaglandin F_{2α} effective for induction of estrus in goats. *Theriogenology*, v.16, n.5, p.587-59, 1981.

CAMP, J.C.; WILDT, D.E.; HOWARD, P.K.; STUART, L.D.; CHAKRABORTY, P.K. Ovarian activity during normal and abnormal length estrous cycles in the goat. *Biology of Reproduction*, v.28, p.673-681, 1983.

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

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

CRUZ, R. C. Comportamento sexual, dinâmica ovulatória e descarga muco cervical em cabras Toggenburg submetidas à indução e sincronização do estro com diferentes gonadotrofinas. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 75p. Dissertação (Mestrado), 2011.

CUNNINGHAM, J.G. Tratado de Fisiologia Veterinária. 2ª ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A., 1999. 528p.

DELGADILLO, J.A.; MALPAUX, B.; CHEMINEAU, P. La reproduction des caprins dans les zones tropicales et subtropicales. *INRA Productions Animales* v.10, n.1, p.33-34, 1997.

DELGADILLO, J.A.; FITZ-RODRIGUEZ, G.; DUARTE, G.; VELIZ, F.G.; CARRILLO, E.; FLORES, J.A.; VIELMA, J.; HERNANDEZ, H.; MALPAUX, B. Management of photoperiod to control caprine reproduction in the subtropics. *Reproduction Fertility and Development*, v.16, p.471-478, 2004.

De CASTRO, T., RUBIANES, E., MENCHACA, A., RIVERO, A. Ovarian dynamics, serum estradiol and progesterone concentrations during the interovulatory interval in goats. *Theriogenology*, v. 52, p. 399-411, 1999.

DEVENDRA, C.; BURNS, M. Goat production in the tropics. 2nd ed. Commonwealth Agricultural Bureaux, UK, 1983. 183 p.

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

EBLING, F.J.P. Photoperiodic regulation of puberty in seasonal species. *Molecular and Cellular Endocrinology*, v. 324, p. 95-101, 2010.

EVANS, A.C.O. Pattern and manipulation of follicle development in sheep and goats. In: 55th EAAP annual meeting. Slovenia, p.1-10, 2004.

EVANS, G.; MAXWELL, W.M.C. Salamon's artificial insemination of sheep and goats. Australia: Butterworths Pty Limited, 1987. 194 p.

ESPESCHIT, C.J.B. Alternativas para controle da estacionalidade reprodutiva de cabras leiteiras. In: V Encontro nacional para o desenvolvimento da espécie caprina (ENDEC). Botucatu. *Anais...*, p.7-33, 1998.

ESTEVES, L.V.; BRANDÃO, F.Z.; CRUZ, R.C.; SOUZA, J.M.G.; OBA, E.; FACÓ, O.; FONSECA, J.F. Reproductive parameters of dairy goats submitted to estrus synchronization with prostaglandin F₂ α associated or not to hCG at estrous onset. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.65, n.6, p.1585-1592, 2013.

FACÓ, O.; LÔBO, R.N.B.; GOUVEIA, A.M.G.; GUIMARÃES, M.P.S.L.; FONSECA, J.F.; DOS SANTOS, T.N.M.; DA SILVA, M.A.A.; VILLELA, L.C.V. Breeding plan for commercial dairy goat production systems in southern Brazil. *Small Ruminant Research*, v.98, p.164-169, 2011.

FARIN, C.E.; MOELLER, H.R.; SAWYER, F.; GAMBONI, F.; NISWENDER, G.D. Morphometric analysis of cell types in the ovine corpus luteum throughout the estrous cycle. *Biology of Reproduction*, v.35, p.1299-1308, 1986.

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

FONSECA, J.F. Controle e perfil hormonal do ciclo estral e performance reprodutiva de cabras Alpinas e Saanen. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 108p. (PhD Thesis), 2002.

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

FONSECA, J.F.; TORRES, C.A.A., COSTA, E.P.; MAFFILI, V.V.; CARVALHO, G.R.; ALVES, N.G.; RUBERT, M.A. Progesterone profile and reproductive performance of estrous induced Alpine goats given hCG five days after breeding. *Animal Reproduction*, v.2, n.1, p.54-59, 2005.

FONSECA J.F. Biotecnologias da reprodução em ovinos e caprinos. Embrapa Caprinos, *Documentos 64*, 2006.

FONSECA, J.F.; SOUZA, J.M.G.; BRUSCHI, J.H. Sincronização de estro e superovulação em ovinos e caprinos. *Anais do II Simpósio de Caprinos e Ovinos da EV-UFMG*, p.167-195, 2007.

FONSECA, J.F. e SIMPLÍCIO, A.A. A Inseminação artificial e transferência de embriões em caprinos e ovinos. *I Encontro Internacional da Pecuária da Amazônia – AMAZONPEC*, Belém, Pará, 2008.

FONSECA, J.F.; BRUSCHI, J.H. A caprinocultura leiteira no Brasil: uma visão histórica. In: FONSECA, J.F.; BRUSCHI, J.H. (Ed.). *Produção de caprinos na região da Mata Atlântica*. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite; Sobral: Embrapa Caprinos e Ovinos, p.15-24, 2009.

FONSECA, J.F.; SOUZA, J.M.G.; BRUSCHI, J.H.; VIANA, J.H.M.; BRANDÃO, F.Z.; SILVA, W.J.; DENADAI, R.; MAIA, A.L.R.S.; FACÓ, O. Induction of estrus in cyclic alpine goats with short-term progestagen protocols with or without eCG administration. *Reproduction, Fertility and Development*, v.22, p.169, 2009 (Abstract).

FONSECA, J.F.; ALVIM, G.P.; LOBO, A.M.B.O.; FACÓ, O. Técnica Embrapa de inseminação Artificial transcervical em caprinos por meio de fixação cervical. *Circular Técnica Número 43*. Embrapa Caprinos e Ovinos, 2011.

FREITAS V.J.F. e LOPES JÚNIOR E.S. Controle do Estro e da Ovulação em Caprinos. In: Gonçalves P.B.D.; Figueiredo J.R. & Freitas V.J.F. (Eds), *Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal*. Livraria Varela, São Paulo, 2002. p.57-67.

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

GARVERICK, H.A.; ZOLLERS Jr., W.G.; SMITH, M.F. Mechanisms associated with corpus luteum lifespan in animals having normal or subnormal luteal function. *Animal Reproduction Science*, v.28, p.111-124, 1992.

GELEZ, H.; ARCHER, E.; CHESNEAU, D.; CAMPAN, R; FABRE-NYS, C. Importance of learning in the response of ewes to male odor. *Chemical Senses*, v.29, n.1, p.555-563, 2004.

GINTHER, O.J.; KOT, K. Follicular dynamics during the ovulatory season in goats. *Theriogenology*, v.42, p.987-1001, 1994.

GINTHER, O.J.; WILTBANK, M.C.; FRICHIE, P.M. Selection of the dominant follicle in cattle. *Biology of Reproduction*, v.55, p.1187-1194, 1996.

GOEL, A.K.; AGRAWAL, K.P. Oestrus synchronization in cyclic goats following lutalyse administration. *Journal of Animal Science*, v.68, p.155-156, 1998.

GOLDMAN, B.D. The circadian timing system and reproduction in mammals *Steroids*, v.64, p.679-685, 1999.

GOLDMAN, B.D. Mammalian photoperiodic system: Formal properties and neuroendocrine mechanisms of photoperiodic time measurement. *Journal of Biological Rhythms*, v.16, p.283- 301, 2001.

GONZÁLEZ-STAGNARO, C. Comportamiento reproductivo de las razas locales de rumiantes en el trópico americano. *Reproduction des Ruminants en Zone Tropical*, v. 20, p.1-83, 1984.

GONZÁLEZ, F.H.D. Introdução à Endocrinologia Reprodutiva Veterinária. UFRGS, 2002. 87 p.

GORDON, I. Controlled reproduction in sheep and goats. Cambridge, UK: *University Press*, 1997. 448p.

GREYLING, J.P.C.; VAN NIEEKERK, C.H. Occurrence of oestrus in Boer goat doe. *South African Journal Animal Science*, v.7, n.3, p.147-149, 1987.

GREYLING, J.P.C.; VAN NIEEKERK, C.H. Puberty and the induction of puberty in female Boer goat kids. *South Africa Journal of Animal Science*, v.20, p.193-200, 1990.

GREYLING, J.P.C. Reproduction traits in the Boer goat doe. *Small Ruminant Research*, v.36, p.171-177, 2000.

HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. Ciclos reprodutivos. In: HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. *Reprodução Animal 7ª ed.* Editora Manole. Barueri, São Paulo, 2004. p.55-67.

HOLTZ, W.; SOHNREY, B.; GERLAND, M.; DRIANCOURT, M.A. Ovsynch synchronization and fixed-time insemination in goats. *Theriogenology*, v.69, p.785-792, 2008.

HOUGHTON, J.A.S.; LIBERATI, N.; SCHRICK, F.N.; TOWNSEND, E.C.; DALLEY, R.A.; INSKEEP, E.K. Day of estrous cycle affects follicular dynamics after induced luteolysis in ewes. *Journal of Animal Science*, v.73, p.2094-2101, 1995.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção da Pecuária Municipal, Rio de Janeiro, v.38, p.1-65, 2010. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2010/ppm2010.pdf>.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Sistema IBGE de Recuperação Automática (SIDRA) – Censo agropecuário, 2012.

JABLONKA-SHARIFF, A.; GRAZUL-BILSKA, A.T.; REDMER, D.A.; REYNOLDS, L.P. Growth and cellular proliferation of ovine corpora lutea throughout the estrous cycle. *Endocrinology*, v.133, p.1871, 1993.

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

JARRELL, V.L.; DZIUK, P.J. Effect of number of corpora lutea and fetuses on concentrations of progesterone in blood of goats. *Journal of Animal Science*, v.69, p.770-773, 1991.

JUENGEL, J.L., GARVERICK, H.A., JOHNSON, A.L., YOUNGQUIST, R.S., SMITH, M.F. Apoptosis during luteal regression in cattle. *Endocrinology*, v.132, p.249-254, 1993.

LINCOLN, G.A. Photoperiod – pineal – hypothalamic relay in sheep. *Animal Reproduction Science*, v.28, p.203-217, 1992.

LINCOLN, G.A.; SHORT, R.V. Seasonal breeding: nature's contraceptive. *Recent Progress in Hormone Research*, v 36, p.1-51, 1980.

LÔBO, R.N.B.; FACÓ, O.; LÔBO, A.M.B.O.; VILLELA, L.C.V. Brazilian goat breeding programs. *Small Ruminant Research*, v.89, p.149-154, 2010.

LOPES JUNIOR, E.S.; RONDINA, D.; SIMPLÍCIO, A.A.; FREITAS, V.J.F. Oestrus behaviour and performance in vivo of Saanen goats raised in northeast of Brazil. *Livestock Research for Rural Development*, v.13, p.1-10, 2001.

LUCY, M.C.; SAVIO, J.D.; BADINGA, L.; DE LA SOTA, R.L.; THATCHER, W.W. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. *Journal of Animal Science*, v.70, p.3615-3626, 1992.

MAFFILI, V.V.; TORRES, C.A.; FONSECA, J.F.; MORAES, E.A.; PONTES, R.A.M. Sincronização de estro em cabras da raça Saanen com esponja intravaginal e CIDR-G®. *Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia*, v. 57, n.5, p.591-598, 2005.

Mc CRAKEN, J.A.; CUSTER, E.E.; LAMSA, J.C. Luteolysis: a Neuroendocrine-mediated event. *Physiological Reviews*, v.79, p.263-304, 1999.

MEDAN, M.S.; WATANABE, G.; SASAKI, K.; SHARAWY, S.; GROOME, N.P.; TAYA, K. Ovarian dynamics and their associations with peripheral concentrations of gonadotropins, ovarian steroids, and inhibin during the estrous cycle in goats. *Biology of Reproduction*, v.69, p.57-63, 2003.

MEDAN, M.S.; WATANABE, G.; SASAKI, K.; GROOME, N.P.; SHARAWY, S.; TAYA, K. Follicular and hormonal dynamics during the estrous cycle in goats. *Journal of Reproduction and Development*, v.5, n.4, p.455-463, 2005.

MENCHACA, A.; RUBIANES, E. Follicular recruitment and ovulatory response to FSH treatment initiated on Day 0 or Day 3 post ovulation in goat. *Theriogenology*, v.58, p.1713 -1721, 2002.

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

MENCHACA, A.; MILLER, V.; GIL, J.; PINCZAK, A.; LACA, M.; RUBIANES, E. Prostaglandin F2 α treatment associated with Time Artificial Insemination in ewes. *Reproduction in Domestic Animals*. v.39, p.352-355, 2004.

MGONGO, F.O.K. The effects of buck teasing on synchronization of estrus in goats after intravulvo-submucosal administration of cloprostenol. *Theriogenology*, v.30, n.5, p.987-995, 1987.

MORAES, J.C.F.; SOUZA, C.J.H.; GONÇALVES, P.B.D. Controle do estro e da ovulação em bovinos e ovinos. In: Gonçalves P.B.D.; Figueiredo J.R. e Freitas V.J.F. Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal. Livraria Varela, São Paulo, 2002. p.25-55.

MORELLO, H.H.; CHEMINEAU, P. Características anatómicas y funcionales del sistema reproductor de la hembra. In: Reproduccion ovina y caprina. 1ª ed. Inter-Médica, Buenos Aires, 2004. p.11-24.

NISWENDER, G.D.; JUENGEL, L.J.; SILVA, P.J.; ROLLYSON, M.K.; MCINTUSH, E.W. Mechanism controlling the function and life span of the corpus luteum. *Physiological Reviews*, v.80, p.1-29, 2000.

NUNES, J.F. Inseminação artificial em caprinos. In: Gonçalves P.B.D., Figueiredo J.R. & Freitas V.J.F. Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal. Livraria Varela, São Paulo, 2002, p.111-125

.

NUTI, L.C.; BRETZLAFF, K.N.; ELMORE, R.G.; MEYERS, S.A.; RUGILA, J.N.; BRINSKO, S.P.; BLANCHARD, T.L.; WESTON, P.G. Synchronization of estrus in dairy goats treated with prostaglandin F2 α at various stages of the estrous cycle. *American Journal of Veterinary Research*, v. 53, n.6, p.935-937, 1992.

OGUNBIYI, P.O.; MOLOKWUA, E.C. AND SOORIYAMOORTHY, T. Estrus Synchronization and Controlled Breeding in Goats Using Prostaglandin F2 α . *Theriogenology*, v.13, p.257-261, 1980.

OLIVEIRA, M.E.F. Biotécnicas reprodutivas em caprinos e ovinos. 1ª ed. São Paulo: MedVet, 2013. 305p.

ORTAVANT, R., PELLETIER, J., RAVAUULT, J.P., THIMONIER, J. E; VOLLAND-NAIL, P. Reproduction in farm animals. In: Oxford Reviews of Reproductive Biology, v.7, p.305-345. Clarendon Press, Oxford. UK, 1985.

OTT, R.S.; NELSON, D.R.; HIXON, J.E. Fertility of goats following synchronization of estrus with prostaglandin F₂ α . *Theriogenology*, v.13, n.5, p.341-345, 1980.

PIERSON, R.A.; GINTHER, O.J. Ultrasonography of the bovine ovary. *Theriogenology*, v.21, p.495-504, 1984.

PINEDA, M.H. Reproductive patterns of sheep and goat. In: McDONALD, L.E. (Ed.) *Veterinary endocrinology and reproduction*. 5^a ed. Philadelphia: Lea & Fabiger, 2003, p.435-458.

PROSPERI, C.P.; TORRES, C.A.A.; GUIMARÃES, J.D.; BRUSCHI, J.H.; LEITE, P.A.G.; MAFFILI, V.V. Taxa de gestação em cabras Alpinas e Saanen tratadas com hCG no terceiro dia após o estro. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.58, n.2, p.190-195, 2006.

PUGH, D.G. Clínica de ovinos e caprinos. São Paulo: Ed. Roca, 2005. 513 p.

RIBEIRO, S.D.A. Caprinocultura: Criação racional de caprinos, São Paulo: Ed. Nobel, 1997. 380p.

RICARTE, A.R.F.; SILVA, A.R. Morfofisiologia da reprodução de caprinos: revisão. *Acta Veterinaria Brasilica*, v.4, p.8-13, 2010.

ROCHA, R.M.P.; MATOS, M.H.T.; LIMA, L.F.; SARAIVA, M.V. A. Melatonina e reprodução animal: implicações na fisiologia ovariana. *Acta Veterinaria Brasilica*, v.5, n.2, p.147-157, 2011

ROMANO, J.E. Effect of different stimuli of service on estrus duration in dairy goats. *Theriogenology*, v. 42, n.1, p.875-879, 1994.

RUBIANES, E.; MENCHACA, A. The pattern and manipulation of ovarian follicular growth in goats. *Animal Reproduction Science*, v.78, n. 1, p. 271-287, 2003.

RUBIANES, E.; MENCHACA, A.; CARBAJAL, B. Response of the 1- 5 day-aged ovine corpus luteum to prostaglandin F_{2α}. *Animal Reproduction Science* v.78, n.100, p.47-55, 2003.

ROY, F; MAUREL, M.C; COMBES, B; VAIMAN, D; CRIBIU, E.P; LANTIER, L; POBEL, T; DELÉTANG, F; COMBARNOUS, Y; GUILLOU, F. The negative effect of repeated equine chorionic gonadotropin treatment on subsequent fertility in alpine goats is due to a humoral immune response involving the major histocompatibility complex. *Biology of Reproduction*, v.60, p.805-813, 1999.

SCARAMUZZI, R.J.; ADAMS, N.R.; BAIRD, D.T.; CAMPBELL, B.K.; DOWNING, J.A.; FINDLAY, J.K.; MARTIN, G.B.; McNATTY, K.P.; McNEILLY, A.S.; TSONIS, C.G. A model for follicle selection and the determination of ovulation rate in the ewe. *Reproduction, Fertility and Development*, v.5, p.459-478, 1993.

SALLES, H.O.; AZEVEDO, H.C.; SOARES, A.T.; SALMITO-VANDERLY, C.S.B.; MOURA SOBRINHO, P.A. Puberdade e maturidade sexual em caprinos de raças exóticas criadas no Nordeste do Brasil. *Ciência Veterinária nos Trópicos*, Recife, v.4, n.23, p.303-309, 2001.

SALLES, M.G.F.; ARAÚJO, A.A. Corpo lúteo cíclico e gestacional: revisão. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.34, n.3, p.185-194, 2010.

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

SANTIAGO MORENO, J.; ACOSTA RODRÍGUEZ, M.; GONZÁLEZ DE BULNES, A.; CASTRILLO ZUBIRIA, I.; PÉREZ MARÍN C.; LÓPEZ SEBASTIÁN, A. Evaluation of the small ruminants cystic ovarian disease using transrectal ultrasonography. *Archivos de Zootecnia.*, v.48, p.157-165, 1999.

SENGER, P.L. Pathways to Pregnancy and Parturition: Reproductive Cyclicity-Terminology and Basic Concepts. 2^a ed. USA: Cadmus Professional Communications, 1999. 368p.

SERNA, J.A.; BOSU, W.T.K.; BARKER, C.A.V. Sequential administration of cronolone and prostaglandin F₂ (for estrus synchronization in goats. *Theriogenology*, v. 9, n.3, p.177-183, 1978.

SIMPLÍCIO, A.A. Inseminação artificial na espécie caprina. *Informe Agropecuário*, v.13, n.148, p.30-35, 1987.

SIQUEIRA, A.P. Inseminação artificial em caprinos com sêmen resfriado. 2006. 106 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.

SIQUEIRA, A.P.; FONSECA, J.F.; SILVA FILHO, J.M., BRUSCHI, J.H.; VIANA, J.H.M.; PALHARES, M.S.; BRUSCHI, M.C.M.; PEIXOTO, M.P. Parâmetros reprodutivos de cabras Toggenburg inseminadas com sêmen resfriado, após diluição em meio à base de gema de ovo. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.61, n.2, p.299-305, 2009.

SIQUEIRA, A.P.; OLIVEIRA, R.M.P.; SILVA FILHO, J.M.; PALHARES, M.S.; FONSECA, J.F.; BRUSCH, J.H.; BRUSCHI, M.C.M. Progesterona plasmática e fertilidade de fêmeas caprinas submetidas à sincronização do estro com prostaglandina F₂ α . *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.64, n.2, 2012.

SIQUEIRA, A.P.; FONSECA, J.F.; SILVA FILHO, J.M.; BRUSCHI, J.H.; VIANA, J.H.M.; PALHARES, M.S.; BRUSCHI, M.C.M.; PEIXOTO, M.P. Parâmetros reprodutivos de cabras Toggenburg inseminadas com sêmen resfriado, após diluição em meio à base de gema de ovo. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.35, n.3, p.1036, 2007.

SMITH, M. F.; MCINTUSH, E.V.; SMITH, G.W. Mechanisms associated with corpus luteum development. *Journal of Animal Science*, v.72, p.1857-1872, 1994.

SMITH, M.F.; MCINTUSH, E.V.; RICKE, W.A.; KOJIMA, F.N.; SMITH, G.W. Regulation of ovarian extracellular matrix remodelling by metalloproteinases and their tissue inhibitors: effects on follicular development, ovulation and luteal function. *Journal of Reproduction and Fertility*, v.54, p.367-381, 1999.

SMITH, M.C.; SHERMAN, D. Goat Medicine, 2nd ed. Wiley-Blackwell, Ames, Iowa, 2009. 871p.

SOUZA, J.M.G.; MAIA, A.L.R.S.; BRANDÃO, F.Z.; VILELA, C.G.; OBA, E.; BRUSCHI, J.H.; FONSECA, J.F. Hormonal treatment of dairy goats affected by hydrometra associated or not with ovarian follicular cyst. *Small Ruminant Research*, v. 111, p.104-109, 2013.

SUITER, J. Body condition scoring of sheep and goats. *Farmnote* 69/1994.

SUMANO, A.E.E.; CERVANTES, J.G.R. Reproducción de ovejas y cabras UNAM, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlan, 2008. 335p

SWENSON, M.J.; REECE, W.O. Dukes. Fisiologia dos Animais Domésticos, 11^a ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A. 1996. 856p.

TRALDI, A.S.; LOUREIRO, M.F.P.; CAPEZZUTO, A.; MAZORRA, A.L. Métodos de controle da atividade reprodutiva em caprinos. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.31, n.2, p.254-260, 2007.

VÁZQUEZ, M.I.; BLANCH, M.S.; ALANIS, G.A.; CHAVES, M.A.; GONZÁLEZ-BULNES, A. Effects of treatment with a prostaglandin analogue on developmental dynamics and functionality of induced corpora lutea in goats. *Animal Reproduction Science*, v.118, p.42-47, 2010.

VIÑALES, C. Effect of nutrition on follicle development and ovulation rate in the ewe. Doctoral thesis. Faculty of Veterinary Medicine, Uppsala. 2003.

7. ANEXOS

Anexo 1: Parâmetros avaliados para determinação do escore da condição corporal

Escore	Processo espinhoso	13^a Costela	Garupa
1	Proeminente e pontuda	O final é pontiagudo e fácil sentir os espaços entre, sobre e envolta das costelas	Fina, a superfície tende a ser côncava
2	Proeminente mas macia	Final macio e arredondado. Pode-se sentir os espaços entre, sobre e envolta das costelas amaciados	Razoavelmente profunda com a superfície tendendo a ser plana
3	Pode ser sentida, mas macia e arredondada	Final arredondado e com boa cobertura, uma pressão firme é necessária para sentir os espaços entre e abaixo das costelas	Repleta e arredondada.
4	Detectável com pressão	Com pressão firme as costelas podem ser sentidas individualmente	Repleta e com uma camada de cobertura de gordura
5	Pode ser sentida com pressão firme	Não podem ser sentidas, nem mesmo com firme pressão	O músculo não pode ser sentido devido a uma espessa camada de gordura

Fonte: Suiter, 2004.

Anexo 2. Ficha para avaliação da dinâmica ovariana

AVALIAÇÃO DE DINÂMICA OVARIANA

Local:
CABRA:

Protocolo:

OVÁRIO ESQUERDO

OVÁRIO DIREITO

Data: Hora:

Data: Hora:



Data: Hora:

Data: Hora:



Data: Hora:

Data: Hora:



Data: Hora:

Data: Hora:



Data: Hora:

Data: Hora:



