



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS NO  
SEMIÁRIDO**

HELDER ANDERSON LIMA SILVA

**USO DE ESPONJAS INTRAVAGINAIS IMPREGNADAS  
COM ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Vitex agnus castus* L. NA  
SINCRONIZAÇÃO DO ESTRO E FERTILIDADE DE CABRAS**

Petrolina - PE  
2016

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS NO  
SEMIÁRIDO**

HELDER ANDERSON LIMA SILVA

**USO DE ESPONJAS INTRAVAGINAIS IMPREGNADAS  
COM ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Vitex agnus castus* L. NA  
SINCRONIZAÇÃO DO ESTRO E FERTILIDADE DE CABRAS**

Trabalho apresentado à Universidade Federal do Vale do São Francisco - UNIVASF, Campus Ciências Agrárias, como requisito da obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias no Semiárido.

Orientador: Prof. Dr. Edilson Soares Lopes Júnior.

Petrolina - PE  
2016

	Silva, Helder Anderson Lima
S586u	Uso de esponjas intravaginais impregnadas com óleos essenciais de <i>Vitex agnus castus</i> L. na sincronização do estro e fertilidade de cabras / Helder Anderson Lima Silva. -- Petrolina, 2016.
	109 f.: il.
	Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias do Vale do São Francisco) - Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus de Ciências Agrárias, Petrolina, 2016.
	Orientador: Prof. Dr. Edilson Soares Lopes Júnior.  Referências.
	1. Alecrim de angola. 2. Caprino. 3. Dispositivo. 4. Progestágeno. I. Título. II. Universidade Federal do Vale do São Francisco.
	CDD 636.39145

UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS  
NO SEMIÁRIDO

FOLHA DE APROVAÇÃO

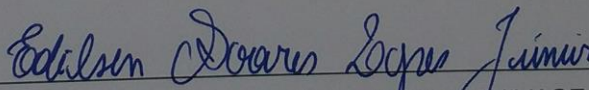
Helder Anderson Lima Silva

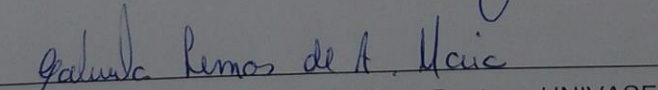
USO DE ESPONJAS INTRAVAGINAIS  
IMPREGNADAS COM ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Vitex  
agnus castus* L. NA SINCRONIZAÇÃO DO ESTRO E  
FERTILIDADE DE CABRAS

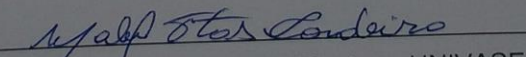
Dissertação apresentada como  
requisito parcial para obtenção  
do título de Mestre em Ciências  
Veterinárias no Semiárido, pela  
Universidade Federal do Vale  
do São Francisco.

Aprovada em: 06 de julho de 2016

Banca Examinadora

  
\_\_\_\_\_  
Edilson Soares Lopes Júnior, Doutor, UNIVASF

  
\_\_\_\_\_  
Gabriela Lemos de Azevedo Maia, Doutora, UNIVASF

  
\_\_\_\_\_  
Mabel Freitas Cordeiro, Doutora, UNIVASF

## DEDICATÓRIA

*Á Deus, pois diante DELE, nenhuma  
realização é em si mesma grande ou  
pequena.*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço, primeiramente, a Deus que, de diversas formas, me enviou fé, força, determinação e autoconfiança para concluir esse trabalho, além de estar me abençoando com vitórias e realizações na minha vida e por sempre me conceder sabedoria nas escolhas dos melhores caminhos, coragem para acreditar, força para não desistir e proteção para me amparar.

Aos meus pais, José Raimundo e Rita de Cássia, pelo amor, pelo exemplo de dignidade que eles sempre me passaram, por terem me dado à oportunidade de perseguir meus sonhos e me apoiarem em qualquer que fosse a situação em que eu estivesse e por sempre torcerem para que todos os meus projetos dessem certo. Amo vocês.

As minhas irmãs, Debora Emanuelle e Sinara Anny, pelo amor, apoio, confiança incondicional, tornando os momentos difíceis em sorrisos, abraços, aprendizados e resenhas. Nunca deixaram de me apoiar, principalmente nos momentos difíceis. Vocês são demais.

Agradeço a Ive Dias, meu amor, minha querida namorada. Obrigado pela força, pelo carinho, pela companhia, pela tolerância e paciência. Obrigado por me amar. Você me ajudou a superar todos os meus obstáculos. Devo muito a você. Amo-te incondicionalmente e de uma grandeza imensurável.

Ao meu orientador Prof. Dr. Edilson Soares Lopes Júnior, pela orientação e eterna disposição em compartilhar suas experiências profissionais e de vida, as quais sempre serão de grande importância para a conquista das minhas. Obrigado por compreender a minha ausência no laboratório, sei o quanto o senhor queria um mestrando mais presente, porém, devido ao meu outro lado profissional, não foi possível. Apesar disso, nunca deixou de me orientar e sempre esteve disponível quando precisei. Desde já, agradeço muito a você, professor, por ter me dado à oportunidade de adquirir novos conhecimentos através dos seus ensinamentos;

À Professora Dr<sup>a</sup>. Mabel Freitas Cordeiro, queria agradecer a sua ajuda, seu carinho, ensinamentos, confiança e valiosa ajuda nos passos da minha formação. Obrigado pela oportunidade das aulas com a graduação da Biologia, em parceria com a Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Jane Eyre e, sem perceber, a senhora estava me ajudando cada vez mais e isso foi de grande importância para mim. O meu sincero obrigado.

A equipe do Laboratório de Fisiologia e Biotecnologia da Reprodução Animal (LAFIBRA), pelo auxílio durante a realização do meu projeto de mestrado, pois, sem vocês, não seria possível a execução dele. Obrigado por todo esforço, carinho, comprometimento e dedicação. George Mudo (Potrinho... rrsrs), meu AMIGO, esteve sempre ao meu lado, do começo ao fim, acho que nunca teria conseguido se não tivesse conhecido você, só tenho a te agradecer pela imensa ajuda, com sua companhia aprendi muita coisa, foi como se tivesse feito outro curso de graduação em um sistema intensivo. Obrigado mesmo. Laísa, quanta admiração tenho por você, pessoa muito doce, iluminada não mediu esforços para me ajudar, nunca se recusou a nada quando pedia sua ajuda, adorava seus conselhos, mostrando sua personalidade de liderança e companheirismo. Obrigado por tudo. Eldo, recém-chegado no laboratório, não o conhecia direito, mas isso pouco importou, logo ele demonstrou sua capacidade de querer ajudar o que foi fundamental para o desempenho do projeto. Agradeço pela ajuda no projeto, também à Juliana, Aionne, Arlete e Bruna que abraçaram como se fosse de vocês, que participaram diretamente ou indiretamente deste trabalho e me ajudaram em todos os momentos, sendo peças fundamentais para conclusão do experimento. Obrigado!

À Professora Dr<sup>a</sup>. Gabriela Maia, pela ajuda na obtenção do óleo, por todo apoio no seu laboratório e por sempre se colocar disponível para me ajudar e aconselhar durante a execução do projeto. Meu muito obrigado, professora.

Ao Professor Fernando Medina (*in memoriam*), professor do IF-SERTÃO. Eu queria que estivesse presente nesse momento tão especial da minha vida, pois sei o quanto o senhor torcia por este dia. Um profissional exemplar que não mediu esforço para que meu mestrado fosse concluído, parecendo, muitas vezes, mais um colega de profissão do que mesmo um professor, arregaçando as mangas e segurando os animais, estando presente na execução no projeto. Os bons sempre vão cedo, mas sei que onde o senhor estiver, estará olhando e torcendo para a conclusão do meu mestrado. Obrigado por sua ajuda nos momentos mais críticos, por acreditar no futuro deste projeto e contribuir para o meu crescimento profissional e por ser também um exemplo a ser seguido. Sua participação foi fundamental para a realização deste trabalho.

À UNIVASF, que me tornou Médico Veterinário e, agora, se Deus quiser, Mestre em Ciências Veterinárias do Semiárido.

Aos professores do Colegiado de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias do

Semiárido – CPGCVS, pelo amplo conhecimento passado nas diversas áreas, o que tornou possível um aproveitamento intenso do curso.

Em especial aos meus amigos (Cabos) que estiveram ao meu lado durante essa caminhada, Junior Paim, Romário, Mendeleiev, que estavam na torcida por todas as etapas do meu mestrado. À Amanda Leite e minha irmã Débora, que foram cruciais nessa minha nova jornada, me ensinando e tirando as dúvidas a respeito dos métodos de extração do óleo essencial. Aos Maicoon!!, Weronica, Larissa, Nara e Isabelle, que, durante a graduação foi muito importante e que, no mestrado, tivemos a oportunidade de pagarmos uma disciplina e lembrar um pouco da resenha e matar a saudades. Obrigado por tudo.

A minha nova família (e pense numa família grande), que construí durante o mestrado. A todos que compõe a equipe do Colégio Estadual Lomanto Junior, em destaque os professores Edvaldo, Wagner, Marcos, Sérafico, Georgetown, e às professoras Fátima, Cleide, Edna, Helena, as minhas parceiras Joaninha e Cida. E também a todos que compõem a equipe do Colégio Estadual MODELO, em especial aos professores João Marcelo, Tom, Nilson, Nunes, Rinaldo, Rutênio, Joaquim, Carlos, e as professoras Normeide, Angelita, Lucila, Ione, Marta, Francineide, Greice, e minhas Carlinhas... rrsr Carla Gadelha, Carla Luz e Carla Araújo, as minhas inhas.. Dinha, Loguinha, Toinha e Neidinha. Ambas as unidades escolares me incentivaram a concluir o mestrado, me deram todo apoio possível, “subindo minhas aulas”, entendendo minhas faltas, e as trocas de horários com outros professores, pagandos meus AC no turno noturno, juntando três turmas de terceiro ano no auditório em um horário de 50 minutos... rrsrsrs, pense num sufoco, mais deu tudo certo. Muito obrigado memso.

Agradeço, assim, a todos que fizeram parte deste caminho de crescimento profissional e pessoal.

**QUE DEUS ABENÇOE VOCÊS!**



## EPÍGRAFE

*“Senhor Oxóssi é o dono da lua. Só veio ao mundo para clarear. Quem me dera ver Senhor Oxóssi, para com ele eu poder falar.”*

(Autor desconhecido)

## RESUMO

A fim de avaliar o efeito do uso de esponjas intravaginais impregnadas com óleos essenciais da planta *Vitex agnus castus* L. na sincronização do estro e fertilidade de cabras, 48 fêmeas caprinas da raça Anglo Nubiana foram distribuídas em quatro grupos (n = 12) para indução do estro. No grupo 1 (MAP-COM), foi administrado intramuscularmente (IM) 75 µg de d-cloprostenol e depositado uma esponja intravaginal impregnada com 60 mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP), a qual foi retirada cinco dias depois. No dia da retirada das esponjas, as cabras receberam (IM) 300 UI de eCG; No grupo 2 (MAP-ART), foi realizado o mesmo que no grupo MAP-COM, sendo, porém, utilizadas esponjas intravaginais preparadas artesanalmente e injetadas com 60 mg de MAP. O grupo 3 (OEVAC60) foi semelhante ao MAP-COM, mas a esponja intravaginal foi impregnada com 60 mg de óleo essencial de *Vitex agnus castus* L.; e o grupo 4 (OEVAC120) diferiu do OEVAC60 pela impregnação de 120 mg de óleo essencial de *Vitex agnus castus* L. na esponja intravaginal. Inseminações artificiais transcervicais foram realizadas 54 horas após a retirada do dispositivo com sêmen *in natura* diluído. Todas as fêmeas dos quatros grupos apresentaram estro. Os inícios dos estros nos animais dos grupos MAP-COM ou MAP-ART se concentraram mais cedo comparado aos grupos OEVAC60 e OEVAC120. No 14º dia após a retirada das esponjas, as concentrações de progesterona nas cabras dos grupos MAP-COM e MAP-ART foram superiores ( $P < 0,05$ ) àquelas dos animais pertencentes aos grupos OEVAC60 e OEVAC120. As cabras com estros sincronizados com MAP-COM e MAP-ART apresentaram maiores taxas de gestação que aquelas tratadas nos grupos OEVAC60 e OEVAC120. Portanto, o uso de esponjas intravaginais impregnadas com 60 e 120 mg de óleo essencial da planta *Vitex agnus castus* L. é capaz de sincronizar o estro.

**Palavras-chave:** Alecrim de angola. Caprino. Dispositivo. Progestágeno.

## ABSTRACT

In order to evaluate the effect of using intravaginal sponges impregnated with essential oils of the plant *Vitex agnus castus* L. the synchronization of estrus and fertility of goats, 48 female goats race Anglo Nubian were divided into four groups (n=12) for estrus induction. In the group 1 (MAP-COM), It was administered intramuscularly (im) 75 ug of D-cloprostenol and deposited one intravaginal sponge impregnated with 60 mg of medroxyprogesterone acetate (MAP), which was removed five days later. On the day of sponge removal, the goats received (im) 300 IU eCG; In group 2 (MAP-ART), It was performed the same as in G1, which, however, used intravaginal sponges prepared by hand and injected with 60 mg of MAP. Group 3 (OEVAC60) it was similar to MAP-COM, but intravaginal sponge was impregnated with 60 mg of essential oil *Vitex agnus castus* L; and group 4 (OEVAC120) differs from OEVAC60 the impregnation 120 mg of the essential oil the plant *Vitex agnus castus* L. intravaginal sponge. Transcervical artificial inseminations were performed with semen diluted fresh and 54 hours after removal of the device. All females from the four groups showed estrus. The beginnings of estrus in animals of groups MAP-COM or MAP-ART or focused subtly earlier compared to OEVAC60 and OEVAC120 groups. On the 14th day after sponge removal, plasma progesterone concentrations in goats of MAP-COM and MAP-ART groups were higher (P <0.05) to those of animals belonging to OEVAC60 and OEVAC120 groups. The goats with estrus synchronized with MAP-COM and MAP-ART had higher pregnancy rates than those treated in OEVAC60 and OEVAC120 groups. Therefore, the use of intravaginal sponges impregnated with 60 and 120 mg of the essential oil of the plant *Vitex agnus castus* L. is able to synchronize estrus, but not ovulation goats.

**Keywords:** goat, device, plant, progestagen, vagina.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

	Página
Figura 1. Esquema do desenvolvimento folicular, de acordo com a sua morfologia, denotando os folículos pré-antrais (primordiais, transição, primários e secundários) e antrais (terciários e pré-ovulatórios) (Fonte: Adaptado de Silva, Van Den Hurk e Figueiredo, 2006).....	25
Figura 2. Protocolo a base de PGF <sub>2α</sub> para caprinos e ovinos (Arquivo pessoal, 2016).....	30
Figura 3. Protocolo Synchrovine (Fonte: Adaptado de Menchaca e Rubianes, 2004).....	30
Figura 4. Percentual de ovelhas gestantes após seus estros serem sincronizados com MGA (4a) ou sem seu uso (4b) (Fonte: Adaptado de Mendonza, 2010).....	33
Figura 5. Protocolo longo utilizado para caprino (Arquivo pessoal, 2016).....	37
Figura 6. Protocolo curto utilizado para caprino (Arquivo pessoal, 2016).....	38
Figura 7. Variação temporal dos níveis plasmáticos médios de cronolona em ovelhas (Adaptado de Driancourt, 2012).....	40
Figura 8. Arbusto da <i>Vitex agnus castus</i> . (Fonte: Arquivo pessoal, 2016).....	43
Figura 9. Amostras da <i>Vitex agnus castus</i> L. (A) folhas fortemente aromáticas, digitadas, opostas e (B) flores labiadas, violáceas, em cachos terminais (Fonte: Arquivo pessoal, 2016).....	44
Figura 11. Fêmeas da raça Anglo Nubiana (Fonte: Arquivo pessoal, 2016)...	51

Figura 12. Aparelho do tipo Clevenger modificado (Fonte: Arquivo pessoal, 2016).....	53
Figura 13. Esponjas artesanais confeccionadas (Fonte: Arquivo pessoal, 2016).....	54
Figura 14. Esponjas artesanais após o processo na estufa de esterilização e secagem (Fonte: Arquivo pessoal, 2016).....	55
Figura 15. Colheita de sêmen através da vagina artificial (Fonte: Arquivo pessoal, 2016).....	56
Figura 16. Inseminação artificial transcervical (Fonte: Arquivo pessoal, 2016).....	57
Figura 17. Colheita de sangue para a concentração de Progesterona (Fonte: Arquivo pessoal, 2016).....	58
Figura 18. Percentual de cabras Anglo Nubiana em estro após o fim de tratamentos hormonais utilizando esponjas industrialmente impregnadas com acetato de medroxiprogesterona (MAP-COM), além de esponjas artesanalmente preparadas e manualmente injetadas com acetato de medroxiprogesterona (MAP-ART), com 60 mg de óleo essencial de <i>Vitex agnus castus</i> L (OEVAC60) e com 120 mg de óleo essencial de <i>Vitex agnus castus</i> L (OEVAC120).....	61
Figura 19. Concentrações séricas de progesterona (ng/mL) antes, durante e após os diferentes tratamentos hormonais, utilizando esponjas industrialmente impregnadas com acetato de medroxiprogesterona (MAP-COM), além de esponjas artesanalmente preparadas e manualmente injetadas com acetato de medroxiprogesterona (MAP-ART), com 60 mg de óleo essencial de <i>Vitex agnus castus</i> L (OEVAC60) e com 120 mg de óleo essencial de <i>Vitex agnus castus</i> L (OEVAC120).....	62

## LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Efetivo de caprinos na região Nordeste do Brasil no ano de 2009 (Fonte: IBGE, 2011).....	22
Tabela 2. Principais apresentações comerciais de PGF <sub>2α</sub> e suas análogas.....	29
Tabela 3. Taxas de expressão de estro (%) e de prenhez (%), resultantes de tratamentos de sincronização do estro com PGF <sub>2α</sub> , P <sub>4</sub> e eCG ou PGF <sub>2α</sub> , P <sub>4</sub> ou somente PGF <sub>2α</sub> (Adaptado de Gastal et al., 2013).....	31
Tabela 4. Valores médios de progesterona plasmática de ciclos advindos da luteólise induzida com prostaglandina F <sub>2α</sub> via submucosa vulvar, em intervalos de 10 dias, em cabras da raça Toggenburg, considerando-se as diferentes respostas e dias após a aplicação (Fonte: Adaptado de Siqueira et al., 2012).....	31
Tabela 5. Taxas de concepção de fêmeas caprinas da raça Toggenburg que apresentaram diferentes respostas a um protocolo de sincronização do estro, utilizando duas doses de prostaglandina F <sub>2α</sub> , via submucosa vulvar, em intervalos de 10 dias (Fonte: Adaptado de Siqueira et al., 2012).....	32
Tabela 6. Principais apresentações comerciais de progesterona, progestagenos e outros hormônios.....	33
Tabela 7. Resposta de cabras após sincronização do estro com esponjas de FGA, implante ou meio-implante de norgestomet (Adaptado Freitas et al., 1997).....	35
Tabela 8. O efeito do tratamento progestágeno sobre a resposta de estro, intervalo médio (± e.p.) retirada da esponja e início do estro, duração do estro e taxa de concepção (Adaptado de Motlomelo, Greyling e	

Schwalbach, 2002).....	36
Tabela 9. Porcentagens de cabras em estro, intervalo médio ( $\pm$ ep) entre o fim do tratamento e o início do estro (FT-IE), duração média ( $\pm$ ep) do estro e taxa de fertilidade de cabras leiteiras criadas no semiárido do Nordeste do Brasil (Adaptado de Nogueira et al., 2011).....	36
Tabela 10. Resposta estral, intervalo entre a retirada do dispositivo ao início do estro, e duração do estro em ovelhas deslanadas após tratamento hormonal com dois dispositivos intravaginais (CIDR e esponjas impregnadas com MAP) (Adaptado de Padilha et al., 2011).....	36
Tabela 11. Resposta estral (fêmeas em estro), intervalo entre o fim do tratamento e início do estro (FT-IE), taxas de prenhez e de parição, e prolificidade em cabras Saanen após indução do estro com esponja (ESP-MAP), CIDR® (CIDR+eCG) e CIDR® mais efeito macho (CIDR+EM) (Adaptado de Maia Júnior, Araújo e Salles, 2009).....	37
Tabela 12. Efeito de protocolo hormonal curto (6 dias) ou longo (12 dias) de sincronização de estro, sobre a taxa de prenhez de ovelhas Texel, inseminadas em tempo fixo (IATF) por laparoscopia com sêmen congelado-descongelado na estação reprodutiva (Fonte: Adaptado de Prado et al., 2013).....	39
Tabela 13. Efeito de protocolo hormonal curto (6 dias) ou longo (12 dias) de sincronização de estro, sobre a taxa de prenhez de ovelhas Texel inseminadas em tempo fixo (IATF) por laparoscopia com sêmen congelado-descongelado no final da contra estação reprodutiva (Fonte: Adaptado de Prado et al., 2013).....	39
Tabela 14. Comportamento sexual e taxa de gestação de cabras da raça Saanen após serem submetidas à indução do estro com esponjas de progestágenos durante 6 (G6), 9 (G9) ou 12 (G12) dias (média $\pm$ dp),	

durante a estação não sexual (Adaptado de Pietroski et al., 2013)..... 40

Tabela 15. Componentes químicos voláteis identificados no óleo essencial de *Vitex agnus-castus*..... 45

Tabela 16. Porcentagens de cabras em estro, intervalo médio ( $\pm$  e.p.) entre o fim do tratamento e o início do estro (FT-IE) e duração média ( $\pm$  e.p.) do estro de cabras Anglo Nubiana com estros sincronizados utilizando esponjas industrialmente impregnadas com acetato de medroxiprogesterona (MAP-COM), esponjas artesanalmente preparadas e manualmente injetadas com acetato de medroxiprogesterona (MAP-ART), com 60 mg de óleo essencial de *Vitex agnus castus* L (OEVAC60) e com 120 mg de óleo essencial de *Vitex agnus castus* L (OEVAC120).... 60

Tabela 17. Taxa de fertilidade (%) e proporção (%) de tipos de inseminações artificiais (intracervical superficial – ICS; intracervical profunda – ICP; e intrauterina – IU), após tratamentos hormonais de sincronização de estro, utilizando esponjas industrialmente impregnadas com acetato de medroxiprogesterona (MAP-COM), esponjas artesanalmente preparadas e manualmente injetadas com acetato de medroxiprogesterona (MAP-ART), com 60 mg de óleo essencial de *Vitex agnus castus* L (OEVAC60) e com 120 mg de óleo essencial de *Vitex agnus castus* L (OEVAC120)..... 63



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CIDR	<i>Controlled internal drug release</i> (Dispositivo interno de liberação controlada)
CL	Corpo lúteo
eCG	<i>Equine chorionic gonadotropin</i> (Gonadotrofina coriônica equina)
FGA	<i>Fluorogestone acetate</i> (Acetato de fluorogestona)
FSH	<i>Follicle stimulating hormone</i> (Hormônio folículo estimulante)
GnRH	<i>Gonadotropin Releasing hormone</i> (Hormônio liberador de gonadotrofina)
IA	Inseminação artificial
IF-SERTÃO	Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Sertão Pernambucano
LH	<i>Luteinizing hormone</i> (Hormônio luteinizante)
MAP	<i>Medroxyprogesterone acetate</i> (Acetato de medroxiprogesterona)
MOTE	Múltipla ovulação e transferência de embriões
PIV	Produção <i>in vitro</i> de embriões
P <sub>4</sub>	Progesterona
PGF <sub>2α</sub>	Prostaglandina F <sub>2α</sub>
UI	Unidade internacional
UNIVASF	Universidade Federal do Vale do São Francisco

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	20
<b>2. DESENVOLVIMENTO</b> .....	22
2.1. Revisão de literatura.....	22
2.1.1. <u>Caprinocultura no Nordeste do Brasil</u> .....	22
2.1.2. <u>Fisiologia reprodutiva da fêmea caprina</u> .....	24
2.1.3. <u>Sincronização do estro e da ovulação</u> .....	27
2.1.3.1. <i>Encurtamento do ciclo estral</i> .....	28
2.1.3.2. <i>Alongamento do ciclo estral</i> .....	32
2.1.4. <u>Possíveis alternativas para a sincronização do estro e da ovulação</u> .....	41
2.1.4.1. <i>Uso de plantas medicinais na Medicina Veterinária</i> ..	42
2.1.4.2. <i>Vitex agnus castus</i> .....	43
2.2. Justificativa.....	48
2.3. Objetivos.....	49
2.3.1. Objetivo geral.....	49
2.3.2. Objetivos específicos.....	49
2.4. Material e métodos.....	50
2.4.1. Aspectos éticos.....	50
2.4.2. Local de execução.....	50
2.4.3. Animais experimentais.....	50
2.4.4. Sincronização do estro e delineamento experimental.....	51
2.4.5. Detecção do estro.....	52
2.4.6. Coleta do material botânico.....	52
2.4.7. Obtenção do óleo essencial de <i>Vitex agnus castus</i> L (OEVac).....	52
2.4.8. Identificação da composição química do óleo essencial.....	53
2.4.9. Forma de preparação das esponjas artesanais.....	53
2.4.10. Colheita do sêmen e Inseminação Artificial.....	55
2.4.11. Colheita do sangue e dosagem de progesterona.....	57
2.4.12. Diagnóstico de gestação.....	58
2.4.13. Parâmetros avaliados.....	59

2.4.14. Análise estatística.....	59
2.5. Resultados.....	60
2.6. Discussão.....	65
<b>3. CONCLUSÕES.....</b>	<b>75</b>
<b>4. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>76</b>
<b>5. ANEXOS.....</b>	

## 1. INTRODUÇÃO

É evidente a necessidade de aumentar a eficiência reprodutiva de caprinos explorados no Nordeste do Brasil a fim de contribuir para o aumento do potencial genético e produtivo do rebanho caprino, visto que a procura por produtos originários dessa espécie vem crescendo nos últimos anos.

Nesse contexto, tem-se buscado o avanço de biotecnologias da reprodução, visando obter melhores resultados na produção e reprodução dessa espécie. Dentre as biotécnicas da reprodução, a sincronização de estro e ovulação permite que várias fêmeas possam ser fecundadas em um curto espaço de tempo através do uso eficiente da inseminação artificial, possibilitando o planejamento da época dos partos, promovendo, assim, práticas de manejo eficientes, o fornecimento racional da ração, a formação lotes homogêneos e a significativa produção de leite e carne (MACHADO; SIMPLÍCIO, 2001).

A sincronização do estro consiste na manipulação do ciclo estral através da utilização de hormônios ou associações hormonais. Essa biotécnica têm como princípios encurtar ou prolongar o ciclo estral, provocando a luteólise ou prolongando a fase lútea, de modo que um grupo de animais entre em estro e/ou ovule durante um curto período de tempo, ou até mesmo, num único dia (MAIA JÚNIOR; ARAÚJO; SALLES, 2009). Em caprinos, a técnica de prolongamento da fase luteal do ciclo estral, utilizando progesterona exógena ou progestágenos é a mais utilizada. Pode ser realizada com o uso de progestágenos, seja através de implantes auriculares impregnados com norgestomet, seja por meio de esponjas intravaginais de liberação impregnadas com 60 mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP) ou 45 mg de acetato de fluorogestona (FGA). Também é utilizado o dispositivo intravaginal de liberação controlada de progesterona (CIDR) que contém 330 mg de progesterona natural (KNIGHTS et al., 2001), de utilização idêntica à esponja de progestágeno, porém de custo mais elevado. Os tratamentos progestágenos ou progesterônicos são, comumente, associados com a gonadotrofina coriônica equina (eCG) e análogos da prostaglandina  $F_{2\alpha}$  ( $PGF_{2\alpha}$ ) (BARIL; SAUMANDE, 2000).

No entanto, a sincronização do estro e da ovulação tem seu uso limitado em função do elevado custo e pequena disponibilidade de hormônios no mercado nacional, em especial na região Nordeste, caracterizando, dessa forma, um dos

entraves para um maior desenvolvimento das biotécnicas reprodutivas (CARVALHO, 2009).

Diversos estudos têm mostrado que, em regiões do semiárido nordestino, a população possui um amplo conhecimento sobre a utilidade medicinal de determinadas espécies de plantas da caatinga, o que pode colaborar para o estudo mais intenso dessa flora para a permanência da biodiversidade e seu emprego dentro do ecossistema desse bioma. A *Vitex agnus castus* (L), conhecida, popularmente, como Liamba ou Alecrim-de-Angola, é utilizada para fins medicinais e religiosos. Também foi observado que seu uso contínuo reduz os problemas ocasionados pela síndrome pré-menstrual, que acomete um vasto número de mulheres e também pode minimizar os sintomas da menopausa (SCHELLENBERG, 2001; LUCKS, 2003).

Segundo Milewicz et al. (1993), a *Vitex agnus castus* (L) tem sido testada com eficácia clínica na normalização dos defeitos da fase lútea e dos baixos níveis de progesterona desta fase. Estudos relatam que a da referida planta e sua ação como agonista dopaminérgico, diminua a secreção de prolactina, ocasionando a uma supressão de LH, onde permite o desenvolvimento do corpo lúteo, o aumento dos níveis de progesterona e a redução dos sintomas da síndrome pré-menstrual (TESCH, 2003).

Nesse sentido, a fim de esclarecer a possibilidade da utilização de compostos naturais obtidos a partir de plantas, diversos estudos têm sido realizados para avaliar a verdadeira função da *Vitex agnus castus* (L), principalmente no tocante aos fenômenos fisiológicos. Todavia, não existem estudos referentes ao efeito do uso do óleo essencial da *Vitex agnus castus* L. sobre a na sincronização do estro de cabras. Tornando esse trabalho inédito.

Dessa forma, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do uso de esponjas intravaginais impregnadas com óleos essenciais da planta *Vitex agnus castus* L. na sincronização do estro e fertilidade de cabras.

## 2. DESENVOLVIMENTO

### 2.1. Revisão de literatura

#### 2.1.1. Caprinocultura no Nordeste do Brasil

Os caprinos constituem uma importante espécie doméstica para o Nordeste do Brasil, contribuindo amplamente para a oferta de produtos, bem como para fixação do homem no campo, tendo, conseqüentemente, uma importância socioeconômica especial em regiões áridas, semiáridas e montanhosas (COSTA; MEDEIROS; GONZAGA NETO, 2004).

De acordo com o BRASIL (2013), a criação de caprinos tem se destacado no agronegócio brasileiro e a tendência é de que se mantenha em expansão e continue em ascensão. Estima-se que o Brasil apresenta aproximadamente 27 milhões de caprinos e ovinos, dos quais, a maior parte concentra-se na região Nordeste, sendo o estado da Bahia o detentor do maior plantel desses animais (Tabela 1).

Tabela 1. Efetivo de caprinos na região Nordeste do Brasil no ano de 2010.

Estados	Caprinos
Bahia	2.847.148
Pernambuco	1 735 051
Piauí	1 386 515
Ceará	1 024 594
Paraíba	600 607
Rio Grande do Norte	405 983
Maranhão	373 144
Alagoas	65 655
Sergipe	19 881
<b>Nordeste</b>	<b>8 458 578</b>

(Fonte: IBGE, 2011).

A caprinocultura é uma das atividades que podem contribuir para o desenvolvimento socioeconômico das regiões semiáridas no Brasil. No entanto, por conta da baixa aptidão dos rebanhos para produzir carne, leite ou pele, faz-se

necessária à entrada de genótipos ou de animais de raças especializadas e geneticamente superiores (SIMPLÍCIO; SANTOS, 2005).

Este tipo de atividade apresenta potencialidades no sertão semiárido, sobretudo por esses animais terem uma boa adaptabilidade às condições climáticas da região, além de ser uma atividade que requer pouco investimento de capital quando comparado a outras espécies de produção, como, por exemplo, a bovina. Além de apresentar um bom mercado consumidor local (CARVALHO; SOUZA, 2008).

No entanto, essa atividade ainda apresenta as péssimas condições de manejo, além da falta de investimentos que proporcionam baixos índices produtivos. Com isso, faz-se necessária a adoção de práticas de manejo reprodutivo, nutricional e sanitário, como ações básicas e decisivas para alavancar a produção nacional.

Dessa forma, a necessidade de assistir e acompanhar a reprodução dos animais é fundamental para a melhoria da eficiência reprodutiva, a qual está diretamente ligada aos resultados produtivos, e para a multiplicação e difusão de animais geneticamente superiores e mais especializados, resultando em produtos com qualidade mais refinada (CORANDIN, 2011).

Nesse contexto, para acelerar o aumento na produtividade, associada ao melhoramento genético, pode-se utilizar como ferramenta as biotécnicas da reprodução, visando a otimização do manejo de rebanho quanto à cobertura, nascimento, desmame e abate, de forma que todas as etapas possam ser monitoradas, inclusive em relação ao planejamento nutricional e comercial (CARVALHO, 2009). Dentre as biotécnicas, pode-se ressaltar a Sincronização do Estro, a Inseminação Artificial (IA), a Múltipla Ovulação e Transferência de Embriões (MOTE) e a Produção *in vitro* de embriões (PIV) (SIMPLÍCIO; SALES; SANTOS, 2002).

A Sincronização do Estro e da Ovulação pode proporcionar reais benefícios como: melhorar a eficiência reprodutiva, reduzir a mão de obra para detecção do estro, concentrar as parições e, portanto, promover lotes mais homogêneos ao abate e melhorar a utilização do reprodutor. Ela, ainda, possibilita altas taxas de prenhez no início das estações de monta, diminui o intervalo entre partos, aumentando o número de animais nascidos, possibilidade de maiores cuidados com os cordeiros, e uma melhor distribuição da oferta de carne ao longo do ano, aliado a possibilidade de três partos por fêmea a cada dois anos consecutivos (CARVALHO, 2009). O conhecimento da fisiologia desses animais pode proporcionar uma maior segurança

na hora da reprodução e, conseqüentemente, um aumento na produtividade da caprinocultura. Isso se torna fundamental para que se possam utilizar as diversas biotécnicas para solucionar e entender os problemas que vierem a surgir.

### 2.1.2. Fisiologia reprodutiva da fêmea caprina

Os ovários são as gônadas femininas, que se diferenciam a partir das cristas germinativas e desempenham funções exócrinas (liberação de gametas) e endócrinas (produção de hormônios esteroides e peptídeos). O tecido ovariano é constituído pela medula onde se encontram tecido conjuntivo denso, vasos sanguíneos e nervos; e pelo córtex, onde estão o tecido conjuntivo frouxo e os folículos ovarianos (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

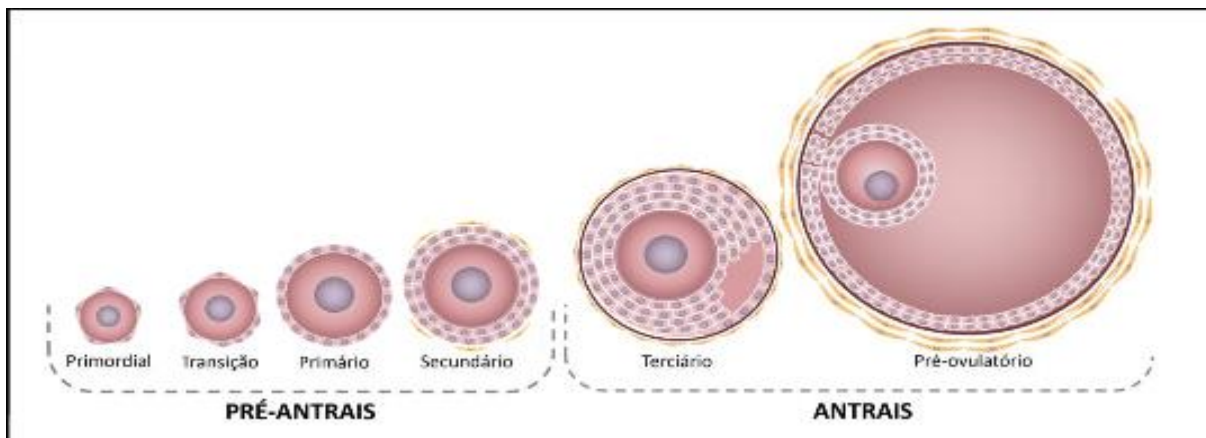
As fêmeas caprinas apresentam os folículos ovarianos que formam a unidade morfofuncional do ovário e é composto de um oócito circundado por células da granulosa e células da teca, que proporcionam as condições ideais para a manutenção da viabilidade, crescimento e liberação de um oócito maturo no processo de ovulação (KNIGHT; GLISTER, 2006; NILSSON et al., 2011).

De acordo com as modificações morfológicas, observadas durante a progressão folicular, os folículos podem ser classificados em: I) pré-antrais ou não-cavitários, que correspondem aos folículos primordiais, de transição, primários e secundários; e em II); antrais ou cavitários, incluindo os folículos terciários e de *De Graaf* ou pré-ovulatórios (SILVA; VAN DEN HURK; FIGUEIREDO, 2006), como apresentado na Figura 1.

Segundo Hulshof, Figueiredo e Beckers (1994), os folículos primordiais apresentam o oócito envolto por uma única camada de células da granulosa de formato pavimentoso ou células da granulosa pavimentosas e cuboides. O folículo primário apresenta uma única camada de células da granulosa de formato cúbico, circundando o oócito, o que caracteriza o início da fase de crescimento. Já o folículo secundário apresenta uma zona pelúcida evidente e tem mais de uma camada de células da granulosa de formato cúbico circundando o oócito.



Figura 1. Esquema do desenvolvimento folicular, de acordo com a sua morfologia, denotando os folículos pré-antrais (primordiais, transição, primários e secundários) e antrais (terciários e pré-ovulatórios).



(Fonte: Adaptado de Silva, Van Den Hurk e Figueiredo, 2006).

Quando ocorre o acúmulo do líquido folicular na cavidade antral, o folículo é chamado de terciário, que, posteriormente, evolui para o folículo pré-ovulatório ou de De Graaf (GEORGE; ALVES; CASTRO, 1998).

Na fase antral, os folículos são altamente dependentes de gonadotrofinas para que ocorra o crescimento folicular, ou seja, da liberação dos hormônios folículo estimulante (FSH) e luteinizante (LH) (GRANADOS; DIAS; SALES, 2006).

Para que o oócito seja capaz de sofrer fecundação e desenvolvimento embrionário, depende de uma série complexa de interações hormonais dentro do folículo. Esse envolvimento estabelece um ambiente gonadotrófico instável durante o desenvolvimento do oócito. Durante este desenvolvimento, qualquer que seja a fase, o folículo normalmente pode continuar o seu desenvolvimento até a ovulação ou, mais frequentemente, sofrer o processo de atresia (WU; EMERY; CARREL, 2001).

Os hormônios FSH e LH são sintetizados pela adenohipófise e regulam a função ovariana. Esse mecanismo regulador de síntese e liberação destes hormônios ocorre por meio de um mecanismo de feedback. No dia zero, considerado como o momento do início do estro, ocorre um pico de  $17\beta$ -estradiol (estimula a manifestação do estro e a liberação de LH). Nesse período, por feedback positivo, há uma descarga simultânea de LH e de FSH pela hipófise (FREITAS, 2005).

Esta descarga hormonal é responsável pela ovulação (momento em que o óócito é liberado), 30 a 36 horas após o início do estro, e pela modificação das células do folículo, culminando com a formação do corpo lúteo (CL), através do processo chamado de luteinização (GONZÁLEZ-STAGNARO et al., 2002).

Na fêmea caprina, a cada intervalo de, aproximadamente, 21 dias, acontece um ciclo estral completo, podendo ocorrer ciclos longos (> 25 dias) ou curtos (< 17 dias), parecendo essa variação estar relacionada à raça (CHEMINEAU et al., 1991).

Esse ciclo é regulado por diversas modificações neuroendócrinas, resultantes de interações entre hormônios hipotalâmicos e hipofisários, ovário e útero. Isso pode ser definido como um conjunto de acontecimentos reprodutivos que se repetem em intervalos regulares, o qual se inicia no estro e termina no estro seguinte (HAFEZ; HAFEZ, 2004; MORELLO; CHEMINEAU, 2008).

O ciclo estral da cabra pode ser dividido em duas fases, uma fase folicular ou estrogênica, que corresponde ao período de crescimento dos folículos; e uma fase luteínica, caracterizada pela presença do corpo lúteo. A fase folicular dura cerca de 4 dias e a fase luteínica, 17 dias, sendo que esta última sofre maiores variações (EVANS; MAXWELL, 1990).

O folículo transforma-se em corpo lúteo que começa a secretar volume crescente de progesterona ( $P_4$ ), a qual exerce um feedback negativo sobre a secreção de LH e, conseqüentemente, cessa a descarga cíclica do mesmo durante a presença do corpo lúteo (FREITAS; LOPES JÚNIOR, 2001).

A fase folicular corresponde ao período que vai da luteólise até a ovulação, se caracterizando pela secreção gradual de estrógeno e alteração da mucosa uterina e vaginal, sendo, nessa fase, que o animal apresenta sinais de estro (CAVALCANTI, 2008). Nessa fase, as prostaglandinas uterinas provocam luteólise e, logo, ocorre a queda dos níveis de progesterona. O que promove o aumento dos pulsos de LH e FSH novamente, provocando a estimulação do crescimento folicular; os folículos, por sua vez, têm sua atividade estrogênica aumentada, e esse aumento dos níveis de estrógeno provoca novamente um comportamento de estro, iniciando um novo ciclo (FREITAS; LOPES JÚNIOR, 2001).

O aparecimento do estro é mais exacerbado na cabra que na ovelha, onde os sinais externos de estro mais evidentes incluem aumento da secreção de muco vaginal, agitação da cauda, hiperemia, edema da vulva, inquietação, procura pelo macho e aceitação da monta (MAIA JUNIOR; ARAÚJO; SALLES, 2009).

Segundo Simões et al. (2006), em cabras, o crescimento folicular está bem definido com a ocorrência de um padrão de ondas durante o intervalo entre as ovulações. O padrão mais comumente encontrado em caprinos é de quatro ondas foliculares por ciclo com um intervalo interovulatório de duração normal (19 a 22 dias) (MENCHACA; RUBIANES, 2004).

Os esteroides ovarianos promovem uma interação com as gonadotrofinas para regular a dinâmica folicular. A emergência das ondas é determinada pelo FSH, constatando-se em 1 a 2 dias antes de cada onda a elevação desse hormônio. Durante a fase folicular, os níveis de FSH controlam o número de folículos que maturam, sendo sua secreção regulada por produtos foliculares que o retroinibem e o desenvolvimento folicular final depende da pulsatilidade do LH, onde o maior folículo de uma onda será o ovulatório, se estabelece uma cascata endócrina que culmine com o pico de LH; se ocorrer falha, sofrerá atresia, enquanto surge outra onda. A diminuição da pulsatilidade do LH pode ser provocada pelas concentrações aumentadas de progesterona, levando à regressão do folículo dominante (FREITAS; RUBIANES, 2008).

Com relação às características das ondas foliculares caprinas alguns aspectos merecem destaque: (1) pelo menos um folículo alcançando o diâmetro de, no mínimo, 5 mm e observado por onda; (2) o maior folículo de cada onda cresce por 5 a 7 dias, com a taxa de crescimento em torno de 1 mm por dia; (3) o diâmetro máximo do maior folículo de uma onda difere entre ondas; (4) à medida que a fase luteal progride e as concentrações séricas de progesterona aumentam, a renovação folicular é facilitada e os intervalos entre ondas são menores do que durante a fase luteal precoce; (5) a maioria dos folículos, que são maiores no dia da luteólise, são aqueles que ovulam; (6) na maioria dos ciclos ovulatórios duplos, os folículos ovulatórios emergem como parte da mesma onda folicular, mas, em alguns casos, também o fazem como parte de diferentes ondas; e (7) as ovulações duplas são intervaladas por um período de 24 horas (RUBIANES; MENCHACA, 2003).

### 2.1.3. Sincronização do estro e da ovulação

A sincronização do estro e da ovulação é uma valiosa ferramenta de manejo que tem sido utilizada com sucesso, melhorando a eficiência reprodutiva. Essa técnica consiste na manipulação do ciclo estral através da utilização de hormônios. Esses processos têm como princípios encurtar ou prolongar o ciclo estral,

provocando à luteólise ou prolongando a fase lútea, de maneira que um grupo de animais entre em estro e/ou ovule durante um curto período de tempo, ou até mesmo, num único dia (MAIA JÚNIOR; ARAÚJO; SALLES, 2009). A sincronização de estro, auxiliando a Inseminação Artificial, é um método de manejo reprodutivo que não só melhora o ganho genético do rebanho, mas também auxilia na redução do período de estação de monta e intervalo entre partos, permitindo que a fêmea tenha um maior número de crias/ano (MARQUEZINI et al., 2011).

#### *2.1.3.1. Encurtamento do ciclo estral*

A redução da fase lútea pode ser obtida com o uso de agentes luteolíticos, como a administração de prostaglandina  $F_{2\alpha}$  ( $PGF_{2\alpha}$ ) exógena ou suas análogas que induzem uma luteólise controlada (ABECIA; FORCADA; GONZÁLEZ-BULNES, 2011). Esses compostos promovem a regressão do corpo lúteo e a diminuição dos níveis de progesterona na corrente sanguínea, como isso, os níveis crescentes de FSH e LH liberados pela hipófise estimulam o crescimento folicular e a ovulação ocorrerá em dois a três dias (GINTER et al., 2009).

A  $PGF_{2\alpha}$  exógena ou suas análogas mais utilizadas podem ser observadas na Tabela 2. Segundo Abecia, Forcada e González-Bulnes (2011), a  $PGF_{2\alpha}$  exógena ou suas análogas podem ser administradas nas doses de 125  $\mu$ g de cloprostenol ou d-cloprostenol e 7,5 mg de luprostiol.

Esses fármacos são ineficazes em promover luteólise na ausência de um corpo lúteo, já que a ação da luteolisina é provocar a regressão morfológica e funcional desta estrutura (RATHBONE et al., 2001). E também se os animais estiverem em condições de fase luteal muito inicial, os mesmos não responderão ao processo de luteólise (FERNANDEZ-MORO et al., 2008). Assim, os diversos protocolos que se utilizam  $PGF_{2\alpha}$  somente podem ser aplicados em fêmeas cíclicas, pois nem todos os estágios do ciclo estral são responsivos ao tratamento. Para melhores resultados, o tratamento com  $PGF_{2\alpha}$  depende da funcionalidade do corpo lúteo (CL), sendo maior nos dias 5 a 10 do ciclo estral. O espaço entre a administração da  $PGF_{2\alpha}$  e o início do estro muda bastante, dependendo do estágio de desenvolvimento folicular quando a luteólise é induzida (RUBIANES, 2000).

Tabela 2. Principais apresentações comerciais de PGF<sub>2α</sub> e suas análogas.

Medicamento	Princípio ativo	Dose para caprinos
Prosolvin®	Luprostiol	7,5 mg
Ciosin®	Cloprostenol	50-125 µg
Prolise®	D-cloprostenol	50-125 µg

(Fonte: Arquivo pessoal, 2016).

Os protocolos a base de PGF<sub>2α</sub> podem ser uma boa alternativa para a sincronização do estro no período de ciclicidade reprodutiva, porém quando a ovelha se encontra em anestro estacional não é possível induzir a ovulação utilizando esse medicamento (FIEERO; VIÑOLES; OLIVEIRA-MUZANTE, 2013).

A variabilidade da resposta à PGF<sub>2α</sub> pode ser atribuída à condição ovariana do animal, no momento da aplicação. Assim, o dia do ciclo no qual a administração da droga é realizada influencia no intervalo para o início do estro (SIQUEIRA et al., 2012). Isso porque nem todos os estádios do ciclo estral são responsivos da mesma forma à PGF<sub>2α</sub>, sendo necessária a aplicação de duas doses, que são intervaladas por 11 a 14 dias em caprinos (FREITAS; RUBIANES, 2004).

Dessa forma, duas doses de PGF<sub>2α</sub>, no intervalo de sete dias, seriam eficientes para induzir o estro com uma alta sincronização, aparecendo os sinais de comportamentos estrais entre 25 e 48 h, após a segunda dose de PGF<sub>2α</sub> (Figura 2).

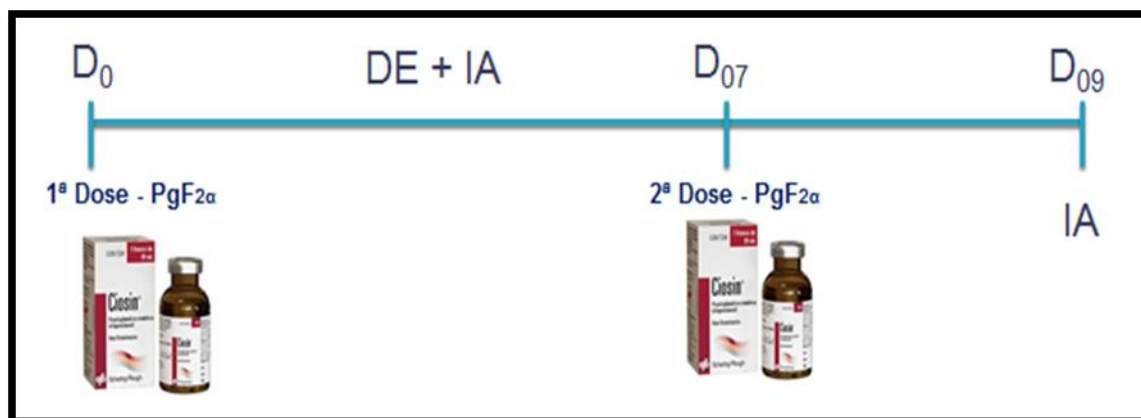
Isso acontece porque a segunda dose da PGF<sub>2α</sub> é administrada entre o 3º e o 5ª dia do ciclo estral. Nessa fase, os folículos dominantes da primeira onda folicular ainda estão em fase de crescimento e os corpos lúteos estão responsivos a ação da PGF<sub>2α</sub> (MENCHACA; RUBIANES, 2004), como mostra a Figura 2.

Isso pôde ser observado por Gastal et al. (2013) que, quando utilizada uma única dose de PGF<sub>2α</sub> em comparação com a sua associação a outros protocolos com progestágenos, ela apresenta baixos índices de estro e prenhez em ovelhas, como demonstra a Tabela 3.

Isso é reforçado no experimento de Siqueira et al. (2012), como pode ser observado nos grupos I e II da Tabela 4, onde, no momento da primeira aplicação de PGF<sub>2α</sub>, a luteólise acontece somente naqueles animais que apresentam um corpo lúteo responsivo à PGF<sub>2α</sub>. Porém, na segunda aplicação, a maior parte, apresenta um corpo lúteo responsivo. A resposta positiva das fêmeas após a primeira e

segunda aplicações de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  (grupo I - 14/23), ou apenas após a segunda aplicação (grupo II - 7/23), não influenciou as taxas de concepção (Tabela 5).

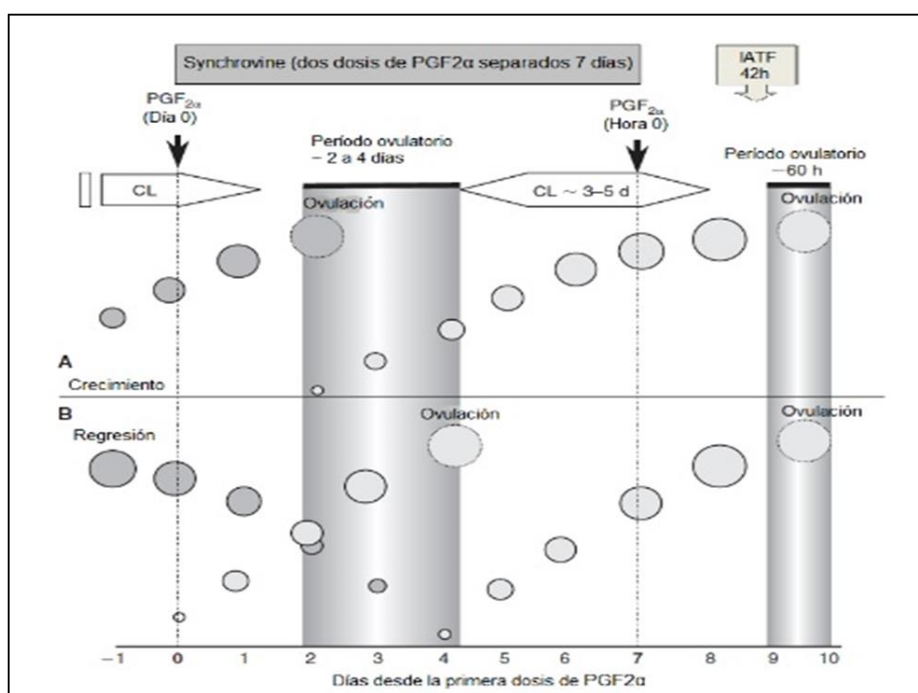
Figura 2. Protocolo de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  para caprinos e ovinos.



(Fonte: Arquivo Pessoal, 2016).

Contudo, a aplicação das duas doses de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  aumentou o número de fêmeas que foram capazes de responder, manifestar cio e conceber (21/23) após a segunda aplicação, a qual foi seguida de observação do cio e inseminação artificial (SIQUEIRA et al., 2012).

Figura 3. Protocolo Synchronvine.



(Fonte: Adaptado de Menchaca e Rubianes, 2004).

Tabela 3. Taxas de expressão de estro (%) e de prenhez (%), resultantes de tratamentos de sincronização do estro com PGF<sub>2α</sub>, P<sub>4</sub> e eCG ou PGF<sub>2α</sub>, P<sub>4</sub> ou somente PGF<sub>2α</sub>.

Tratamento	N	Percentual de fêmeas	
		Estro (n)	Prenhez (n)
PGF <sub>2α</sub> + P <sub>4</sub> + eCG	56	89,0 (50) <sup>a</sup>	68,0 (34) <sup>a</sup>
PGF <sub>2α</sub> + P <sub>4</sub>	56	89,0 (50) <sup>a</sup>	56,0 (28) <sup>ab</sup>
PGF <sub>2α</sub>	56	64,3 (36) <sup>b</sup>	38,9 (14) <sup>b</sup>

<sup>a,b</sup>Valores com letras diferentes dentro de cada coluna diferem significativamente (P<0,05).

PGF<sub>2α</sub> = Prostaglandina; P<sub>4</sub> = Progesterona; eCG = Gonadotrofina coriônica equina.

(Fonte: Adaptado de Gastal et al., 2013).

Tabela 4. Valores médios de progesterona plasmática de ciclos advindos da luteólise induzida com prostaglandina F<sub>2α</sub> via submucosa vulvar, em intervalos de 10 dias, em cabras da raça Toggenburg, considerando-se as diferentes respostas e dias após a aplicação.

Tratamento	N	Valores de progesterona (ng/mL)				
		D0	D5	D10	D15	D20
		1 <sup>a</sup> PGF <sub>2α</sub>		2 <sup>a</sup> PGF <sub>2α</sub>		
Grupo I <sup>1</sup>	14	7,0±0,8 <sup>Aa</sup>	0,8 ± 0,8 <sup>Bb</sup>	5,8 ± 0,8 <sup>Aa</sup>	1,0 ± 0,8 <sup>Ab</sup>	6,0 ± 0,8 <sup>ABa</sup>
Grupo II <sup>2</sup>	17	0,7±1,8 <sup>Bc</sup>	4,4 ± 1,8 <sup>Abc</sup>	8,2 ± 1,8	0,7 ± 1,8 <sup>Abc</sup>	13,1 ± 1,9 <sup>Aa</sup>
Grupo III <sup>3</sup>	2	7,4±0,3 <sup>Ab</sup>	0,5 ± 0,3 <sup>Bc</sup>	0,3 ± 0,3 <sup>Bc</sup>	0,1 ± 0,3 <sup>Bc</sup>	0,2 ± 0,3 <sup>Bc</sup>

Médias na linha seguidas por letras minúsculas diferentes diferem entre si (P<0,05).

Médias nas colunas seguidas por letras maiúsculas diferentes diferem entre si (P<0,05).

<sup>1</sup> Fêmeas que responderam às duas aplicações de PGF<sub>2α</sub>.

<sup>2</sup> Fêmeas que não responderam à primeira aplicação de PGF<sub>2α</sub>, mas responderam à segunda aplicação.

<sup>3</sup> Fêmeas que responderam à primeira aplicação de PGF<sub>2α</sub>, mas não responderam à segunda aplicação.

(Fonte: Adaptado de Siqueira et al., 2012).

Tabela 5. Taxas de concepção de fêmeas caprinas da raça Toggenburg que apresentaram diferentes respostas a um protocolo de sincronização do estro, utilizando duas doses de prostaglandina F<sub>2α</sub>, via submucosa vulvar, em intervalos de 10 dias.

Resposta à PGF <sub>2α</sub>	Número de cabras	Taxa de Concepção (%)
Grupo I	14 (10)	71,43
Grupo II	07 (05)	71,43
Grupo III	02(00)	0,00
TOTAL	23(15)	65,22

(Fonte: Adaptado de Siqueira et al., 2012).

### 2.1.3.2 Alongamento do ciclo estral

O princípio do alongamento do ciclo estral se constitui no conjunto de estratégias utilizadas que podem envolver o prolongamento da fase lútea, através da administração exógena de progesterona e seus análogos (ORTIGOSA, 2013). A utilização de progesterona e progestágenos no tratamento de sincronização do estro permite controlar o momento da manifestação do estro e da ovulação por meio de um mecanismo de “bloqueio” ou feedback negativo sobre as gonadotrofinas, seguido por “desbloqueio”, resposta hipofisária após o fim do tratamento (MORAES et al., 2008). Isso é reforçado por Uribe-Velasquez, Oba e Souza (2008), os quais observaram que a administração da P<sub>4</sub> exógena ou de seus análogos é de extrema importância para a indução, mas o estro e a ovulação só acontecerão quando a fonte de P<sub>4</sub> for removida.

Na Tabela 6, observa-se as principais apresentações comerciais de progesterona, progestágenos e hormônios utilizados no tratamento de sincronização de estro de pequenos ruminantes.

Dentre as drogas utilizadas, pode-se ressaltar o acetato de melengestrol (MGA), que é uma progesterona sintética de administração oral para indução de cio em ovinos e caprinos (ABECIA; FORCADA; GONZÁLEZ-BULNES, 2012). A principal desvantagem de sua utilização é devido a sua via de administração, onde o MGA é misturado com o concentrado no cocho e pode haver uma subdosagem.



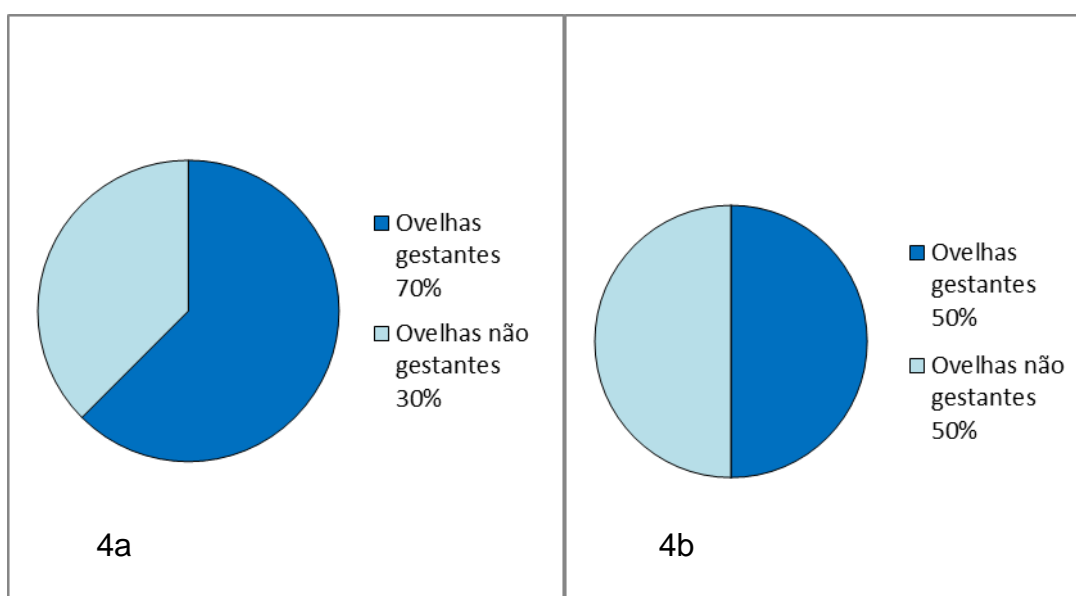
Tabela 6. Principais apresentações comerciais de Progesterona, progestagenos e outros hormônios.

Medicamento	Princípio ativo	Dose para caprinos
MGA Primex®	Acetato de melengestrol	0,5 mg
Crestar®	Norgestomet	3 mg
Progespon®	Acetato de medroxiprogesterona (MAP)	60 mg
CIDR®	Progesterona	330 mg
Novormon®	Gonadotrofina coriônica equina	300 UI
Sincroforte®	Hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH)	100 UI

(Fonte: Arquivo pessoal, 2016).

Mendonza (2010) observou que em ovelhas tratadas com 0,45 mg de MGA/ovelha/dia, durante 17 dias, comparada com ovelhas que não receberam o MGA, no fim do tratamento, a taxa de gestação no grupo MGA foi de 70% com uma média de  $49,86 \pm 1,26$  dias de gestação. No grupo controle, a taxa de gestação foi de 50% com uma média de  $58,4 \pm 5,85$  dias de gestação (Figuras 4a e 4b).

Figura 4. Percentual de ovelhas gestantes após seus estros serem sincronizados com MGA (4a) ou sem seu uso (4b).



(Fonte: Adaptado de Mendonza, 2010).

O norgestomet também é uma progesterona sintética utilizada em ovinos e apresenta-se como implante auricular (1,5 mg/implante) (USLU et al., 2012).

Além desses, pode-se usar as esponjas intravaginais impregnadas de acetato de fluorogestona (FGA, 20 a 30 mg) ou acetato de medroxiprogesterona (MAP, 60 mg), que são as formas comerciais mais utilizadas, agindo como um eficiente inibidor temporário do ciclo estral (ABECIA; FORCADA; GONZÁLEZ-BULNES, 2012). A utilização de esponjas intravaginais tem como principal vantagem o baixo preço.

No entanto, segundo Paes de Barros (2010), a utilização de esponjas intravaginais apresentam algumas desvantagens como, aos altos índices de vaginite e aderências, além de impedir a saída do muco vaginal. O norgestomet devido a sua via de aplicação, que é muito invasiva podendo levar a infecções locais torna-se uma alternativa pouco utilizada.

Outro método utilizado são os dispositivos de silicone impregnados com 330 mg de progesterona natural, o CIDR<sup>®</sup> (IIDA et al., 2004). Esses dispositivos são fáceis de aplicar e de retirar da vagina, seguros e higiênicos.

Freitas, Baril e Saumande (1997), quando compararam a utilização de esponja intravaginal e implante de norgestomet, foi visto que a esponja obteve os melhores resultados nos parâmetros de cabras ovulando e fertilidade a parto (Tabela 7).

Foi observado por Motlomelo, Greyling e Schwalbach (2002), que quando comparado as esponjas de FGA e de MAP, em relação ao CIDR, o dispositivo de silicone apresentou um melhor início de estro, concluindo que o CIDR gera um cio mais rápido (Tabela 8).

Porém, a principal desvantagem da utilização do CIDR é devido a seu elevado custo. Apesar de ter um custo alto, foi visto por Nogueira et al. (2011) que a utilização do mesmo CIDR por até três vezes foi viável na sincronização do estro de caprinos leiteiros, onde todas as fêmeas sincronizadas apresentaram estro, e que não houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ) entre as médias de fertilidade e prolificidade após inseminação artificial entre os tratamentos, como mostra a Tabela 9.

Tabela 7. Resposta de cabras após sincronização do estro com esponjas de FGA, implante ou meio-implante de Norgestomet.

Tipo de tratamento	N <sup>o</sup> de cabras	% de cabras em estro	Cabras ovulando	Fertilidade ao parto (%)	Prolificidade (média ± d.p.)
Esponja	56	98,2	98,2 <sup>a</sup>	75,0 <sup>a</sup>	1,9 ± 0,8
½ Implante	55	98,2	81,8 <sup>b</sup>	45,5 <sup>b</sup>	1,8 ± 0,8
Implante	51	96,1	86,3 <sup>ab</sup>	58,8 <sup>ab</sup>	1,9 ± 0,8

<sup>a, b</sup> Valores com letras sobrescritas distintas na mesma coluna, diferem (P<0,05).

(Fonte: Freitas, Baril e Saumande, 1997).

Tabela 8. O efeito do tratamento progestágeno sobre a resposta de estro, intervalo médio (± e.p.) retirada da esponja e início do estro, duração do estro e taxa de concepção.

Tipo de tratamento	N <sup>o</sup> de cabras	N <sup>o</sup> de cabras em estro	Início do estro (h)	Duração do estro (h)	Taxa de concepção (%)
Esponja (MAP)	30	93,1	32,2 ± 0,5 <sup>a</sup>	32,6 ± 0,7	51,7
Esponja (FGA)	30	96,7	30,9 ± 0,4 <sup>a</sup>	32,0 ± 0,7	60,0
CIDR	30	100,0	27,2 ± 0,4 <sup>b</sup>	35,2 ± 0,7	46,7

<sup>a, b</sup> Valores com letras sobrescritas distintas na mesma coluna, diferem (P<0,05).

(Fonte: Adaptado de Motlomelo, Greyling e Schwalbach, 2002).

Tabela 9. Porcentagens de cabras em estro, intervalo médio (± ep) entre o fim do tratamento e o início do estro (FT-IE), duração média (± ep) do estro e taxa de fertilidade de cabras leiteiras criadas no semiárido do Nordeste do Brasil.

Tratamento	N	Fêmeas em estro (%)	Intervalo FT-IE (h)	Duração do estro (h)	Fertilidade % (65 d)
CIDR 1X	15	100,0	13,3 ± 1,1	33,6 ± 7,3	93,3 (14/15)
CIDR 2X	15	100,0	13,8 ± 2,6	29,6 ± 3,2	73,3 (11/15)
CIDR 3X	15	100,0	13,3 ± 1,4	32,8 ± 4,5	80,0 (12/15)

<sup>a, b</sup> Valores com letras sobrescritas distintas na mesma coluna, diferem (P<0,05).

(Fonte: Adaptado de Nogueira et al., 2011).

Mesmo sabendo da qualidade de estro proporcionado pelo CIDR e a possibilidade de sua utilização em até 3 vezes, foi visto por Padilha et al. (2011) ao comparar a esponja (MAP) e do CIDR em ovelhas, onde ambos os dispositivos permaneceram nos animais por 14 dias e no momento da retirada, houve a aplicação de 300 UI de eCG. Não houve diferença significativa quando comparados os dispositivos no tocante à resposta estral, taxa de prenhez e prolificidade. No entanto, observou-se uma menor taxa de prenhez do CIDR, quando comparado com a esponja de MAP, demonstrado na Tabela 10. Essa redução pode ser explicada, pois o CIDR gera um cio mais rápido e, assim, antecipa a ovulação e as inseminações foram feitas 55 h após a retirada dos dispositivos.

Tabela 10. Resposta estral, intervalo da retirada do dispositivo ao início do estro, e duração do estro em ovelhas deslançadas após tratamento hormonal com dois dispositivos intravaginais (CIDR e esponjas impregnadas com MAP).

Tratamento	N	Resposta estral (%)	Duração do estro (h)	Taxa de prenhez(%)	Prolificidade
CIDR	20	100	24,39 ± 1,21 <sup>a</sup>	52,6 <sup>b</sup>	1,77 <sup>a</sup>
Esponja	20	90	43,56 ± 2,19 <sup>b</sup>	61,1 <sup>b</sup>	1,70 <sup>a</sup>

<sup>a, b</sup> Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística (P<0,05).

(Fonte: Adaptado de Padilha et al., 2011).

Foi visto também por Maia Junior, Araújo e Salles (2009) que em cabras, as taxas de gestação, quando utilizada a esponja foi superior ao CIDR, como mostra na Tabela 11.

Segundo Gusmão et al. (2009), os progestágenos são utilizados por um período de 5 a 13 dias, definindo o protocolo como curto ou longo. Os protocolos de sincronização de estro podem ser classificados como longos quando o dispositivo contendo progesterona e/ou progestágenos permanece por, aproximadamente, 14 dias, ou curtos, quando permanece por 5 a 7 dias.

Tabela 11. Resposta estral (fêmeas em estro), intervalo entre o fim do tratamento e início do estro (FT-IE), taxas de prenhez e de parição, e prolificidade em cabras Saanen após indução do estro com esponja (ESP-MAP), CIDR® (CIDR+eCG) e CIDR® mais efeito macho (CIDR+EM).

Tratamento	N	Fêmeas		Taxa de prenhe (%)	Taxa de parição (%)	Prolificidade
		em estro(%)	FT-IE (h)*			
ESP-MAP +						
eCG	20	100	31,53 ± 2,81 <sup>a</sup>	95,0 <sup>a</sup>	80,0 <sup>a</sup>	1,83 <sup>a</sup>
CIDR + eCG	19	100	24,39 ± 1,21 <sup>a</sup>	52,6 <sup>b</sup>	47,0 <sup>b</sup>	1,77 <sup>a</sup>
CIDR + EM	20	90	43,56 ± 2,19 <sup>b</sup>	61,1 <sup>b</sup>	50,0 <sup>b</sup>	1,70 <sup>a</sup>

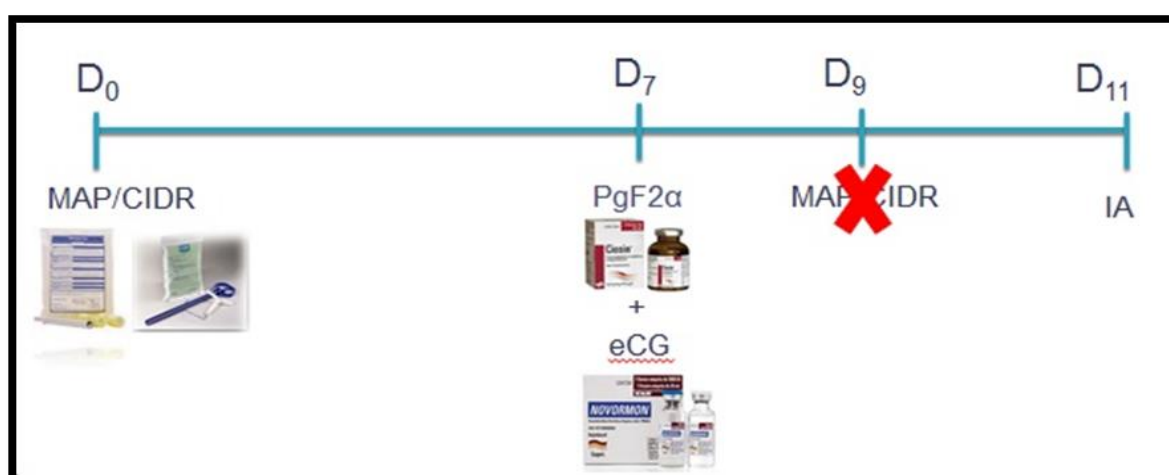
<sup>a, b</sup> Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística ( $P < 0,05$ ).

\*Intervalo entre o fim do tratamento (retirada do dispositivo) e o início do estro.

(Fonte: Adaptado de Maia Júnior, Araújo e Salles, 2009).

O protocolo longo mais utilizado para caprino, constitui-se na aplicação da esponja de MAP ou CIDR, no dia 0 que vai permanece por nove dias e 48 horas antes da retirada do dispositivo administra-se eCG e PGF e no dia 11 realiza-se a inseminação artificial (Figura 5).

Figura 5. Protocolo longo utilizado para caprino.



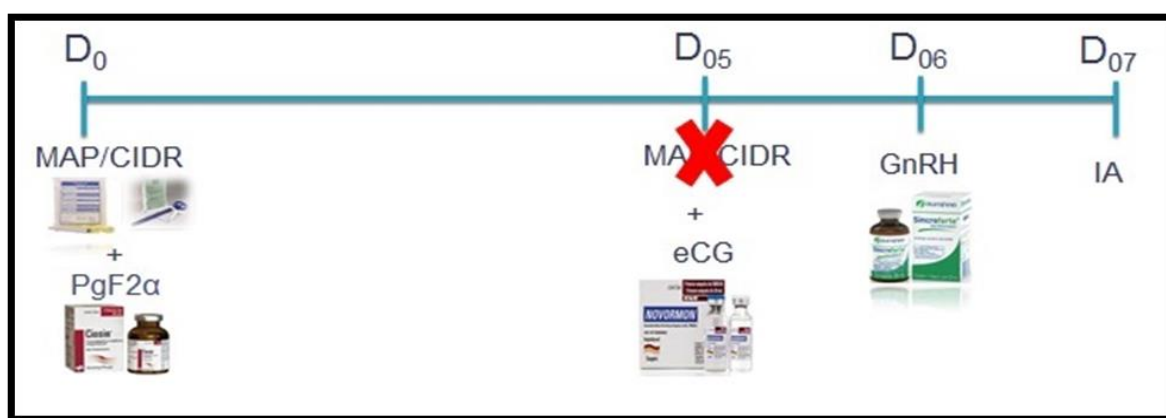
(Fonte: Arquivo Pessoal, 2016).

Os protocolos longos, conhecidos como tradicionais não levam em consideração o conhecimento atual da dinâmica folicular. Pois a impregnação longa

de progesterona pode induzir baixas concentrações de progesterona no final do tratamento. Como as ondas foliculares emergem a cada 5-7 dias, impregnações longas não são justificadas (BORGES-BRANDÃO, 2010) e levando a problemas de fertilidade, diminuição do transporte e sobrevivência dos espermatozoides, além de provocar degeneração oocitária (ALISON; ROBINSON, 1970; VIÑOLES et al., 1999; UNGERFELD; RUBIANES, 2002).

Nesse sentido, os tratamentos curtos têm como objetivo reduzir a exposição do folículo pré-ovulatório à concentração subluteal de progesterona, que pode levar a falhas no desenvolvimento do folículo ovariano, ovulação, função luteal e diminuição da fertilidade (VILARIÑO; RUBIANES; MENCHACA, 2013). Por isso foi criado um protocolo curto para caprinos e ovinos, baseado na aplicação da esponja de MAP ou CIDR, no dia 0 mais administração de PGF, no dia 5 retira o dispositivo e aplica-se eCG e 24 horas antes da inseminação artificial administra-se GnRH e no dia 7 realiza-se a inseminação artificial (Figura 6).

Figura 6. Protocolo curto utilizado para caprino.



(Arquivo Pessoal, 2016).

Foi observado por Prado et al. (2013), ao avaliar as taxas de prenhez de ovelhas submetidas a protocolos hormonais para sincronização de estro com esponja intravaginal de MAP, por período curto (6 dias) ou longo (12 dias) e, na remoção dos dispositivos, administrando (IM) 400 UI de eCG e 37,5 µg de cloprostenol e inseminando em tempo fixo por laparoscopia com sêmen congelado-descongelado, encontraram que os resultados de prenhez para protocolos curto e longo foram semelhantes, não havendo diferença ( $P > 0,05$ ) entre os protocolos em nenhum dos experimentos, como mostra as Tabelas 12 e 13.

Tabela 12. Efeito de protocolo hormonal curto (6 dias) ou longo (12 dias) de sincronização de estro, sobre a taxa de prenhez de ovelhas Texel, inseminadas em tempo fixo (IATF) por laparoscopia com sêmen congelado-descongelado na estação reprodutiva.

Protocolo hormonal	Nº total	Prenhez	
		Nº	(%)
Curto	21	8	38,1
Longo	32	10	33,1
Total	53	18	34,7

( $P > 0,05$ ) (Fonte: Adaptado de Prado et al., 2013).

Pietroski et al. (2013), ao comparar a duração do tratamento hormonal através da utilização de esponjas intravaginais impregnadas com 60 mg de MAP para 6, 9 e 12 dias, em cabras Saanen, recebendo 37,5 mg de d-cloprostenol e 200 UI de eCG 24 horas antes da remoção da esponja, não observaram diferença entre os grupos G6, G9 e G12 para: Resposta estral, intervalo ao estro, duração do estro, taxa de prenhez, como mostra a Tabela 14. Nos primeiros dias logo após inserção das esponjas intravaginais, a liberação de progestágenos é elevada, mas tende a diminuir com o tempo (Figura 7). Nessa fase, ocorre a atresia dos folículos de grandes dimensões (diâmetro: 6-8 mm). De acordo com Menchaca e Rubianes (2001), a inserção de dispositivos por curto tempo (5 a 6 dias) é uma alternativa efetiva aos protocolos tradicionais para sincronização de estro.

Tabela 13. Efeito de protocolo hormonal curto (6 dias) ou longo (12 dias) de sincronização de estro, sobre a taxa de prenhez de ovelhas Texel inseminadas em tempo fixo (IATF) por laparoscopia com sêmen congelado-descongelado no final da contra estação reprodutiva.

Protocolo hormonal	Nº total	Prenhez	
		Nº	(%)
Curto	23	13	56,5
Longo	20	13	65,0
Total	43	26	60,5

( $P > 0,05$ ) (Fonte: Adaptado de Prado et al., 2013).

Tabela 14. Comportamento sexual e taxa de gestação de cabras da raça Saanen após serem submetidas à indução do estro com esponjas de progestágenos durante 6 (G6), 9 (G9) ou 12 (G12) dias (média ± dp), durante a estação não sexual.

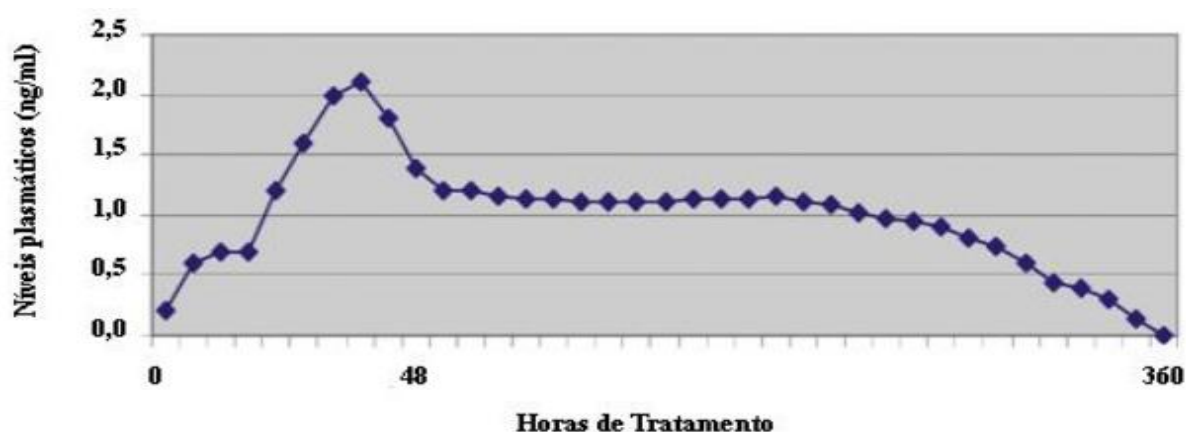
Protocolo hormonal	Prenhez			
	G6	G9	G12	Média/Total
Resposta estral (%)	90,0(9/10)	100,0(10/10)	100,0 (10/10)	96,7(29/30)
Intervalo do estro (h)	26,7±16,7	25,2±8,8	25,2 ± 10,5	25,73± 11,9
Duração do estro	28,5±20,2	21,6±9,5	25,2 ± 19,1	24,6 ± 16,3
Taxa de gestação	60,0(6/10)	80,0(8/10)	50,0 (5/10)	63,3 (19/30)

P>0,05.

(Fonte: Adaptado de Pietroski et al., 2013).

Ao compararem a utilização de CIDR e de esponjas impregnadas com MAP e fluogesterona em ovelhas, não observaram efeito sobre características reprodutivas no tempo de exposição de seis dias. Nesse mesmo estudo, quando se reduziu o tempo de exposição de 14 para seis dias, não houve modificação da taxa de gestação (UNGERFELD; RUBIANES, 2002).

Figura 7. Variação temporal dos níveis plasmáticos médios de cronolona (Chronogest CR) em ovelhas.



(Fonte: Adaptado de Driancourt, 2012).

Apesar de todos os benefícios proporcionados pela biotécnica de sincronização de estro e da ovulação, essa ferramenta apresenta-se alguns entraves para a sua realização. Entre as principais dificuldades encontradas estão no elevado custo de



aquisição de hormônios, a pouca disponibilidade de hormônios no mercado local, em destaque na região Nordeste, a conservação desses hormônios em locais refrigerados e algumas vezes até congelados, além da alta produção de anticorpos anti-eCG que pode diminuir a taxa de fertilidade desses animais.

Com isso, surge como alternativa o estudo com o uso de plantas aproveitando-se o fato do Brasil possuir uma vasta vegetação, em especial a caatinga, com plantas de grande potencial farmacológico podem ser aproveitadas para estudos na biotécnica de sincronização do estro.

#### 2.1.4. Possíveis alternativas para sincronização do estro e da ovulação

O Brasil é um país de grande extensão territorial, que abrange vários biomas, como a Mata Atlântica, Cerrado, Pantanal, Amazônia e Caatinga. Essa vasta biodiversidade permite a variedade de solos e climas, favorecendo a riqueza da fauna e flora, distribuídas nos diversos ecossistemas brasileiros (DIAS, 1995).

A caatinga representa a maior e mais isolada das florestas secas da América do Sul, ocupando uma área de quase 900.000 km<sup>2</sup> na região semiárida do Nordeste brasileiro (QUEIROZ, 2006). Nesse bioma, existem plantas que são amplamente utilizadas na medicina popular, permitindo que comunidades locais desfrutem de uma vasta farmacopeia natural (GOMES et al., 2007).

A utilização de plantas medicinais pelas comunidades pode fornecer informações favoráveis para realização de estudos fitoquímicos e farmacológico sobre estas plantas, economizando tempo e investimento (BRASILEIRO et al., 2008).

Sendo assim, a fitoterapia mostra-se como uma alternativa viável, sendo necessária a intensificação de pesquisas a respeito do potencial florísticos do Brasil, objetivando a descoberta ou comprovação de plantas utilizadas no dia a dia, no entanto, é necessário reverter os resultados encontrados em benefícios das pessoas (ALBUQUERQUE, 1989).

Nesse sentido, devido a grande importância da fitoterapia e da escassez de estudos em Medicina Veterinária, fazem-se necessárias pesquisas e aprofundamento sobre efeitos terapêuticos das plantas no âmbito animal.

#### 2.1.4.1. Utilização de plantas medicinais na Medicina Veterinária

No Brasil apenas 1% do mercado de fitoterápicos, são voltados para segmento veterinário. No entanto, é o setor que apresenta um maior crescimento ao ano, cerca de 25%. Os fitoterápicos já representam 6,7% do mercado total de medicamentos (QUINTELA, 2004). Alguns fatores como ao aumento dos custos com os serviços veterinários e a dificuldade em obter medicamentos sintéticos, têm aumentado o interesse no estudo da medicina etnoveterinária, sobretudo no que se trata à utilização da fitoterapia (CÁRCERES et al., 2004).

Segundo Mathias (2007), muitos agricultores e veterinários utilizam essa alternativa, para prevenir e tratar doenças em rebanhos de animais de produção e animais de companhia. Outro fator que justifica a utilização de plantas é a possibilidade de se obter alimentos seguros de origem animal, livres de resíduos, além de possibilitar um sistema de produção animal mais sustentável (MONTEIRO; RODRIGUES; CARMUÇA-VASCONCELOS, 2012).

Diversos estudos que investigam o uso de plantas vêm sendo realizado, sendo uma promissora área para pesquisas. Marinho et al.(2007) quando aplicou um questionário, com a finalidade de obter o conhecimento do uso de plantas medicinais como terapêutica para os animais enfermos, constatou que 100% dos entrevistados não só utilizavam plantas medicinais na terapêutica do animais domésticos, como também aceitariam esta forma de tratamento como prescrição do médico veterinário.

Vieira (2002) trabalhando com caprinos e testando por mais de dois anos os extratos da *Spigelia anthelmia* L (Erva lombrigueira), *Lilium* SP (Lírio) e *Operculina macrocarpa* (Batata-de-purga) observou uma redução a atividade anti-helmíntica dos respectivos extratos. Pereira et al. (2015) estudando algumas árvores como, *Mimosa tenuiflora* (Jurema preta) e *Mimosa arenosa* (Jurema vermelha), observaram uma atividade antimicrobiana das plantas sobre algumas linhagens de *Staphylococcus aureus*.

Outros estudos utilizando o extrato hidroalcoólico da *Ximenia americana* (Ameixa-do-mato) adicionado à base Lanette para produção de um creme aniônico a 10% mostrou ser eficiente na contração de feridas cutâneas em ratos, favorecendo a cicatrização (NETO JÚNIOR, 2016). Wanderley (2015) utilizando o óleo essencial da *Rosmarinus officinalis* L.(Alecrim) como um agente de controle e profilaxia frente a determinadas cepas de *Staphylococcus aureus*, causadoras da mastite bovina,

mostrou grande potencial. O óleo de semente de maracujá mostrou-se eficiente, acelerando o processo cicatricial de lesões cutâneas em equinos e ratos Wistar (MARQUES, 2016).

#### 2.1.4.2. *Vitex agnus castus* L.

O gênero *Vitex*, pertencente à família Laminaceae, formada por mais de 270 espécies, predominantemente árvores e arbustos, e é restrita nas regiões tropicais e subtropical (PADMALATHA et al., 2009). São bastante comuns na região do Mediterrâneo e da Criméia, sendo localizadas também em regiões quentes da Ásia, África e Américas (MAIA et al., 2001).

Algumas espécies são utilizadas para diversas enfermidades, como por exemplo, dores reumáticas, inflamações, infecções respiratórias, diuréticas, problemas pré-menstruais (GANAPATY; VIDYADHAR, 2005).

Estudos fitoquímicos realizados demonstraram que algumas espécies de *Vitex* apresentam compostos químicos que são farmacologicamente ativos, como: diterpenóides, sesquiterpenóides, triterpenóides, lignanas, irióides, esteróis e flavonóides (NYILIGIRA et al., 2004).

Dentre as espécies, a *Vitex agnus-castus* se destaca pelo seu uso rotineiro na medicina popular (Figura 8), onde sua primeira indicação medicinal pode ser encontrada nos relatos de Hipócrates, no 4º século a.C. (MAIA et al., 2001).

Figura 8. Arbusto da *Vitex agnus castus*.



(Fonte: Arquivo pessoal, 2016).

No Brasil é conhecida por alecrim-de-angola, alecrim-do-norte, limba, pimenta de monge, árvore casta ou pau-de-angola. Pelas características morfológicas apresentam-se como arbusto grande ou arvoreta, de 1,5-3,0 m de altura, folhas compostas palmadas, aromáticas, com 5-7 folíolos lanceolados, cinéreo-tomentosos na face inferior, de 5-11 cm de comprimento. As flores são labiadas, violáceas, em cachos terminais (Figura 9). Os frutos têm coloração marrom, quase preto, com cerca de 3,5 mm de diâmetro, eles possuem um aroma e sabor semelhante a pimenta (LORENZI; MATOS, 2002).

Pesquisas indicam que o extrato da planta *Vitex agnus castus* L., também tem sido usado no tratamento de várias condições femininas como a amenorréia e a dismenorréia, corpo lúteo insuficiente, hiperprolactinemia, infertilidade, acne, menopausa e interrupção da lactação (DANIELE et al., 2005).

Figura 9. Amostras da *Vitex agnus castus* L. (A) folhas fortemente aromáticas, digitadas, opostas e (B) flores labiadas, violáceas, em cachos terminais.



(Fonte: Arquivo pessoal, 2016).

Schellenberg (2001) e Sliutz et al., (1993) relataram que essa planta possui efeito estimulante e normalizador das funções da pituitária, especialmente a função da progesterona. Restabelece o equilíbrio normal estrógeno-progesterona e diminui alguns sintomas indesejáveis da menopausa. É utilizada no tratamento da dismenorréia, estresse pré-menstrual, outras desordens relacionadas com a função hormonal, em hiperprolactinemia, como diurético, bem como atividade contra células

de leucemia P388, além de inibir a síntese de prolactina, como também se liga aos receptores opióides e dopaminérgico (D<sub>2</sub>) (MEENA et al., 2011).

O uso medicinal de *Vitex agnus-castus* L. acontece normalmente pela ingestão via oral dos extratos das folhas, frutos ou do óleo essencial dessas partes. Essa alternativa tem sido usada para vários sintomas relacionados ao sistema reprodutor feminino. (WUTKE et al., 2003). Comparando esta planta com a piridoxina (Vitamina B6), ela foi considerada mais eficiente no alívio dos sintomas da tensão pré-menstrual (LAURITZEN et al., 2004).

De acordo com a composição química da *Vitex agnus castus*, ela apresenta glicosídeos iridóides, flavonóides, diterpenos, óleo essencial, cetoesteróides. Os flavonóides primários contêm casticina, orientina e isovitexina (MAIA et al., 2001). Silva (2016) também descreveu pela primeira vez os constituintes do óleo essencial da *Vitex agnus castus* da região do vale do São Francisco (Tabela 15).

Tabela 15. Componentes químicos identificados no óleo essencial de *Vitex agnus-castus*.

TR (min) <sup>a</sup>	IK <sup>b</sup>	Área (%) <sup>c</sup>	Composto
5,738	924	0,35	α-Tujeno
5,949	934	5,42	α-Pineno
7,073	975	10,63	Sabineno
7,196	979	1,09	β-Pineno
7,546	988	1,31	Mirceno
8,738	1026	1,90	orto-Cimeno
8,905	1029	2,82	Limoneno
9,014	1031	26,58	Eucaliptol (1,8-cineol)
11,562	1096	0,29	Linalol
12, 543	1122	0,46	Trans-menta-2,8-dieno-1-ol
13,279	1142	0,19	Óxido de limoneno
14,478	1166	0,69	δ-Terpineol
14,945	1177	4,34	4-Terpineol
15,525	1188	2,81	α-Terpineol
21,133	1317	0,16	Acetato de δ-Terpenila
22,578	1349	8,14	Acetato de α-Terpenila
25,236	1409	0,15	α-Gurjuneno
25,669	1419	2,29	β-Cariofileno
26,623	1442	0,25	Z-β-Farneseno
27,176	1456	5,85	E-β-Farneseno
27,448	1473	0,57	4,5-di-epi-Aristolocheno
28,963	1500	0,59	Biciclogermacreno

31,881	1568	0,27	Palustrol
32,300	1578	3,40	Espatulenol
32,535	1602	1,83	Ledol
33,329	1608	1,12	Epóxido humuleno II
34,779	1640	4,42	epi- $\alpha$ -Cadinol
35,312	1642	0,26	epi- $\alpha$ -Muurulol
<b>Total</b>			
<b>identificado</b>		<b>88,18</b>	

<sup>a</sup>TR: tempo de retenção. <sup>b</sup>Índice de Kovats. <sup>c</sup>Porcentagem do composto no óleo.

(Fonte: Adaptado de Silva, 2016).

Observando o uso da *Vitex agnus castus* na Medicina Veterinária, Mehlhorn, Schmahl e Schmidt (2005) observaram boa repelência dos extratos da *Vitex agnus castus* contra vários artrópodes hematófagos, especialmente contra os carrapatos *Ixodes ricinus* e *Rhipicephalus sanguineus*.

Dentre os produtos naturais empregados em abordagens terapêuticas, os óleos essenciais, usados geralmente na aromaterapia, são relatados como produtos com enorme potencialidade farmacológica e terapêutica. (EDRIS, 2007). São constituídos de forma geral de uma mistura complexa de hidrocarbonetos, álcoois e compostos carbonílicos. Os hidrocarbonetos pertencem a um grupo de substâncias conhecidas como terpenos e, em menor presença, sesquiterpenos. Podem ser encontrados em todo tecido vivo de plantas, e mais concentrados na casca, nas flores, no rizoma e nas sementes (SARMENTO, 2002). Eles são compostos voláteis e caracterizados por um forte odor, sendo provenientes de plantas aromáticas durante o metabolismo secundário, geralmente produzido nas folhas em estruturas conhecidas com tricomas glandulares, dutos e cavidades secretoras ou células oleosas encontradas no tecido da planta (PEREIRA; CARDOSO, 2012). Este metabolismo secundário exerce um papel importante na interação das plantas garantindo vantagens para sua sobrevivência e perpetuação de sua espécie em seu ecossistema (SIMÕES; SPITZER, 1999).

Os óleos essenciais extraídos das folhas e dos frutos da *Vitex agnus-castus* L. foram utilizados em mulheres que estavam na menopausa, sendo ambos os óleos eficazes no alívio dos sintomas (LUCKS; SORESEN; VEAL, 2002).

Há estudos que mostram que na composição química desse óleo encontramos monoterpenos e sesquiterpenos (Katirae et al., 2015), mas não foi encontrada

relatos no sub-médio do são Francisco nem qualquer estudo do potencial farmacológico desta espécie em cabras.

## 2.2. Justificativa

A caprinocultura na região do Nordeste brasileiro há muito tempo vem ganhando destaque, mostrando-se como uma importante atividade economicamente viável para o semiárido nordestino. No entanto, os produtores dessa região são caracterizados pelo o baixo nível tecnológico nas propriedades, utilizando de práticas rudimentares, onde a maioria dos animais apresentam índices de desempenho baixo, destacando-se a alta mortalidade pós-natal e a heterogeneidade das crias. Dessa forma, a sincronização do estro e ovulação é uma biotécnica reprodutiva utilizada em pequenos ruminantes visando à concentração de partos em uma determinada época desejada para os distintos sistemas de produção. Essa biotécnica não só melhora o manejo reprodutivo, mas também incrementa o ganho genético do rebanho, reduz o período reprodutivo e intervalo entre partos, permitindo que a fêmea tenha um maior número de crias/ano. Contudo, existem fatores que podem limitar o uso desta técnica, como o elevado custo para a aquisição de hormônios, falta de profissionais capacitados e restrição na obtenção de hormônios no mercado nacional. Nesse sentido, os produtos de origem vegetal, por possuírem reconhecido efeito terapêutico, se apresentam como uma alternativa para superar os entraves na realização da biotécnica de sincronização de estro e ovulação.

Nesse contexto, a planta *Vitex agnus-castus*, comum na nossa região, pode ser uma alternativa visto que pesquisas recentes relatam que tem aumentado consideravelmente o uso fitoterápico dessa planta, pois tem se mostrado como uma alternativa hormonal, no controle dos distúrbios do ciclo pré-menstrual feminino.

Seu óleo essencial, além de ser um agente natural, é volátil, de baixa toxicidade e pode ser de fácil aquisição, já que pode ser encontrado na própria Caatinga do Nordeste do Brasil. Diante dessas informações, a *Vitex agnus castus* apresenta-se como uma ferramenta de pesquisa importante devendo ser realizado que possibilitem conhecer a melhor a sua composição química e comprovar seu potencial farmacológico.

Deste modo, o uso do óleo essencial da *Vitex agnus-castus* apresenta histórico que justifica a investigação de seu potencial em promover a sincronização do estro a baixo custo viabilizando essa biotécnica e, melhorando o manejo reprodutivo e a sua produção.



## 2.3. OBJETIVOS

### 2.3.1. *Objetivo Geral*

- Avaliar o efeito do uso de esponjas intravaginais impregnadas com óleo essencial da planta *Vitex agnus castus* L. na sincronização do estro e fertilidade de cabras.

### 2.3.2. *Objetivos Específicos*

- Avaliar o efeito do uso de esponjas intravaginais impregnadas com óleos essenciais da planta *Vitex agnus castus* L. no (a):
  - Número de animais em estro;
  - Intervalo entre a retirada da esponja ao início do estro;
  - Duração do estro;
  - Perfil da progesterona, durante e após a sincronização do estro;
  - Taxa de fertilidade.

## **2.4. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.4.1. Aspectos éticos**

O experimento foi realizado após a aprovação institucional do Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Sertão Pernambucano (IF-SERTÃO), sendo todo o protocolo experimental conduzido conforme os princípios éticos de experimentação animal adotado pela Comissão de Ética no Uso de Animais, do Comitê de Ética e Deontologia em Estudos e Pesquisas da Universidade Federal do Vale do São Francisco, sob o Protocolo nº 0002/131014.

### **2.4.2. Local de execução**

O experimento ocorreu de maio a julho de 2015 no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sertão Pernambucano – IF-Sertão, em Petrolina, Pernambuco, localizado a 9° 23' 34" S, 40° 30' 28" O e altitude de 376 m. A temperatura média anual é de 26,4 °C e a umidade é de 58% (EMBRAPA SEMIÁRIDO, 2005).

### **2.4.3. Animais experimentais**

Foram utilizadas 48 cabras da raça Anglo Nubiana (Figura 11), pluríparas, não lactantes, com idade (média  $\pm$  desvio padrão) de 2,5  $\pm$  1,0 anos e escore de condição corporal de 3,2  $\pm$  0,4. Os animais foram submetidos a um regime semi-intensivo de produção, onde, pela manhã tinham acesso ao pasto e, no período da tarde, eram recolhidas em instalações cobertas, recebendo capim elefante (*Pennisetum purpureum*) picado no cocho, bem como água e sal mineral à vontade.

As fêmeas foram selecionadas após ultrassonografia, evitando assim, que algum animal prenhe, bem como portador de alguma patologia genital, fizesse parte do experimento. Foram utilizados, ainda, três bodes da mesma raça, de fertilidade comprovada, para detecção de estro após os tratamentos hormonais descritos a seguir.

Figura 11. Fêmeas da raça Anglo Nubiana.



(Fonte: Arquivo pessoal, 2016).

#### **2.4.4. Sincronização do estro e delineamento experimental**

As cabras foram divididas, homoganeamente e ao acaso em quatro ( $n = 12$ ) grupos de tratamento, segundo o protocolo de sincronização de estro. No grupo 1 (MAP-COM), foi administrado intramuscularmente (IM) 75  $\mu\text{g}$  de d-cloprostenol (Prolise®, Tecnopec, Brasil) e depositado uma esponja intravaginal impregnada com 60 mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP) (Progespon®, Schering-Plough, Brasil), a qual foi retirada cinco dias depois. No dia da retirada das esponjas, as cabras receberam (im) 300 UI de eCG (Novormon®, Coopers, Brasil); No grupo 2 (MAP-ART), foi realizado o mesmo tratamento que no G1, sendo, porém, utilizadas esponjas intravaginais preparadas artesanalmente e injetadas com 60 mg de acetato de medroxiprogesterona (DEPO-PROVERA®, Pfizer, Brasil); O grupo 3 (OEVAC60) foi semelhante ao MAP-COM, mas a esponja intravaginal foi impregnada com 60 mg de óleo essencial de *Vitex agnus castus* L; e o grupo 4 OEVAC120 diferiu do OEVAC60 pela impregnação de 120 mg de óleo essencial de *Vitex agnus castus* L. na esponja intravaginal.

#### **2.4.5. Detecção do estro**

Utilizando três machos adultos, os quais ficaram expostos às fêmeas por, no mínimo, 30 minutos, observaram-se as cabras quanto à ocorrência de estro, a cada quatro horas, a partir de doze horas após o fim do tratamento. A fêmea foi considerada em estro pelo reflexo de imobilidade em relação à monta pelo macho. Separaram-se as cabras identificadas em estro das demais para não interferirem nas próximas observações.

#### **2.4.6. Coleta do material botânico**

Para obtenção do óleo essencial de *Vitex agnus castus* L, as partes aéreas foram coletadas na Rodovia Jatobá Carneiro, em Petrolina-PE (09°23'06,00"S; 40°27'15,90"O), Brasil. A espécie foi identificada pelo professor e botânico Dr. José Alves de Siqueira Filho, do Centro de Referência para a Recuperação em Áreas Degradadas da Caatinga (CRAD), da UNIVASF. Uma exsicata foi depositada no Herbário do Vale do São Francisco (HVASF), da mesma universidade, com o número de tombo 23001. As partes aéreas foram coletadas em março de 2015.

#### **2.4.7. Obtenção do óleo essencial de *Vitex agnus castus* L (OEVac)**

As partes aéreas frescas de *Vitex agnus castus* L. foram selecionadas, higienizadas cortadas e submetidas à extração pelo processo de hidrodestilação em um aparelho do tipo Clevenger modificado, utilizando três litros de água destilada em balão de vidro de 6 L, aquecida em manta aquecedora, mantando-se a temperatura de ebulição por duas horas (Figura 12). Posteriormente, uma mistura de fase aquosa e oleosa foi obtida, resultando no óleo essencial de coloração e odor característico.

Essa mistura foi armazenada em um frasco âmbar e acondicionada em refrigeração, com uma temperatura inferior a 0°C. Quando a fase aquosa congelou, retirou-se o óleo obtido na extração e foram mantidas as mesmas condições anteriores.

Figura 12. Aparelho do tipo Clevenger modificado.



(Fonte: Arquivo pessoal, 2016).

#### **2.4.8. Identificação da composição química do óleo essencial**

A Identificação da composição química do óleo essencial extraído foi feita através da cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas, na Central Analítica da Universidade Federal da Paraíba (UFPB). As análises foram realizadas em equipamento CG-MS modelo QP 2010, fabricado pela Shimadzu, coluna capilar DB - 5m (30m x 0,25 mm) com espessura de filme de 0,25  $\mu\text{m}$ , temperatura do injetor 220°C e do detector de 240°C, hélio como gás de arraste na vazão de 1 mL/min, temperatura de interface de 240°C, energia de ionização 70 Ev, corrente de ionização: 0,7 Kv e programa de temperatura do forno: 60°C a 240°C (3°C/min), mantendo uma isoterma de 240/C por 20 minutos.

A identificação dos compostos foi feita por comparações dos espectros de massa obtidos com os espectros de massa existentes no banco de dados do equipamento, com a literatura e pelo índice de Kovat's (ADAMS, 1995).

#### **2.4.9. Forma de preparo das esponjas artesanais**

Para fabricação artesanal das esponjas, foi utilizada espuma de poliuretano com densidade 20 e altura de 3 cm. Para obter o formato cilíndrico das esponjas, foi utilizado um cano de ferro com 30 cm de comprimento e 2 a 3 cm de diâmetro, cujas bordas foram afiadas em esmeril, tornando-as cortantes. Em seguida, a borda

cortante do cano foi pressionada contra a espuma, o cano girado no sentido horário até a liberação total do cilindro de espuma.

Depois, foi colocado o fio de remoção da esponja, utilizando uma agulha de costura com 60 cm de fio de algodão número zero. Para tanto, a agulha foi inserida na parede lateral do cilindro de esponja (sentido horizontal) até atravessá-la, sendo, em seguida, removida e realizada uma segunda perfuração paralela à primeira (a, aproximadamente, 1 cm de distância). Assim, a agulha foi removida, deixando apenas o fio preso à esponja, sendo as pontas do fio igualadas.

Em seguida, foi puxada a porção do fio que estava envolvendo a esponja no lado oposto ao da saída das pontas, de modo a formar uma alça que atingisse a borda superior do cilindro de esponja. Posteriormente, houve o entrelaçamento do fio, passando uma das pontas do mesmo por dentro da alça e a outra por cima e por dentro da mesma. Depois, o fio foi ajustado no centro da extremidade superior da esponja, sendo feitos alguns nós com as pontas, cuidando para que ficassem no centro da circunferência, permitindo o equilíbrio da esponja (Figura 13).

As esponjas permaneceram numa solução contendo hipoclorito (Água Sanitária Tubarão®, Raymundo da Fonte, Brasil) a 0,5% por 24 horas. Passado esse tempo, as mesmas foram lavadas constantemente para retirar os resíduos do hipoclorito. Após esse processo, as esponjas foram colocadas em estufa de esterilização e secagem (Estufa de esterilização e secagem, mod. 1.3®, Medicate, Brasil) para secar por 24 horas (Figura 14).

Figura 13. Esponjas artesanais confeccionadas.



(Fonte: Arquivo pessoal, 2016).

Figura 14. Esponjas artesanais após o processo na estufa de secagem.



(Fonte: Arquivo pessoal, 2016).

Em seguida, foi aplicado 60 mg de acetato de medroxiprogesterona (Depo Provera®, Pfizer, Bélgica) em algumas esponjas e 60 mg e 120 mg do óleo essencial de *Vitex agnus castus* L. em outras, conforme delineamento experimental já descrito anteriormente. A aplicação do hormônio e do óleo foram realizadas em vários pontos da esponja sempre do centro para a periferia, evitando o extravasamento dos produtos. Para secar as esponjas, as mesmas foram suspensas em um varal e colocadas em local protegido da luz solar e de poeira. Por fim, as esponjas foram armazenadas em saco plástico vedado para não ter contato com o ar e estocadas em local protegido de luz solar direta.

#### **2.4.10. Colheita de sêmen e inseminação artificial**

Sêmen foi colhido de um bode da raça Anglo Nubiana através do método da vagina artificial (Figura 15), sendo, então, avaliado quanto aos parâmetros motilidade massal, motilidade individual progressiva, percentual de espermatozoides vivos e concentração espermática. Foram utilizados ejaculados com valores mínimos de 3 para motilidade massal, de 70% para motilidade individual progressiva e



percentual de espermatozoides vivos, bem como de 3 bilhões de espermatozoides/mL para concentração espermática.

Figura 15. Colheita de sêmen através da vagina artificial.



(Fonte: Arquivo pessoal, 2016).

Para a diluição do sêmen, empregou-se o diluidor a base de água de coco (NUNES, 1982), sendo a concentração espermática ajustada para  $2 \times 10^6$  espermatozoides/mL. As inseminações artificiais foram realizadas cinquenta e quatro horas após a retirada do dispositivo, por via transcervical com sêmen a fresco diluído, envasado em palhetas plásticas de 0,25 mL (Bainha francesa®, IMV, França) e utilizando bairras sanitárias (Bainha francesa®, IMV, França) para palhetas de 0,25 mL e inseminação artificial de caprinos e ovinos, lanterna de cabeça (Lanterna de cabeça 12 leds®, Black Jack, Estados Unidos), espéculo vaginal de Collins longo (Espéculo vaginal longo®, ERWIN GUTH, Brasil) e um aplicador para inseminação artificial de pequenos ruminantes (Aplicador Universal Nacional®, Alta Genetics, Brasil). O tipo de inseminação artificial foi registrado de acordo com a classificação de Chemineau et al. (1991), como Transcervical Superficial (sêmen depositado até o segundo anel cervical), Transcervical Profunda (sêmen depositado após o segundo anel cervical e dentro da cérvix) e Intrauterina (sêmen depositado no corpo do útero) (Figura 16).



Figura 16. Inseminação artificial transcervical.



(Fonte: Arquivo pessoal, 2016).

#### **2.4.11. Colheita de sangue e dosagem de progesterona**

Foram efetuadas colheitas de sangue para determinação da concentração de progesterona, a qual foi determinada para avaliar o status ovariano, antes, durante e após os tratamentos hormonais de sincronização do estro, bem como para detectar a ocorrência de ovulação seguida da formação de um corpo lúteo funcional. As colheitas foram realizadas nos seguintes momentos: sete dias antes à inserção do dispositivo intravaginal de sincronização do estro (D-7), na inserção do dispositivo (D0) e, diariamente, sempre às 06:00 h, entre os dias 1 e 5 (D1, D2, D3, D4, D5) (SOUZA, 2010) e 14 dias após a retirada dos dispositivos. O sangue foi colhido por meio de punção da veia jugular em tubos vacuolizados (Tubos para coleta de sangue®, BD Vacutainer, Brasil) (Figura 17). Após a colheita, os tubos foram acondicionados em caixas de isopor sob gelo até a centrifugação em

centrífuga (Centrífuga Macro CSC24®, CentriBio, Brasil), a 5°C, por 15 min, a 2.000 g. O soro foi aspirado utilizando micropipeta e estocado em tubos plásticos de 1,5 mL (Tubo Eppendorf 1,5®, Eppendorf do Brasil, Brasil), em freezer (Freezer Horizontal H400®, Electrolux, Suécia), a -20°C, até a dosagem.

Figura 17. Colheita de sangue para a concentração de Progesterona.



(Fonte: Arquivo pessoal, 2016).

A concentração de progesterona foi determinada pela técnica de eletroquimiluminescência, utilizando-se Kits comerciais (Access Progesterone®, Beckman Coulter, Brea, Califórnia, EUA). A sensibilidade foi de 0,08 ng/mL. A presença de um corpo lúteo funcional foi verificada quando a concentração de progesterona foi de, no mínimo, 1 ng/mL. Já a presença de um corpo lúteo gestacional, no 14º dia após a retirada das esponjas, foi considerado quando a concentração de progesterona variou de 2,6 a 10,8 ng/mL (KHANUM et al 2008).

#### **2.4.12. Diagnóstico de gestação**

Foram realizadas ultrassonografias transretais, 45 dias após a inseminação artificial, para aferir a proporção de fêmeas gestantes, com um aparelho portátil (Aquila Vet®, Piemedical, Holanda), equipado com um transdutor linear multifrequencial de 6 a 8 MHz (Probe 6/8 MHz®, Piemedical, Holanda), adaptado

para pequenos ruminantes. Para a realização dos exames as cabras foram contidas em um tronco próprio. Em seguida, as fezes foram retiradas manualmente da ampola retal e, com uma seringa de 60 mL, foram depositados entre 15 a 20 mL de gel metilcarboxicelulose (Carbogel®, ULT, Brasil) para facilitar a transmissão ultrassônica. Em seguida, o transdutor linear foi introduzido até a visualização da bexiga e útero. Para a obtenção da imagem dos ovários, o transdutor foi rotacionado em sentido horário e anti-horário.

#### **2.4.13. Parâmetros avaliados**

Foram registradas as seguintes variáveis: proporção de fêmeas em estro; duração do estro, intervalo entre a retirada da esponja e o estro (h); Taxa de fertilidade (%) e proporção (%) de tipos de inseminações artificiais (intracervical superficial – ICS; intracervical profunda – ICP; e intrauterina – IU).

#### **2.4.14. Análise estatística**

Os dados foram examinados para o teste de normalidade utilizando o Shapiro-Wilk. Os resultados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão e percentagem. Para comparação dos parâmetros entre os grupos, foi utilizada a análise de variância (ANOVA), a medida que as variáveis não apresentavam uma distribuição normal, mesmo após transformação logarítmica ( $\log(x + 1)$ ), estas foram considerados não paramétricas, e, assim, as diferenças entre os tratamentos foram avaliadas pelo teste de Friedman. Os dados expressos em porcentagem foram submetidos ao Teste Exato de Fisher. Toda a análise foi realizada utilizando o software estatístico SAS® University Edition (Statistical Analyses System, 2014). Os valores foram considerados estatisticamente significativos quando  $P < 0,05$ .

## 2.5. RESULTADOS

Com relação ao comportamento estral, todas as fêmeas dos quatros grupos experimentais submetidos à sincronização apresentaram estro, conforme mostra a Tabela 16. Também foi observado que não houve diferença significativa ( $P>0,05$ ) entre grupos para a porcentagem de animais em estro.

Tabela 16. Porcentagens de cabras em estro, intervalo médio ( $\pm$  e.p.) entre o fim do tratamento e o início do estro (FT-IE) e duração média ( $\pm$  e.p.) do estro de cabras Anglo Nubiana com estros sincronizados utilizando esponjas industrialmente impregnadas com acetato de medroxiprogesterona (MAP-COM), além de esponjas artesanalmente preparadas e manualmente injetadas com acetato de medroxiprogesterona (MAP-ART), com 60 mg de óleo essencial de *Vitex agnus castus* L (OEVAC60) e com 120 mg de óleo essencial de *Vitex agnus castus* L (OEVAC120).

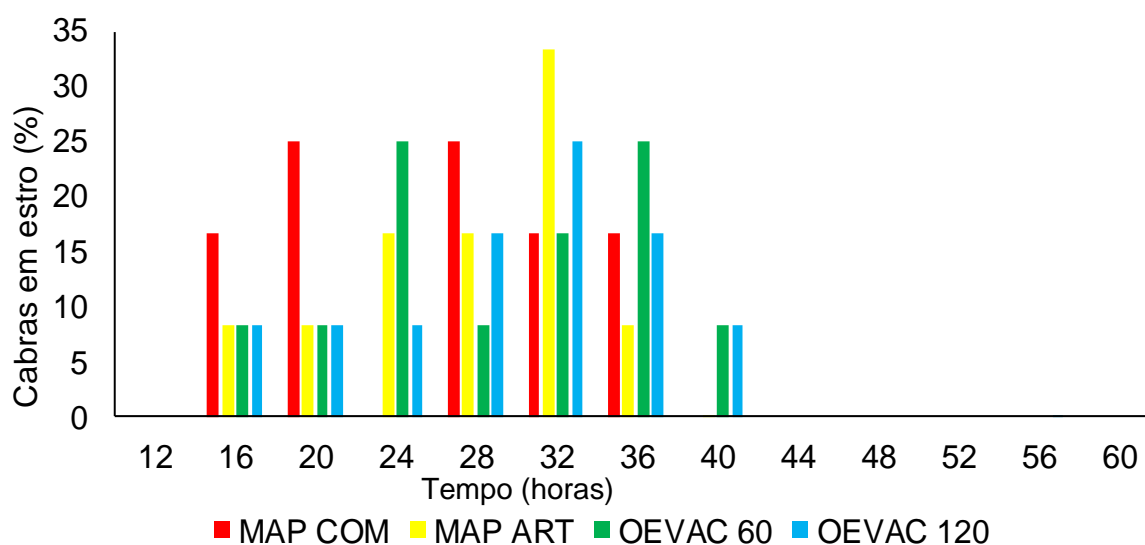
VARIÁVEIS	TRATAMENTOS			
	MAP-COM	MAP-ART	OEVAC60	OEVAC120
% de cabras em estro (n)	100% (12)	100% (12)	100% (12)	100% (12)
FT-IE (h)	26,00 $\pm$ 2,02 <sup>a</sup>	28,67 $\pm$ 1,87 <sup>ab</sup>	29,00 $\pm$ 2,06 <sup>ab</sup>	31,67 $\pm$ 2,84 <sup>b</sup>
Duração do estro (h)	44,33 $\pm$ 2,02	43,33 $\pm$ 1,47	47,33 $\pm$ 1,55	48,67 $\pm$ 1,47

<sup>a, b</sup> Valores com letras minúsculas sobrescritas distintas entre linhas, diferem ( $P<0,05$ ).

Com relação ao momento do início do estro, as cabras experimentais apresentaram comportamento estral médio, 28,83  $\pm$  1,17 horas após a retirada da esponja. As cabras do grupo OEVAC120 foram mais tardias ( $P<0,05$ ), quando comparadas àquelas do grupo MAP-COM. Contudo, as cabras do grupo OEVAC60 iniciaram seus estros no mesmo intervalo após a retirada da esponja que os animais tratados com as esponjas comerciais e impregnadas com MAP (grupo MAP-COM). Além disso, os estros tiveram a mesma duração entre grupos de tratamento ( $P>0,05$ ), com os animais permanecendo em estro por 44,93  $\pm$  1,22 horas (média).

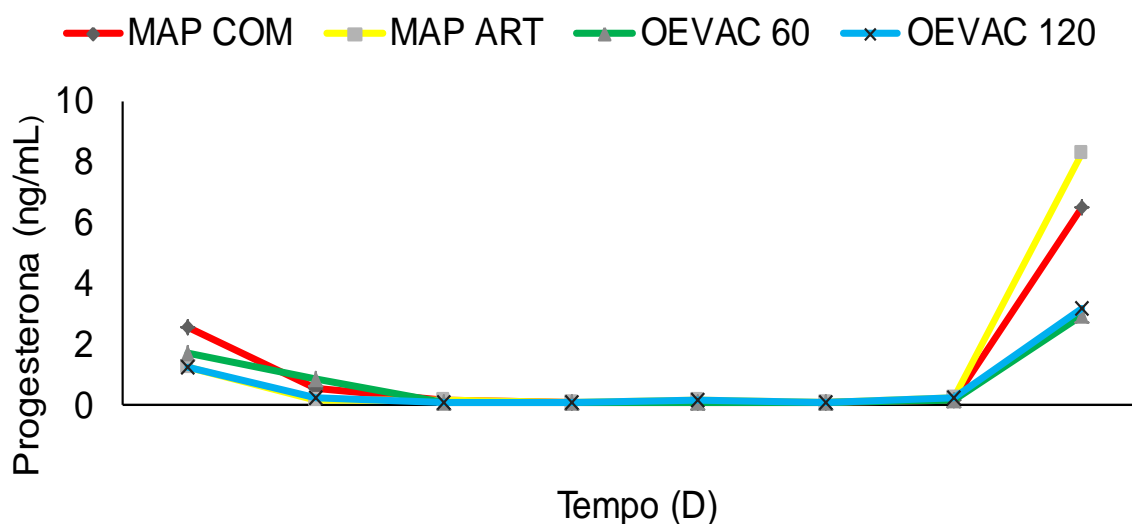
A Figura 18 mostra a distribuição de ocorrência de estro nos quatros tratamentos realizados. Inicialmente, foi observado que os inícios dos estros nos animais tratados com esponjas impregnadas com MAP, sejam comerciais (grupo MAP-COM) ou artesanais (grupo MAP-ART) se concentraram sutilmente mais cedo (16 a 32 horas após a retirada as esponja) quando comparados àqueles registrados nos grupos experimentais onde os estros foram sincronizados através de esponjas artesanais impregnadas com óleo essencial de *Vitex agnus castus* L (24 a 36 horas após a retirada as esponja), seja na dose de 60 mg (grupo OEVAC60) seja na de 120 mg (grupo OEVAC120). Além disso, as cabras com estros sincronizados através de esponjas artesanais impregnadas com 120 mg de óleo essencial de *Vitex agnus castus* L (grupo OEVAC120) apresentaram estro de forma mais dispersa (8% das cabras iniciando seus estros em cinco diferentes intervalos após a retirada da esponja).

Figura 18. Percentual de cabras Anglo Nubiana em estro após o fim de tratamentos hormonais utilizando esponjas industrialmente impregnadas com acetato de medroxiprogesterona (MAP-COM), esponjas artesanalmente preparadas e manualmente injetadas com acetato de medroxiprogesterona (MAP-ART), com 60 mg de óleo essencial de *Vitex agnus castus* L (OEVAC60) e com 120 mg de óleo essencial de *Vitex agnus castus* L (OEVAC120).



No tocante às concentrações de progesterona antes, durante e após os tratamentos de sincronização do estro, foi observado, inicialmente, que todas as cabras apresentavam concentrações de progesterona acima de 1 ng/mL sete dias antes do início dos tratamentos hormonais, sem ( $P>0,05$ ), contudo, diferença significativa entre grupos experimentais. No dia do início dos tratamentos hormonais, concentrações de progesterona, embora presentes, eram mais baixas que aquelas observadas sete dias antes, também sem diferença significativa ( $P>0,05$ ) entre grupos experimentais. A partir do primeiro dia após o início dos tratamentos de sincronização do estro, houve uma queda ( $P<0,05$ ) nas concentrações de progesterona em todos os grupos para 0 ng/mL e esta concentração foi observada até o último dia do tratamento. A partir da retirada das esponjas até o dia 14 após o final do tratamento hormonal, uma elevação das concentrações de progesterona foi observada em todos os grupos experimentais ( $P<0,05$ ). Além disso, no 14<sup>o</sup> dia após a retirada das esponjas, as concentrações de progesterona nas cabras dos grupos MAP-COM e MAP-ART foram superiores ( $P<0,05$ ) àquelas dos animais pertencentes aos grupos OEVAC60 e OEVAC120 (Figura 19).

Figura 19. Concentrações séricas de progesterona (ng/mL) antes, durante e após os diferentes tratamentos hormonais, utilizando esponjas industrialmente impregnadas com acetato de medroxiprogesterona (MAP-COM), esponjas artesanalmente preparadas e manualmente injetadas com acetato de medroxiprogesterona (MAP-ART), com 60 mg de óleo essencial de *Vitex agnus castus* L (OEVAC60) e com 120 mg de óleo essencial de *Vitex agnus castus* L (OEVAC120).



Com relação à fertilidade após os diferentes tratamentos de sincronização de estro e inseminação artificial transcervical, foi observado apenas à média 31,25% de taxa de gestação. Considerando os grupos de sincronização do estro, as cabras com estros sincronizados com esponjas impregnadas com MAP (MAP-COM e MAP-ART) apresentaram maiores taxas de gestação que aquelas tratadas com esponjas artesanais impregnadas com óleo essencial de *Vitex agnus castus* L (OEVAC60 e OEVAC120) (Tabela 17).

Tabela 17. Taxa de fertilidade (%) e proporção (%) de tipos de inseminações artificiais (intracervical superficial – ICS; intracervical profunda – ICP; e intrauterina – IU), após tratamentos hormonais de sincronização de estro, utilizando esponjas industrialmente impregnadas com acetato de medroxiprogesterona (MAP-COM), esponjas artesanalmente preparadas e manualmente injetadas com acetato de medroxiprogesterona (MAP-ART), com 60mg de óleo essencial de *Vitex agnus castus* L (OEVAC60) e com 120mg de óleo essencial de *Vitex agnus castus* L (OEVAC120).

Tratamento	Tipos de inseminação artificial (IA)			Fertilidade por grupo de tratamento (%)
	ICS (%)	ICP (%)	IU (%)	
MAP-COM	16,67 (2/12) <sup>Aa</sup>	25,00(3/12) <sup>Aba</sup>	58,33 (7/12) <sup>Ba</sup>	58,00 (7/12) <sup>b</sup>
MAP-ART	33,34 (4/12) <sup>Aba</sup>	8,33 (1/12) <sup>Aa</sup>	58,33 (7/12) <sup>Ba</sup>	41,66 (5/12) <sup>ab</sup>
OEVAC60	25,00 (3/12) <sup>Aa</sup>	25,00 (3/12) <sup>Aa</sup>	50,00 (6/12) <sup>Aa</sup>	8,33 (1/12) <sup>a</sup>
OEVAC120	25,00 (3/12) <sup>Aa</sup>	8,33 (1/12) <sup>Aa</sup>	66,66 (8/12) <sup>Ba</sup>	16,67 (2/12) <sup>a</sup>
TOTAL	25,00 (12/48) <sup>A</sup>	16,67 (8/48) <sup>A</sup>	58,33 (28/48) <sup>B</sup>	31,25 (15/48)
Fertilidade por tipo de IA (%)	8,33 (1/12) <sup>A</sup>	25,00 (2/8) <sup>A</sup>	42,85 (12/28) <sup>B</sup>	-----

<sup>a, b</sup> Valores com letras minúsculas sobrescritas diferentes entre linhas indicam diferença significativa (P<0,05).

<sup>A, B</sup> Valores com letras maiúsculas sobrescritas diferentes entre colunas indicam diferença significativa (P<0,05).

Considerando o tipo de inseminação artificial transcervical e independente do grupo experimental, a proporção de inseminações artificiais intrauterinas foi significativamente superior ( $P < 0,05$ ) que as demais (Tabela 17). Da mesma forma, a taxa de gestação nas fêmeas inseminadas por via intrauterina foi superior ( $P < 0,05$ ) àquela resultante dos demais tipos de inseminação artificial (Tabela 17). No tocante ao tipo de inseminação artificial e considerando o grupo experimental de sincronização do estro, as proporções de inseminações artificiais intrauterinas e intracervicais profundas no grupo MAP-COM foram significativamente superiores ( $P < 0,05$ ) às intracervicais superficiais (Tabela 17). Já no grupo OEVAC120, as proporções de inseminações artificiais intrauterinas foram significativamente superiores ( $P < 0,05$ ) às intracervicais superficiais e profundas (Tabela 17).



## 2.6. DISCUSSÃO

Esse é o primeiro estudo com o uso de espécies vegetais (óleo essencial) na sincronização do estro em cabras.

As taxas de ocorrência de estro foram semelhantes às aquelas observadas por Nogueira et al. (2008) em que 100% das cabras apresentaram estro após a sincronização com protocolo de curta duração, utilizando MAP e associado à eCG na retirada da esponja ou dispositivo. Resultado semelhante foi encontrado por Menchaca et al. (2007) que, ao utilizarem o protocolo curto de cinco dias, obtiveram 91,3% de cabras em estro. Isso porque, os dispositivos intravaginais são capazes de realizar uma grande sincronia de estro, sobretudo quando integrados a agentes luteolíticos (LIMA; ARAÚJO; FREITAS, 1997). Titi, Kridli e Alnimer (2010) observaram 77% de cabras da raça Damascus em estro, quando utilizaram esponjas intravaginais impregnadas com 40 mg de acetato de fluorogestona (FGA), durante cinco dias, associado à administração de 12,5 µg de prostaglandina F<sub>2α</sub> (PGF<sub>2α</sub>). Essa diferença pode ser explicada pela menor quantidade de PGF<sub>2α</sub> utilizada por Titi, Kridli e Alnimer (2010), retardando ou impedindo a regressão luteal em alguns dos animais, sobretudo naqueles dois ou mais corpos lúteos durante o tratamento progestágeno. Freitas et al. (1996) sincronizaram o estro de cabras leiteiras e verificaram que houve o atraso no estro e no pico pré-ovulatório de LH nas fêmeas com dois ou três corpos lúteos durante a impregnação progestágena.

Trabalhando com cabras, Lima, Araújo e Freitas (1997) verificaram que tratamentos hormonais com progestágenos e associados à gonadotrofina coriônica equina (eCG) sempre apresentam bons resultados de estro, pois a eCG atua tanto no recrutamento folicular ovariano de fêmeas cíclicas quanto acíclicas. Nesse sentido, Barrett et al. (2008) observaram que, quando a eCG foi aplicada no final do tratamento com progestágenos, houve melhor sincronia do estro e da ovulação.

A manifestação do estro em todas as cabras que estavam com esponjas impregnadas com óleo essencial de *Vitex agnus castus* L (OEVAC60 e OEVAC120), está de acordo com o uso tradicional de plantas em tratamento de problemas relacionados ao sistema reprodutor (ALI et al., 2015). Segundo Lucks; Sorensen; Veal (2002), o óleo essencial da folha da *Vitex agnus castus* mostrou ter uma ação terapêutica efetiva nos sintomas da menopausa em mulheres. Podendo os

componentes do óleo atuar no eixo hipotalâmico hipofisário, diminuindo a secreção de FSH, LH e aumentando a liberação de progesterona (LUCKS, 2003).

No presente estudo, o intervalo entre o fim do tratamento e o início do estro foi mais precoce ( $26,00 \pm 2,02$  horas) em relação a Leite et al. (2006) ( $34,8 \pm 10,4$  horas), após induzirem o estro de cabras da raça Saanen com 60 mg de MAP, por um período de nove dias, com a administração de 200 UI de eCG e 37,5 µg de d-cloprostenol. E também mais precoce quando comparado àquele encontrado por Fonseca et al. (2005) ( $48,0 \pm 9,4$  h), trabalhando com protocolos curtos (seis dias) de sincronização de estro, em cabras leiteiras, utilizando MAP, aplicação de PGF<sub>2α</sub> por via intra-vulvo-submucosal (22,5 µg) e 200UI de eCG (IM).

Possivelmente, o menor intervalo entre a retirada da esponja e o início do estro em nosso trabalho deve-se ao protocolo de sincronização do estro utilizado, ou seja, de curto prazo. Os protocolos curtos podem levar a um intervalo mais curto entre a retirada do dispositivo ao início do estro, pois o crescimento folicular ocorre em padrão de ondas. O protocolo de curta duração se caracteriza por uma alta concentração de progesterona no final do tratamento, fazendo com que haja uma queda acentuada dos níveis deste esteróide e a consequente descarga hormonal de FSH e LH, induzindo a maturação folicular, aumento nos índices de 17 β-estradiol e a ocorrência precoce do estro (RUBIANES; CASTRO; KMAID, 1998).

As cabras do grupo OEVAC120 foram mais tardias ( $P < 0,05$ ) em relação ao início do estro, quando comparadas àquelas do grupo MAP-COM. Esses resultados podem ser elucidados admitindo que uma menor dose de progestágeno possa exigir menor tempo para sua metabolização, principalmente porque essas substâncias caracterizam-se por uma meia vida curta e, assim, uma eliminação rápida. Dessa forma, o desbloqueio do eixo hipotalâmico-hipofisário acontece mais rapidamente, permitindo a liberação do GnRH e depois do LH, antecipando a manifestação do estro.

Contudo, as cabras do grupo OEVAC60 iniciaram seus estros no mesmo intervalo após a retirada da esponja que os animais tratados com as esponjas comerciais e impregnadas com MAP (grupo MAP-COM). Mostra que ambos os grupos conseguiram apresentar um aporte de progestágeno suficiente, possibilitando uma sincronia maior das cabras. Já que os grupos em questão mostraram uma pequena dispersão e, assim, um melhor sincronismo para o início da

manifestação do estro, uma vez que 50% das fêmeas já haviam manifestado estro até às 28 horas.

O presente estudo identificou valor de duração do estro superior ( $44,33 \pm 2,02$  horas) em comparação com o achado por Maffili et al. (2006) ( $35,00 \pm 5,89$  horas), quando utilizou cabras Toggenburg tratadas durante cinco dias com esponjas impregnadas com 60 mg de MAP e 50 µg de d-cloprostenol no início do tratamento, além de 250 UI de eCG no final do tratamento. A maior duração pode ser explicada pela ação da eCG no final do tratamento e a dose maior que foi usada no nosso estudo. Esta diferença, então, pode ser devida aos altos níveis de estrógeno no sangue produzidos após a luteólise induzida e o estímulo do crescimento folicular no ovário pela eCG exógena. Parece que os altos níveis séricos de estrógeno são responsáveis por uma duração prolongada do período estral verificado neste estudo, o que está de acordo com o observado por Ahmed, Makwi e Jabura (1998). Assim, quanto maior a dose de eCG, maior a tendência para antecipação da ocorrência do estro após o fim do tratamento. No entanto, Nogueira et al. (2006) obteve resultados semelhantes da duração do estro ( $48,0 \pm 10,7$  h), trabalhando com cabras Boer, sincronizadas com esponjas de 60 mg de (MAP) por seis dias e, no momento da colocação da esponja, foi aplicado 75 µg de cloprostenol mais 300 UI de eCG na retirada da esponja.

Os inícios dos estros nos animais dos grupos MAP-COM e MAP-ART se concentraram mais cedo (16 a 32 horas após a retirada da esponja) quando comparados àqueles registrados nos grupos OEVAC60 e OEVAC120 (24 a 36 horas após a retirada da esponja). Este aparecimento mais precoce do estro pode estar relacionado ao fato dos dispositivos à base de progéstagenos estarem sendo absorvido mais rapidamente, desbloqueando o eixo hipotalâmico-hipofisário mais cedo, antecipando e concentrando melhor o início do estro.

Além disso, as cabras com estros sincronizados no grupo OEVAC120 apresentaram estro de forma mais dispersa. Esses resultados podem ser elucidados, visto que a dose utilizada nesse grupo corresponde à ação de duas esponjas de MAP e, conseqüentemente, necessitando de um maior tempo de absorção pelos animais, gerando, dessa forma, corpos lúteos de pior qualidade e resultando no aparecimento dos estros de forma irregular e dispersa. Segundo Foote (1982), a inserção de duas esponjas pretendendo aumentar os níveis de progesterona não melhorou os índices de fertilidade.

No tocante às concentrações de progesterona, foi observado, inicialmente, que todas as cabras apresentavam concentrações de progesterona acima de 1 ng/mL sete dias antes do início dos tratamentos hormonais, sem, contudo, diferença entre grupos experimentais. Significa que as cabras estavam cíclicas, uma vez que é admitida como atividade ovulatória (presença de corpo lúteo ativo), quando as concentrações de progesterona se apresentam  $\geq 1,0$  ng/mL (THIMONIER, 2000).

No dia do início dos tratamentos hormonais, concentrações de progesterona eram mais baixas que aquelas observadas sete dias antes, também sem diferença entre grupos experimentais. Provavelmente, as cabras não responderam à aplicação do análogo da prostaglandina F<sub>2α</sub>, com posterior aumento para nível luteal no transcorrer do experimento. Estudos realizados relatam que a prematura elevação de progesterona durante a fase inicial do ciclo estral, quando a administração de análogos da prostaglandina F<sub>2α</sub> é ineficaz, impede a formação do corpo lúteo por promover inadequado suporte luteotrófico após a ovulação (MAFFILI, 2004).

Além disso, o corpo lúteo é uma estrutura heterogênea apresentando dois tipos de células diferentes: as células luteais grandes e as pequenas. Estas duas populações celulares mostram distinto comportamento na resposta da estimulação gonadotrófica e também em relação a ação das prostaglandinas. As células luteais pequenas secretam grande quantidade de progesterona quando são estimuladas pelo LH, respondendo a ação de outros agentes que estimulam a atividade da proteína quinase-C e a PGF<sub>2α</sub> com um aumento na síntese de progesterona (BRADEN; GAMBONI; NISWENDER, 1988). As células luteais grandes, que são as que secretam maiores quantidades basais de progesterona, sofrem inibição da síntese de progesterona induzida pelo LH por ação da PGF<sub>2α</sub>. Embora a PGF<sub>2α</sub> exerça uma ação luteolítica, os receptores para as prostaglandinas estão presentes em ambos tipos de células, sendo as células luteais grandes o local onde se inicia a ação luteolítica da prostaglandina F<sub>2α</sub>. A comunicação intercelular entre células luteais grandes e pequenas, assim como entre células luteais e não luteais, são necessários para que seja processada a regressão do corpo lúteo (REYNOLDS; GRAZUL-BILSKA; REDMER, 2000).

A partir do primeiro dia após o início dos tratamentos de sincronização do estro, houve uma queda nas concentrações de progesterona em todos os grupos para 0 ng/mL e esta concentração foi observada até o último dia do tratamento.

Viñoles et al. (1999) trabalhando com ovelhas, encontrou concentrações subluteais de progesterona, justificando pelo fato dos progestágenos promover excessivo crescimento e persistência de folículos maiores. Dessa forma, os progestágenos atuam no nível do eixo hipotalâmico hipofisário, influenciando, de forma negativa, a secreção tônica e o pulsátil de LH, diminuindo assim sua amplitude e frequência (DISKIN; AUSTIN; ROCHE, 2002). Não obstante, a presença de progesterona ou de seus análogos sintéticos promove um atraso no desenvolvimento folicular, por inibir a liberação de LH via feedback negativo no eixo hipotalâmico-hipofisário (BURNS et al., 1993). Este acontecimento foi reforçado por Uribe-Velásquez, Oba e Souza (2008), onde relatou que os efeitos inibitórios da progesterona exógena na dinâmica folicular ovina são mediados pelas alterações na frequência dos pulsos de LH, podendo afetar os programas de sincronização do estro e da ovulação. Segundo Greyling e Van Der Nest (2000), cabras tratadas com esponjas de 60 mg de MAP (por 14 dias) tiveram concentração média de LH inferior àquelas das cabras tratadas e não tratadas com esponjas de 30 mg de MAP.

A partir da retirada das esponjas até o dia 14 após o final do tratamento hormonal, uma elevação das concentrações de progesterona foi observada em todos os grupos experimentais. Já é sabido que a administração de um progestágeno exógeno durante o ciclo estral bloqueia a secreção hipofisária de gonadotrofinas e, ao final do tratamento, a desinibição do eixo hipotálamo-hipofisário permite a liberação de gonadotrofinas e, por conseguinte, o estro e a ovulação (FREITAS; LOPES JÚNIOR, 2001). De acordo com Greyling et al. (1994), a retirada da esponja remove o bloqueio da progesterona e induz instantaneamente a liberação de gonadotrofina e a subsequente ovulação nas fêmeas tratadas. Além disso, o aumento nas concentrações plasmáticas de progesterona nesse período pode ser resultado da atividade do corpo lúteo somado à atividade de folículos grandes luteinizados. No presente estudo, este ocorrido corrobora com Pearce e Robinson (1985), trabalhando com ovelhas Merino, nas quais demonstraram a existência de aumento linear na taxa ovulatória quando aumentaram a dose de eCG (300 e 600 UI), elevando as concentrações plasmáticas de progesterona. Estabeleceu-se, possivelmente, uma relação direta entre a dose de eCG, número de corpos lúteos e as concentrações plasmáticas de progesterona (EVANS; ROBINSON, 1980).

Em ovinos, Leyva, Buckrell e Walton (1998), ao dosar progesterona observou que a concentração plasmática de progesterona é aumentada no dia seguinte da ovulação (0,8 ng/mL), porém só significativa a partir do segundo dia ( $2,4 \pm 0,3$  ng/mL). Correlacionando a esses dados conclui-se que todos os grupos testados no estudo não foram eficientes na formação de corpos lúteo de boa qualidade.

Além disso, no 14º dia após a retirada das esponjas, as concentrações de progesterona nas cabras dos grupos MAP-COM e MAP-ART foram superiores às daquelas dos animais pertencentes aos grupos OEVAC60 e OEVAC120. Isso é possível devido ao desenvolvimento do corpo lúteo que secreta progesterona, aumentando seus níveis de concentração (RUBIANES, 2000), mostrando que esses grupos foram mais efetivos na sincronização e ovulação dos animais. A mensuração da progesterona no 14º dia é recomendada como um método de diagnóstico de gestação precoce com alta sensibilidade (88-100%) (BARBATO et al., 2009). Os níveis séricos de progesterona na gestação das cabras de nosso estudo foram, em média, de 7,57 ng/mL, mantendo-se acima de 3,18 ng/mL, similarmente aos encontrados em cabras Damasco (ZARKAWI; SUKOUTI, 2001) no período gestacional e acima dos 2,5 ng/mL, relatados por Boscós et al. (2003), quando estudaram ovelhas gestantes e não gestantes. No entanto, a análise de perfis de progesterona nos permite avaliar não somente se ocorreu ovulação, perda embrionária e luteólise prematura, mas também indica a função lútea, na medida em que a concentração plasmática é um reflexo da atividade luteínica (DE NICOLO et al., 2009).

No presente estudo, as concentrações de progesterona no 14º dia nos grupos MAP-COM e MAP-ART, apenas, comprovaram as boas taxas de fertilidade encontradas nos respectivos grupos de tratamentos. Este resultado era esperado, pois, com o desenvolvimento e o amadurecimento do corpo lúteo, principalmente por ação do LH, ocorreu aumento na produção de progesterona e, conseqüentemente, elevação da sua concentração plasmática (McCRACKEN; CUSTER; LAMSA, 1999), o que possibilitou a manutenção da gestação. Por outro lado, os grupos OEVAC60 e OEVAC120 apresentaram baixas concentrações de progesterona, o que foi evidenciado pela taxa de fertilidade. Possivelmente, os constituintes químicos da *Vitex agnus castus* agiram em sinergismo com uma função de progesterona o que pode ter acarretado um bloqueio na liberação de FSH, enquanto que a secreção do hormônio luteinizante foi estimulada. De acordo com Alves; Freires; Castro, (2010) o

óleo essencial apresenta uma composição complexa e diversificada de vários compostos químicos, os quais apresentam ação sinérgica ou complementar entre si, modalizando sua atividade.

Embora ambas as gonadotrofinas sejam produzidas pelo mesmo tipo celular, são secretadas de forma diferenciada. Enquanto o LH é secretado de forma pulsátil, o FSH é secretado de maneira constitutiva, isto é, grande parte do hormônio é liberada na velocidade em que é produzida, embora uma pequena parcela possa ser armazenada para ser liberada em resposta ao GnRH (FARNWORTH, 1995). Sugere-se, então, que houve uma prematura luteinização das células granulosa e células da teca. A regulação da proliferação e da diferenciação celular, bem como da atresia, relacionadas à foliculogênese ovariana, é resultado de uma complexa interação entre fatores locais e endócrinos (SILVA; VAN DEN HURK; FIGUEIREDO, 2006). Nesse contexto, observa-se uma grande importância das gonadotrofinas no que se refere ao desenvolvimento folicular normal e à esteroidogênese (LEVI-SETTI et al., 2004).

Em um estudo, Camp et al. (1983) cria uma série de indagações e possibilidades sobre monitoramento, estimulação e interrupção da função luteal na cabra. Por exemplo, o predomínio ou mesmo a presença de corpo lúteo pode levar a cabra à síntese e secreção de progesterona em concentrações sub-ótimas para o reconhecimento materno da gestação. A luteólise parece ser iniciada em algum momento a partir do dia 12 do ciclo estral e apresentar claras evidências no dia 17. Visto que, se o oócito for fertilizado, o corpo lúteo é mantido durante toda a gestação, compondo a fonte de progesterona indispensável à manutenção da mesma (GRANADOS, DIAS, SALLES, 2006).

No entanto, a queda nas concentrações de progesterona em animais gestantes, após atingirem seu pico por volta dos dias 13 e 16 do ciclo estral, é um fenômeno conhecido em caprinos. Em um estudo realizado por Regueiro et al. (1999) também observaram este comportamento. Os fatores que levam a esta queda ainda não são conhecidos. Nas condições deste experimento, concentrações de progesterona elevadas no início da gestação pareceram não ter efeito benéfico sobre o reconhecimento e estabelecimento da gestação.

A fertilidade encontrada no presente trabalho foi de 31,25%. Fonseca (2005), na região Sudeste do Brasil, observou taxa de gestação de cabras de 77,3% com protocolo curto (seis dias) de sincronização em cabras leiteiras, utilizando MAP,

aplicação de 22,5 µg de PGF<sub>2α</sub>, por via intra-vulvo-submucosal e 200 UI de eCG, por via intramuscular. Menchaca e Rubianes (2004), quando utilizaram um protocolo de sincronização de estro de cinco dias, uma única inseminação artificial em tempo fixo (IATF) no mesmo momento do nosso estudo (54 horas após o final do tratamento), obtiveram uma taxa de gestação de 64,8%. Portanto, as taxas de fertilidade obtidas neste trabalho podem ser consideradas baixas. Como as fêmeas apresentaram um curto intervalo entre o fim do tratamento com o dispositivo ao início do estro, pode também ter antecipado a ovulação e a inseminação artificial ocorrer de forma tardia. Nogueira et al. (2008), utilizando cabras leiteiras sincronizadas com esponjas de 60 mg de (MAP) por seis dias, obtiveram um intervalo médio entre a retirada do dispositivo e o início do estro de  $23,3 \pm 10,6$  horas.

Da mesma forma, a duração do estro foi de  $44,33 \pm 2,02$  h, sendo mais curta do que o observado por Maffili et al. (2005), os quais, ao trabalharem com cabras da raça Saanen sincronizadas com esponjas de MAP por cinco dias, obtiveram uma duração de  $63,2 \pm 24,9$  h. Assim, é provável que as IA tenham ocorrido tardiamente, não coincidindo com o momento da ovulação, o que poderia ter levado à fecundação de oócitos já em degeneração.

As cabras com estros sincronizados nos grupos MAP-COM e MAP-ART apresentaram maiores taxas de gestação que aquelas dos grupos OEVAC60 e OEVAC120. A baixa taxa de prenhez observada nesses grupos 25% (3/24), quando comparada à taxa de 100% de manifestação do estro, sugere que, mesmo que as esponjas impregnadas com óleo da *Vitex agnus castus* L. tenham sido eficazes para induzir o comportamento de estro, parecem ter sido insuficientes para induzir e/ou sincronizar a ovulação. Resultados semelhantes foram obtidos por Cruz et al. (2010), que, trabalhando com cabras, obtiveram 100% de manifestação estral quando as mesmas foram submetidas a um protocolo de sincronização estral com o dispositivo Norgestomet de 3º uso, obtendo, no entanto, uma taxa de prenhez de 14,3%. Acredita-se que a manifestação do estro anovulatório pode ser justificada por um possível estímulo neuro-hormonal insuficiente, o que acarreta no comprometimento da liberação do pico pré-ovulatório de LH (CRUZ et al., 2010).

A proporção de inseminações artificiais intrauterinas foi superior que os demais tipos de inseminação artificial. Isso pode ter ocorrido devido habilidade dos inseminadores na realização da IA, uma vez que esse aspecto tem influência nos resultados obtidos com esta técnica (WINDSOR et al., 1994). A facilidade de



transposição intrauterina pode estar relacionada ao momento do ciclo estral em que a fêmea se encontrava.

Durante o estro e ovulação, ocorre um relaxamento natural em decorrência da mudança hormonal desencadeada por esses eventos. A elevação dos níveis de estradiol e receptores de ocitocina no período pré-ovulatório elevam a síntese de prostaglandina E<sub>2</sub>, que remodela a matriz extracelular cervical, promovendo o relaxamento da cérvix (STYS et al., 1981; LEDGER; ELLWOOD; TAYLOR, 1983; SHEMESH, 1997). Além disso, muitas fêmeas do estudo eram pluríparas, e, segundo Almeida et al. (2002), a ordem de parto possui influência direta sobre a penetração cervical.

Da mesma forma, a taxa de gestação nas fêmeas inseminadas por via intrauterina foi superior àquelas resultantes dos demais tipos de inseminação artificial. Frazão Sobrinho et al. (2005) realizaram 13 inseminações artificiais cervicais superficiais, 17 cervicais profundas e 10 uterinas, resultando em 23,10%, 23,50% e 70% de taxa de gestação, respectivamente. Esses resultados mostram que a deposição do sêmen no corpo do útero, através da técnica de inseminação artificial em caprinos, influencia positivamente a taxa de fertilidade (TRALDI, 2006). A influência do local de deposição do sêmen no trato reprodutivo feminino sobre a taxa de gestação varia significativamente com a concentração da dose inseminante e com a motilidade progressiva dos espermatozoides, pois estes são fatores importantes que determinam a concentração de espermatozoides viáveis no local de fertilização (SIQUEIRA, 2006).

As proporções de inseminações artificiais intrauterinas e intracervicais profundas no grupo MAP-COM foram superiores às intracervicais superficiais. Tais resultados indicam uma melhor eficiência desse grupo para induzir a manifestação de estro, uma vez que o estradiol é responsável pela dilatação cervical, permitindo uma maior penetrabilidade da cérvix (SHEMESH, 1997) Guimarães (2016), trabalhando com ovelhas, obteve uma menor taxa de penetrabilidade cervical nos animais que manifestaram estro mais tardio, quando comparados àqueles que tiveram o estro manifestado mais precoce.

Já no grupo OEVAC120, as inseminações artificiais intrauterinas foram superiores às intracervicais superficiais e profundas. Isso pode ser elucidado devido à habilidade da *Vitex agnus-castus* L. de se ligar aos receptores dopaminérgicos, que podem promover a vasodilatação e, conseqüentemente, o relaxamento da

cérvix, o que indicaria a facilidade na passagem do aplicador nesse grupo (TESCH, 2003; DANIELE et al., 2005; CARMICHAEL, 2008).

### 3. CONCLUSÕES

Portanto, podemos concluir que o uso de esponjas intravaginais impregnadas com 60 e 120 mg de óleo essencial da planta *Vitex agnus castus* L. em um protocolo de sincronização do estro a curto prazo e associado à administração de eCG é capaz de sincronizar o estro. Além disso, o perfil de progesterona durante o tratamento de sincronização do estro mostrou que a *Vitex agnus castus* é capaz de bloquear a atividade ovulatória de cabras. Contudo, este protocolo associado à inseminação artificial realizada 54 h após a retirada da esponja resulta em baixa fertilidade em cabras.

Estudos adicionais devem ser realizados, avaliando doses alternativas do óleo essencial de *Vitex agnus castus* L. nos diferentes protocolos de sincronização do estro e associando a inseminação artificial com base no início do estro sincronizado.

#### 4. REFERÊNCIAS

- ABECIA, J. A.; FORCADA, F.; GONZÁLEZ-BULNES, A. Hormonal control of reproduction in small ruminants. **Animal Reproduction Science**, v. 130, p. 173-179, 2012.
- ABECIA, J. A.; FORCADA, F.; GONZÁLEZ-BULNES, A. Pharmaceutical Control of Reproduction in Sheep and Goats. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice.**, v.27, p.67-79, 2011.
- AHMED, M. M.; MAKWI, S. E.; JABURA, A. S. Synchronisation of oestrus in Nubian goats. **Small Ruminant Research**, v. 52, p. 1129-1135, 1998.
- ALBUQUERQUE, J. M. **Plantas medicinais de uso popular**. Brasília: Ministério da Educação, 96p.1989.
- ALLISON, A. J.; ROBINSON, T. J. The effect of dose level of intravaginal progestagen on sperm transport, fertilization and lambing in the cyclic Merino ewe. **Journal of Reproduction and Fertility**, 22, 515-531. 1970.
- ALMEIDA, V. M.; et al. Colheita de embriões via transcervical em ovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 26, p. 82-84, 2002.
- ALVES, L. A.; FREIRES, I A.; CASTRO, R. D. Efeito Antibacteriano de Óleos Essenciais sobre Bactérias Formadoras do Biofilme Dentário. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**. 2010. Vol. 14, N°2, pág. 57-62.
- ALVES, D. L.; SILVA, C. R. **Fitohormônios: abordagem natural da terapia hormonal**. São Paulo: Editora Atheneu, p. 105, 2002.
- BARBATO, O.; et al. Validation of a new pregnancy- associated glycoprotein radioimmunoassay method for the detection of early pregnancy in ewes. **Theriogenology**, v.72, p.993–1000. 2009.
- BARIL, G.; SAUMANDE, J. Hormonal treatments to control time of ovulation and fertility of goats. In: International Conference on Goats, 7, 2000, Tours, France. **Proceedings...** Paris: INRA; IGA, p. 400-405. 2000.
- BARRETT, D. M. W.; et al. Synchronization of follicular wave emergence in the seasonally anestrous ewe: The effects of estradiol with or without medroxyprogesterone acetate. **Theriogenology**, v. 69, n. 7, p. 827-836, 2008.
- BORGES-BRANDAO, G. S. Uso da dinâmica folicular ovariana na avaliação de diferentes tratamentos de sincronização de estro em cabras Canindé exploradas no

- semiárido do Nordeste do Brasil. **Dissertação** (Mestrado em Ciência Animal), Universidade Federal do Vale do São Francisco. Petrolina, p. 94, 2010.
- BOSCOS, C. M.; SAMARTZI, F. C.; LYMBEROPOULOS, A. G.; STEFANAKIS, A.; BELIBASAKI, S. Assessment of progesterone concentration using enzyme immunoassay for early pregnancy diagnosis in sheep and goats. **Reproduction in Domestic Animals**, v.38, n.3, p.170-174, 2003.
- BRADEN, T. D.; GAMBONI, F.; NISWENDER, G. D. Effects of prostaglandin F<sub>2</sub>α-induced luteolysis on the populations of cells in the ovine corpus luteum. **Biology of Reproduction**, v.39, p.245-253, 1988.
- BRASILEIRO, B. G.; PIZZILOLO, V. R.; MATOS, D. S.; GERMANO, A. M.; JAMAL, C. M. Plantas medicinais utilizadas pela população atendida no “Programa de Saúde da Família”, Governador Valadares, MG, Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. 44 (4): 629-636. 2008.
- BROWN, R. E. **Hormônios e comportamento parental**. In: COSTA, M.J.P.; CROEMBERG, V.U. (eds.). Comportamento materno em mamíferos. Bases teóricas e aplicações aos ruminantes domésticos. Sociedade Brasileira de Etologia. São Paulo, p. 53-99, 1998.
- BURNS, P. D.; SPITZER, J. C.; BRIDGES JR, W. C.; HENRICKS, D. M.; PLYLER, B. B. Effects of metoestrus administration of a norgestomet implant and injection of norgestomet and oestradiol valerate on luteinizing hormone release and development and function of corpora lutea in suckled beef cows. **Journal of Animal Science**, v.71, p.983-988, 1993.
- 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.
- CÁRCERES, A.; et al. **La etnoveterinária como um instrumento para la atención integral de la producción pecuaria**. In: XIII Congresso Italo-Latinoamericano do etnomedicina, Roma, 2004.
- CARMICHAEL, A. R. Can Vitex Agnus Castus be used for the treatment of mastalgia what is the current evidence? **Evidence Based Complement Alternative Medicine**, v. 5, n.3, p. 247-250, 2008.
- CARVALHO, D. M.; SOUZA, J. P. **Análise da cadeia produtiva da caprinovinocultura em Garanhuns**. In: XLVI Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural, 2008, Rio 2008.

- CARVALHO, J. A. Sincronização do estro e da ovulação em ovelhas da raça Santa Inês após tratamento com progestágeno novo e reutilizado associado a eCG ou FSHp. **Dissertação (Mestrado em Zootecnia)** – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, BA, UESB, 56p. 2009.
- CAVALCANTI, A. S. Avaliação do uso do GnRH em protocolos curtos de indução e sincronização do estro e ovulação em ovelhas. **Dissertação (Mestrado em Clínica e Reprodução Animal)** – Universidade Federal Fluminense, Faculdade de Veterinária, Niterói, p.112. 2008.
- CHEMINEAU, P.; COGNIÉ, Y.; GUÉRIN, Y.; ORGEUR, P.; VALLET, J.C. **Training manual on artificial insemination in sheep and goats**. Rome, FAO, 222p.1991.
- CLAPAUCH R.; MEIRELLES, R. M. R.; JULIAO, M. A. S. G.; LOUREIRO, C. K. C.; GIARODOLI, P. B.; PINHEIRO, S. A.; HARRIGAN, A. R.; SPRITZER, P. M.; PARDINI, D. P.; WEISS, R. V.; ATHAYDE, A. V.; RUSSO, L. A.; POVOA, L. C. Fitoestrogênios: posicionamento do Departamento de Endocrinologia Feminina da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM). In: **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v. 46, p. 679-695, 2002.
- CORANDIN, E. M. **Estratégias de manejo reprodutivo em ovinos criados nos trópicos**. Seminário apresentado junto à Disciplina Seminários Aplicados do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás. Nível: Mestrado. Goiana. 2011
- COSTA, R. G.; MEDEIROS, A.; GONZAGA NETO, S. **Qualidade da carcaça e da carne de caprinos e ovinos**. In: Simpósio Internacional de Conservação de Recursos Genéticos, 1, Anais... Recife. p.138-160. 2004.
- CRUZ, M. H. C.; CRUZ, J. F.; MOURA, L. C. O.; TEIXEIRA NETO, M. R.; FERRAZ, R. C. N.; BECKER-SILVA, S. C.; SNOECK, P. P. N. Eficácia de implantes de Norgestomet reutilizados no controle do ciclo estral de cabras leiteiras. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 32, p. 219-224, 2010.
- DANIELE, C.; COON, T. J.; PITTLER, M. H.; ERNEST, E. *Vitex agnus castus*: a systematic review of adverse events. **Drug Safety**, v. 28, n.4, p. 319-332, 2005.
- DE NICOLO, G.; PARKINSON, T. J.; KENYON, P. R.; MOREL, P. C.; MORRIS, S. T. Plasma progesterone concentrations during early pregnancy in spring- and autumn-bred ewes. **Animal Reproduction Science**, v.111, p.279–288, 2009.
- DIAS, T. A. **Medicinal plants in Brazil**. In: Newsletter-G-15 gene banks for medicinal & aromatic plants, 7/8, p. 4. 1995.

- DISKIN, M. G.; AUSTIN, E. J.; ROCHE, J. F. Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, v.23, p.211-228, 2002.
- DRIANCOURT, M., A. **Chronogest CR and Folligon**. [http://www.merck-animal-health.com/binaries/Chronogest\\_and\\_Folligon-tcm50-262063.ppt](http://www.merck-animal-health.com/binaries/Chronogest_and_Folligon-tcm50-262063.ppt).2012.
- EDRIS, A. E. Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. **Phytotherapy Research**, v. 21, n. 4, p. 308-23, 2007.
- EMBRAPA. **Plantas medicinais e aromáticas**. 2008. Disponível em <<http://www.cenargem.embrapa.br/antec/plantas.html>>, Acesso em 15 de Junho de 2016.
- EMBRAPA SEMIÁRIDO 2005. **Médias Anuais da Estação Agrometeorológica de Bebedouro**. Disponível em:<<http://www.cpatsa.embrapa.br:8080/servicos/dadosmet/ceb-anual.html>>, Acesso em 05 de Abril de 2016.
- EVANS, G.; MAXWELL, W. M. C. Fisiología de la Reprodución em Ovejas y Cabras. In: **Inseminación Artificial de Ovejas y Cabras**. 1. ed. Argentina: Acribia S.A., p.41-55. 1990.
- EVANS, G.; ROBINSON, T. J. The control of fertility in sheep: endocrine and ovarian responses to progestagen-PMSG treatment in the breeding season and in anoestrus. **Journal of Agricultural Science**, v.94, p.69-88, 1980.
- FARNWORTH, P. G. Gonadotrophin secretion revised – how many ways can FSH leave a gonadotrophin. **Journal of Endocrinology**, v.145, p.387-395, 1995.
- FERNANDES, L. F. C.; ALDRIGHI, A. P. S.; ALDRIGHI, J. M. Prescrever ou não isoflavonas de sojas à mulher no climatério? **Revista da Associação Médica Brasileira**. São Paulo, v. 52, n. 3, 2006.
- FERNANDEZ-MORO, D.; et al. Preovulatory Follicle Development in Goats Following Oestrous Synchronization with Progestagens or Prostaglandins. **Reproduction in Domestic Animals**, v.43, p. 9-14. 2008.
- FIERRO, S.; GIL, J.; VIÑOLES, C.; OLIVERA-MUZANTE, J. The use of prostaglandins in controlling estrous cycle of the ewe: a review. **Theriogenology**, v.79, p.399-408, 2013.
- FONSECA, J. F. Estratégias para o controle do ciclo estral e superovulação em caprinos e ovinos. In: Congresso Brasileiro DE Reprodução Animal, 16, 2005, Goiânia, **Anais...**, Goiânia, 2005.

- FONSECA, J. F.; ESTEVES, L. V.; BRANDÃO, R. C.; CRUZ, R. C.; SOUZA, J. M. G.; OBA, E.; FACÓ, O. Induction of synchronized estrus in dairy goats with different gonadotrophins. **Animal Reproduction**, v. 2, p. 50-53, 2005.
- FOOTE, W. C. Hormonal control of reproduction in sheep and goats. **Dairy Goat Journal**, v.60, p.560-568, 1982.
- FRAZÃO SOBRINHO, J. M.; VIEIRA, R. J.; MACEDO, N. A.; CAVALCANTE, V. C.; SILVA, J. M. **Fertilidade de cabras SRD inseminadas por via transcervical de acordo com o local de deposição do sêmen e número de inseminações**. In: CONGRESSO NORTE/NORDESTE DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 2., 2005, Teresina. [Trabalhos apresentados. Teresina: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal; Universidade Federal do Piauí, 2005. Seção resumos. 1 CD-ROM.
- FREITAS, V. J. F. Manejo reprodutivo de caprinos e ovinos. In: **Do campus para o campo**, p. 247-248, 2005.
- FREITAS, V.J.F.; BARIL. G.; BOSC, M.; SAUMANDE, J. The influence of ovarian status on response to estrus synchronization treatment in dairy goats during the breeding season. **Theriogenology**, v.45, p.1561-1567, 1996.
- FREITAS, V. J. F.; BARIL, G.; SAUMANDE, J. Estrus synchronization in dairy goats: Use of fluorogestone acetate vaginal sponges or norgestomet ear implants. **Animal Reproduction Science**, v.46, p.237-244, 1997.
- FREITAS, V.J.F.; LOPES JÚNIOR, E.S. Controle do estro e da ovulação em caprinos. In: Gonçalves P.B.D.; Figueiredo J.R., Freitas V.J.F. **Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal**. Varela, São Paulo. 2001.
- FREITAS V.J.F.; RUBIANES E. **Deteção e Controle do Estro e da Ovulação**. In: AISEN, EG. Reprodução Ovina e Caprina. 1ª. ed. – São Paulo: Med Vet., 2008.
- FREITAS, V.J.F.; RUBIANES, E. Preparacións de las hembras. Detección y control del estro y la ovulación. In: AISEN, E. G. **Reproduccion ovina y caprina**. 1ed. Buenos Aires: Inter-Médica, p. 87-98, 2004.
- GANAPATY, S.; VIDYADHAR, K. N. Phytoconstituents and biological activities of Vitex-a review. **Journal of Natural Remedies**, v. 5, n. 2, p. 75-95. 2005.
- GASTAL, G.D.A.; et al. Reutilizacao de pessarios vaginais apos autoclavagem sobre taxas reprodutivas em ovinos. **PUBVET**, v. 7, n. 13, 2013.
- GEORGE, L.L.; ALVES, C.E.R.; CASTRO, R.R.L. **Histologia Comparada**. 2ª ed. Roca, São Paulo, p.186. 1998.



- GHISELLI, G.; JARDIM, W.F.J. Interferentes Endócrinos no Ambiente. **Química Nova**, v.30, n.3, 695-706, 2007.
- GINTHER, O.J.; ARAUJO, R.R.; PALHÃO, M.P.; RODRIGUES, B.L.; BEG, M.A. Necessity of sequential pulses of prostaglandin F2alpha for complete physiologic luteolysis in cattle. **Biology of Reproduction**, v.80, p. 641-648, 2009.
- GOMES, E.C.S.; et al. **Plantas da caatinga de uso terapêutico**: levantamento etnobotânico. II Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica João Pessoa - PB – 2007.
- GONZÁLEZ-STAGNARO, C.; NUNES, J.F.; BURY, N.M.; CHIRINOS, Z. Uterine involution time in woolness West African tropical sheep. **Revista Científica – Facultad de Ciencias Veterinarias**, v. 12, n. 5, p. 329-337, 2002.
- GRANADOS, L. B. C.; DIAS, A. J. B.; SALES, M. P. **Aspectos gerais da reprodução de caprinos e ovinos**. Capacitação dos técnicos e produtores do Norte e Noroeste Fluminense em Reprodução de Caprinos e Ovinos. 1ª ed. Campos dos Goitacazes. Projeto PROEX/UENF. 2006.
- GREYLING, J. P. C.; KOTZE, W. F.; TAYLOR, G. F.; HAGENDIJK, W. J.; CLOETE, F. Synchronization of oestrous in sheep: use of different doses of progestagen outside the normal breeding season. **South African Journal of Animal Science**, v.24, p. 33-37, 1994.
- GREYLING, J.P.C., VAN DER NEST, M. Synchronization of oestrus in goats: dose effect of progestagen. **Small Ruminant Research**, v. 36, p. 201-207, 2000.
- GUIMARÃES, A. S. L. **Uso do Óleo Essencial de Croton Nepetifolius Baill na penetrabilidade cervical em ovelhas mestiças de Dorper e Santa Inês**. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do vale do São Francisco, Campus Ciências Agrárias, 68 p. 2016.
- GUSMÃO, A.L.; et al. Coleta transcervical de embriões em ovinos da raça Dorper no semiárido do Nordeste Brasileiro. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, p.313-318, 2009.
- HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. **Reprodução Animal**. 7ª ed. Manole, São Paulo, p. 313. 2004.
- HARVEY, A. Strategies for discovering drugs from previously unexplored natural products. **Drug Discovery Today**, v. 5, p. 294-300. 2000.
- HE, Z.; CHEN, R.; ZHOU, Y.; GENG, L.; ZHANG, Z.; CHEN, S.; YAO, Y.; LU, J.; LIN, S. Treatment for premenstrual syndrome with *Vitex agnus castus*: a prospective,

randomized, multi-center placebo controlled study in China. **Maturitas**, v. 63, n. 1, p. 99-103. 2009.

HOSTETTMAN, K.; QUEIROZ, E.F.; VIEIRA, P.C. **Princípios ativos de plantas superiores**. São Carlos: EDUFSCAR, p.152, 2003.

HULSHOF, S.C.J.; FIGUEIREDO, J.R.; BECKERS, J.F. Isolation and characterization of preantral follicles from foetal bovine ovaries. **Veterinary Quarterly**, v. 2, p. 78-80. 1994.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Índice de Produção Pecuária: produção da pecuária municipal**. Dados de 2002 a 2011. Disponível em: <[ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao\\_Pecuaria/Producao\\_da\\_Pecuaria\\_Municipal/](ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Producao_da_Pecuaria_Municipal/)>. Acesso em: 22 ago. 2013.

IIDA, K; et al. A comparative study of induction estrus and ovulation by three different intravaginal devices in ewes during the non-breeding season. **Journal of Reproduction and Development**, v.50, n.01, 2004.

KATIRAEI, F.; MAHMOUDI, R.; TAHAPOUR, K.; HAMIDIAN, G.; EMAMI, S. J. Biological Properties of *Vitex agnus-castus* Essential Oil (Phytochemical Component, Antioxidant and Antifungal Activity). **Biotech Health Sciences**. 2015 (2) 267-297.

KHANUM, S. A.; HUSSAIN, M.; KAUSAR, R. Progesterone and estradiol profiles during estrous cycle and gestation in dwarf goats (*Capra hircus*). **Pakistan Veterinary Journal**, v. 28, n. 1, p. 1-4. 2008.

KNIGHT, P. G.; GLISTER, C. TGF- $\beta$  superfamily members and ovarian follicle development. **Reproduction**, v.132, p.191-206, 2006.

KNIGHTS, M.; et al. Short-term treatment with a controlled internal drug releasing (CIDR) device and FSH to induce fertile estrus and increase prolificacy in anestrous ewes. **Theriogenology**, v.55, p.1181-1191, 2001.

LAURITZEN, C.; et al. Treatment of premenstrual tension syndrome with *Vitex agnus-castus*-controlled for treatment of hyperprolactinemia and mastalgia. **International Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 85, p. 292-293, 2004.

LEDGER, W. L.; ELLWOOD, D. L.; TAYLOR, M. J. Cervical softening in late pregnant sheep by infusion of prostaglandin E-2 into a cervical artery. **Journal of Reproduction Infertility**, v. 69, p. 511–515, 1983.

LEITE, A. M. C. Conservação e Utilização de Populações naturais de *Aniba rosaeodora* (paurosa) no Estado do Amazonas/Recursos Naturais-Avaliação de Recursos Genéticos de Interesse Econômico. Manaus: **Embrapa**. 2001.

- LEITE, P. A. G.; CARVALHO, G. R.; RODRIGUES, M. T.; RUAS, J. R. M.; AMORIM, E. A. M.; MAFFILI, V. V. Indução da ovulação em cabras, fora da estação reprodutiva, com LH e GnRH e com estro induzido por progestágenos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, p.360-366, 2006.
- LEVI-SETTI, P. E.; CAVAGANA, M.; BAGGIANI, A.; ZANONNI, E.; COLOMBO, G. V.; LIPRANDI, V. FSH and LH together in ovarian stimulation. **European Journal of Obstetrician Gynecology and Reproductive Biology**, v.115, suppl. 1, p. S34-S39, 2004.
- LEYVA, V.; BUCKRELL, B. C.; WALTON, J. S. Regulation of follicular and ovulation in ewes by exogenous progestagen. **Theriogenology**, v.50, p.395-416, 1998.
- LIMA, F. R. G.; ARAÚJO, A. A.; FREITAS, V. J. F. Uso de diferentes tratamentos hormonais de sincronização do estro em cabras nativas do Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.21, n.2, p.136-139, 1997.
- LIMA, L. R. P.; OLIVEIRA, M. T. T.; NAGEM, T. J.; PINTO, A. S.; TRINGHETA, P. C.; TINOCO, A. L. A.; SILVA, J. F. Bixina, Norbixina e Quercetina e seus efeitos no metabolismo lipídico de coelhos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v.38, n.4, p. 196-200, 2001.
- LORENZI, H.; MATOS, F. J. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**.1<sup>a</sup>. Ed. São Paulo, Instituto Plantarum, Nova Odessa.p.498. 2002.
- LUCKS, B. C. *Vitex agnus castus* essential oil and menopausal balance: a research update. **Complementary Therapies in Nursing and Midwifery**, v.8, p.148–154, 2003.
- LUCKS, B. C.; SORENSEN, J.; VEAL, L. *Vitex agnus castus* essential oil and menopause balance: a self-care survey. **Complementary Therapies in Nursing and Midwifery**, v. 8, p. 148-154, 2002.
- MACHADO, R.; SIMPLÍCIO, A. A. Avaliação de programas hormonais para a indução e sincronização do estro em caprinos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.36, p.171-178, 2001.
- MAFFILI, V. V. Caracterização de protocolos visando à máxima eficiência reprodutiva em caprinos. Viçosa-MG: UFV, **Tese** (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 118 f. 2004.
- MAFFILI, V. V. TORRES, C. A. A.; BRUSCHI, J. H.; FONSECA, J. F.; VIANA, J. H. M. Indução de estro em cabras da raça Toggenburg com dois diferentes dispositivos

- intravaginais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 3, p. 367-372, 2006.
- MAFFILI, V. V.; TORRES, C. A. 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<sup>®</sup>. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57, n.5, p.591-598, 2005.
- MAIA, A. C. C. M.; et al. *Vitex agnus castus* L: um estudo etnobotânico e etnofarmacológico. **Revista Virtual de Iniciação Acadêmica da UFPA**, v. 1, n. 2, p.1-15. 2001.
- MAIA JÚNIOR, A.; ARAÚJO, A. A.; SALLES, M. G. F. Indução e sincronização do estro e da ovulação em cabras leiteiras Saanen com uso de dispositivos vaginais associados ou não à eCG ou efeito macho. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.3, n.4, p.157-162, 2009.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Caprinos e ovinos**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/caprinos-e-ovinos>. Acesso em 30 de Maio de 2014.
- MARINHO, M. L.; et al. A utilização de plantas medicinais em medicina veterinária: um resgate do saber popular. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 9, n. 3, p.64-69, 2007.
- MARQUES, I. C. S. Óleo de semente de maracujá no reparo de feridas cutâneas em equinos e ratos wistar. **Tese** (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Campus de Jaboticabal. 2016.
- MARQUEZINI, G. H. L.; DAHLEN, C. R.; BIRD, S. L.; LAMB, G. C. Administration of human chorionic gonadotropin to suckled beef cows before ovulation synchronization and fixed-time insemination: Replacement of gonadotropin-releasing hormone with human chorionic gonadotropin. **Journal of Animal Science**, v. 89, p. 3030 – 3039, 2011.
- MATHIAS, E. Ethnoveterinary medicine in the era of evidence-based medicine: Mumbojumbo or a valuable resource? **The Veterinary Journal**, v.173, n.2, p.241-242, 2007.
- McCRACKEN, J. A.; CUSTER, E. E.; LAMSA, J. Luteolysis: a neuroendocrine-mediated event. **Physiology Review**, v.79, p.263-323, 1999.

- MEENA, A. K.; et al. A review of the important chemical constituents and medicinal uses of *Vitex* genus. **Asian Journal of Traditional Medicines**, v. 6, n.2, p. 54-60. 2011.
- MEHLHORN, H.; SCHMAHL, G.; SCHMIDT, J. Extract of the seeds of the plant *Vitex agnus castus* proven to be highly efficacious as a repellent against ticks, fleas, mosquitoes and biting flies. **Parasitology Research**, v. 95, n. 5, p. 363-365, 2005.
- MENCHACA, A.; RUBIANES, E. Effect of high progesterone concentrations during the early luteal phase on the length of the ovulatory cycle of goats. **Animal Reproduction Science**, v. 68, p. 69-76, 2001.
- MENCHACA, A.; MILLER, V.; SALVERAGLIO, V.; RUBIANES, E. Endocrine, luteal and follicular responses after the use of the Short-Term Protocol to synchronize ovulation in goats. **Animal Reproduction Science**, v. 102, p. 76–87, 2007.
- MENCHACA, A.; RUBIANES, E. New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. **Reproduction Fertility Development**, v. 16, p. 403-413, 2004.
- MENDOZA, F. M. Inducción de estros y tasa de gestación en ovejas de pelo tratadas con acetato de melengestrol (MGA). **Tesis** para obtener el título de Médico Veterinario y zootecnista. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Michoacán, 2010.
- MERZ, P. G.; et al. The effects of a special *Agnus castus* extract (BP1095E1) on prolactin secretion in healthy male subjects. **Experimental Clinical Endocrinology Diabetes**, v.104, n.6, p. 447-53, 1996.
- MILEWICZ, A.; et al. *Vitex agnus castus* extract in the treatment of luteal phase defects due to latent hyperprolactinemia. Results of a randomized placebo-controlled double-blind study. **Arzneimittelforschung**, v. 43, n. 7, p. 752-760, 1993.
- MONTEIRO, M. V. B.; RODRIGUES, S. T.; CAMURÇA-VASCONCELOS, A. L. F. **Plantas medicinais utilizadas na medicina etnoveterinária praticada na Ilha do Marajó**. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2012.
- MORAES, J. C. F.; et al. **Controle do estro e da ovulação em ruminantes**. In: Gonçalves P.B.D., Figueiredo J.R. & Freitas V.J.F. Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal. 2ª ed. Roca, São Paulo. 2008.
- MORELLO, H. H.; CHEMINEAU, P. Características anatômicas e funcionais do Sistema reprodutor da fêmea. In: AISEN, E. G. **Reprodução ovina e caprina**. São Paulo: Med. Vet, 2008, 203p. Cap. 2, p. 11-25.

- MOTLOMELO, K. C.; GREYLING, J. P. C.; SCHWALBACH, L. M. J. Synchronisation of oestrus in goats: the use of different progestagen treatments. **Small Ruminant Research**, v. 45, p. 45–49. 2002.
- NETO JÚNIOR, J. C. S. Avaliação de feridas cutâneas em ratos tratadas com creme à base de extrato de Ameixa-do-Mato (*Ximenia americana*) a 10%. **Tese** (Doutorado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco. 2016.
- NILSSON, E. E.; et al. Inhibitory actions of anti-mullerian hormone (AMH) on ovarian primordial follicle assembly. **PLoS ONE**, v. 6, p. e20087, 2011.
- NOGUEIRA, D.M.; LOPES JÚNIOR, E.S.; CHRISTILIS, M.; MONTE, A.P.O.; MARTINS, S.R. Fertilidade de cabras leiteiras exploradas na região semi-árida do Nordeste do Brasil após inseminação artificial e utilização por até três vezes do dispositivo de liberação controlada de drogas (CIDR) para sincronização do estro. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 45, 2008, Lavras, **Anais...** Lavras, UFLA, 2008.
- NOGUEIRA, D. M.; et al. Using the same CIDR up to three times for estrus synchronization and artificial insemination in dairy goats. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v. 33, n. 3, p. 321-325, 2011.
- NOGUEIRA, D.M.; et al. Atividade estral de cabras Boer submetidas a dois protocolos de sincronização do estro. In: CONGRESSO NORDESTINO DE PRODUÇÃO ANIMAL, 6.; SIMPÓSIO NORDESTINO DE ALIMENTAÇÃO DE RUMINANTES, 10.; Simpósio De Produção Animal Do Vale Do São Francisco, 1., 2006, Petrolina. **Anais...** Petrolina: SNPA; Embrapa Semiárido, 2006.
- NUNES, J.F. Étude des effets du plasma seminal sur la survie in vitro des spermatozoïdes de bouc. **Tese** (Doutorado). Université Pierre et Marie Curie, Paris, 76p. 1982.
- NYILIGIRA, E.; et al. Essential oil composition and in vitro antimicrobial and anti-inflammatory activity of South African Vitex species. **South African Journal of Botany**, v. 70, n. 4, p. 611-617, 2004.
- ORTIGOSA, J. L. Avaliação do fotoperíodo e duração do protocolo com progestágeno sobre a concentração plasmática de progesterona em ovelhas inseminadas em tempo fixo. **Dissertação** apresentada a Pro Reitoria de Pesquisa e Pós-graduação universidade do Oeste Paulista. Presidente Prudente-SP. 2013.
- PADILHA, R. T; et al. Efeito de diferentes dispositivos intravaginais na sincronização estral e taxa de gestação em ovelhas deslanadas submetidas à IATF via cervical

superficial com sêmen refrigerado. **Revista Brasileira Ciências Agrárias**, v.3, p.538-543, 2011.

PADMALATHA, K.; et al. Ethnopharmacological and biotechnological significance of Vitex. **Bioremediation, Biodiversity and Bioavailability**, v. 3, n. 1, p. 6-14. 2009.

PAES DE BARROS, M. B. Estudo da dinâmica folicular no protocolo de nove dias na sincronização de cios com o uso de um novo dispositivo de liberação sustentado de progesterona, associado ou não a eCG, em ovelhas santa inês. **Dissertação** (Mestrado em Ciência Animal) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da universidade de são Paulo. São Paulo, 65f. 2010.

PEARCE, D. T.; ROBINSON, T. J. Plasma progesterone concentrations, ovarian and endocrinological responses and sperm transport in ewes with synchronized oestrus. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.75, p.49-62, 1985.

PEREIRA, A. V.; et al. Análise da atividade antimicrobiana de taninos totais de plantas aromáticas do Nordeste brasileiro. **Revista AGROTEC**, v.36, n.1, p. 109-114, 2015.

PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, n. 4, p.146-152, 2012.

PIETROSKI, A. C. C. A.; BRANDÃO, F. Z.; SOUZA, J. M. G.; FONSECA, J. F. Short, medium or long-term hormonal treatments for induction of synchronized estrus and ovulation in Saanen goats during the nonbreeding season. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 42, n. 3, p. 168-173, 2013.

PRADO, O. R.; et al. Adição de plasma seminal ao sêmen descongelado e taxa de prenhez de ovelhas inseminadas em tempo fixo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.65, p.13-18, 2013.

QUEIROZ, L. P. The Brazilian Caatinga: Phytogeographical patterns inferred from distribution data of the Leguminosae. Pp: 113-149. In: R.T. Pennington; G.P., Lewis & J. Ratter (eds.). **Neotropical Savannas and Dry Forests: Plant Diversity, Biogeography, and Conservation**. Oxford, Taylor & Francis C.R.C. Press. 2006.

QUINTELA, M. "Saberes e práticas termais: uma perspectiva comparada em Portugal e no Brasil. Histórias", **Ciências, Saúde - Manguinhos**, v. 11, s. 1, p.239-60. 2004.

- RATHBONE, M. J.; et al. Recent advances in bovine reproductive endocrinology and physiology and their impact on drug delivery system design for the control of the estrous cycle in cattle. **Advance Drug Delivery Reviews**, v. 50, p. 277-320, 2001.
- REGUEIRO, M.; CLARIGET, R. P.; GANZÁBAL, A.; ABA, M.; FORSBERG, M. Effect of medroxyprogesterone acetate and eCG treatment on the reproductive performance of dairy goats. **Small Ruminant Research**, v. 33, p. 223-230, 1999.
- REYNOLDS, L. P.; GRAZUL-BILSKA, A. T.; REDMER, D. A. Angiogenesis in the corpus luteum. **Endocrine**, v.12, p.1-9, 2000.
- PEARCE, D. T.; ROBINSON, T. J. Plasma progesterone concentrations, ovarian and endocrinological responses and sperm transport in ewes with synchronized oestrus. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.75, p.49-62, 1985.
- RUBIANES, E. Nociones básicas de fisiología reproductiva em cabras y ovejas. In: Simpósio sobre controle farmacológico do ciclo estral em ruminantes, 2000. São Paulo – SP. **Anais...** São Paulo - SP: FMVZ-USP. 2000.
- RUBIANES, E.; CASTRO, T.; KMAID, S. Estrus response after a short progesterone priming in seasonally anestrous goats. **Theriogenology**, v.49, p.356, 1998.
- RUBIANES, E.; MENCHACA, A. The pattern and manipulation of ovarian follicular growth in goats. **Animal Reproduction Science**, v.78, p.271-287, 2003.
- SARMENTO, L. A. V. Separação de óleos essenciais e CO<sub>2</sub> supercrítico através de membranas de osmose inversa. **Dissertação** (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 82f. 2002.
- SHELLENBERG, R. Treatment for the premenstrual syndrome with *Agnus castus* fruit extract: prospective, randomized, placebo controlled study. **British Medical Journal**, v. 322, p. 134-137, 2001.
- SHEMESH, M. Regulation of bovine cervical secretion of prostaglandins and synthesis of cyclooxygenase by oxytocin. **Reproduction Fertility of Development**, v. 9, p. 525–530, 1997.
- SILVA, J. R.; VAN DEN HURK, R.; FIGUEIREDO, J. R. Expression of mRNA and protein localization of epidermal growth factor and its receptor in goat ovaries. **Zygote**, v.14, p.107-117, 2006.
- SILVA, D. E. L. **Estudo da composição química e atividade antioxidante do óleo essencial de *Vitex agnus-castus* (Lamiaceae)**. Dissertação (graduação) - Universidade Federal do vale do São Francisco, Campus Centro, 46 p. 2016.



- SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V.; In **Farmacognosia: da Planta ao Medicamento – Óleos Voláteis**; Ed. Universidade/UFRGS/Ed. da UFSC, Porto Alegre, RS/Florianópolis/SC, p 387.1999.
- SIMOES, J.; ALMEIDA, J. C.; VALENTIM, R.; BARIL, G.; AZEVEDO, J.; FONTES, P.; MASCARENHAS, R. Follicular dynamics in Serrana goats. **Animal Reproduction Science**, v.95 p. 16–26, 2006.
- SIMPLÍCIO, A. A.; SALES, H. O.; SANTOS, D. O. Transferência de embriões nos pequenos ruminantes domésticos. In: **Congresso Norte/Nordeste de Reprodução Animal**, v.1, p.17-27, 2002.
- SIMPLÍCIO, A. A.; SANTOS, D. O. Manejo reprodutivo de caprinos e ovinos em regiões tropicais. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, Goiânia. **Anais...Goiânia**: 136-148, 2005.
- SLIUTZ, G.; SPEISER, P.; SCHULTZ, A. M.; SPONA, J.; ZEILLINGER, R. *Agnus castus* extracts inhibit prolactin secretion of rat pituitary cells. **Hormone Metabolism Research**, v. 25 p. 253-255, 1993.
- SIQUEIRA, A. P. Inseminação artificial em caprinos com sêmen resfriado. **Dissertação** (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, 106 p. 2006.
- SIQUEIRA, A. P.; et al. Progesterona plasmática e fertilidade de fêmeas caprinas submetidas à sincronização do estro com prostaglandina F2 $\alpha$ . **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia**, v.64, p.305-310, 2012.
- SOARES, D. G.; ANDREAZZA, A. C.; SALVADOR, M. Avaliação de compostos com atividade antioxidante em células da levedura *Saccharomyces cerevisiae*. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41 n. 1, p. 95-100, 2005.
- SOUZA, J. M. G. Reutilização de dispositivos intravaginais de progesterona autoclavados para a indução e sincronização de estro em cabras da raça Toggenburg submetidas à dinâmica folicular. Viçosa-MG: Universidade Federal de Viçosa. Master **Thesis**. 2010.
- STYS, S. J.; DRESSER, B. L.; OTTE, T. E.; CLARK, K. E. Effect of prostaglandin E2 on cervical compliance in pregnant ewes. **American Journal of Obstetrics & Gynecology**, v. 140, p. 415–419, 1981.
- TESCH, B. J. Herbs commonly used by women: an evidence-based review. **American Journal of Obstetrician Gynecology**, v. 188, n. 5, p. 44-55, 2003.

- TITI, H.H.; KRIDLI, R.T.; ALNIMER, M.A. Estrus synchronization in sheep and goats using combinations of GNRH, progestagen and prostaglandin F<sub>2α</sub>. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 45, p. 594-599, 2010.
- THIMONIER, J. Determination de l'état physiologique des femelles par analyse des niveaux de progestérone. **Production Animale**, v. 13, n. 3, p. 177-183, 2000.
- TRALDI, A. S. Biotécnicas aplicadas em reprodução de pequenos ruminantes. In: III Feira Internacional de Caprinos e Ovinos. 3, 2006, Pirassinunga, São Paulo. **Anais... III FEINCO**, 3, 2006. CD Rom.
- UNGERFELD, R.; RUBIANES, E. Short term primings with different progestogen intravaginal devices (MAP, FGA and CIDR<sup>®</sup>) for eCG-estrous induction in anestrus ewes. **Small Ruminant Research**, v. 46, p. 63–66, 2002.
- URIBE-VELÁSQUEZ, L. F.; OBA, E.; SOUZA, M. I. L. Efeitos da progesterona exógena sobre o desenvolvimento folicular em ovelhas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, p.58-65, 2008.
- USLU, B. A.; et al. Effects of oestrus synchronization using melatonin and norgestomet implants followed by eCG injection upon reproductive traits of fat-tailed Morkaraman ewes during suckling, anoestrus season. **Small Ruminant Research**, v.108, p.102-106, 2012.
- VIEGAS, C. JR.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. *Química Nova*, v. 29, n. 2, 2006.
- VIEIRA, L. S. **Alternativas de controle para a nematodose gastrointestinal de caprinos**. Embrapa Caprinos. Relatório final de projeto. 26 p. 2002.
- VILARIÑO, M.; RUBIANES, E.; MENCHACA, A. Ovarian responses and pregnancy rate with previously used intravaginal progesterone releasing devices for fixed-time artificial insemination in sheep. **Theriogenology**, v. 79, p. 206 – 210, 2013.
- VIÑALES, C.; et al. The effect of subluteal levels of exogenous progesterona on follicular dynamics and endocrine patterns during the early phase of the ewe. **Theriogenology**, v. 51, p. 1351-1361, 1999.
- WANDERLEY, A. L. Atividade antioxidante e antimicrobiana do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L., cultivado em sistema orgânico sob diferentes condições, frente a bactérias causadoras de mastite bovina. **Dissertação** (mestrado) - Universidade de Brasília Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária. 2015.

- WINDSOR, D. P.; SZÉLL, A. Z.; BUSCHBECK, C.; EDWARD, A. Y.; MILTON, J. T. B.; BUCKRELL, B. C. Transcervical artificial insemination of Australian Merino ewes with frozen-thawed semen. **Theriogenology**. v.42, p.147-157, 1994.
- WU, J.; EMERY, B. R.; CARREL, D. T. *In vitro* Growth, Maturation, Fertilization, and Embryonic Development of Oocytes from Porcine Preantral Follicles. **Biology of Reproduction**, v. 64, p. 375-38. 2001.
- WUTTKE, W.; et al. Chaste tree (*Vitex agnus-castus*)-pharmacology and clinical indications. **Phytomedicine**, v. 10, p. 348-357, 2003.
- ZARKAWI, M.; SOUKOUTI, A. Serum progesterone levels using radioimmunoassay during oestrous cycle of indigenous Damascus does. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, v. 44, p.165-169, 2001.
- ZUANAZZI, J. A. S.; MONTANHA, J. A. Flavonóides. In: **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Simões, C. M. O. Guerra, M. P. et al (orgs.) 5<sup>o</sup> edição, revisada, ampliada, primeira reimpressão – Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 1096p. 2004.

## **ANEXOS**

**Artigo completo produzido a partir da  
Dissertação e enviado para publicação na  
revista  
PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA**

**Uso de esponjas intravaginais impregnadas com óleos essenciais de *Vitex agnus castus* L. na  
sincronização do estro e fertilidade de cabras<sup>1</sup>**

Helder A. L. Silva<sup>2</sup>, George A. M. Mudo<sup>3</sup>, Laísa G. M. Ribeiro<sup>2</sup>, Eldo G. de Souza Silva<sup>3</sup>, Amanda L. Guimaraes<sup>6</sup>  
Daniela da Silva P. Campinho<sup>8</sup>, Daniel N. de Araújo Gonçalves<sup>7</sup>, Mabel F. Cordeiro<sup>4</sup>, Gabriela L. de Azevedo  
Maia<sup>5</sup> e Edilson S. L. Júnior<sup>4\*</sup>

**ABSTRACT.-** Silva H. A. L., Mudo G. A. M., Ribeiro L. G. M., Silva E. G. S., Guimaraes A. L., Campinho D. S. P., Gonçalves D. N. A., Cordeiro M. F., Maia G. L. A. & Lopes Junior E. S. 2016. [Use of intravaginal sponges impregnated with essential oils of *Vitex agnus castus* L. on estrus synchronization and fertility of goats.] Uso de esponjas intravaginais impregnadas com óleos essenciais de *Vitex agnus castus* L. na sincronização do estro e fertilidade de cabras. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):00-00. Campos Ciências Agrárias, Universidade Federal do Vale do São Francisco, Rodovia BR-407, KM 12 Lote 543 - Projeto de Irrigação Nilo Coelho - S/N C1, 56300-000, Petrolina - PE, Brasil. E-mail: [helder.anderson@yahoo.com.br](mailto:helder.anderson@yahoo.com.br)

In order to evaluate the effect of using intravaginal sponges impregnated with essential oils of the plant *Vitex agnus castus* L. the synchronization of estrus and fertility of goats, 48 female goats race Anglo Nubian were divided into four groups (n=12) for estrus induction. In the group 1 (MAP-COM), It was administered intramuscularly (im) 75 ug of D-cloprostenol and deposited one intravaginal sponge impregnated with 60 mg of medroxyprogesterone acetate (MAP), which was removed five days later. On the day of sponge removal, the goats received (im) 300 IU eCG; In group 2 (MAP-ART), It was performed the same as in G1, which, however, used intravaginal sponges prepared by hand and injected with 60 mg of MAP. Group 3 (OEVAC60) it was similar to MAP-COM, but intravaginal sponge was impregnated with 60 mg of essential oil *Vitex agnus castus* L; and group 4 (OEVAC120) differs from OEVAC60 the impregnation 120 mg of the essential oil the plant *Vitex agnus castus* L. intravaginal sponge. Transcervical artificial inseminations were performed with semen diluted fresh and 54 hours after removal of the device. All females from the four groups showed estrus. The beginnings of estrus in animals of groups MAP-COM or MAP-ART or focused subtly earlier compared to OEVAC60 and OEVAC120 groups. On the 14th day after sponge removal, progesterone concentrations in goats of MAP-COM and MAP-ART groups were higher (P <0.05) to those of animals belonging to OEVAC60 and OEVAC120 groups. The goats with estrus synchronized with MAP-COM and MAP-ART had higher pregnancy rates than those treated in OEVAC60 and OEVAC120 groups. Therefore, the use of intravaginal sponges impregnated with 60 and 120 mg of the essential oil of the plant *Vitex agnus castus* L. it is able to synchronize estrus, but not ovulation goats.

INDEX TERMS: goat, device, plant, progestagen, vagina.

**RESUMO.-** A fim de avaliar o efeito do uso de esponjas intravaginais impregnadas com óleos essenciais da planta *Vitex agnus castus* L. na sincronização do estro e fertilidade de cabras, 48 fêmeas caprinas da raça Anglo Nubiana foram distribuídas em quatro grupos (n = 12) para indução do estro. No grupo 1 (MAP-COM), foi administrado intramuscularmente (im) 75 µg de d-cloprostenol e depositado uma esponja intravaginal impregnada com 60 mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP), a qual foi retirada cinco dias depois. No dia da retirada das esponjas, as cabras receberam (im) 300 UI de eCG; No grupo 2 (MAP-ART), foi realizado o mesmo que no G1, sendo, porém, utilizadas esponjas intravaginais preparadas artesanalmente e injetadas com 60 mg de MAP. O grupo 3 (OEVAC60) foi semelhante ao MAP-COM, mas a esponja intravaginal foi impregnada com 60 mg de óleo essencial de *Vitex agnus castus* L; e o grupo 4 (OEVAC120) diferiu do OEVAC60 pela impregnação de 120 mg de óleo essencial de *Vitex agnus castus* L. na esponja intravaginal. Inseminações artificiais transcervicais foram realizadas com sêmen a fresco diluído e 54 horas após a retirada do dispositivo. Todas as fêmeas dos quatros grupos apresentaram estro. Os inícios dos estros nos animais dos grupos MAP-COM ou MAP-ART se concentraram sutilmente mais cedo comparado aos grupos OEVAC60 e OEVAC120. No 14º dia após a retirada das esponjas, as concentrações de progesterona nas cabras dos grupos MAP-COM e MAP-ART foram superiores (P<0,05) àquelas dos animais pertencentes aos grupos OEVAC60 e OEVAC120. As cabras com estros sincronizados com MAP-COM e MAP-ART apresentaram maiores taxas de gestação que aquelas tratadas nos srgrupos OEVAC60 e OEVAC120. Portanto, o uso de esponjas intravaginais impregnadas com 60 e 120 mg de óleo essencial da planta *Vitex agnus castus* L. é capaz de sincronizar o estro, mas não a ovulação de cabras.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: caprino, dispositivo, planta, progestágeno, vagina.

## INTRODUÇÃO

É evidente a necessidade de aumentar a eficiência reprodutiva de caprinos explorados no Nordeste do Brasil a fim de contribuir para o aumento do potencial genético e produtivo do rebanho caprino, visto que a procura por produtos de origem dessa espécie vem crescendo nos últimos anos.

Nesse contexto, tem-se buscado o avanço de biotecnologias da reprodução, visando obter melhores resultados na produção e reprodução dessa espécie. Dentre as biotécnicas da reprodução, a sincronização

de estro e ovulação permite que várias fêmeas possam ser fecundadas em um curto espaço de tempo através do uso eficiente da Inseminação Artificial, possibilitando o planejamento da época dos partos, promovendo, assim, práticas de manejo eficientes, o fornecimento racional da ração, a formação lotes homogêneos e a significativa produção de leite e carne.

A sincronização do estro consiste na manipulação do ciclo estral através da utilização de hormônios ou associações hormonais. Essa biotécnica têm como princípios encurtar ou prolongar o ciclo estral, provocando a luteólise ou prolongando a fase lútea, de modo que um grupo de animais entre em estro e/ou ovule durante um curto período de tempo, ou até mesmo, num único dia (MAIA JÚNIOR et al 2009). Em caprinos, a técnica de prolongamento da fase luteal do ciclo estral, utilizando progesterona exógena ou progestágenos é a mais utilizada. Pode ser realizada com o uso de progestágenos, seja através de implantes auriculares impregnados com norgestomet, seja por meio de esponjas intravaginais de liberação impregnadas com 60 mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP) ou 45 mg de acetato de fluorogestona (FGA). Também é utilizado o dispositivo intravaginal de liberação controlada de progesterona (CIDR) que contém 330 mg de progesterona natural (KNIGHTS et al 2001), de utilização idêntica à esponja de progestágeno, porém de custo mais elevado. Os tratamentos progestágenos e proeterônicos são, comumente, associados com a gonadotrofina coriônica equina (eCG) e análogos da prostaglandina F<sub>2α</sub> (PGF<sub>2α</sub>) (BARIL & SAUMANDE 2000).

No entanto, a sincronização do estro e da ovulação tem seu uso limitado em função do elevado custo e pequena disponibilidade de hormônios no mercado nacional, em especial na região Nordeste, caracterizando, dessa forma, um dos entraves para um maior desenvolvimento das biotécnicas reprodutivas (CARVALHO, 2009).

Diversos estudos têm mostrado que, em regiões do semiárido nordestino, a população possui um amplo conhecimento sobre a utilidade medicinal de determinadas espécies de plantas da caatinga, o que pode colaborar para o estudo mais intenso dessa flora para a permanência da biodiversidade e seu emprego dentro do ecossistema desse bioma. A *Vitex agnus castus* (L), conhecida, popularmente, como Liamba ou Alecrim-de-Angola, é utilizada para fins medicinais e religiosos. Também foi observado que seu uso contínuo reduz os problemas ocasionados pela síndrome pré-menstrual, que acomete um vasto número de mulheres e também pode minimizar os sintomas da menopausa (SCHELLENBERG, 2001; LUCKS, 2003).

Segundo Milewicz et al. (1993), a *Vitex agnus castus* (L) tem sido testada com eficácia clínica na normalização dos defeitos da fase lútea e dos baixos níveis de progesterona desta fase. Estudos relatam que a da referida planta e sua ação como agonista dopaminérgico, diminua a secreção de prolactina, ocasionando a uma supressão de LH, onde permite o desenvolvimento do corpo lúteo, o aumento dos níveis de progesterona e a redução dos sintomas da síndrome pré-menstrual (TESCH, 2003).

Nesse sentido, a fim de esclarecer a possibilidade da utilização de compostos naturais obtidos a partir de plantas, diversos estudos têm sido realizados para avaliar a verdadeira função da *Vitex agnus castus* (L), principalmente no tocante aos fenômenos fisiológicos. Todavia, não existem estudos referentes ao efeito do uso do óleo essencial da *Vitex agnus castus* L. sobre a na sincronização do estro de cabras. Tornando esse trabalho inédito. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do uso de esponjas intravaginais impregnadas com óleos essenciais da planta *Vitex agnus castus* L. na sincronização do estro e fertilidade de cabras.

## MATERIAL E MÉTODOS

**Aspectos éticos.** O experimento foi realizado após a aprovação institucional do Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Sertão Pernambucano (IF-SERTÃO), sendo todo o protocolo experimental conduzido conforme os princípios éticos de experimentação animal adotado pela Comissão de Ética no Uso de Animais, do Comitê de Ética e Deontologia em Estudos e Pesquisas da Universidade Federal do Vale do São Francisco, sob o Protocolo nº 0002/131014.

**Local do experimento.** O experimento ocorreu de maio a julho de 2015, no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sertão Pernambucano – IF-Sertão, em Petrolina, Pernambuco, localizado a 9° 23' 34" S, 40° 30' 28" O e numa altitude de 376 m. A temperatura média anual é de 26,4 °C e a umidade é de 58%.

**Animais experimentais.** Foram utilizadas 48 cabras da raça Anglo Nubiana, pluríparas, não lactantes, com idade (média ± desvio padrão) de 2,5 ± 1,0 anos e escore de condição corporal de 3,2 ± 0,4. Os animais foram submetidos a um regime semi-intensivo de produção, onde, pela manhã tinham acesso ao pasto e, no período da tarde, eram recolhidas em instalações cobertas, recebendo capim elefante (*Pennisetum purpureum*) picado no cocho, bem como água e sal mineral à vontade. As fêmeas foram selecionadas após ultrassonografia, evitando assim, que algum animal prenhe, bem como portador de

alguma patologia genital, fizesse parte do experimento. Foram utilizados, ainda, três bodes da mesma raça, de fertilidade comprovada, para detecção de estro após os tratamentos hormonais descritos a seguir.

**Sincronização do estro e delineamento experimental.** As cabras foram divididas, homogeneamente e ao acaso em quatro ( $n = 12$ ) grupos de tratamento, segundo o protocolo de sincronização de estro. No grupo 1 (MAP-COM), foi administrado intramuscularmente (im) 75 µg de d-cloprostenol (Prolise®, Tecnopec, Brasil) e depositado uma esponja intravaginal impregnada com 60 mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP) (Progespon®, Schering-Plough, Brasil), a qual foi retirada cinco dias depois. No dia da retirada das esponjas, as cabras receberam (im) 300 UI de eCG (Novormon®, Coopers, Brasil); No grupo 2 (MAP-ART), foi realizado o mesmo tratamento que no G1, sendo, porém, utilizadas esponjas intravaginais preparadas artesanalmente e injetadas com 60 mg de acetato de medroxiprogesterona (DEPO-PROVERA®, Pfizer, Brasil); O grupo 3 (OEVAC60) foi semelhante ao MAP-COM, mas a esponja intravaginal foi impregnada com 60 mg de óleo essencial de *Vitex agnus castus* L; e o grupo 4 OEVAC120 diferiu do OEVAC60 pela impregnação de 120 mg de óleo essencial de *Vitex agnus castus* L. na esponja intravaginal.

**Detecção do estro.** Utilizando três machos adultos, os quais ficaram expostos às fêmeas por, no mínimo, 30 minutos, observaram-se as cabras quanto à ocorrência de estro, a cada quatro horas, a partir de doze horas após o fim do tratamento. A fêmea foi considerada em estro pelo reflexo de imobilidade em relação à monta pelo macho. Separaram-se as cabras identificadas em estro das demais para não interferirem nas próximas observações.

**Obtenção do óleo essencial do *Vitex agnus castus* L e preparo das esponjas intravaginais.** Para obtenção do óleo essencial de *Vitex agnus castus* L, as partes aéreas foram coletadas na Rodovia Jatobá Carneiro, em Petrolina-PE (09°23'06,00"S; 40°27'15,90"O), Brasil. A espécie foi identificada pelo Dr. José Alves de Siqueira Filho e as exsiccatas foram depositadas no Herbário Vale do São Francisco, na Universidade Federal do Vale do São Francisco. Em seguida, as partes aéreas da *Vitex agnus castus* L. recém-colhidas foram trituradas em pedaços menores e submetidas à hidrodestilação, em um aparelho do tipo Clevenger modificado, durante duas horas. Posteriormente, uma mistura de fase aquosa e oleosa foi obtida, resultando no óleo essencial de coloração e odor característico. Essa mistura foi armazenada em um frasco âmbar e acondicionada em refrigeração, com uma temperatura inferior a 4°C. Quando a fase aquosa congelou, retirou-se o óleo obtido na extração e foram mantidas as mesmas condições anteriores. Após a extração, a identificação química foi efetuada em cromatógrafo gasoso acoplado a espectrômetro de massas (CG-EM), através de colaboradores na Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS). Os constituintes foram determinados baseados na comparação dos espectros de massa obtidos com os espectros de massa de compostos de referência.

**Forma de preparo das esponjas artesanais.** Para fabricação artesanal das esponjas, foi utilizada espuma de poliuretano com densidade 20 e altura de 3 cm. Para obter o formato cilíndrico das esponjas, foi utilizado um cano de ferro com 30 cm de comprimento e 2 a 3 cm de diâmetro, cujas bordas foram afiadas em esmeril, tornando-as cortantes. Em seguida, a borda cortante do cano foi pressionada contra a espuma, o cano girado no sentido horário até a liberação total do cilindro de espuma. Depois, foi colocado o fio de remoção da esponja, utilizando uma agulha de costura com 60 cm de fio de algodão número zero. Para tanto, a agulha foi inserida na parede lateral do cilindro de esponja (sentido horizontal) até atravessá-la, sendo, em seguida, removida e realizada uma segunda perfuração paralela à primeira (a, aproximadamente, 1 cm de distância). Assim, a agulha foi removida, deixando apenas o fio preso à esponja, sendo as pontas do fio igualadas.

Em seguida, foi puxada a porção do fio que estava envolvendo a esponja no lado oposto ao da saída das pontas, de modo a formar uma alça que atingisse a borda superior do cilindro de esponja. Posteriormente, houve o entrelaçamento do fio, passando uma das pontas do mesmo por dentro da alça e a outra por cima e por dentro da mesma. Depois, o fio foi ajustado no centro da extremidade superior da esponja, sendo feitos alguns nós com as pontas, cuidando para que ficassem no centro da circunferência, permitindo o equilíbrio da esponja.

As esponjas permaneceram numa solução contendo hipoclorito (*Água Sanitária Tubarão*®, Raymundo da Fonte, Brasil) a 0,5% por 24 horas. Passado esse tempo, as mesmas foram lavadas constantemente para retirar os resíduos do hipoclorito. Após esse processo, as esponjas foram colocadas em estufa de esterilização e secagem (Estufa de esterilização e secagem, mod. 1.3®, Medicate, Brasil) para secar por 24 horas. Em seguida, foi aplicado 60 mg de acetato de medroxiprogesterona (Depo Provera®, Pfizer, Bélgica) em algumas esponjas e 60 mg e 120 mg do óleo essencial de *Vitex agnus castus* L. em outras, conforme delineamento experimental já descrito anteriormente. A aplicação do hormônio e do óleo foram realizadas em vários pontos da esponja sempre do centro para a periferia, evitando o extravasamento dos produtos. Para secar as esponjas, as mesmas foram suspensas em um varal e



colocadas em local protegido da luz solar e de poeira. Por fim, as esponjas foram armazenadas em saco plástico vedado para não ter contato com o ar e estocadas em local protegido de luz solar direta.

**Colheita de sêmen e inseminação artificial.** Sêmen foi colhido de um bode da raça Anglo Nubiana através do método da vagina artificial, sendo, então, avaliado quanto aos parâmetros motilidade massal, motilidade individual progressiva, percentual de espermatozoides vivos e concentração espermática. Foram utilizados ejaculados com valores mínimos de 3 para motilidade massal, de 70% para motilidade individual progressiva e percentual de espermatozoides vivos, bem como de 3 bilhões de espermatozoides/mL para concentração espermática. Para a diluição do sêmen, empregou-se o diluidor a base de água de coco (NUNES 1982), sendo a concentração espermática ajustada para  $2 \times 10^6$  espermatozoides/mL. As inseminações artificiais foram realizadas cinquenta e quatro horas após a retirada do dispositivo, por via transcervical com sêmen a fresco diluído, envasado em palhetas plásticas de 0,25 mL (Bainha francesa®, IMV, França) e utilizando bainhas sanitárias (Bainha francesa®, IMV, França) para palhetas de 0,25 mL e inseminação artificial de caprinos e ovinos, lanterna de cabeça (Lanterna de cabeça 12 leds®, Black Jack, Estados Unidos), espéculo vaginal de Collins longo (Espéculo vaginal longo®, ERWIN GUTH, Brasil) e um aplicador para inseminação artificial de pequenos ruminantes (Aplicador Universal Nacional®, Alta Genetics, Brasil). O tipo de inseminação artificial foi registrado de acordo com a classificação de Chemineau et al. (1991), como Transcervical Superficial (sêmen depositado até o segundo anel cervical), Transcervical Profunda (sêmen depositado após o segundo anel cervical e dentro da cérvix) e Intrauterina (sêmen depositado no corpo do útero).

**Colheita de sangue e dosagem de progesterona.** Foram efetuadas colheitas de sangue para determinação da concentração de progesterona, a qual foi determinada para avaliar o status ovariano, antes, durante e após os tratamentos hormonais de sincronização do estro, bem como para detectar a ocorrência de ovulação seguida da formação de um corpo lúteo funcional. As colheitas foram realizadas nos seguintes momentos: sete dias antes à inserção do dispositivo intravaginal de sincronização do estro (D-7), na inserção do dispositivo (D0) e, diariamente, sempre às 06:00 h, entre os dias 1 e 5 (D1, D2, D3, D4, D5) (SOUZA 2010) e 14 dias após a retirada dos dispositivos. O sangue foi colhido por meio de punção da veia jugular em tubos vacuolizados (Tubos para coleta de sangue®, BD Vacutainer, Brasil). Após a colheita, os tubos foram acondicionados em caixas de isopor sob gelo até a centrifugação em centrífuga (Centrífuga Macro CSC24®, CentriBio, Brasil), a 5°C, por 15 min, a 2.000 g. O soro foi aspirado utilizando micropipeta e estocado em tubos plásticos de 1,5 mL (Tubo Eppendorf 1,5®, Eppendorf do Brasil, Brasil), em freezer (Freezer Horizontal H400®, Electrolux, Suécia), a -20°C, até a dosagem. A concentração de progesterona foi determinada pela técnica de eletroquimiluminescência, utilizando-se Kits comerciais (Access Progesterone®, Beckman Coulter, Brea, Califórnia, EUA). A sensibilidade foi de 0,08 ng/mL. A presença de um corpo lúteo funcional foi verificada quando a concentração de progesterona foi de, no mínimo, 1 ng/mL. Já a presença de um corpo lúteo gestacional, no 14º dia após a retirada das esponjas, foi considerado quando a concentração de progesterona variou de 2,6 a 10,8 ng/mL (KHANUM et al 2008).

**Diagnóstico de gestação.** Foram realizadas ultrassonografias transretais, 45 dias após a inseminação artificial, para aferir a proporção de fêmeas gestantes, com um aparelho portátil (Aquila Vet®, Piemedical, Holanda), equipado com um transdutor linear multifrequencial de 6 a 8 MHz (Probe 6/8 MHz®, Piemedical, Holanda), adaptado para pequenos ruminantes. Para a realização dos exames as cabras foram contidas em um tronco próprio. Em seguida, as fezes foram retiradas manualmente da ampola retal e, com uma seringa de 60 mL, foram depositados entre 15 a 20 mL de gel metilcarboxicelulose (Carbogel®, ULT, Brasil) para facilitar a transmissão ultrassônica. Em seguida, o transdutor linear foi introduzido até a visualização da bexiga e útero. Para a obtenção da imagem dos ovários, o transdutor foi rotacionado em sentido horário e anti-horário.

**Análise estatística.** Os dados foram examinados para o teste de normalidade utilizando o Shapiro-Wilk. Os resultados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão e percentagem. Para comparação dos parâmetros entre os grupos, foi utilizada a análise de variância (ANOVA), a medida que as variáveis não apresentavam uma distribuição normal, mesmo após transformação logarítmica ( $\log(x + 1)$ ), estas foram considerados não paramétricas, e, assim, as diferenças entre os tratamentos foram avaliadas pelo teste de Friedman. Os dados expressos em porcentagem foram submetidos ao Teste Exato de Fisher. Toda a análise foi realizada utilizando o software estatístico SAS® University Edition (Statistical Analyses System, 2014). Os valores foram considerados estatisticamente significativos quando  $P < 0,05$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Manifestação do estro

Com relação ao comportamento estral, todas as fêmeas dos quatro grupos experimentais submetidos à sincronização apresentaram estro, conforme mostra a Tabela 1. Também foi observado que não houve diferença significativa ( $P>0,05$ ) entre grupos para a porcentagem de animais em estro.

As taxas de ocorrência de estro foram semelhantes àsquelas observadas por Nogueira et al. (2008) em que 100% das cabras apresentaram estro após a sincronização com protocolo de curta duração, utilizando MAP e associado à eCG na retirada da esponja ou dispositivo. Isso porque, os dispositivos intravaginais são capazes de realizar uma grande sincronia de estro, sobretudo quando integrados a agentes luteolíticos (Lima et al 1997). Titi et al. (2010) observaram 77% de cabras da raça Damascus em estro, quando utilizaram esponjas intravaginais impregnadas com 40 mg de acetato de fluorogestona (FGA), associado à administração de 12,5 µg de prostaglandina F<sub>2α</sub> (PGF<sub>2α</sub>). Essa diferença pode ser explicada pela menor quantidade de PGF<sub>2α</sub> utilizada por Titi et al. (2010), retardando ou impedindo a regressão luteal em alguns dos animais.

A manifestação do estro em todas as cabras que estavam com esponjas impregnadas com óleo essencial de *Vitex agnus castus* L (OEVAC60 e OEVAC120), está de acordo com o uso tradicional de plantas em tratamento de problemas relacionados ao sistema reprodutor (ALI et al., 2015). Segundo Lucks; Sorensen; Veal (2002), o óleo essencial da folha da *Vitex agnus castus* mostrou ter uma ação terapêutica efetiva nos sintomas da menopausa em mulheres. Podendo os componentes do óleo atuar no eixo hipotalâmico hipofisário, diminuindo a secreção de FSH, LH e aumentando a liberação de progesterona (LUCKS, 2003).

### Fim do tratamento e início do estro

Com relação ao momento do início do estro, as cabras experimentais apresentaram comportamento estral,  $28,83 \pm 1,17$  horas após a retirada da esponja. As cabras do grupo OEVAC120 foram mais tardias ( $P<0,05$ ), quando comparadas àsquelas do grupo MAP-COM. Contudo, as cabras do grupo OEVAC60 iniciaram seus estros no mesmo intervalo a pós a retirada da esponja que os animais tratados com as esponjas comerciais e impregnadas com MAP (grupo MAP-COM). Além disso, os estros tiveram a mesma duração entre grupos de tratamento ( $P>0,05$ ), com os animais permanecendo em estro por  $44,93 \pm 1,22$  horas.

A Figura 1 mostra a distribuição de ocorrência de estro nos quatro tratamentos realizados. Inicialmente, foi observado que os inícios dos estros nos animais tratados com esponjas impregnadas com MAP, sejam comerciais (grupo MAP-COM) ou artesanais (grupo MAP-ART) se concentraram sutilmente mais cedo (16 a 32 horas após a retirada da esponja) quando comparados àsquelas registrados nos grupos experimentais onde os estros foram sincronizados através de esponjas artesanais impregnadas com óleo essencial de *Vitex agnus castus* L (24 a 36 horas após a retirada da esponja), seja na dose de 60 mg (grupo OEVAC60) seja na de 120 mg (grupo OEVAC120). Além disso, as cabras com estros sincronizados através de esponjas artesanais impregnadas com 120 mg de óleo essencial de *Vitex agnus castus* L (grupo OEVAC60) apresentaram estro de forma mais dispersa (8% das cabras iniciando seus estros em cinco diferentes intervalos após a retirada da esponja).

No presente estudo, o intervalo entre o fim do tratamento e o início do estro foi mais precoce ( $26,00 \pm 2,02$  horas) em relação a Leite et al. (2006) ( $34,8 \pm 10,4$  horas), após induzirem o estro de cabras da raça Saanen com 60 mg de MAP, por nove dias, com a administração de 200 UI de eCG e 37,5 µg de d-cloprostenol. Possivelmente, o menor intervalo entre a retirada da esponja e o início do estro em nosso trabalho deve-se ao protocolo de sincronização do estro utilizado, ou seja, de curto prazo. Os protocolos curtos podem levar a um intervalo mais curto entre a retirada do dispositivo ao início do estro, pois o crescimento folicular ocorre em padrão de ondas. (Rubianes et al 1998).

As cabras do grupo OEVAC120 foram mais tardias ( $P<0,05$ ) em relação ao início do estro, quando comparadas àsquelas do grupo MAP-COM. Esses resultados podem ser elucidados admitindo que uma menor dose de progestágeno possa exigir menor tempo para sua metabolização, principalmente porque essas substâncias caracterizam-se por uma meia vida curta e, assim, uma eliminação rápida. Dessa forma, o desbloqueio do eixo hipotalâmico-hipofisário acontece mais rapidamente, permitindo a liberação do GnRH e depois do LH, antecipando a manifestação do estro.

Contudo, as cabras do grupo OEVAC60 iniciaram seus estros no mesmo intervalo após a retirada da esponja que os animais tratados com as esponjas comerciais e impregnadas com MAP (grupo MAP-COM). Mostra que ambos os grupos conseguiram apresentar um aporte de progestágeno suficiente, possibilitando uma sincronia maior das cabras. Já que os grupos em questão mostraram uma pequena

dispersão e, assim, um melhor sincronismo para o início da manifestação do estro, uma vez que 50% das fêmeas já haviam manifestado estro até às 28 horas.

O presente estudo identificou valor de duração do estro superior ( $44,33 \pm 2,02$  horas) em comparação com o achado por Maffili et al. (2006) ( $35,00 \pm 5,89$  horas), quando utilizou cabras Toggenburg tratadas durante cinco dias com esponjas impregnadas com 60 mg de MAP e 50 µg de d-cloprostenol no início do tratamento, além de 250 UI de eCG no final do tratamento. A maior duração pode ser explicada pela ação da eCG no final do tratamento e a dose maior que foi usada no nosso estudo. Esta diferença, então, pode ser devida aos altos níveis de estrógeno no sangue produzidos após a luteólise induzida e o estímulo do crescimento folicular no ovário pela eCG exógena. Parece que os altos níveis séricos de estrógeno são responsáveis por uma duração prolongada do período estral verificado neste estudo, o que está de acordo com o observado por Ahmed et al. (1998). Assim, quanto maior a dose de eCG, maior a tendência para antecipação da ocorrência do estro após o fim do tratamento.

Os inícios dos estros nos animais dos grupos MAP-COM e MAP-ART se concentraram sutilmente mais cedo (16 a 32 horas após a retirada da esponja) quando comparados àqueles registrados nos grupos OEVAC60 e OEVAC120 (24 a 36 horas após a retirada da esponja). Este aparecimento mais precoce do estro pode estar relacionado ao fato dos dispositivos à base de progéstagénos estarem sendo absorvido mais rapidamente, desbloqueando o eixo hipotalâmico-hipofisário mais cedo, antecipando e concentrando melhor o início do estro.

Além disso, as cabras com estros sincronizados no grupo OEVAC120 apresentaram estro de forma mais dispersa. Esses resultados podem ser elucidados, visto que a dose utilizada nesse grupo corresponde à ação de duas esponjas de MAP e, conseqüentemente, necessitando de um maior tempo de absorção pelos animais, gerando, dessa forma, corpos lúteos de pior qualidade e resultando no aparecimento dos estros de forma irregular e dispersa. Segundo Foote (1982), a inserção de duas esponjas pretendendo aumentar os níveis de progesterona não melhorou os índices de fertilidade.

### **Concentrações de progesterona**

No tocante às concentrações de progesterona antes, durante e após os tratamentos de sincronização do estro, foi observado, inicialmente, que todas as cabras apresentavam concentrações de progesterona acima de 1 ng/mL sete dias antes do início dos tratamentos hormonais, sem ( $P > 0,05$ ), contudo, diferença significativa entre grupos experimentais. No dia do início dos tratamentos hormonais, concentrações de progesterona, embora presentes, eram mais baixas que aquelas observadas sete dias antes, também sem diferença significativa ( $P > 0,05$ ) entre grupos experimentais. A partir do primeiro dia após o início dos tratamentos de sincronização do estro, houve uma queda ( $P < 0,05$ ) nas concentrações de progesterona em todos os grupos para 0 ng/mL e esta concentração foi observada até o último dia do tratamento. A partir da retirada das esponjas até o dia 14 após o final do tratamento hormonal, uma elevação das concentrações de progesterona foi observada em todos os grupos experimentais ( $P < 0,05$ ). Além disso, no 14º dia após a retirada das esponjas, as concentrações de progesterona nas cabras dos grupos MAP-COM e MAP-ART foram superiores ( $P < 0,05$ ) àquelas dos animais pertencentes aos grupos OEVAC60 e OEVAC120 (Figura 2).

Foi observado, inicialmente, que todas as cabras apresentavam concentrações de progesterona acima de 1 ng/mL sete dias antes do início dos tratamentos hormonais, sem, contudo, diferença entre grupos experimentais. Significa que as cabras estavam cíclicas, uma vez que é admitida como atividade ovulatória (presença de corpo lúteo ativo), quando as concentrações de progesterona se apresentam  $\geq 1,0$  ng/mL (Thimonier 2000).

No dia do início dos tratamentos hormonais, concentrações de progesterona eram mais baixas que aquelas observadas sete dias antes, também sem diferença entre grupos experimentais. Provavelmente, as cabras não responderam à aplicação do análogo da prostaglandina  $F2\alpha$ , com posterior aumento para nível luteal no transcorrer do experimento. Estudos realizados relatam que a prematura elevação de progesterona durante a fase inicial do ciclo estral, quando a administração de análogos da prostaglandina  $F2\alpha$  é ineficaz, impede a formação do corpo lúteo por promover inadequado suporte luteotrófico após a ovulação (Maffili 2004).

Além disso, o corpo lúteo é uma estrutura heterogênea apresentando dois tipos de células diferentes: as células luteais grandes e as pequenas. Estas duas populações celulares mostram distinto comportamento na resposta da estimulação gonadotrófica e também em relação a ação das prostaglandinas. As células luteais pequenas secretam grande quantidade de progesterona quando são estimuladas pelo LH, respondendo a ação de outros agentes que estimulam a atividade da proteína quinase-C e a  $PGF_{2\alpha}$  com um aumento na síntese de progesterona (Braden et al 1988). As células luteais grandes, que são as que secretam maiores quantidades basais de progesterona, sofrem inibição da síntese de progesterona induzida pelo LH por ação da  $PGF_{2\alpha}$ . Embora a  $PGF_{2\alpha}$  exerça uma ação luteolítica, os

receptores para as prostaglandinas estão presentes em ambos tipos de células, sendo as células luteais grandes o local onde se inicia a ação luteolítica da prostaglandina F<sub>2α</sub>. A comunicação intercelular entre células luteais grandes e pequenas, assim como entre células luteais e não luteais, são necessários para que seja processada a regressão do corpo lúteo (Reynolds et al 2000).

A partir do primeiro dia após o início dos tratamentos de sincronização do estro, houve uma queda nas concentrações de progesterona em todos os grupos para 0 ng/mL e esta concentração foi observada até o último dia do tratamento.

Viñoles et al. (1999) trabalhando com ovelhas, encontrou concentrações subluteais de progesterona, justificando pelo fato dos progestágenos promover excessivo crescimento e persistência de folículos maiores. Dessa forma, os progestágenos atuam no nível do eixo hipotalâmico-hipofisário, influenciando, de forma negativa, a secreção tônica e o pulsátil de LH, diminuindo assim sua amplitude e frequência (Diskin et al 2002). Não obstante, a presença de progesterona ou de seus análogos sintéticos promove um atraso no desenvolvimento folicular, por inibir a liberação de LH via feedback negativo no eixo hipotalâmico-hipofisário (Burns et al 1993). Este acontecimento foi reforçado por Uribe-Velásquez et al. (2008), onde relatou que os efeitos inibitórios da progesterona exógena na dinâmica folicular ovina são mediados pelas alterações na frequência dos pulsos de LH, podendo afetar os programas de sincronização do estro e da ovulação.

A partir da retirada das esponjas até o dia 14 após o final do tratamento hormonal, uma elevação das concentrações de progesterona foi observada em todos os grupos experimentais. Já é sabido que a administração de um progestágeno exógeno durante o ciclo estral bloqueia a secreção hipofisária de gonadotrofinas e, ao final do tratamento, a desinibição do eixo hipotálamo-hipofisário permite a liberação de gonadotrofinas e, por conseguinte, o estro e a ovulação (Freitas & Lopes Júnior, 2001). De acordo com Greyling et al. (1994), a retirada da esponja remove o bloqueio da progesterona e induz instantaneamente a liberação de gonadotrofina e a subsequente ovulação nas fêmeas tratadas. Além disso, o aumento nas concentrações de progesterona nesse período pode ser resultado da atividade do corpo lúteo somado à atividade de folículos grandes luteinizados. No presente estudo, este ocorrido corrobora com Pearce & Robinson (1985), trabalhando com ovelhas Merino, nas quais demonstraram a existência de aumento linear na taxa ovulatória quando aumentaram a dose de eCG (300 e 600 UI), elevando as concentrações plasmáticas de progesterona. Estabeleceu-se, possivelmente, uma relação direta entre a dose de eCG, número de corpos lúteos e as concentrações plasmáticas de progesterona (Evans & Robinson 1980).

Em ovinos, Leyva et al. (1998), ao dosar progesterona observou que a concentração plasmática de progesterona é aumentada no dia seguinte da ovulação (0,8 ng/mL), porém só significativa a partir do segundo dia (2,4 ± 0,3 ng/mL). Correlacionando a esses dados conclui-se que todos os grupos testados no estudo não foram eficientes na formação de corpos lúteo de boa qualidade.

Além disso, no 14º dia após a retirada das esponjas, as concentrações de progesterona nas cabras dos grupos MAP-COM e MAP-ART foram superiores àquelas dos animais pertencentes aos grupos OEVAC60 e OEVAC120. Isso é possível devido ao desenvolvimento do corpo lúteo que secreta progesterona, aumentando seus níveis de concentração (RUBIANES, 2000), mostrando que esses grupos foram mais efetivos na sincronização e ovulação dos animais. A mensuração da progesterona no D14 é recomendada como um método de diagnóstico de gestação precoce com alta sensibilidade (88-100%) (Barbato et al 2009). Os níveis séricos de progesterona na gestação das cabras de nosso estudo foram, em média, de 7,57 ng/mL, mantendo-se acima de 3,18 ng/mL, similarmente aos encontrados em cabras Damasco (Zarkawi & Sukouti 2001) no período gestacional. No entanto, a análise de perfis de progesterona nos permite avaliar não somente se ocorreu ovulação, perda embrionária e luteólise prematura, mas também indica a função lútea, na medida em que a concentração de progesterona é um reflexo da atividade luteínica (De Nicolo et al 2009).

No presente estudo, as concentrações de progesterona no D14 nos grupos MAP-COM e MAP-ART, apenas, comprovaram as boas taxas de fertilidade encontradas nos respectivos grupos de tratamentos. Este resultado era esperado, pois, com o desenvolvimento e o amadurecimento do corpo lúteo, principalmente por ação do LH, ocorreu aumento na produção de progesterona e, conseqüentemente, elevação da sua concentração (McCracken et al 1999), o que possibilitou a manutenção da gestação. Por outro lado, os grupos OEVAC60 e OEVAC120 apresentaram baixas concentrações de progesterona, o que foi evidenciado pela taxa de fertilidade. Possivelmente, os constituintes químicos da *Vitex agnus castus* agiram em sinergismo com uma função de progesterona o que pode ter acarretado um bloqueio na liberação de FSH, enquanto que a secreção do hormônio luteinizante foi estimulada. De acordo com Alves; Freires; Castro, (2010) o óleo essencial apresenta uma composição complexa e diversificada de vários compostos químicos, os quais apresentam ação sinérgica ou complementar entre si, modalizando sua atividade. Embora ambas as gonadotrofinas sejam produzidas pelo mesmo tipo celular, são secretadas de forma diferenciada. Enquanto o LH é secretado de forma pulsátil, o FSH é secretado de maneira constitutiva, isto

é, grande parte do hormônio é liberada na velocidade em que é produzida, embora uma pequena parcela possa ser armazenada para ser liberada em resposta ao GnRH (Farnworth 1995). Sugere-se, então, que houve uma prematura luteinização das células granulosa e células da teca. A regulação da proliferação e da diferenciação celular, bem como da atresia, relacionadas à foliculogênese ovariana, é resultado de uma complexa interação entre fatores locais e endócrinos (Silva et al 2006).

Em um estudo, Camp et al. (1983) criaram uma série de indagações e possibilidades sobre monitoramento, estimulação e interrupção da função luteal na cabra. Por exemplo, o predomínio ou a presença de corpo lúteo pode levar a cabra à síntese e secreção de progesterona em concentrações sub-ótimas para o reconhecimento materno da gestação. A luteólise parece ser iniciada em algum momento a partir do dia 12 do ciclo estral e apresentar claras evidências no dia 17. Visto que, se o oócito for fertilizado, o corpo lúteo é mantido durante toda a gestação, compondo a fonte de progesterona indispensável à manutenção da mesma (Granados et al 2006). No entanto, a queda nas concentrações de progesterona em animais gestantes, após atingirem seu pico por volta dos dias 13 e 16 do ciclo estral, é um fenômeno conhecido em caprinos. Os fatores que levam a esta queda ainda não são conhecidos. Nas condições deste experimento, concentrações de progesterona elevadas no início da gestação pareceram não ter efeito benéfico sobre o reconhecimento e estabelecimento da gestação.

### Fertilidade

Com relação à fertilidade após os diferentes tratamentos de sincronização de estro e inseminação artificial transcervical, foi observado apenas 31,25% de taxa de gestação. Considerando os grupos de sincronização do estro, as cabras com estros sincronizados com esponjas impregnadas com MAP (MAP-COM e MAP-ART) apresentaram maiores taxas de gestação que aquelas tratadas com esponjas artesanais impregnadas com óleo essencial de *Vitex agnus castus* L (OEVAC60 e OEVAC120) (Tabela 2).

A fertilidade encontrada no presente trabalho foi de 31,25%. Fonseca (2005), na região Sudeste do Brasil, observou taxa de gestação de cabras de 77,3% com protocolo curto (seis dias) de sincronização em cabras leiteiras, utilizando MAP, aplicação de 22,5µg de PGF<sub>2α</sub> por via intra-vulvo-submucosal e 200 UI de eCG, por via intramuscular. Menchaca & Rubianes (2004), quando utilizaram um protocolo de sincronização de estro de cinco dias, uma única inseminação artificial em tempo fixo (IATF) no mesmo momento do nosso estudo (54 horas após o final do tratamento), obtiveram uma taxa de gestação de 64,8%. Portanto, as taxas de fertilidade obtidas neste trabalho podem ser consideradas baixas. Como as fêmeas apresentaram um curto intervalo entre o fim do tratamento com o dispositivo ao início do estro, pode também ter antecipado a ovulação e a inseminação artificial ocorrer de forma tardia.

A duração do estro foi de 44,33 ± 2,02 h, sendo mais curta do que o observado por Maffili et al. (2005), os quais, ao trabalharem com cabras da raça Saanen sincronizadas com esponjas de MAP por cinco dias, obtiveram uma duração de 63,2 ± 24,9 h. Assim, é provável que as IA tenham ocorrido tardiamente, não coincidindo com o momento da ovulação, o que poderia ter levado à fecundação de oócitos já em degeneração.

As cabras com estros sincronizados nos grupos MAP-COM e MAP-ART apresentaram maiores taxas de gestação que aquelas dos grupos OEVAC60 e OEVAC120. A baixa taxa de prenhez observada nesses grupos 25% (3/24), quando comparada à taxa de 100% de manifestação do estro, sugere que, mesmo que as esponjas impregnadas com óleo da *Vitex agnus castus* L. tenham sido eficazes para induzir o comportamento de estro, parecem ter sido insuficientes para induzir e/ou sincronizar a ovulação. Resultados semelhantes foram obtidos por Cruz et al. (2010), que, trabalhando com cabras, obtiveram 100% de manifestação estral quando as mesmas foram submetidas a um protocolo de sincronização estral com o dispositivo Norgestomet de 3º uso, obtendo, no entanto, uma taxa de prenhez de 14,3%. Acredita-se que a manifestação do estro anovulatório pode ser justificada por um possível estímulo neuro-hormonal insuficiente, o que acarreta no comprometimento da liberação do pico pré-ovulatório de LH (Cruz et al 2010).

### Tipo de inseminação artificial transcervical

Considerando o tipo de inseminação artificial transcervical e independente do grupo experimental, a proporção de inseminações artificiais intrauterinas foi significativamente superior (P<0,05) que as demais (Tabela 2). Da mesma forma, a taxa de gestação nas fêmeas inseminadas por via intrauterina foi superior (P<0,05) àquela resultante dos demais tipos de inseminação artificial (Tabela 2).

No tocante ao tipo de inseminação artificial e considerando o grupo experimental de sincronização do estro, as proporções de inseminações artificiais intrauterinas e intracervicais profundas no grupo MAP-COM foram significativamente superiores (P<0,05) às intracervicais superficiais (Tabela 2). Já no grupo OEVAC120, as proporções de inseminações artificiais intrauterinas foram significativamente superiores (P<0,05) às intracervicais superficiais e profundas (Tabela 2).

A proporção de inseminações artificiais intrauterinas foi superior que os demais tipos de inseminação artificial. Isso pode ter ocorrido devido habilidade dos inseminadores na realização da IA, uma vez que esse aspecto tem influência nos resultados obtidos com esta técnica (Windsor et al 1994). A facilidade de transposição intrauterina pode estar relacionada ao momento do ciclo estral em que a fêmea se encontrava. Durante o estro e ovulação, ocorre um relaxamento natural em decorrência da mudança hormonal desencadeada por esses eventos. A elevação dos níveis de estradiol e receptores de ocitocina no período pré-ovulatório elevam a síntese de prostaglandina E2, que remodela a matriz extracelular cervical, promovendo o relaxamento da cérvix (Stys et al 1981, Ledger et al 1983, Shemesh 1997). Além disso, muitas fêmeas do estudo eram pluríparas, e, segundo Almeida et al. (2002), a ordem de parto possui influência direta sobre a penetração cervical.

Da mesma forma, a taxa de gestação nas fêmeas inseminadas por via intrauterina foi superior àquelas resultantes dos demais tipos de inseminação artificial. Frazão Sobrinho et al. (2005) realizaram 13 inseminações artificiais cervicais superficiais, 17 cervicais profundas e 10 uterinas, resultando em 23,10%, 23,50% e 70% de taxa de gestação, respectivamente. Esses resultados mostram que a deposição do sêmen no corpo do útero, através da técnica de inseminação artificial em caprinos, influencia positivamente a taxa de fertilidade (Traldi 2006). A influência do local de deposição do sêmen no trato reprodutivo feminino sobre a taxa de gestação varia significativamente com a concentração da dose inseminante e com a motilidade progressiva dos espermatozoides (Siqueira 2006).

As proporções de inseminações artificiais intrauterinas e intracervicais profundas no grupo MAP-COM foram superiores às intracervicais superficiais. Tais resultados indicam uma melhor eficiência desse grupo para induzir a manifestação de estro, uma vez que o estradiol é responsável pela dilatação cervical, permitindo uma maior penetrabilidade da cérvix (Shemesh, 1997). Guimarães (2016), trabalhando com ovelhas, obteve uma menor taxa de penetrabilidade cervical nos animais que manifestaram estro mais tardio, quando comparados àqueles que tiveram o estro manifestado mais precoce.

Já no grupo OEVAC120, as inseminações artificiais intrauterinas foram superiores às intracervicais superficiais e profundas. Isso pode ser elucidado devido à habilidade da *Vitex agnus-castus* L. de se ligar aos receptores dopaminérgicos, que podem promover a vasodilatação e, conseqüentemente, o relaxamento da cérvix, o que indicaria a facilidade na passagem do aplicador nesse grupo (Tesch, 2003; Daniele et al 2005, Carmichael, 2008).

### CONCLUSÃO

Portanto, podemos concluir que o uso de esponjas intravaginais impregnadas com 60 e 120 mg de óleo essencial da planta *Vitex agnus castus* L. em um protocolo de sincronização do estro a curto prazo e associado à administração de eCG é capaz de sincronizar o estro, mas não a ovulação de cabras. Contudo, este protocolo associado à inseminação artificial realizada 54 h após a retirada da esponja resulta em baixa fertilidade em cabras.

Estudos adicionais devem ser realizados, avaliando doses alternativas do óleo essencial de *Vitex agnus castus* L. nos diferentes protocolos de sincronização do estro e associando a inseminação artificial com base no início do estro sincronizado.

### AGRADECIMENTO (S)

Os autores agradecem ao Professor M.Sc. Fernando Medina (*in memoriam*) que contribuiu imensamente para a execução desse experimento.

### REFERÊNCIAS

- Ahmed, M. M., MakwI, S. E. & Jabura, A. S. Synchronisation of oestrus in Nubian goats. *Small Ruminant Research*, v. 52, p. 1129-1135, 1998.
- Almeida, V. M., Câmara, D. R., Salles, H. O., Oliveira, D. P. F., Medeiros, J. N. & Alves, O. M. M. Colheita de embriões via transcervical em ovinos. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 26, p. 82-84, 2002.
- Barbato, O., Sousa, N. M., Debenedetti, A., Canali, C., Todini, L. & Beckers, J. F. Validation of a new pregnancy-associated glycoprotein radioimmunoassay method for the detection of early pregnancy in ewes. *Theriogenology*, v.72, p.993-1000. 2009.
- Baril, G. & Saumande, J. Hormonal treatments to control time of ovulation and fertility of goats. In: *International Conference on Goats*, 7, 2000, Tours, France. *Proceedings...* Paris: INRA; IGA, 2000. P. 400-405.
- Burns, P. D., Spitzer, J. C., Bridges, W. C. Jr., Henricks, D. M., Plyler, B. B. Effects of metoestrus administration of a norgestomet implant and injection of norgestomet and oestradiol valerate on luteinizing hormone release and development and function of corpora lutea in suckled beef cows. *Journal of Animal Science*, v.71, p.983-988, 1993.

- Braden, T. D., Gamboni, F. & Niswender, G. D. Effects of prostaglandin F2 $\alpha$ -induced luteolysis on the populations of cells in the ovine corpus luteum. *Biology of Reproduction*, v.39, p.245-253, 1988.
- Brown, R. E. Hormônios e comportamento parental. In: COSTA, M. J. P., CROEMBERG, V. U. (eds.). *Comportamento materno em mamíferos. Bases teóricas e aplicações aos ruminantes domésticos*. Sociedade Brasileira de Etologia. São Paulo. Pp. 53-99, 1998.
- 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.
- Carmichael, A.R. Can *Vitex Agnus Castus* be used for the treatment of mastalgia what is the current evidence? *Evidence Based Complement Alternative Medicine*, v. 5, n.3, p. 247-250, 2008.
- Carvalho, J. A. Sincronização do estro e da ovulação em ovelhas da raça Santa Inês após tratamento com progestágeno novo e reutilizado associado a eCG ou FSHp. 56p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, BA, UESB, 2009.
- Chemineau, P., Cognié, Y., Guérin, Y., Orgeur, P. & Vallet, J.C. Training manual on artificial insemination in sheep and goats. Rome, FAO, 1991. 222 p.
- Cruz, M. H. C., Cruz, J. F., Moura, L. C. O., Teixeira Neto, M. R., Ferraz, R. C. N., Becker-Silva, S. C. & Snoeck, P. N. Eficácia de implantes de Norgestomet reutilizados no controle do ciclo estral de cabras leiteiras. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v. 32, p. 219-224, 2010.
- Daniele, C., Thompson Coon, J., Pittler, M. H., Ernst, E. *Vitex agnus castus*: a systematic review of adverse events. *Drug Saf.*, v. 28, n.4, p. 319-332, 2005.
- Diskin, M. G., Austin, E. J. & Roche, J. F. Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle. *Domestic Animal Endocrinology*, v.23, p.211-228, 2002.
- De Nicolo, G., Parkinson, T. J., Kenyon P. R., Morel, P. C. & Morris, S. T. Plasma progesterone concentrations during early pregnancy in spring- and autumn-bred ewes. *Animal Reproduction Science*, v.111, p.279–288, 2009.
- Evans, G., & Robinson, T. J. The control of fertility in sheep: endocrine and ovarian responses to progestagen-PMSG treatment in the breeding season and in anoestrus. *Journal of Agricultural Science*, v.94, p.69-88, 1980.
- Farnworth, P. G. Gonadotrophin secretion revised – how many ways can FSH leave a gonadotrophin. *Journal of Endocrinology*, v.145, p.387-395, 1995.
- Fonseca, J. F. Estratégias para o controle do ciclo estral e superovulação em caprinos e ovinos. In: Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 16, 2005, Goiânia, Anais..., Goiânia, 2005.
- Foote, W. C. Hormonal control of reproduction in sheep and goats. *Dairy Goat Journal*, v.60, p.560-568, 1982.
- Frazão Sobrinho, J. M., Vieira, R. J., Macedo, N. A., Cavalcante, V. C., & Silva, J. M. Fertilidade de cabras SRD inseminadas por via transcervical de acordo com o local de deposição do sêmen e número de inseminações. In: CONGRESSO NORTE/NORDESTE DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 2., 2005, Teresina. [Trabalhos apresentados.Teresina: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal; Universidade Federal do Piauí, 2005. Seção resumos. 1 CD-ROM.
- Freitas, V. J. F., & Lopes Júnior, E. S. Controle do estro e da ovulação em caprinos. In: Gonçalves P.B.D.; Figueiredo, J. R., Freitas, V. J. F. *Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal*. Varela, São Paulo. 2001.
- Granados, L. B. C., Dias, A. J. B., & Sales, M. P., 2006. Aspectos gerais da reprodução de caprinos e ovinos. *Capacitação dos técnicos e produtores do Norte e Noroeste Fluminense em Reprodução de Caprinos e Ovinos*. 1ª ed. Campos dos Goytacazes. Projeto PROEX/UENF.
- Greyling, J. P. C., Kotze, W. F., Taylor, G. F., Hagendijk, W. J., & Cloete, F. Synchronization of oestrous in sheep: use of different doses of progestagen outside the normal breeding season. *South African Journal of Animal Science*, v.24, p. 33-37, 1994.
- Guimarães, A. S. L. Uso do Óleo Essencial de *Croton Nepetifolius* Baill na penetrabilidade cervical em ovelhas mestiças de Dorper e Santa Inês. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do vale do São Francisco, Campus Ciências Agrárias, 2016. 68 p.
- Khanum, S. A., Hussain, M. & Kausar, R. Progesterone and estradiol profiles during estrous cycle and gestation in dwarf goats (*Capra hircus*). *Pakistan Veterinary Journal*, v. 28, n. 1, p. 1-4. 2008.
- Knights, M., Maze, T. D., Bridges, P. J., Lewis, P. E. & Inskeep, E. K. Short-term treatment with a controlled internal drug releasing (CIDR) device and FSH to induce fertile estrus and increase prolificacy in anestrus ewes. *Theriogenology*, v.55, p.1181-1191, 2001.
- Ledger, W. L., Ellwood, D. L. & Taylor, M. J. Cervical softening in late pregnant sheep by infusion of prostaglandin E-2 into a cervical artery. *Journal of Reproduction Infertility*, v. 69, p. 511–515, 1983.
- Leite, P. A. G., Carvalho, G. R., Rodrigues, M. T., Ruas, J. R. M., Amorim, E. A. M. & Maffili, V. V. Indução da ovulação em cabras, fora da estação reprodutiva, com LH e GnRH e com estro induzido por progestágenos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.58, p.360-366, 2006.

- Leyva, V., Buckrell, B. C. & Walton, J. S. Regulation of follicular and ovulation in ewes by exogenous progestagen. *Theriogenology*, v.50, p.395-416, 1998.
- Lima, F. R. G., Araújo, A. A. & Freitas, V. J. F. Uso de diferentes tratamentos hormonais de sincronização do estro em cabras nativas do Nordeste do Brasil. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.21, n.2, p.136-139, 1997.
- Lucks, B. C. *Vitex agnus castus* essential oil and menopausal balance: a research update. *Complementary Therapies in Nursing and Midwifery*, v.8, p.148-154, 2003.
- McCracken, J. A., Custer, E. E. & Lamsa, J. Luteolysis: a neuroendocrine-mediated event. *Physiology Review*, v.79, p.263-323, 1999.
- Maffili, V. V. Caracterização de protocolos visando à máxima eficiência reprodutiva em caprinos. Viçosa-MG: UFV, 2004. 118 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2004.
- Maffili, V. V., Torres, C. A. A., Bruschi, J. H., Fonseca, J. F. & Viana, J. H. M. Indução de estro em cabras da raça Toggenburg com dois diferentes dispositivos intravaginais. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 58, n. 3, p. 367-372, 2006.
- Maffili, V. V., Torres, C. A. 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 de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 57, n.5, p.591-598, 2005.
- Maia Júnior, A., Araújo, A. A. & Salles, M. G. F. Indução e sincronização do estro e da ovulação em cabras leiteiras Saanen com uso de dispositivos vaginais associados ou não à eCG ou efeito macho. *Acta Veterinaria Brasilica*, v.3, n.4, p.157-162, 2009.
- Menchaca, A. & Rubianes, E. New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. *Reproduction Fertility Development*, v. 16, p. 403-413, 2004.
- Merz, P. G., Gorkow, C., Schrödter, A., Rietbrock, S., Sieder, C., Loew, D., Dericks-Tan, J. S., Taubert, H. D. The effects of a special *Agnus castus* extract (BP1095E1) on prolactin secretion in healthy male subjects. *Experimental Clinical Endocrinology Diabetes*, v.104, n.6, p. 447-53, 1996.
- Milewicz, A., Gejdel, E., Sworen, H., Sienkiewicz, K., Jedrzejak, J., Teucher, T., Schmitz, H. *Vitex agnus castus* extract in the treatment of luteal phase defects due to latent hyperprolactinemia. Results of a randomized placebo-controlled double-blind study. *Arzneimittelforschung*, v. 43, n. 7, p. 752-760, 1993.
- Nogueira, D. M., Lopes Júnior, E. S., Christilis, M., Monte, A. P. O. do., Martins, S. R. Fertilidade de cabras leiteiras exploradas na região semi-árida do Nordeste do Brasil após inseminação artificial e utilização por até três vezes do dispositivo de liberação controlada de drogas (CIDR) para sincronização do estro. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 45, 2008, Lavras, Anais... Lavras, UFLA, 2008.
- Nunes, J. F. Étude des effets du plasma seminal sur la survie in vitro des spermatozoïdes de bouc. 76p. Tese (Doutorado). Université Pierre et Marie Curie, Paris, 1982.
- Pearce, D. T. & Robinson, T. J. Plasma progesterone concentrations, ovarian and endocrinological responses and sperm transport in ewes with synchronized oestrus. *Journal of Reproduction and Fertility*, v.75, p.49-62, 1985.
- Reynolds, L. P., Grazul-Bilska, A. T. & Redmer, D. A. Angiogenesis in the corpus luteum. *Endocrine*, v.12, p.1-9, 2000.
- Rubianes, E. Nociones básicas de fisiología reprodutiva em cabras y ovejas. In: Simpósio sobre controle farmacológico do ciclo estral em ruminantes, 2000. São Paulo - SP Anais. São Paulo - SP: FMVZ-USP. 2000.
- Rubianes, E., Castro, T. & Kmaid, S. Estrus response after a short progesterone priming in seasonally anestrous goats. *Theriogenology*, v.49, p.356, 1998.
- Schellenberg, R. Treatment for the premenstrual syndrome with agnus castus fruit extract: prospective, randomised, placebo controlled study. *British Medical Journal*, v. 322, p. 134-137, 2001.
- Silva, J. R., Van Den Hurk, R. & Figueiredo, J. R. Expression of mRNA and protein localization of epidermal growth factor and its receptor in goat ovaries. *Zygote*, v.14, p.107-117, 2006.
- Siqueira, A. P. Inseminação artificial em caprinos com sêmen resfriado. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, 2006. 106 p.
- Shemesh, M. Regulation of bovine cervical secretion of prostaglandins and synthesis of cyclooxygenase by oxytocin. *Reproduction Fertility of Development*, v. 9, p. 525-530, 1997.
- Souza, J. M. G. 2010. Reutilização de dispositivos intravaginais de progesterona autoclavados para a indução e sincronização de estro em cabras da raça Toggenburg submetidas à dinâmica folicular. Viçosa-MG: Universidade Federal de Viçosa. Master Thesis.
- Stys, S. J., Dresser, B. L., Otte, T. E. & Clark, K. E. Effect of prostaglandin E2 on cervical compliance in pregnant ewes. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, v. 140, p. 415-419, 1981.
- Tesch, B. J. Herbs commonly used by women: an evidence-based review. *American Journal of Obstetrician Gynecology*, v. 188, n. 5, p. 44-55, 2003.



- Titi, H. H., Kridli, R. T. & Alnimer, M. A. Estrus synchronization in sheep and goats using combinations of GnRH, progestagen and prostaglandin F<sub>2α</sub>. *Reproduction in Domestic Animals*, v. 45, p. 594-599, 2010.
- Thimonier, J. Determination de l'état physiologique des femelles par analyse des niveaux de progestérone. *Production Animale*, v. 13, n. 3, p. 177-183, 2000.
- Traldi, A. S. Biotécnicas aplicadas em reprodução de pequenos ruminantes. In: III Feira Internacional de Caprinos e Ovinos. 3, 2006, Pirassununga, São Paulo. Anais... III FEINCO, 3, 2006. CD Rom.
- Uribe-Velásquez, L. F., Oba, E. & Souza, M. I. L. Efeitos da progesterona exógena sobre o desenvolvimento folicular em ovelhas. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.60, p.58-65, 2008.
- Viñoles, C., Meikle, A., Forsberg, M. & Rubianes, E. The effect of subluteal levels of exogenous progesterone on follicular dynamics and endocrine patterns during the early phase of the ewe. *Theriogenology*, v. 51, p. 1351-1361, 1999.
- Windsor, D. P., Széll, A. Z., Buschbeck, C., Edward, A. Y., Milton, J. T. B. & Buckrell, B. C. Transcervical artificial insemination of Australian Merino ewes with frozen-thawed semen. *Theriogenology*. v.42, p.147-157, 1994.
- Zarkawi, M., Soukouti, A. Serum progesterone levels using radioimmunoassay during oestrous cycle of indigenous Damascus does. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, v. 44, p.165-169, 2001.

### Legendas das Figuras

Figura 1. Percentual de cabras Anglo Nubiana em estro após o fim de tratamentos hormonais utilizando esponjas industrialmente impregnadas com acetato de medroxiprogesterona (MAP-COM), além de esponjas artesanalmente preparadas e manualmente injetadas com acetato de medroxiprogesterona (MAP-ART), com 60 mg de óleo essencial de *Vitex agnus castus* L (OEVAC60) e com 120 mg de óleo essencial de *Vitex agnus castus* L (OEVAC120).

Figura 2. Concentrações séricas de progesterona (ng/mL) antes, durante e após os diferentes tratamentos hormonais, utilizando esponjas industrialmente impregnadas com acetato de medroxiprogesterona (MAP-COM), além de esponjas artesanalmente preparadas e manualmente injetadas com acetato de medroxiprogesterona (MAP-ART), com 60 mg de óleo essencial de *Vitex agnus castus* L (OEVAC60) e com 120 mg de óleo essencial de *Vitex agnus castus* L (OEVAC120).

**Tabela 1. Porcentagens de cabras em estro, intervalo médio ( $\pm$  e.p.) entre o fim do tratamento e o início do estro (FT-IE) e duração média ( $\pm$  e.p.) do estro de cabras Anglo Nubiana com estros sincronizados utilizando esponjas industrialmente impregnadas com acetato de medroxiprogesterona (MAP-COM), além de esponjas artesanalmente preparadas e manualmente injetadas com acetato de medroxiprogesterona (MAP-ART), com 60 mg de óleo essencial de *Vitex agnus castus* L (OEVAC60) e com 120 mg de óleo essencial de *Vitex agnus castus* L (OEVAC120).**

Variáveis	Tratamentos			
	MAP-COM	MAP-ART	OEVAC60	OEVAC120
Porcentagem de cabras em estro (n)	100% (12)	100% (12)	100% (12)	100% (12)
FT-IE (h)	26,00 $\pm$ 2,02 <sup>a</sup>	28,67 $\pm$ 1,87 <sup>ab</sup>	29,00 $\pm$ 2,06 <sup>ab</sup>	31,67 $\pm$ 2,84 <sup>b</sup>
Duração do estro (h)	44,33 $\pm$ 2,02	43,33 $\pm$ 1,47	47,33 $\pm$ 1,55	48,67 $\pm$ 1,47

<sup>a, b</sup> Valores com letras minúsculas sobrescritas distintas entre linhas, diferem ( $P < 0,05$ ).

**Tabela 2. Taxa de fertilidade (%) e proporção (%) de tipos de inseminações artificiais (intracervical superficial - ICS; intracervical profunda - ICP; e intrauterina - IU), após tratamentos hormonais de sincronização de estro, utilizando esponjas industrialmente impregnadas com acetato de medroxiprogesterona (MAP-COM), além de esponjas artesanalmente preparadas e manualmente injetadas com acetato de medroxiprogesterona (MAP-ART), com 60 mg de óleo essencial de *Vitex agnus castus* L (OEVAC60) e com 120 mg de óleo essencial de *Vitex agnus castus* L (OEVAC120).**

Tratamento	Tipos de inseminação artificial (IA)			Fertilidade por grupo de tratamento (%)
	ICS (%)	ICP (%)	IU (%)	
MAP-COM	16,67 (2/12) <sup>Aa</sup>	25,00 (3/12) <sup>ABa</sup>	58,33 (7/12) <sup>Ba</sup>	58,00 (7/12) <sup>b</sup>
MAP-ART	33,34 (4/12) <sup>ABa</sup>	8,33 (1/12) <sup>Aa</sup>	58,33 (7/12) <sup>Ba</sup>	41,66 (5/12) <sup>ab</sup>
OEVAC60	25,00 (3/12) <sup>Aa</sup>	25,00 (3/12) <sup>Aa</sup>	50,00 (6/12) <sup>Aa</sup>	8,33 (1/12) <sup>a</sup>
OEVAC120	25,00 (3/12) <sup>Aa</sup>	8,33 (1/12) <sup>Aa</sup>	66,66 (8/12) <sup>Ba</sup>	16,67 (2/12) <sup>a</sup>
TOTAL	25,00 (12/48) <sup>A</sup>	16,67 (8/48) <sup>A</sup>	58,33 (28/48) <sup>B</sup>	31,25 (15/48)
Fertilidade por tipo de IA (%)	8,33 (1/12) <sup>A</sup>	25,00 (2/8) <sup>A</sup>	42,85 (12/28) <sup>B</sup>	-----

<sup>a, b</sup> Valores com letras minúsculas sobrescritas diferentes entre linhas indicam diferença significativa ( $P < 0,05$ ).

<sup>A, B</sup> Valores com letras maiúsculas sobrescritas diferentes entre colunas indicam diferença significativa ( $P < 0,05$ ).

Figura 1. Percentual de cabras Anglo Nubiana em estro após o fim de tratamentos hormonais utilizando esponjas industrialmente impregnadas com acetato de medroxiprogesterona (MAP-COM), além de esponjas artesanalmente preparadas e manualmente injetadas com acetato de medroxiprogesterona (MAP-ART), com 60 mg de óleo essencial de *Vitex agnus castus* L (OEVAC60) e com 120 mg de óleo essencial de *Vitex agnus castus* L (OEVAC120).

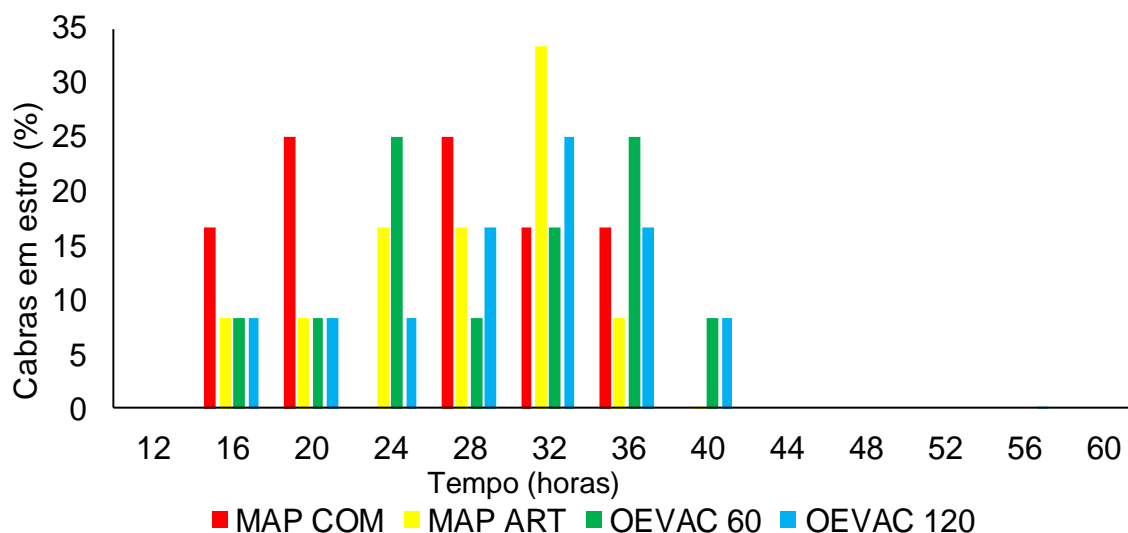
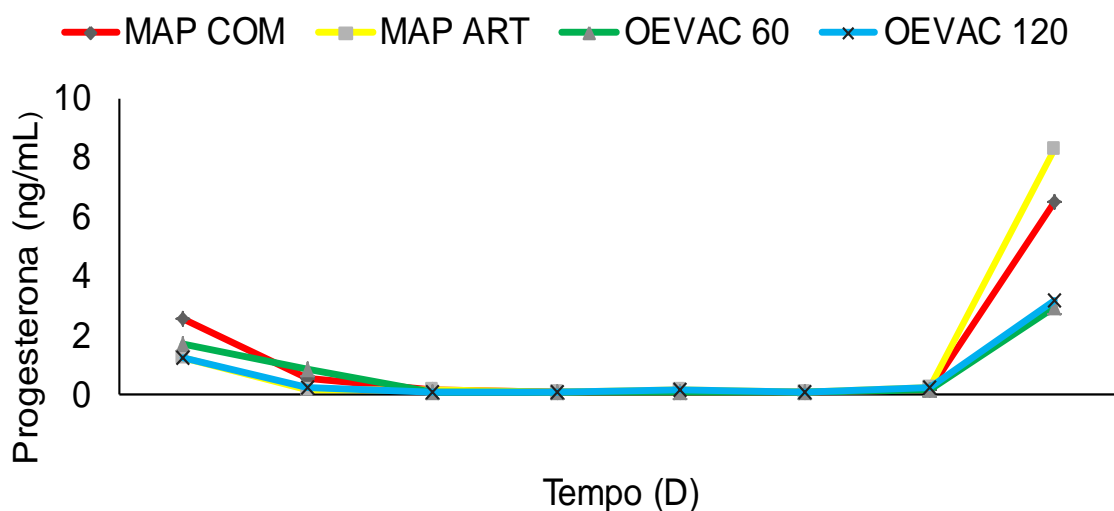


Figura 2. Concentrações séricas de progesterona (ng/mL) antes, durante e após os diferentes tratamentos hormonais, utilizando esponjas industrialmente impregnadas com acetato de medroxiprogesterona (MAP-COM), além de esponjas artesanalmente preparadas e manualmente injetadas com acetato de medroxiprogesterona (MAP-ART), com 60 mg de óleo essencial de *Vitex agnus castus* L (OEVAC60) e com 120 mg de óleo essencial de *Vitex agnus castus* L (OEVAC120).



**Parecer do Comitê de Ética no Uso de Animais  
(CEUA) da UNIVASF**



FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO  
**COMITÊ DE ÉTICA E DEONTOLOGIA EM ESTUDOS E PESQUISAS - CEDEP**  
**COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS- CEUA**

### CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado “Efeito do uso de esponjas intravaginais impregnadas com óleos essenciais da planta *Vitex agnus castus* L. na sincronização do estro e fertilidade de cabras”, Protocolo nº 0002/131014, que utilizam 90 animais da espécie *Capra Hircus*, sob a responsabilidade de **Edilson Soares Lopes Júnior**, estando de acordo com os princípios éticos de experimentação animal do Comitê de Ética e Deontologia em Estudos e Pesquisas da Universidade Federal do Vale do São Francisco.

Certify that the project entitled “Effect of use of intravaginal sponges impregnated with essential oils of *Vitex agnus castus* L. plant in estrus synchronization and fertility of goats”, protocol number 0002/131014, utilizing 90 animals species *Capra Hircus*, under the responsibility **Edilson Soares Lopes Júnior**, being in accordance with the ethical principles of animal experimentation adopted by Committee of Ethics and Deontology Studies and Research at the Federal University of Vale do São Francisco.

Petrolina, 21 de janeiro de 2015.

Prof. Márcia Bento Moreira

Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/UNIVASF

Prof. Alexandre H. Reis

Coordenador do Comitê de Ética e Deontologia em Estudos e Pesquisas – CEDEP/UNIVASF