

GABRIELLE SANTOS BORGES BRANDÃO

**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 apresentada à
Universidade Federal do Vale do São
Francisco, como parte das exigências do
Curso de Mestrado em Ciência Animal,
para obtenção do título de *Magister
Scientiae*.

PETROLINA
PERNAMBUCO - BRASIL
MARÇO - 2010

GABRIELLE SANTOS BORGES BRANDÃO

**USO DA DINÂMICA FOLICULAR OVARIANA NA AVALIAÇÃO DE
DIFERENTES TRATAMENTOS DE SINCRONIZAÇÃO DE ESTRO EM CABRAS
CANINDE EXPLORADAS NO SEMIÁRIDO DO NORDESTE DO BRASIL**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal do Vale do São
Francisco, como parte das exigências do
Curso de Mestrado em Ciência Animal,
para obtenção do título de *Magister
Scientiae*.

Prof^ª. Dr^ª. Mabel Freitas Cordeiro
UNIVASF

Prof^ª. Dr^ª. Maria Helena T. de Matos
UNIVASF

Prof. Dr. Edilson Soares Lopes Júnior
(Orientador) UNIVASF

“O Senhor é meu pastor e nada me faltará.”

(Salmo 23:1)

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me dar forças em todos os momentos, tendo sempre me abençoado com vitórias e realizações na minha vida.

A minha mãe, Maristela, meus avós Antônio e Ivone e meus irmãos Diego e João pelo afeto, apoio e compreensão.

Ao meu marido Luiz Gustavo Brandão pelo amor, carinho, paciência e, principalmente, pela confiança de que podemos crescer juntos.

Ao meu eterno Mestre Prof. Luiz Gustavo Pereira a quem chamo carinhosamente de Pai, pela grande amizade e carinho, e por me incentivar e me fazer sempre acreditar que sou capaz e vou conseguir alcançar meus objetivos.

Aos amigos Deni, Charles, Márcia e Micael pelo acolhimento, atenção e por estarem sempre dispostos a me ajudar no período em que estive em Juazeiro e Petrolina.

Ao meu orientador Professor Dr. Edilson Soares Lopes Júnior pelas oportunidades, ensinamentos, confiança e valiosa ajuda nos passos da minha formação.

Aos Bolsistas de Iniciação Científica da Universidade Federal do Vale do São Francisco - UNIVASF, Vinícia, Livia, Mayara, Celso pelo apoio não só na execução do meu experimento, mas por me darem a oportunidade de exercitar e crescer na pesquisa, e na formação de alunos de graduação.

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE), pela concessão de bolsa de estudo.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA SEMIÁRIDO por disponibilizar os animais experimentais e as instalações para execução do meu experimento.

Aos Pesquisadores da Embrapa Semiárido, M.Sc. Daniel Maia Nogueira e Dra. Salete Alves de Moraes por disponibilizar a estrutura, materiais e pela grande colaboração ao experimento.

Ao Chefe da Embrapa Semiárido, Dr. Nataniel Franklin de Melo e a Técnica Ângela Katiussia pela disponibilização e auxílio na utilização de equipamentos e instalações do Laboratório de Biotecnologia da Embrapa Semiárido.

À Prof^a Dr^a Mabel Cordeiro por se colocar sempre a disposição para responder dúvidas e auxiliar no meu experimento.

Aos Veterinários Thiago Nascimento e João Bosco pelo intenso trabalho na realização do meu experimento.

Aos (às) funcionários (as) da Embrapa Semiárido, Renildo, Vando, Sr. Antônio e sua esposa, D. da Cruz, pelo grande apoio e suporte proporcionado para a realização do experimento.

Às funcionárias dos Colegiados de Medicina Veterinária, Zootecnia e Pós-Graduação em Ciência Animal, Joelma, Auxiliadora, Ivoneide, Míriam e Karol, pelo auxílio prestado durante a minha passagem pela UNIVASF e pelos bons momentos de descontração proporcionados por elas.

Ao Laboratório de Fisiologia e Controle da Reprodução (LFCR) – UECE, em especial ao Prof. Dárcio Ítalo Teixeira e ao Mestrando Carlos pela paciência e acompanhamento no treinamento em dinâmica folicular.

À Empresa Pfizer Saúde Animal pelo apoio no fornecimento de produtos necessários para realização do experimento.

CONTEÚDO

	Página
LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E UNIDADES	vii
LISTA DE TABELAS	viii
LISTA DE FIGURAS	ix
RESUMO	xi
ABSTRACT	xii
INTRODUÇÃO	13
REVISÃO DE LITERATURA	14
1. Raças Caprinas Nativas do Brasil	15
1.1 Raça Canindé	16
2. Uso de tecnologias reprodutivas na preservação de rebanhos nativos..	19
3. Dinâmica folicular em pequenos ruminantes	21
4. Progesterona e crescimento folicular	25
5. Tratamentos progestágenos	27
5.1. Tratamentos progestágenos de longa duração	27
5.2. Tratamentos progestágenos de curta duração	28
6. Gonadotrofinas e outros hormônios utilizados na IATF	30
7. Referências Bibliográficas	33
CAPÍTULO 1. Controle do estro e da ovulação de caprinos e ovinos: uma revisão	42
1. Introdução	43
2. Dinâmica folicular em pequenos ruminantes	44
3. Substâncias utilizadas na sincronização do estro e da ovulação	49
3.1. Prostaglandina F _{2α}	49

3.2. Progesterona	49
4. Gonadotrofinas e outros hormônios utilizados com a IATF	52
4.1. GnRH	52
4.2. hCG	54
4.3. eCG	55
4.4. Melatonina	57
4.5. Estradiol	58
5. Os diferentes tratamentos hormonais	59
5.1. Tratamentos com prostaglandina F _{2α}	59
5.2. Tratamentos progestágenos de curta e longa duração	60
6. Considerações finais	63
7. Referências bibliográficas	63
CAPÍTULO 2. Uso da dinâmica folicular ovariana na avaliação de diferentes tratamentos de sincronização de estro em cabras Canindé exploradas no semiárido do Nordeste do Brasil	74
Introdução	76
Material e Métodos	78
Resultados	80
Discussão	85
Conclusões	87
Agradecimentos	88
Referências Bibliográficas	88

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E UNIDADES

%	Porcentagem
°C	Graus Celsius
CIDR	“Control Internal Dipositive Release” – Dispositivo Interno de liberação Controlada de droga
cm	Centímetro
DNA	Ácido desoxirribonucléico
IA	Inseminação artificial
IATF	Inseminação artificial em tempo fixo
et al.	e colaboradores
FGA	Acetato de Fluorogestona
g	Gramas
h	Hora
MAP	Acetato de medroxiprogesterona
mL	Mililitro
min	Minuto
MGA	Acetato de Melengestrol
pH	Potencial de hidrogênio
SAS	Statistical Analysis System

LISTA DE TABELAS

REVISÃO DE LITERATURA

TABELA 1. Taxa de gestação (TG) em cabras em anestro e ciclando, obtida após diferentes intervalos de tratamento com um dispositivo progestágeno, associado com uma dose de eCG (200 UI) no momento da retirada da esponja. Em cabras ciclando, uma dose de PGF _{2α} foi também dada no momento da inserção do dispositivo. Uma única IATF utilizando sêmen puro foi realizada 54 horas após o final do tratamento.....	30
--	----

CAPÍTULO 2

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 Canindé exploradas no semiárido do Nordeste do Brasil	82
TABELA 2. Desenvolvimento folicular, resposta estral e indução da ovulação com o tratamento progestágeno curto (5 dias com CIDR) somente (Grupo controle), ou associado com 250 UI de eCG no momento da retirada do CIDR (Grupo eCG) ou, ainda, associado com 200 μ g de benzoato de estradiol 24 horas após (Grupo BE)	84

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO DE LITERATURA

FIGURA 1. Estados da região Nordeste detentores dos maiores rebanhos caprinos.....	14
FIGURA 2. Produtos de origem caprina.....	16
FIGURA 3. Animal da raça Canindé, apresentando características típicas da região da cabeça.	17
FIGURA 4. Casal de caprinos da raça Canindé.....	18
FIGURA 5. Fêmeas caprinas da raça Canindé.....	18
FIGURA 6. Representação de Tecnologias Reprodutivas Assistidas –TRA. (A) Ovário apresentando múltipla ovulação. (B) Embriões caprinos.....	20
FIGURA 7. Representação de biotécnicas para produção <i>in vitro</i> de embriões caprinos. (A) Aspiração folicular, (B) Complexos cúmulus-oócito caprinos.	21
FIGURA 8. Esquema representando onda folicular.....	22
FIGURA 9. Exemplos de fontes progestágenas. (A, B) CIDR® (dispositivo intravaginal de liberação controlada de droga contendo progesterona), (C) Chronogest® (Esponja intravaginal contendo acetato de medroxiprogesterona –MAP), (D, E) Progespon® (Esponja intravaginal contendo acetato de fluorogestona – FGA), (F) MGA® (Composto em pó contendo acetato de de melengestrol).	26

CAPÍTULO 2

FIGURA 1. Imagens ultrassonográficas de ovários de cabras utilizando transdutor transretal de 8,0 MHz. (A) Ovário contendo corpo lúteo de 11,7 mm de diâmetro (seta cinza). (B) Ovário contendo três folículos com 3,27 mm, 4,02 mm e 8,0 mm (seta preta). (vu) Indica vesícula urinária	81
FIGURA 2. Imagens ultrassonográficas de cabras Canindé, Letra A: representa D(0), B e C, representam D(2) e D(6) respectivamente, vu:	

vesícula urinária, c: cisto folicular	81
FIGURA 3. Percentual de cabras em estro após o fim do tratamento	
progestágeno	83

RESUMO

BORGES-BRANDÃO, Gabrielle Santos, Universidade Federal do Vale do São Francisco, março de 2010. **Uso da dinâmica folicular ovariana na avaliação de diferentes tratamentos de sincronização de estro em cabras Canindé exploradas no semiárido do Nordeste do Brasil.** Orientador: Edilson Soares Lopes Júnior. Comissão de Orientação: Dárcio Ítalo Alves Teixeira e Vicente José de Figueirêdo Freitas.

Quinze cabras Canindé (n=15) foram submetidas a diferentes protocolos de sincronização de estro (SE) e monitoradas por ultra-sonografia com o objetivo de avaliar tais tratamentos através da dinâmica folicular ovariana. Os animais foram divididos em 3 grupos, sendo o G1 (n=5) formado por cabras submetidas à SE de 5 dias de impregnação progesterônica e 75 µg de d-cloprostenol no início do tratamento; no G2 (n=5), cabras foram tratadas como em G1, mas com a administração de eCG no final do tratamento; e o G3 (n = 5), foi feito o mesmo como em G2, com exceção da aplicação de benzoato de estradiol ao invés de eCG, 24 horas após o final do tratamento. Imagens ovarianas foram obtidas com um ultrassom, visando acompanhar a dinâmica folicular, antes, durante e depois dos tratamentos hormonais. Dentre os animais, 80% apresentaram estro, sendo 60% (3/5), 100% (5/5) e 80% (4/5) nos grupos 1, 2 e 3, respectivamente. O grupo 3 apresentou, significativamente (P<0,05), maior intervalo entre o fim do tratamento e o início do estro ($61,0 \pm 5,6$ h), em comparação aos grupos 1 ($28,0 \pm 6,5$ h) e 2 ($17,6 \pm 5,0$ h). No entanto, a duração do estro não diferiu (P>0,05) entre os protocolos, sendo de $29,3 \pm 8,1$ h vs. $48,8 \pm 6,2$ h vs. $38,0 \pm 7,0$ h, respectivamente, para os grupos 1, 2 e 3. No Grupo 2, apesar do folículo ovulatório ter apresentado um diâmetro menor, este se mostrou apto, respondendo às gonadotrofinas e levando à ovulação de 100% dos animais, e ocorrendo, em média, 31,2 h após o início do estro. Portanto, observou-se que o tratamento utilizado no G2 se mostrou atividade folicular mais eficiente, devendo ser o protocolo de eleição para o controle do ciclo reprodutivo de cabras Canindé exploradas no semiárido do Nordeste do Brasil.

ABSTRACT

BORGES-BRANDÃO, Gabrielle Santos, Universidade Federal do Vale do São Francisco, março de 2010. **Use of ovarian follicular dynamic in the evaluation of different estrus synchronization treatments in Canindé goats explored in semiarid zone of northeast of Brazil.** Orientador: Edilson Soares Lopes Júnior. Comissão de Orientação: Dárcio Ítalo Alves Teixeira e Vicente José de Figueirêdo Freitas.

Fifteen Canindé goats (n=15) were submitted to different estrus synchronization (ES) protocols and they were monitored by ultra-sonografia in order to evaluate such treatments concerning to the ovarian follicular dynamic. The animals were allocated in three groups, being the G1 (n=5) formed by goats submitted to ES characterized by 5 days of impregnation progestagen and by 75 µg d-cloprostenol at the beginning of the treatment; in the G2 (n=5), goats were treated as in G1, but with the administration of eCG in the end of the treatment; and in the G3 (n = 5), was made the same as in G2, but it was administrated benzoate of estradiol instead of eCG, 24 hours after the end of the treatment. Ovarian images had been gotten with an ultrasound in order to monitor the follicular dynamic, before, during and after the hormonal treatments. Concerning estrus response, 80% presented estrus, being 60% (3/5), 100% (5/5) and 80% (4/5) in groups 1, 2 and 3, respectively. Group 3 showed significantly (P<0.05) a higher interval between the end of treatment and the onset of estrus (61.0 ± 5.6 h) compared to groups 1 (28.0 ± 6.5 h) and 2 (17.6 ± 5.0 h). However, the length of estrus did not differ (P>0.05) among protocols, being 29.3 ± 8.1 h vs. 48.8 ± 6.2 h vs. 38.0 ± 7.0 h, respectively, for groups 1, 2 and 3. Group 2, despite the ovulatory follicle had shown a smaller diameter, it proved to be able to respond to gonadotropins and, moreover, to ovulate in 100% of animals that occurred on average 31.2 h after the onset of estrus. Therefore, It was observed that the treatment used in the G2 was the most efficient and it might be the chosen protocol to control the reproductive cycle of Canindé goats explored in semiarid zone of northeast of Brazil.

INTRODUÇÃO

Os animais SPRD (Sem Padrão Racial Definido) são os principais encontrados na região Nordeste do Brasil, sendo observados também caprinos de raças nativas. A busca por raças mais produtivas fez com que, a partir do final do século XIX e início do século XX, houvesse a introdução de raças exóticas, que, embora fossem altamente produtivas, haviam sido selecionadas em regiões de clima temperado.

Várias discussões já foram realizadas quanto à conservação dos recursos genéticos no Brasil e a visão da introdução de raças exóticas não é mais aceita como uma boa opção. Diante dessa problemática, diversas instituições, cientes das possibilidades produtivas existentes nas raças locais, buscam adotar medidas de conservação, a fim de se evitar a extinção dos animais nativos. Dentre as formas de preservação, tem sido destacada a manutenção do material genético, através de bancos de germoplasma, que utilizam a produção *in vivo* de embriões (Gordon, 1994) ou animais por inseminação artificial (Leboeuf et al., 2000).

Estes procedimentos são auxiliados pela utilização de protocolos de sincronização de estro e superovulação, os quais devem ser cada vez mais compreendidos e aperfeiçoados, visando a resposta máxima, seja da produção de embriões, seja da fertilidade após inseminação artificial (IA).

A técnica mais amplamente utilizada para sincronização e/ou indução de estro se caracteriza por 11–17 dias de exposição progestágena, seja com esponjas vaginais ou dispositivos intravaginais, e injeção intramuscular de gonadotrofina coriônica equina (eCG), no fim do tratamento (Corteel et al., 1988). Outro protocolo recentemente desenvolvido com o objetivo de evitar a exposição progestágena prolongada, submete os animais a uma exposição progestágena de 5 a 7 dias, sendo administrada prostaglandina $F_{2\alpha}$ e eCG no início e no final do tratamento, respectivamente (Menchaca e Rubianes, 2004).

Mesmo sendo utilizados recentemente e obtidos resultados favoráveis, estudos específicos associando a fertilidade pós-IA, a resposta endócrina e a dinâmica ovariana durante e após a aplicação deste tratamento não têm sido

conduzidos em caprinos nativos do Nordeste do Brasil. Tendo em vista a escassez de informações, um maior estudo do conhecimento da fisiologia reprodutiva e da aplicação de biotécnicas da reprodução aos caprinos da raça Canindé facilitará o trabalho de preservação dessa espécie nativa.

REVISÃO DE LITERATURA

A região Nordeste do Brasil possui uma área de 1.662.947 km² e nela está inserida a região semiárida que totaliza, aproximadamente, 969.589 km² (IBGE, 2008). O clima característico da região é o tropical seco, com evaporação excedendo a precipitação, uma estação chuvosa curta e de verão-outono bem definidos (Araújo Filho et al., 1995).

O rebanho caprino nordestino apresenta um efetivo de, aproximadamente, 8,52 milhões de cabeças, representando 92% do rebanho nacional. Tais animais encontram-se distribuídos por toda a região, sendo os estados da Bahia, Pernambuco, Piauí e Ceará (Figura 1) os detentores dos maiores rebanhos (IBGE, 2008).

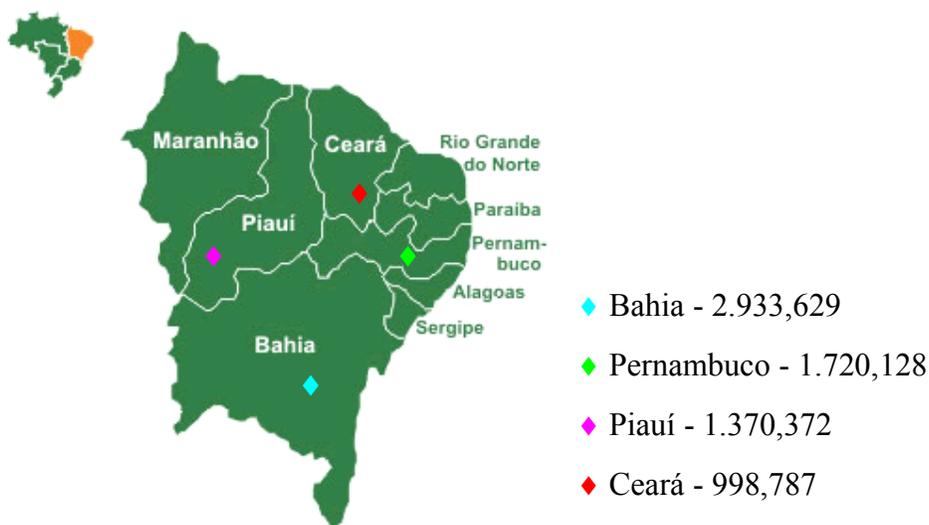


Figura 1. Números de Caprinos encontrados nos estados da região Nordeste detentores dos maiores rebanhos (Fonte: Adaptado de IBGE, 2008).

1. Raças caprinas nativas do Brasil

O Brasil possui diversas raças caprinas desenvolvidas a partir de outras trazidas pelos colonizadores portugueses, logo após o descobrimento. Estas raças foram submetidas à seleção natural em diferentes ambientes, para os quais desenvolveram características específicas de adaptação a tais condições. A região Nordeste possui, aproximadamente, 91% do efetivo populacional da espécie caprina existente no Brasil (IBGE, 2008), sendo muitas vezes a escolhida para garantir a subsistência familiar no semiárido nordestino.

A caprinocultura desenvolvida no Nordeste teve sua origem com a importação de animais de raças européias trazidas pelos jesuítas e colonizadores. Pimenta-Filho (1993) cita a contribuição das raças Charnequeira, Murciana e Maltesa na formação dos tipos nativos brasileiros.

Os caprinos, de modo geral, foram criados de forma extensiva e, para se adaptarem às condições edafo-climáticas predominantes na região, desenvolveram mecanismos biológicos apropriados, resultando em vários grupos e/ou raças nativas. Esta adaptação ao sistema de produção promoveu uma redução da capacidade produtiva dos rebanhos em termos de carne, leite e tamanho corporal. Embora as raças nativas apresentem níveis de produção mais baixos do que as exóticas, o Nordeste possui hoje, para suas condições de semiárido, material genético apresentando enorme adaptação aos trópicos, além de excelente qualidade para produção de pele, carne de baixo teor de gordura e uma adequada produção de leite, desde que seja adotado um nível mínimo de tecnologia (Nutriplan, 2004; Figura 2).



Figura 2. Produtos de origem caprina.

As principais raças caprinas nativas são: Moxotó, Canindé, Repartida e Marota. Embora existam ainda outros grupos raciais como Gurguéia, Azul, Graúna e Nambí, a maioria da população atual é formada por caprinos denominados SPRD, oriundos de cruzamentos indiscriminados (Egito et al., 2002). O rebanho está distribuído em toda a região, notadamente nas zonas mais secas e pobres, o que comprova a sua condição de animal resistente às secas (Silva e Ribeiro, 2006).

1.1. Raça Canindé

Acredita-se que a raça Canindé tenha se originado no Vale do Canindé, no estado do Piauí. Supõe-se que, em sua formação, tenha participação da raça Grisone Negra da Suíça. Semelhante às raças Moxotó e Repartida em tamanho, forma e função produtiva, a Canindé se destaca pela aptidão leiteira superior às demais raças mencionadas (Mariante et al., 2003). A produção leiteira da raça Canindé varia entre 400-800 mL/dia (Machado, 2001). Maia e Costa (1997) obtiveram, em condições de Nordeste brasileiro, uma prolificidade de 1,67 cabritos nascidos/cabra.

Os animais da raça Canindé apresentam a cabeça negra, com mancha baia ou branca, de tamanho variado na região da garganta . A cabeça apresenta-se de tamanho médio, sendo larga entre os olhos e estreita na marrafa e no focinho. Na face, uma faixa branca ("lágrima") estreita percorre a arcada orbitária pelo lado interno (cranial), descendo até os lacrimais, ou pouco mais, e podem surgir uma ou duas pintas nas laterais da face, denominadas de "toque de Deus" (Figura 3) (ASCCOPER, 2008). Sua esclerótica deve ser castanha e íris preta; as mucosas escuras e o focinho negro. A fronte deve ser semi-convexa, com sulco vertical, paralelamente aos chifres. Nas fêmeas, os chifres são largos e achatados na base, seguindo paralelamente para cima até cerca da metade do percurso total, voltando-se levemente para fora, podendo terminar para cima. Admitem-se os chifres direcionados para trás em suave curva, desde a base. Nos machos, os chifres são largos e achatados na base, seguindo para cima e para trás, depois, acentuadamente, para fora, podendo terminar para cima, espiralando ou não.



Figura 3. Animal da raça Canindé, apresentando características típicas da região da cabeça (Fonte: GLOBO RURAL, 2000).

A barba bem desenvolvida no bode e menor na cabra, quando presente (ASCCOPER, 2008). Os pelos da parte externa da orelha são negros, mas claros na parte interna e nos bordos são claros. A linha branca ventral tem início na base do peito, seguindo pelas axilas, passando pela região inguinal, chegando até a base da

inserção da cauda, onde os pêlos das bordas inferiores são claros (ASCCOPER, 2008) (Figuras 4 e 5).



Figura 4. Casal de caprinos da raça Canindé (Fonte: particular).



Figura 5. Fêmeas caprinas da raça Canindé (Fonte: particular).

A importância dessa raça tem sido observada, em trabalhos científicos que visam aproveitar sua adaptabilidade e avaliar aspectos como composição do leite (Maia et al., 2008), comportamento ingestivo (Ribeiro et al., 2006), dentre outros.

Além disso, ela vem destacando-se em estudos em que já foram obtidos animais transgênicos Canindé no Brasil, sendo utilizados como biorreatores para produção de fármacos de interesse em saúde humana. Sendo a raça Canindé escolhida para estes estudos, ela tem se constituído na raça caprina nacional de referência para uso em transgênese animal, agregando, dessa forma, valor ao produto nativo (Moura et al., 2007).

2. Uso de tecnologias reprodutivas na preservação de rebanhos nativos

Os efeitos deletérios da homogeneidade genética que resultam da diminuição dos tamanhos da população são bem conhecidos, sendo a alta mortalidade pós-natal, o baixo desempenho reprodutivo e a maior susceptibilidade a doenças, as conseqüências mais documentadas (Ralls et al., 1979; Brem et al., 1989; Lasley et al., 1994). Muitas das espécies e raças consideradas sob risco de extinção possuem certas características que as tornam bem adaptadas ao seu habitat, sejam fisiológicas, evidenciando-se a alta tolerância ao estresse térmico e a resistência a patógenos endêmicos específicos, bem como morfológicas, destacando-se os cascos de estrutura sólida, o excesso de pele e chifres grandes. No entanto, estas características, em geral, são encontradas em raças de baixa produtividade e não são, devidamente, valorizadas. Todavia, mudanças climáticas, de mercado, dentre outras, podem tornar tais características, atualmente, consideradas comuns e sem expressão, de extremo valor no futuro. Diante dessa realidade, o desenvolvimento de tecnologias adequadas para a recuperação e uso dos recursos genéticos naturais e de programas que suportem o correto manejo do germoplasma a ser conservado, torna-se medida prioritária, principalmente por existir a possibilidade de erosão genética ou mesmo extinção de raças. Assim, diversas tentativas estão sendo feitas para conservar genomas e / ou genes individuais através do uso de tecnologias reprodutivas assistidas (TRA) aplicadas (IA e múltipla ovulação e transferência de embriões) (Figura 6) e fundamentais (transferência nuclear e clonagem). E o sucesso do uso das TRA no aumento da produtividade de animais de produção sugere que estas tecnologias possam ser utilizadas, também de forma bem sucedida, na preservação de raças em risco de extinção (Solti et al., 2000).

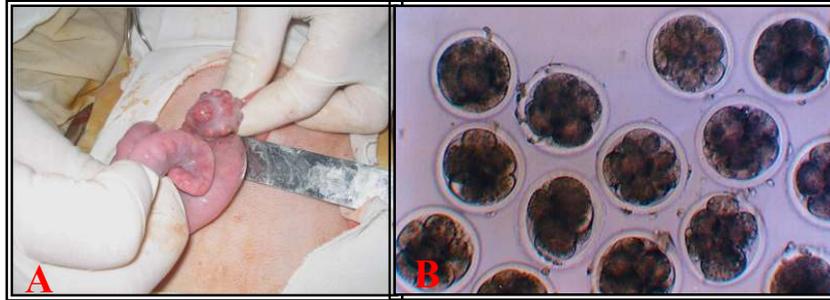


Figura 6. Representação de Tecnologias Reprodutivas Assistidas –TRA. (A) Ovário apresentando múltipla ovulação. (B) Embriões caprinos. Fonte: Sheep Embryo, 2010.

Programas de criopreservação de gametas e embriões têm, similarmente, sido realizados na preservação de variedades valiosas de animais de laboratório, assim como de animais transgênicos (Wildt et al., 1992). Para este fim, programas de pesquisa têm sido iniciados para elucidar vários aspectos da conservação de material genético através da reprodução assistida em animais de produção nativos.

No início da década de 80, o Centro Nacional de Pesquisa de Recursos Genéticos e Biotecnologia (CENARGEN), da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), decidiu incluir a conservação de recursos genéticos animais no seu programa de pesquisa denominado Conservação e Utilização de Recursos Genéticos, o qual, até então, só havia focado a conservação vegetal. Uma das razões para essa inclusão foi o fato de que todo o rebanho de bovinos de raças mochas, na época, consistia de três touros e oito vacas, os quais se encontravam nos estados de São Paulo e Minas Gerais. A partir de então, iniciaram-se as colheitas de sêmen e de embriões (Mariante e Egito, 2002).

Um núcleo de conservação deve trabalhar criopreservando sêmen, embriões e oócitos de espécies ou raças domésticas em risco de extinção. Por esta razão, ambas as formas de conservação, *in situ* e *ex situ*, são extremamente importantes e complementares (Mariante e Egito, 2002).

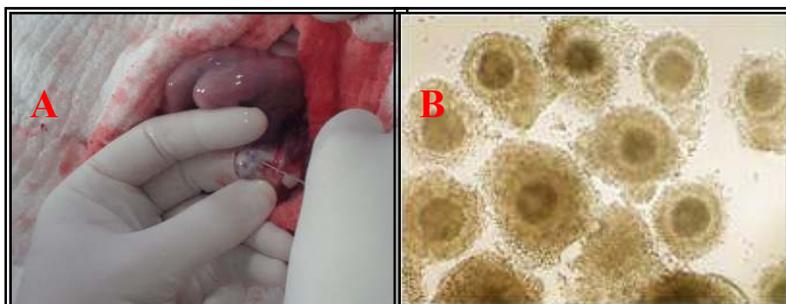


Figura 7. Representação de biotécnicas para produção *in vitro* de embriões caprinos. (A) Aspiração folicular, (B) Complexos cúmulus-oócito caprinos. Fonte: Sheep Embryo, 2010.

No Brasil, poucos estudos têm sido desenvolvidos com a espécie caprina com o intuito de conservá-la (Oliveira et al., 2002). Desta maneira, é preciso realizar estudos e definir estratégias de conservação para as raças nativas de caprinos, pois a diversidade genética representa um importante recurso. Independente da biotécnica utilizada para a conservação desses animais, é necessário compreender e aperfeiçoar cada vez mais a biotécnica de sincronização do estro, já que ela permite homogeneizar os ciclos reprodutivos e, assim, maximizar a resposta esperada. E para isso, a compreensão da dinâmica ovariana tem sido posta em evidência nos últimos relatos (Rubianes e Menchaca, 2003; Simões et al., 2006; Amorim et al., 2007).

3. Dinâmica folicular em pequenos ruminantes

O crescimento folicular está bem definido com a ocorrência de um padrão de onda durante o intervalo entre ovulações, em ovelhas (Ginther et al., 1995; Evans et al., 2000) e cabras (Ginther e Kot, 1994; de Castro et al., 1998; Medan et al., 2003; Simões et al., 2006). Uma onda é definida como a emergência de um grupo de pequenos folículos antrais dos quais, comumente, um ou dois folículos alcançam um diâmetro de, no mínimo, 5 mm (Figura 8).

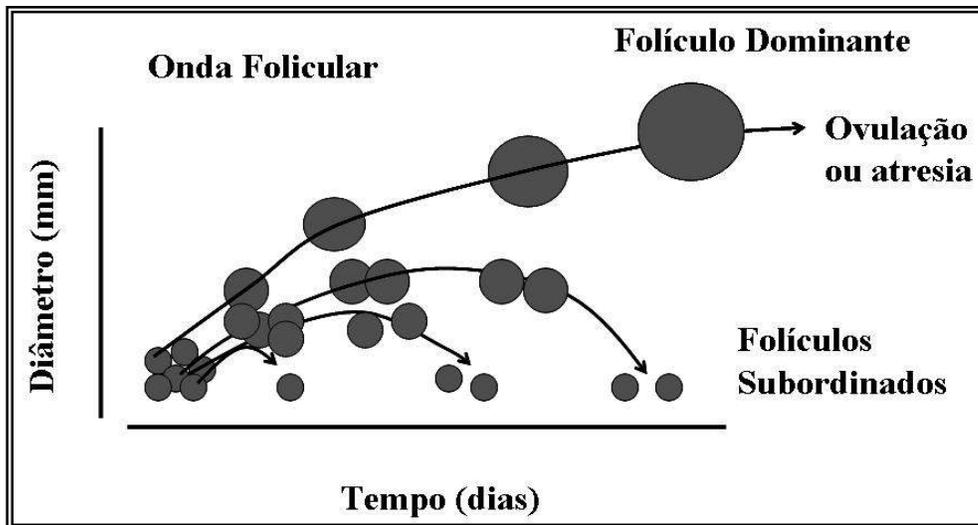


Figura 8. Esquema representando onda folicular (Fonte: particular).

De acordo com diversos autores, o número de ondas foliculares por ciclo varia de dois a cinco, com grande variabilidade tanto em caprinos quanto em ovinos. O padrão mais comumente encontrado em ovinos é de três ondas foliculares por ciclo (Leyva et al., 1998; Gibbons et al., 1999; Evans et al., 2000; Viñoles et al., 2000) e quatro em caprinos, com um intervalo interovulatório de duração normal (19 a 22 dias) (Ginther e Kot, 1994; de Castro et al., 1999; Schwarz e Wierzechos, 2000; Menchaca e Rubianes, 2002). Enquanto em um estudo sobre a dinâmica folicular ovariana de cabras em anestro, Cruz et al. (2005) mostraram a ocorrência de duas a quatro ondas de crescimento folicular durante um período equivalente a um ciclo estral, com os maiores folículos de cada onda atingindo tamanho médio de 6,6 mm, semelhante aos descritos por Ginther e Kot (1994), para folículos pré-ovulatórios durante a estação reprodutiva.

O intervalo entre ondas é o período entre a emergência do maior folículo (3 mm de diâmetro) de duas ondas consecutivas, o qual é de, aproximadamente, sete dias em ambas as espécies. O dia de emergência de cada onda folicular é variável em ambas as ovelhas e cabras e depende do número de ondas em cada ciclo. A

previsão do dia da emergência de cada onda folicular é, portanto, muito difícil, com exceção da primeira onda do ciclo. Todos os estudos em caprinos e ovinos relatam que a primeira onda emerge em torno do dia da ovulação (Dia 0) do ciclo anterior.

As características das ondas foliculares têm sido revisadas (ovelhas: Evans, 2003; cabras: Rubianes e Menchaca, 2003) e alguns dos aspectos mais, freqüentemente, observados para ambas as espécies são: (1) pelo menos um folículo alcançando o diâmetro de, no mínimo, 5 mm é 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 aumenta, a renovação folicular é facilitada e os intervalos entre ondas são menores 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, mais em alguns casos também o fazem como parte de diferentes ondas; e (7) as ovulações duplas são intervaladas por um período de 24 horas.

Em cabras das raças Alpina e Boer, a duração da dominância folicular não foi alterada pela presença ou ausência de um corpo lúteo durante a sincronização do estro com acetato de fluorogestona (FGA) nem influenciou a taxa de concepção no primeiro estro pós-tratamento (Lassala et al., 2004). Rubianes e Menchaca (2003) sugeriram que, quando a ovulação é induzida pela luteólise, o folículo ovulatório poderia ser o folículo dominante de uma onda existente no crescimento ou na fase de quiescência.

Estudos da dinâmica folicular no ciclo estral das cabras mostram que não há nenhuma diferença significativa entre as últimas duas ondas do ciclo ou entre estas e ondas precedentes. (Ginther e Kot, 1994; de Castro et al., 1999; Medan et al., 2003). Entretanto, estes estudos mostram que uma variabilidade grande no número de ondas foliculares pode ser importante para caracterizar a relação do número das ondas atuais no ciclo estral. Os dados destes estudos foram analisados combinando as ondas de cada ovário, já que ambos os ovários recebem o mesmo sinal hipotalâmico-hipofisário, embora a assimetria da dinâmica folicular entre os ovários

direito e esquerdo fosse reconhecida (Driancourt, 2001). Esta assimetria entre ovários poderia parcialmente ser relacionada a alguns efeitos locais, que foram revistos por Rubianes e Menchaca (2003). A análise temporal da última onda folicular de cada ovário dentro de uma cabra poderia revelar algumas diferenças entre estas últimas duas ondas.

Simões et al. (2006) observaram que, em torno do dia 16 ou 17 do ciclo estral, diversas alterações nas características da onda folicular ocorreram. O início da onda ovulatória ocorreu depois e com menor variabilidade do que o dia de início da última onda de um ovário anovulatório sugerindo que uma nova onda foi selecionada durante a luteólise natural. Estes resultados confirmam a importante participação da progesterona na dinâmica folicular. Entretanto, os mecanismos que regulam a última onda folicular do ciclo estral necessitam ser esclarecidos. (Simões et al., 2006).

A dinâmica folicular também foi acompanhada em cabras Toggenburg em lactação tratadas ou não com somatotropina bovina recombinante (r-bST), em que observaram que o número de folículos com diâmetro ≥ 3 mm foi maior nas cabras tratadas do que em relação as que não foram submetidas ao tratamento com r-bST. Portanto, a emergência da onda folicular foi estimulada pela r-bST, sendo que estes resultados podem favorecer as técnicas de superovulação, bastante utilizadas em programas de transferência de embriões (Amorim et al., 2007).

Em outro trabalho foi monitorado e caracterizado a dinâmica folicular de cabras Anglo-Nubiana e Saanen após estro induzido com progestágeno durante anestro estacional, sendo que, dentre as cabras Anglo-Nubiana, 33,3%; 44,5 e 22,2% apresentaram, respectivamente, duas, três e quatro ondas, enquanto entre as Saanen, 87,5% apresentaram três e 12,5% duas ondas foliculares. Nas duas raças, foram verificadas diferenças entre os dias de emergência das ondas foliculares e entre os dias em que o maior folículo de cada onda atingiu o diâmetro máximo ($P < 0,05$). (Cruz et al., 2008)

4. Progesterona e crescimento folicular

A progesterona ou seus análogos permitem controlar o momento de aparecimento do estro e da ovulação, pois bloqueiam (retroalimentação negativa sobre as gonadotrofinas) e desbloqueiam (resposta hipofisária, algum tempo após o final do tratamento) o eixo hipotalâmico-hipofisário, permitindo assim que os ciclos estrais iniciem de um mesmo ponto, após o fim do tratamento.

As principais fontes de progestágenos utilizados em pequenos ruminantes são: CIDR-G[®] (dispositivo intravaginal de liberação controlada de droga contendo progesterona); esponjas intravaginais de MAP (acetato de medroxiprogesterona) ou FGA (acetato de fluorogestona) e administração oral de MGA (acetato de melengestrol), oferecido juntamente a ração (Figura 9).

A inserção de um dispositivo intravaginal de progesterona (CIDR-G[®]) em cabras em anestro resulta em um aumento rápido nas concentrações séricas de progesterona (> 5 ng/mL) por três ou quatro dias, o que é maior que aquelas observadas durante o meio da fase luteal fisiológica (Rubianes et al., 1998). Após seis dias de tratamento, as concentrações séricas de progesterona caem a níveis subluteais (2 ng/mL) e permanecem baixas até o dispositivo ser retirado (Dia 12). Resultados farmacocinéticos similares têm sido relatados utilizando esponjas intravaginais contendo (MAP) (Greyling et al., 1994) e (FGA) (Gaston-Parry et al., 1988) em ovelhas. Portanto, o perfil sérico de progesterona induzido por estes tratamentos é o oposto daquele observado durante o ciclo estral normal, quando as concentrações de progesterona são inicialmente baixas e depois aumentam até a luteólise.

Os efeitos da progesterona sobre a dinâmica folicular têm sido estudado em ovinos (Johnson et al., 1996; Rubianes et al., 1996; Leyva et al., 1998; Viñoles et al., 1999) e caprinos (Menchaca e Rubianes, 2002). Atenção especial tem sido dada aos efeitos das concentrações de progesterona subluteais induzidas sobre a sanidade folicular. Em ovelhas, os níveis subluteais de progesterona promoveram crescimento excessivo e persistência do maior folículo (Viñoles et al., 1999), aumentando a idade dos folículos ovulatórios (Johnson et al., 1996). Tratamentos progestágenos de 12 dias induzem a ovulação de folículos velhos nestas espécies (Flynn et al., 2000; Viñoles et al., 2001). Em bovinos, a ovulação de um folículo

velho é seguida pela baixa fertilidade (Sávio et al., 1993; Stock e Fortune, 1993; Mihm et al., 1994; Austin et al., 1999), aparentemente devido a um retorno precoce da meiose ocorrendo no oócito (Revah e Butler, 1996).



Figura 9. Exemplos de fontes progestágenas. (A, B) CIDR® (dispositivo intravaginal de liberação controlada de droga contendo progesterona), (C) Chronogest® (Esponja intravaginal contendo acetato de fluorogestona – FGA), (D, E) Progespon® (Esponja intravaginal contendo acetato de medroxiprogesterona – MAP), (F) MGA® (Composto em pó contendo acetato de melengestrol).

A progesterona promove feed-back negativo sobre a secreção e a pulsatilidade de LH (Goodman e Karsh, 1990) e os pulsos de LH regulam o crescimento final dos folículos antrais (McNeilly et al., 1992). Uma consequência dos baixos níveis séricos de progesterona é um aumento na frequência do pulso de LH, o qual está associado com um aumento no diâmetro do folículo dominante. Normalmente, quando as concentrações de progesterona são muito baixas (após a luteólise), um feed-back positivo é estabelecido entre as concentrações de estradiol oriundas do folículo dominante em crescimento e as concentrações de GnRH e LH a partir do eixo hipotalâmico-hipofisário. Este efeito positivo induz o pico pré-ovulatório de LH e a ovulação. Concentrações subluteais de progesterona aumentam a frequência dos pulsos de LH, mas o pico de LH não ocorre. Como consequência, o maior folículo persiste e sua dominância é prolongada.

Altas concentrações de progesterona, todavia, têm um efeito positivo sobre a renovação folicular, aumentando o número de folículos jovens grandes com potencial para ovular. Níveis supraluteais de progesterona afetam a dominância do maior folículo da Onda 1, induzindo a regressão precoce e acelerando a emergência da próxima onda folicular (ovelhas: Rubianes et al., 1996; cabras: Menchaca e Rubianes, 2002). De uma forma geral, estes achados sugerem o conceito de que um tratamento curto com alto nível de progestágeno poderia ser melhor no controle da dinâmica folicular e na melhoria da taxa de concepção em um programa reprodutivo para pequenos ruminantes baseado em progestágenos do que tratamentos longos.

Em tratamentos progestágenos de FGA, por 16 dias, associando a utilização de duas doses de PGF_{2α}, a 1ª no dia 10 do tratamento e a 2ª dose no momento da retirada da esponja, observou-se baixas taxas de fertilidade. No entanto, supõe-se que esses resultados poderiam estar mais relacionados com o momento do tratamento do que com o tratamento propriamente dito (Fernandez-Moro et al., 2008). Desta forma, a melhor resposta do ovário seria observada quando o tratamento ocorreu durante o início ou após a fase lútea.

5. Tratamentos progestágenos

5.1. Tratamentos progestágenos de longa duração

Progestágenos são os principais hormônios utilizados para sincronização do estro em pequenos ruminantes (Bretzlaff e Romano, 2001). Em tratamentos progestágenos tradicionais, utiliza-se longos períodos, os quais são similares à vida de um corpo lúteo cíclico (11 a 19 dias; Gordon, 1983; Corteel et al., 1988), independente da fase do ciclo ou do status folicular do ovário no momento do tratamento. Tratamentos progestágenos longos sincronizam eficientemente o estro, mas com fertilidade variável. Estes protocolos tradicionais foram delineados antes dos anos 90 e não levaram em consideração o conhecimento atual da dinâmica folicular. De acordo com as informações já citadas, a impregnação progestágena longa pode induzir, inapropriadamente, baixas concentrações de progesterona no

final do tratamento. Como as ondas foliculares emergem a cada 5-7 dias, impregnações longas não são justificadas.

5.2. Tratamentos progestágenos de curta duração

Recentemente, têm sido avaliados diferentes tratamentos progestágenos alternativos em caprinos e ovinos, consistindo de 5 a 7 dias de impregnação progestágena.

Em ovelhas, durante o anestro estacional, diferentes experimentos foram realizados para avaliar a fertilidade utilizando diferentes progestágenos e tempos de impregnação progestágena, associados a doses médias de eCG (300 a 400 UI) no momento da retirada da esponja. A aplicação de esponjas intravaginais contendo MAP (60 mg) por um, dois, três, seis e doze dias, combinado com a cobertura pelo carneiro, resultou em taxas de gestação de 12,5, 20,0, 50,0, 75,0, e 68,8%, respectivamente. Os grupos de tratamento de seis e doze dias não tiveram diferença significativa entre si, enquanto estes obtiveram resultados significativamente superiores em relação aos demais tratamentos (Ungerfeld e Rubianes, 1999). O uso de dispositivos intravaginais com diferentes progestágenos (esponjas com FGA ou MAP ou um CIDR-G com progesterona) por seis dias em ovelhas estacionalmente em anestro resultou em percentuais similares de estros induzidos (91,5, 94,1 e 95,9%, respectivamente) e taxas de concepção (67,4, 62,5 e 59,6%, respectivamente), entre grupos. Foi concluído, portanto, que tratamentos curtos de seis dias induzem eficazmente estro durante a estação não sexual, resultando em alta fertilidade. Durante a estação sexual e utilizando monta natural, Viñoles et al. (1999) obtiveram uma maior taxa de gestação após um tratamento curto (seis dias de esponjas com MAP, 87%) comparado ao tratamento tradicional de doze dias, tanto com (67%) quanto sem (63%) uma dose de eCG no momento da retirada da esponja. Contudo, o momento do estro foi variável provavelmente devido à regressão luteal ter sido atrasada em algumas ovelhas cíclicas, já que nenhuma $\text{PGF}_{2\alpha}$ foi utilizada.

Como descrito acima, para obter uma resposta estral aceitável após o uso do tratamento curto durante a estação sexual, é necessário garantir a regressão luteal. Se a luteólise é induzida no momento do início do tratamento curto, todas as fêmeas manterão níveis séricos similares e adequados de progesterona exógena durante o tratamento. Isto pode ser obtido com uma dose de $\text{PGF}_{2\alpha}$ no momento da inserção da esponja (Beck et al., 1993). Este procedimento em um programa de IATF não tem sido largamente realizado em ovinos, mas tem sido executado com sucesso em caprinos.

Além disso, o tratamento curto tem sido rotineiramente utilizado em cabras leiteiras, associado com 200 a 300 UI de eCG, administradas no momento da retirada do dispositivo. Na estação sexual, este tratamento foi associado com uma dose de $\text{PGF}_{2\alpha}$ administrada no momento da inserção do dispositivo. Para uma resposta estral aceitável durante a estação não sexual, foi necessário associar o tratamento curto com eCG; a resposta com o uso de 200 ou 400 UI de eCG no momento da retirada do dispositivo não resultou em uma diferença na taxa de gestação (só progesterona, 22%, n = 18; progesterona associada com 200 UI de eCG, 58%, n = 26; progesterona associada com 400 UI de eCG, 64%, n = 25). Outros estudos comparando o uso do tratamento curto por quatro, cinco, seis, sete ou oito dias sugeriram uma maior taxa de gestação quando a impregnação progestágena foi aplicada por 5 dias (Tabela 1).

Com este protocolo, o percentual total de cabras apresentando estro foi acima de 90% e o intervalo médio entre o fim do tratamento e o início do estro foi em torno de 30 horas. A taxa de gestação foi de 80% após a monta natural e utilizando inseminação artificial com sêmen a fresco, 12 horas após o início do estro, também foi alta (> 70%). Quando o momento de uma única IATF foi avaliado, o momento ótimo foi 54 horas após a retirada do dispositivo com uma taxa de gestação que variou entre 60 e 70%.

Tabela 1 – Taxa de gestação (TG) em cabras em anestro e ciclando, obtida após diferentes intervalos de tratamento com um dispositivo progestágeno, associado com uma dose de eCG (200 UI) no momento da retirada da esponja. Em cabras ciclando, uma dose de PGF_{2α} foi também administrada no momento da inserção do dispositivo. Uma única IATF utilizando sêmen puro foi realizada 54 horas após o final do tratamento (Fonte: adaptado de Menchaca e Rubianes, 2004).

	Tratamento curto				
	4 dias	5 dias	6 dias	7 dias	8 dias
TG (%)	34,8	64,8	60,5	60,7	50,8
(Total; n)	(89)	(216)	(38)	(122)	(59)

6. Gonadotrofinas e outros hormônios utilizados na IATF

Quando a IATF é aplicada em um rebanho, hormônios adicionais são utilizados para garantir a mínima dispersão possível da ovulação entre as fêmeas. Gonadotrofinas hipofisárias e coriônicas têm sido largamente utilizadas em combinação com os tratamentos progestágenos e são necessárias durante a estação não sexual para induzir estro e ovulação. Durante a estação sexual, elas também são utilizados para sincronizar a ovulação, melhorando a taxa de gestação após IATF.

Contudo, o uso da eCG também tem sido relacionado com efeitos negativos sobre as taxas de gestação (Baril et al., 1996; Drion et al., 2002) e parece que a eCG é imunogênica (Maurel et al., 2003) quando utilizada em caprinos (Roy et al., 1999b), assim como em ovinos (Roy et al., 1999a). Sua capacidade imunogênica tem sido atribuída a sua origem heteróloga, estrutura molecular, alto peso molecular e alto nível de glicosilação (Drion et al., 2001). Em caprinos, os anticorpos anti-eCG aumentaram com o número de tratamentos que as cabras tinham recebido em momentos anteriores, aumentando a frequência de estros tardios (> 30 horas após o final do tratamento progestágeno). Quando a quantidade de anticorpos anti-eCG era maior que 10%, a fertilidade após IATF caía significativamente (Baril et al., 1996). Drion et al. (2002) demonstraram que os anticorpos anti-eCG atrasam significativamente o início do pico de LH e reduzem o percentual de fêmeas ovulando, bem como a taxa de parição.

O tratamento com eCG tem sido associado com o desenvolvimento de cistos foliculares e regressão precoce de corpo lúteo, o que tem sido mais evidente em programas de superovulação (Armstrong e Evans, 1983; Saharrea et al., 1998). Estes efeitos adversos são mais frequentemente observados em caprinos do que em ovinos. O ciclo estral após o tratamento com eCG é caracterizado por maiores níveis de estradiol durante a fase precoce com o aumento na estrogenicidade de grandes folículos da Onda 1, sendo mais importante em ovelhas em anestro do que em cíclicas (Barrett et al., 2004). Em alguns casos, em ovinos, o uso da eCG tem sido associado com o desenvolvimento de cistos foliculares seguido por baixas taxas de gestação (Viñoles et al., 2001).

Diante destes efeitos negativos e dos resultados variáveis obtidos com a eCG, o uso de hormônios alternativos para melhorar os resultados globais em programas reprodutivos com IATF necessitam ser estudados. GnRH utilizado isoladamente induziu uma grande concentração de picos pré-ovulatório de LH (2 horas após uma dose intramuscular de GnRH) tanto em ovelhas cíclicas (Rubianes et al., 1997a) quanto em anestro (Rubianes et al., 1997b). Em cabras anãs, quando o GnRH foi administrado 24 horas após um tratamento progestágeno com eCG, o pico de LH e a ovulação foram antecipados e a sincronização foi melhorada (Pierson et al., 2003). Neste experimento, a ovulação foi sincronizada dentro de 60 horas após a retirada da esponja e todas as cabras foram tratadas com GnRH. Contudo, quando a fertilidade for avaliada utilizando um protocolo similar (tratamento progestágeno e 400 UI de eCG), nenhuma diferença foi encontrada na taxa de gestação entre cabras da raça Alpina com IATF, 48 horas após a retirada da esponja, independente de existir ou não uma aplicação de GnRH, 36 horas após a retirada do dispositivo. Similarmente, o uso de GnRH entre 24 e 44 horas após o final do tratamento progestágeno, associado com eCG, não melhorou a taxa de gestação após IATF em ovelhas (Walker et al., 1989; Eppleston et al., 1991). Além disso, a associação de uma dose de um análogo do GnRH (Buserelina) com SynchrovineTM, administrados no momento da IATF, tendeu a diminuir a taxa de gestação. Em resumo, embora o GnRH possa ser útil para sincronizar e garantir a

ovulação, pesquisas adicionais são necessárias para determinar se o GnRH melhora a taxa de gestação em programas de IATF em pequenos ruminantes.

O uso de estradiol após o tratamento progestágeno para induzir a ovulação, associado com IATF em bovinos tem aumentado desde a última década (Diskin et al., 2002). A administração de estradiol aumenta a sensibilidade da hipófise ao GnRH (Clarke et al., 1988) e induz um pico de GnRH (Karsch et al., 1997), seguido por um pico de LH (Meikle, 2001).

O uso do cipionato de estradiol (CE), um éster do estradiol que apresenta níveis plasmáticos por períodos superiores a 100 horas, tem sido inibido por apresentar resultados mais variáveis na sincronização da emergência de onda do que fármacos de ação mais curta (Mapletoft et al., 2000), como o 17 β -estradiol (17 β -E) (Bo et al., 1995) e o benzoato de estradiol (BE) (Cassia e Bo, 1995). Corroborando com esses resultados, Colazo et al. (2003) observaram que o CE foi menos eficaz em sincronizar a emergência da onda e ovulação, sem, no entanto, repercutir na taxa de gestação.

Em um recente estudo (Menchaca et al., 2007), foi observado o efeito do BE, administrado 24 horas após o fim do tratamento curto de progesterona em cabras cíclicas. Os resultados mostraram que 200 μ g de BE, aplicados por via intramuscular, encurtou o intervalo entre a retirada do dispositivo e o pico de LH, comparado com cabras que não receberam o estradiol ($41,0 \pm 1,5$ h vs. $46,3 \pm 1,9$ h após a retirada do CIDR; $p < 0,05$). Um estudo ultra-sonográfico do ovário mostrou que todas as cabras tratadas com estradiol (8/8) ovularam entre 48 e 60 horas após a retirada do dispositivo. Estes resultados sugerem que o estradiol poderia ser uma alternativa à eCG para sincronização do pico de LH e da ovulação.

Valenzuela-Jiménez et al. (2004) avaliaram o efeito da administração de 0,25 mg de BE, 6 h depois do início do estro, em cabras sincronizadas com FGA, e observaram que este tratamento, apesar de ter induzido o pico de LH e ovulação, promoveu um efeito negativo na fertilidade. Desta forma, esses autores relataram que seria necessário avaliar se doses menores podem provocar o pico de LH e a ovulação, sem um efeito desfavorável na fertilidade.

7. Referências Bibliográficas

- AMORIM, E. A. M.; TORRES, C. A. A.; AMORIM, L. S.; FONSECA, J. F.; BRUSCHI, J. H.; GUIMARÃES, J. D.; CARVALHO, G. R.; ALVES, N. G.; CECON, P. R. Dinâmica folicular em cabras da raça Toggenburg em lactação tratadas ou não com somatotropina bovina recombinante. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.6, p.1500-1508, 2007.
- ARAÚJO FILHO, J. A de. ; SOUSA, F. B.; CARVALHO, F. C. Pastagens no semi - árido: Pesquisa para o desenvolvimento sustentável. In: SIMPÓSIO SOBRE PASTAGENS NOS ECOSSISTEMA BRASILEIRO: Pesquisa para o desenvolvimento sustentável, 1995, Brasília, DF. **Anais...** Editado por R. P. de Andrade, A de O Barcellos e C. M. da Rocha. Brasília: SBZ, 1995. p. 63 – 75.
- ARMSTRONG, D. T; EVANS, G. Factors influencing success of embryo transfer in sheep and goats. **Theriogenology**, v. 19, p. 31-42, 1983.
- ASCCOPER. Associação dos Criadores de Caprinos e Ovinos de Petrolina e Região. Disponível em: www.asccuper.com.br/exibe.jsp?id=104&tipo=Racas Acesso em 08 dez. 2008.
- AUSTIN, E. J.; MIHM, M.; RYAN, M. P.; WILLIAMS, D. H.; ROCHE, J. F. Effect of duration of dominance of the ovulatory follicle on onset of estrus and fertility in heifers. **Journal of Animal Science**, v. 77, p. 2219-2226, 1999.
- BARIL, G.; REMY, B.; LEBOEUF, B.; BECKERS, J. F.; SAUMANDE, J. Synchronization of oestrus in goats: the relationship between eCG binding in plasma, time occurrence of oestrus and fertility following artificial insemination. **Theriogenology**, v. 45, p. 1553-1559, 1996.
- BARRETT, D. M. W.; BARTLEWSKI, P. M.; BATISTA-ARTEAGA, M.; SYMINGTON, A.; RAWLINGS, N. C. Ultrasound and endocrine evaluation of the ovarian response to a single dose of 500 IU of eCG following a 12-day treatment with progestogen-releasing intravaginal sponges in the breeding and nonbreeding seasons in ewes. **Theriogenology**, v. 61, p. 311–327, 2004.
- BECK, N. F. G.; DAVIES, B.; WILLIAMS, S. P. Oestrus synchronization in ewes: the effect of combining a prostaglandin analogue with a 5-day progestagen treatment. **Animal Production**, v. 56, p. 207-210, 1993.
- BO, G. A., ADAMS, G. P., CACCIA, M., MARTINEZ, M., PIERSON, R. A. Ovarian follicular wave emergence after treatment with progestogen and estradiol in cattle. **Animal Reproduction Science**. v.39, p.193-204, 1995.

- BREM, G.; BRENIG, B.; MULLER, M.; SPRINGMANN, K. Ex situ cryoconservation of genomes and genes of endangered cattle breeds by means of modern biotechnological methods. **Animal Production and Health Production**, v. 76, p. 101, 1989.
- BRETZLAFF, K. N.; ROMANO, J. E. Advanced reproductive techniques in goats. **Veterinarian Clinic of North America Food and Animal Practice**, v. 17, p. 421-434, 2001.
- CASSIA, M.; BO, G. A. Follicle wave emergence following treatment of CIDR-G-B implanted beef heifers with estradiol benzoate and progesterone. **Theriogenology**, v.49, p.341, 1995.
- CLARKE, I. J.; CUMMINIS, J. T.; CROWDER, M. E.; NETT, T. M. Pituitary receptors for gonadotrophin-releasing hormone in relation to changes in pituitary and plasma gonadotrophins in ovariectomized hypothalamo/pituitary-disconnected ewes. II. A marked rise in receptor number during the acute feedback effects of estradiol. **Biology of Reproduction**, v. 39, p. 349-354, 1988.
- COLAZO, M. G.; KASTELIC, J. P.; MAPLETOFT, R. J. Effects of estradiol cypionate (ECP) on ovarian follicular dynamics, synchrony of ovulation, and fertility in CIDR-G-based, fixed-time AI programs in beef heifers. **Theriogenology**, v.60, p.855-865, 2003.
- CORTEEL, J. M.; LEBOEUF, B.; BARIL, G. Artificial breeding of goats and kids induced to ovulate with hormones outside the breeding season. **Small Ruminant Research**, v. 1, p.19-35, 1988.
- CRUZ, J. F.; RONDINA, D.; FREITAS, V. J. F. Ovarian follicular dynamics during anoestrus in Anglo-nubian and Saanen goats raised in tropical climate. **Tropical Animal Health and Production**, v.37, n.5, p.395- 402, 2005.
- CRUZ, J. F.; TEIXEIRA, D. I. A.; RONDINA, D.; FREITAS, V. J. F. Dinâmica folicular ovariana em cabras em anestro após tratamento progestágeno. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**. v.9, n.4, p.825-833, 2008.
- de CASTRO, T; RUBIANES, E.; MENCHACA, A.; RIVERO, A. Ovarian dynamics, serum estradiol and progesterone concentrations during the interovulatory interval in goats. **Theriogenology**, v. 52, p. 399-411, 1999.
- de CASTRO, T; RUBIANES, E.; MENCHACA, A.; RIVERO, A. Ultrasonic study of follicular dynamics during the estrous cycle in goats. **Theriogenology**, v. 49 p. 399, 1998.

- 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. Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. **Theriogenology** v.55, p.1211-1239, 2001.
- DRION, P. V.; DE ROOVER, R.; HOUTAIN, J. Y.; MCNAMARA, E. M.; REMY, B.; SULON, J.; BECKERS, J. F. Increase of plasma eCG binding rate after administration of repeated high dose of eCG to cows. **Reproduction, Nutrition and Development**, v. 41, p. 207-215, 2001.
- DRION, P. V.; FURTOSS, V.; BARIL, G.; MANFREDI, E.; BOUVIER, F. Four years of induction/ synchronization of estrus in dairy goats: effect of the evolution of eCG binding rate in relation with the parameters of reproduction. **Reproduction, Nutrition and Development**, v. 31, p. 401-412, 2002.
- EGITO, A. A.; MARIANTE A. S.; ALBUQUERQUE M. S. M. Programa brasileiro de conservação de recursos genéticos animais. **Arquivos de Zootecnia**, v.51, p.39-52, 2002.
- EPPLESTON, J., EVANS, G., ROBERTS, E. M. Effect of time of PMSG and GnRH on the time of ovulation, LH secretion and reproductive performance after intrauterine insemination with frozen ram semen. **Journal Animal Reproduction Science**. 26, 227-237, 1991.
- EVANS, A. C. O. Ovarian follicle growth and consequences for fertility in sheep. **Animal Reproduction Science**, v. 78, p. 289-306, 2003.
- EVANS, A. C. O.; DUFFY, P.; HYNES, N. BOLAND, M. P. Waves of follicle development during the estrous cycle in sheep. **Theriogenology**. v. 53, p. 699-715, 2000.
- FERNANDEZ-MORO, D.; VEIGA-LOPEZ, A.; ARIZNAVARRETA, C.; TRESGUERRES, J.A.F.; ENCINAS, T.; GONZALEZ-BULNES, A. Preovulatory Follicle Development in Goats Following Oestrous Synchronization with Progestagens or Prostaglandins. **Reproduction Domestic Animal** v.43, p.9-14, 2008.
- FLYNN, J. D.; DUFFY, P.; BOLAND, M. P.; EVANS, A. C. O.; Progestagen synchronisation in the absence of a corpus luteum results in the ovulation of a persistent follicle in cyclic ewe lambs. **Animal Reproduction Science** v.62, p. 285-296, 2000.

- GASTON-PARRY, O., HEASMAN, K., NEMORIN, J. K. E., ROBINSON, T. J. A radioimmunoassay for fluorogestone acetate (FGA) and its application to the measurement of plasma FGA and progesterone in ewes treated with FGA-impregnated intravaginal sponges. **Australian Journal Biology Science** v. 41, p. 57–67, 1988.
- GIBBONS, J. R.; KOT, K.; THOMAS, D. L.; WILTBANK, M. C.; GINTHER, O. J.; Follicular and FSH dynamics in ewes with a history of high and low ovulation rates. **Theriogenology** v.52, p.1005–1020, 1999.
- GINTHER, O. J., KOT, K., Follicular dynamics during the ovulatory season in goats. **Theriogenology** v.42, p.987–1001, 1994.
- GINTHER, O. J.; KOT, K.; WILTBANK, M. C. Associations between emergence of follicular waves and fluctuations in FSH concentrations during the estrous cycle in ewes. **Theriogenology**. v.43, p.689–703, 1995.
- GLOBO RURAL, Figura Cabra Canindé, Revista online, Edição 172, fevereiro de 2000. Disponível em: http://globorural.globo.com/edic/172/imagens/rep_caprinos2.jpg acessado em 12 de dezembro de 2009.
- GOODMAN, R. L.; KARSH, F. J. Pulsatile secretion of luteinizing hormone: differential suppression by ovarian steroids. **Endocrinology** v.107, p.1286–1290, 1990.
- GORDON, I. Developments *in vitro* fertilization (IVF) technology. In: Laboratory production of cattle embryos. Ireland: CAB International, p.1-29, 1994.
- GORDON, I. Fixed-time sheep artificial insemination. In: Controlled Breeding in Farm Animals. Oxford: Pergamon Press, p.197-208, 1983.
- GREYLING, J.P.C.; KOTZE, W.F.; TAYLOR, G.J.; HAGENDIJK, W.J., CLOETE, F. Synchronization of oestrus in sheep: use of different doses of progestagen outside the normal breeding season. **South African Journal Animal Science**. v.24, p.33–37, 1994.
- IBGE – FUNDAÇÃO INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTÍSTICAS – Sistemas IBGE de Recuperação Automática. Efetivo Rebanho Caprino. Pesquisa Agropecuária, 2008. Disponível em <http://www.sidra.ibge.gov.br/> acesso em 14 de fevereiro de 2010.
- JOHNSON, S. K.; DAILEY, R. A.; INSKEEP, E. K.; LEWIS, P. E.; Effect of peripheral concentrations of progesterone on follicular growth and fertility in ewes. **Domestic Animal Endocrinology**. v.13, p.69–79, 1996.

- KARSCH, F. J.; BOWEN, J. M.; CARATY, A.; EVANS, N. P.; MOENTER, S. M. Gonadotropin-releasing hormone requirements for ovulation. **Biology Reproduction**, v. 56, p. 303-309, 1997.
- LASLEY, B.; LOSKUTOFF, N.; ANDERSON, B. The limitation of conventional breeding programs and the need and promise of assisted reproduction in nondomestic species. **Theriogenology**, v. 41, p. 119-132, 1994.
- LASSALA, A. J., HERNÁNDEZ-CERÓN, R., RODRÍGUEZ-MALTOS, R., GUTIERREZ, C. G. The influence of the corpus luteum on ovarian follicular dynamics during estrous synchronization in goats. **Animal Reproduction Science**, v.84, p.369-375, 2004.
- LEBOEUF, B; RESTALL, B; SALAMON, S. Production and storage of goat semen for artificial insemination. **Animal Reproduction Science**, v. 62, p. 113-141, 2000.
- 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.
- MACHADO, T. M. M. Raças raras de pequenos ruminantes no Brasil. Ação Ambiental (UFV) v.3, p.19-23, 2001.
- MAIA, M., COSTA, A. N. Avaliação do desempenho reprodutivo de um rebanho de cabras da raça Canindé na zona semi-árida do Rio Grande do Norte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, p.46-53, 1997.
- MAIA, M. S.; RÊGO, M. M. T.; SILVA, J. G. M.; MACIEL, F. C.; Avaliação da composição do leite de cabras moxotó, canindé, srd e anglonubiana criadas no semi-árido do rio grande do norte **Anais.. V Congresso Nordeste de Produção Animal**, Aracaju, 2008.
- MAPLETOFT, R. J.; BO, G. A.; ADAMS, G. P. Avanços na manipulação do ciclo estral de doadoras e receptoras nos programas de transferência de embriões em bovinos. In: Reunião anual da sociedade brasileira de tecnologia de embriões, **Anais...** Rio Quente: SBTE, p.24-51, 2000.
- MARIANTE, A.S.; EGITO, A.A. Animal genetic resources in Brazil: result of five centuries of natural selection. **Theriogenology**, v. 57, p. 223-235, 2002.
- MARIANTE, S. S., MCMANUS, C., MENDONÇA, J. F. Informe Embrapa – Recursos Genéticos e Biotecnologia. Informativo Nacional sobre a situação dos Recursos Genéticos Animais do Brasil. 1ed, Brasília-DF, 92p. 2003.

- MAUREL, M. C.; ROY, F.; HERVE, V.; BERTIN, J.; VAIMAN, D., CRIBIU, E. ; MANFREDI, E.; BOUVIER, F.; LANTIER, I. ; BOUE, P. ; GUILLOU, F. Guillou Réponse immunitaire à la eCG utilisée dans le traitement de l'induction d'ovulation chez la chèvre et la brebis. [Immune response to eCG used for induction of ovulation in goats and ewes]. **Gynecology, Obstetrics and Fertility**, v. 31, p. 766-769, 2003.
- MCNEILLY, A. S., CROW, W., BROOKS, J., EVANS, G. Luteinizing hormone pulses, follicle stimulating hormone and control of follicle selection in sheep. **Journal Reproduction Fertility**. Suppl. 45, 5–19, 1992.
- MEDAN, M. S., WATANABE, G., SASAKI, K., SHARAWY, S., GROOME, N. P., TAYA, K. Ovarian dynamics and their associations with peripheral concentrations of gonadotropins, ovarian steroids, and inhibin during the estrous cycle in goats. **Biology Reproduction**. v.69, p.57–63, 2003.
- MEIKLE, A. S.; FORSBERG, E. G.; GARÓFALO, E. G.; CARLSSON, M. A.; LUNDEHEIM, N.; RUBIANES, E. Circulating gonadotrophins and follicular dynamics in anestrus ewes after treatment with estradiol-17 β . **Animal Reproduction Science**. v. 67, p. 79-90, 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 and Development**, v.16, p.403–414, 2004.
- MENCHACA, A.; RUBIANES, E. Relation between progesterone concentrations during the early luteal phase and follicular dynamics in goats. **Theriogenology**, v.57, p.1411-1419, 2002.
- MIHM, M., BAGUISI, A., BOLAND, M. P., ROCHE, J. F. Association between the duration of dominance of the ovulatory follicle and pregnancy rate in beef heifers. **Journal Reproduction Fertility**. v.102, p.123-130, 1994.
- MOURA, R. R.; AVELAR, S. R. G.; SEROVA, I. A.; ANDREEVA, L. E.; DVORYANCHIKOV, G. A.; DIAS, L. P. B.; TEIXEIRA, D. I. A.; LOPES JÚNIOR, E. S.; CARVALHO, A. C. C.; SEROV, O. L.; FREITAS, V. J. F. Nascimento do primeiro caprino transgênico da América Latina após microinjeção pró-nuclear de construção com o gene do fator estimulante de colônias de granulócitos (g-csf) humano. **Acta Scientiae Veterinariae** v.35(Supl. 3), 2007.

NUTRIPLAN Consultoria e Assessoria Pecuária. A caprinocultura no nordeste brasileiro, 2004. Disponível em: <http://www.nordesteural.com.br/nordesteural/matler.asp?newsId=1916>. Acesso em: 20 de setembro de 2009.

OLIVEIRA, J. C. V., L. L.; ROCHA, E. M. N. RIBEIRO. Etnozootecnia e conservação de caprinos naturalizados no Sertão Pernambucano. In: Iv Simposio Brasileiro de Etnobiologia e Etonoecologia. 4, **Anais...** Recife-Pe: Sociedade Brasileira de Etnobiologia e Etonoecologia. p.12, 2002.

PIERSON, J. T.; BALDASSARRE, H.; KEEFER, C.L.; DOWNEY, B.R. Influence of GnRH administration on timing of the LH surge and ovulation in dwarf goats. **Theriogenology**, v.60, p. 397-406, 2003.

PIMENTA-FILHO, E.C. Importância da conservação de germoplasma de caprinos naturalizados no Brasil. In: 30ª Reunião Anual da sociedade Brasileira de Zootecnia. **Anais...** Rio de Janeiro. p. 201-215, 1993.

RALLS, K.; BRUGER, K.; BALOU, J. Inbreeding and juvenile mortality in small populations of ungulates. **Science**, v. 206, p. 1101-1103, 1979.

REVAH, I.; BUTLER, W. R. Prolonged dominance of follicles and reduced viability of bovine oocytes. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 106, p. 39-47, 1996.

RIBEIRO, V. L.; BATISTA, A. M. V.; CARVALHO, F. F. R.; AZEVEDO, M.; MATTOS, C. W.; ALVES, K. S Comportamento ingestivo de caprinos Moxotó e Canindé submetidos à alimentação à vontade e restrita **Acta Scientiarum Animal Sciences** Maringá, v. 28, n. 3, p. 331-337, 2006.

ROY, F.; COMBES, B.; VAIMAN, D.; CRIBIU, E. P.; POBEL, T.; DELETANG, F.; COMBARNOUS, Y.; GUILLOU, F.; MAUREL, M. C. Humoral immune response to eCG in ewes: association with major histocompatibility complex and interference with subsequent fertility. **Biology of Reproduction**, v. 61, p. 209-218, 1999a.

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

RUBIANES, E.; BEARD, A.; DIERSCHKE, D.; BARTLEWSKI, P.; ADAMS, G.A.; RAWLINGS, N.C. Endocrine and ultrasound evaluation of the response

- of PGF2 α and GnRH given at different stages of the luteal phase in cyclic ewes. **Theriogenology**, v. 48, p. 1093-1104, 1997a.
- RUBIANES, E.; DE CASTRO, T.; UNGERFELD, R.; MEIKLE, A.; RIVERO, A. Ovarian response after a GnRH challenge in seasonally anoestrus ewes. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 77, p. 727-730, 1997b.
- RUBIANES, E.; DE CASTRO, T.; KMAID, S. Estrus response after a short progesterone priming in seasonally anestrous goats. **Theriogenology**, v.49, p.356, 1998.
- RUBIANES, E.; DE CASTRO, T.; CARBAJAL, B. Effect of high progesterone levels during the growing phase of the dominant follicle of wave 1 in ultrasonically monitored ewes. **Canadian Journal Animal Science**, v.76, p.473-475, 1996.
- RUBIANES, E.; MENCHACA, A. The pattern and manipulation of ovarian follicular growth in goats. **Animal Reproduction Science.**, v.78, p.271-287, 2003.
- SAHARREA, A.; VALENCIA, J.; BALCÁZAR, A.; MEJÍA, O.; CERBÓN, J. L.; CABALLERO, V.; ZARCO, L. Premature luteal regression in goats superovulated with PMSG: effect of hCG or GnRH administration during the early luteal phase. **Theriogenology**, v. 50, p. 1039-1052, 1998.
- SAVIO, J. D.; THATCHER, W. W.; MORRIS, G. R.; ENTWISTLE, K.; DROST, M.; MATTIACCI, M. R. Effects of induction of low plasma progesterone concentrations with a progesterone-releasing intravaginal device on follicular turnover and fertility in cattle. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 98, p. 77-84, 1993.
- SCHWARZ, T.; WIERZCHOS, E. Relationship between FSH and ovarian follicular dynamics in goats during the estrous cycle, **Theriogenology**, v. 53, p. 381, 2000.
- SHEEP EMBRYO – Empresa de Reprodução de Ovinos e Caprinos disponível em <http://www.sheepembryo.com.br/servicos.php> acessado em 09 de fevereiro de 2010.
- SILVA, N. M. V.; RIBEIRO, M.N. Conservação de rebanhos caprinos nativos no Município de Floresta, Pernambuco. In: 6^a Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão (JEPEX) da UFPE, 6, 1, 2006.
- SIMÕES, 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.

- SOLTI, L.; CRICHTON, E. G.; LOSKUTOFF, N. M.; CSEH, S. Economical and ecological importance of indigenous livestock and the application of assisted reproduction to their preservation, **Theriogenology**, v. 53, p. 149-162, 2000.
- STOCK, A. E.; FORTUNE, J. E. Ovarian follicular dominance in cattle: relationship between prolonged growth of the ovulatory follicle and endocrine parameters. **Endocrinology**, v. 132, p.1108–1114, 1993.
- UNGERFELD, R., RUBIANES, E., Effectiveness of short-term progestogen primings for the induction of fertile oestrus with eCG in ewes during late seasonal anoestrus. **Animal Science**, v. 68, p.349–353, 1999.
- VALENZUELA-JIMÉNEZ, N.; HERNÁNDEZ-CERÓN, J.; MURCIA-MEJÍA, C. RODRÍGUEZ-MALTOS, R.; GUTIÉRREZ, C.G Efecto del benzoato de estradiol en la presentación del pico preovulatorio de lh, momento de ovulación y fertilidad en cabras sincronizadas con acetato de melengestrol **Agrociencia** v.38, p.603-611, 2004.
- VIÑALES, C.; FORSBERG, M.; BANCHERO, G.; RUBIANES, E. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in the ewe. In: Proceedings of the 14th International Congress on Animal Reproduction, Stockholm, Sweden. p. 32, 2000.
- VIÑALES, C.; MEIKE, A.; FORSBERG, M.; RUBIANES, E. The effect of subluteal levels of exogenous progesterone on follicular dynamics and endocrine patterns during early luteal phase of the ewe. **Theriogenology**, v. 51, p. 1651-1661, 1999.
- VIÑALES, C., FORSBERG, M., BANCHERO, G., RUBIANES, E., Effect of long-term and short-term progestágeno treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. **Theriogenology** v.55, p.993–1004, 2001.
- WALKER, S. K.; SMITH, D. H.; FRENHAM, A.; ASHMAN, R. J.; SEAMARK, R. F. The use of synthetic gonadotrophin hormone treatment in the collection of sheep embryos. **Theriogenology**, v. 31, p. 741-752, 1989.
- WILDT, D.E. Genetic resource banks for conserving wildlife species: justification, examples and becoming organized on a global basis. **Animal Reproduction Science**, v. 28, p. 247-257, 1992.
- WILDT, D. E.; SEAL, U.; RALL, W. Genetic resource banks and reproductive technology for wildlife conservation. In: Cloud, J & Thorgnard, G. (eds.), Genetic Conservation of Salmoid Fishes. Plenum Publishers, New York, 1992.

CAPÍTULO 1

Controle do estro e da ovulação de caprinos e ovinos: uma revisão

A SER ENVIADO PARA REVISTA: ANIMAL REPRODUCTION

G.S Borges-Brandão¹, E.S. Lopes Júnior², D.M. Nogueira³

¹ Mestranda em Ciência Animal da Universidade Federal do Vale do São Francisco- UNIVASF-PE, Bolsista FACEPE, e-mail: gabrielleborges@yahoo.com.br

² Professor Adjunto II da Universidade Federal do Vale do São Francisco- UNIVASF/PE; e-mail: edilson.lopes@univasf.edu.br

³ Pesquisador da Embrapa Semi-Árido; e-mail: daniel@cpatsa.embrapa.br

Resumo

A indução e sincronização do estro são conseguidas pelo controle da fase luteal do ciclo estral, fornecendo um análogo da progesterona de forma exógena ou induzindo a luteólise prematura. A sincronização do estro está intimamente ligada à utilização da inseminação artificial, em que geralmente são utilizados protocolos de 11-14 dias (protocolos convencionais), associados com dispositivos impregnados com progesterona ou progestágenos, além da administração de hormônios e gonadotrofinas que auxiliam no crescimento folicular e na indução da ovulação. No entanto, recentemente, avanços têm sido observados nos conhecimentos sobre a utilização de protocolos curtos (5 - 6 dias) de sincronização de estro, obtendo-se resultados satisfatórios. Assim, foi elaborada esta revisão em que se objetivou abordar novas informações e conceitos sobre a dinâmica

ovariana e o controle hormonal, abordando os diferentes protocolos de sincronização de estro e da ovulação que têm sido utilizados atualmente.

1. Introdução

O ciclo estral corresponde ao período entre dois estros, passando pelo metaestro, diestro e proestro, podendo estas fases serem agrupadas em duas grandes fases: fase folicular, na qual ocorrem os eventos inerentes ao proestro e estro; e fase luteal, em que os eventos endócrinos e ovarianos são aqueles pertencentes ao metaestro e diestro (Chemineau et al., 1988).

Na cabra, a cada intervalo de, aproximadamente, 21 dias, ocorre um ciclo estral completo, podendo ocorrer ciclos longos (> 25 dias), ou ciclos curtos (< 17 dias), parecendo essa variação estar relacionada à espécie (Chemineau et al., 1988). Já as ovelhas, exibem comportamento estral, aproximadamente, a cada 17 dias (Martin et al., 2004).

Com relação aos aspectos ligados ao controle do estro e da ovulação, os tratamentos hormonais apresentam como suas principais vantagens o fato de que permitem induzir e sincronizar os estros nas fêmeas em anestro e sincronizar o aparecimento dos estros nas fêmeas cíclicas; antecipar o período do parto e, conseqüentemente, produzir leite em períodos economicamente mais interessantes. A concentração dos estros permite, também, a programação do aparecimento do comportamento do estro e da ovulação para a maior parte de um rebanho. Em conseqüência, a inseminação artificial pode ser programada e realizada em um grande número de fêmeas e em um período pré-determinado, facilitando assim o manejo e melhor aproveitamento do macho (Freitas e Lopes Júnior, 2002).

Em ovinos e caprinos, a inseminação artificial é maximizada pela sincronização do estro, a qual pode ser obtida por dois métodos diferentes: encurtamento e alongamento do ciclo estral. No encurtamento, é utilizada a prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) ou seus análogos sintéticos, aplicados por via intramuscular, enquanto no alongamento do ciclo estral, são utilizados os progestágenos, impregnados em esponjas intravaginais (acetatos de fluorogestona – FGA ou de medroxiprogesterona – MAP) ou implantes auriculares (norgestomet), bem como, dispositivos de liberação controlada de drogas CIDR (*Controlled Internal Drug Release*).

Objetivou-se com esta revisão, abordar novas informações e conceitos sobre a dinâmica ovariana e o controle hormonal, abordando os diferentes protocolos de sincronização de estro e da ovulação que têm sido utilizados atualmente em caprinos e ovinos.

2. Dinâmica folicular em pequenos ruminantes

O crescimento folicular ocorre em um padrão de ondas durante o intervalo entre ovulações em ovelhas (Ginther et al., 1995; Evans et al., 2000) e cabras (Ginther e Kot, 1994; Gonzalez-Bulnes et al., 1999). Uma onda é definida como a emergência de um grupo de pequenos folículos antrais dos quais, comumente, um ou dois folículos alcançam um diâmetro de, no mínimo, 5 mm. De acordo com diversos autores, o número de ondas foliculares em cada ciclo estral varia de dois a cinco com grande variabilidade, tanto em caprinos quanto em ovinos. O padrão mais comumente encontrado em ovinos é de três ondas foliculares por ciclo (Leyva et al., 1998; Evans et al., 2000; Viñoles et al., 2000) e quatro em caprinos, com um intervalo inter-ovulatório de duração normal (19 a 22 dias) (Ginther e Kot, 1994; De Castro et al., 1999; Schwarz e Wierzechos, 2000; Menchaca e

Rubianes, 2002). O intervalo entre ondas é o período entre a emergência do maior folículo (3 mm de diâmetro) de duas ondas consecutivas, o qual é de, aproximadamente, sete dias em ambas as espécies. O dia de emergência de cada onda folicular é variável em ambas as espécies de pequenos ruminantes, ovinas e caprinas, e depende do número de ondas em cada ciclo. A previsão do dia da emergência de cada onda folicular é, portanto, muito difícil, com exceção da primeira onda do ciclo.

As características das ondas foliculares têm sido revisadas (ovelhas: Evans, 2003; cabras: Rubianes e Menchaca, 2003) e alguns dos aspectos mais, freqüentemente, observados para ambas as espécies são: (1) pelo menos um folículo alcançando o diâmetro de, no mínimo, 5 mm é 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 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.

Já com relação aos aspectos ligados ao crescimento folicular, desde a vida fetal, a foliculogênese tem início com a formação dos folículos. Assim, quando nasce, a fêmea já tem o número de folículos primordiais determinado em suas gônadas. Destes folículos, a maioria vai se degenerar no seu crescimento, em um processo conhecido como atresia folicular, enquanto a minoria vai completar sua maturação e ovular (Moraes et al., 2002).

O estoque de folículos formados na fase fetal é composto por folículos primordiais, os quais vão se desenvolver durante a vida reprodutiva da fêmea. Estes são caracterizados

por um oócito na prófase da primeira divisão meiótica, sem zona pelúcida, circundado por algumas células da pré-granulosa e envolvidas por uma membrana basal (van Wezel e Rodgers, 1996). Tais folículos são caracterizados ainda pela ausência de suprimento sangüíneo, recebendo, portanto, nutrientes por difusão (Hirschfield, 1991). Os ditos folículos ativados, após reiniciar seu desenvolvimento, estão comprometidos a crescer, resultando em atresia folicular ou ovulação. Estudos mostram que o desenvolvimento folicular inicial é consequência de uma série de diferentes fatores de crescimento específicos para cada estágio da foliculogênese. (Silva, et. al. 2002). A próxima fase de desenvolvimento é constituída pelos folículos pré-antrais, que possuem receptores para FSH nas células da granulosa e receptores de LH nas células de teca, embora o suporte de gonadotrofinas não seja essencial para o seu desenvolvimento (Cahil, 1981; McNatty et al., 1999). À medida que os folículos crescem, tornam-se mais responsivos a gonadotrofinas e passam a secretar progesterona e andrógenos quando cultivados *in vitro* (McNatty et al., 1986). Em ovinos, a formação do líquido folicular ocorre em folículos com diâmetro ao redor de 0,2-0,4 mm (Turnbull et al., 1977). Logo após, há a formação do antro folicular (cavidade com líquido), quando os folículos entram em rápido período de crescimento, caracterizado por alta proliferação celular, tanto das células da teca quanto das células da granulosa.

O que difere os folículos ovulatórios daqueles dependentes de gonadotrofina é a necessidade aguda de FSH destes últimos. Neste momento, as células da granulosa e da teca se diferenciam e aumentam a sua responsividade ao FSH (Henderson et al., 1987).

Assim, de uma forma geral, esse desenvolvimento folicular segue um padrão de ondas durante o intervalo entre ovulações (Ginther et al., 1995; Evans et al., 2000). Ondas foliculares também têm sido demonstradas durante o anestro estacional (Souza et al., 1997;

Bartlewski et al., 1998) e o período de transição que antecede a estação de cobertura (Leyva et al., 1998; Gibbons et al., 1999; Evans et al., 2000; Viñoles et al., 2000).

Os folículos ovulatórios, no final do desenvolvimento folicular, demonstram a expressão de receptores de LH na camada de células da granulosa. Ocorrem então, mudanças na arquitetura intracelular desses folículos, que refletem numa alta capacidade de produção de hormônios. Todos esses processos desencadeiam o comportamento de estro, que é um complexo de sinais fisiológicos e comportamentais que ocorre logo antes da ovulação. O pico de LH, que ocorre no final do estro, resulta em dois fenômenos independentes: a luteinização das camadas celulares da parede folicular e ruptura do folículo ovulatório, culminando com ovulação e posterior formação do corpo lúteo.

A regressão do corpo lúteo em ruminantes não se dá pela queda dos estímulos luteotróficos, e sim pela presença de um fator luteolítico, a $PGF_{2\alpha}$, que é produzida pelo endométrio (Moraes et al., 2002). Ocorre ruptura da membrana basal, a qual, no folículo, separa as camadas da teca e da granulosa, resultando em mudanças bioquímicas que fazem essas estruturas passarem a secretar progesterona (Moraes et al., 2002).

Em cabras das raças Alpina e Boer, a duração da dominância folicular não foi alterada pela presença ou ausência de um corpo lúteo durante a sincronização do estro com (FGA) nem influenciou a taxa de concepção no primeiro estro pós-tratamento (Lassala et al., 2004). Além disso, Rubianes e Menchaca (2003) sugeriram que, quando a ovulação é induzida pela luteólise, o folículo ovulatório poderia ser o folículo dominante de uma onda existente no crescimento ou na fase de quiescência.

Estudos da dinâmica folicular no ciclo estral das cabras (Ginther e Kot, 1994; De Castro et al., 1999; Medan et al., 2003) mostram que não há nenhuma diferença significativa entre as últimas duas ondas do ciclo ou entre estas e ondas precedentes. Entretanto, estes estudos mostram que uma variabilidade grande no número de ondas

foliculares podem ser importantes para caracterizar a relação do número das ondas atuais no ciclo estral. Os dados destes estudos foram analisados combinando as ondas de cada ovário, já que ambos os ovários recebem o mesmo sinal hipotalâmico-hipofisário, embora a assimetria da dinâmica folicular entre os ovários direito e esquerdo fosse reconhecida (Driancourt, 2001). Esta assimetria entre ovários poderia parcialmente ser relacionada a alguns efeitos locais, que foram revistos por Rubianes e Menchaca (2003). A análise temporal da última onda folicular de cada ovário dentro de uma cabra podia revelar algumas diferenças entre estas últimas duas ondas.

Simões et al. (2006) observaram que, em torno do dia 16 ou 17 do ciclo estral, diversas alterações nas características da onda folicular ocorreram. O início da onda ovulatória ocorreu depois e com menor variabilidade do que o dia de início da última onda de um ovário anovulatório sugerindo que uma nova onda foi selecionada durante a luteólise natural. Estes resultados confirmam a importante participação da progesterona na dinâmica folicular. Entretanto, os mecanismos que regulam a última onda folicular do ciclo estral necessitam ser esclarecidos (Simões, et al., 2006).

A dinâmica folicular também foi acompanhada em cabras Toggenburg em lactação tratadas ou não com somatotropina bovina recombinante (r-bST), em que observaram que o número de folículos com diâmetro ≥ 3 mm foi maior nas cabras tratadas do que em relação as que não foram submetidas ao tratamento com r-bST. Portanto, a emergência da onda folicular foi estimulada pela r-bST, sendo que estes resultados podem favorecer as técnicas de superovulação, bastante utilizadas em programas de transferência de embriões (Amorim et al., 2007).

Em outro trabalho foi monitorado e caracterizado a dinâmica folicular de cabras Anglo-Nubiana e Saanen após estro induzido com progestágeno durante anestro estacional, sendo que, dentre as cabras Anglo-Nubiana, 33,3%; 44,5 e 22,2% apresentaram, respectivamente, duas, três e quatro ondas, enquanto entre as Saanen, 87,5% apresentaram três e 12,5% duas ondas foliculares. Nas duas raças, foram verificadas diferenças entre os dias de emergência das ondas foliculares e entre os dias em que o maior folículo de cada onda atingiu o diâmetro máximo ($P < 0,05$) (Cruz et al., 2008).

3. Substâncias utilizadas na sincronização do estro e da ovulação

3.1. Prostaglandina $F_{2\alpha}$

A prostaglandina é naturalmente sintetizada e secretada pelo endométrio, sendo considerada um agente luteolítico utilizado principalmente em fêmeas cíclicas a fim de provocar a destruição do corpo lúteo. A importante diminuição da secreção de progesterona, consecutiva à luteólise, é responsável por uma descarga gonadotrófica (FSH e LH), aparecimento do estro e, posteriormente, pela ovulação.

Em ruminantes, a regressão do corpo lúteo não se dá pela presença de um fator luteolítico, sendo a $PGF_{2\alpha}$, ou mesmo com a utilização de seus análogos sintéticos como o cloprostenol e dinoprost.

Nas ovelhas, a $PGF_{2\alpha}$ é um potente agente luteolítico, pois, ao contrário do que ocorre naturalmente, a $PGF_{2\alpha}$ faz cair drasticamente os níveis de progesterona, culminando com a ovulação por, aproximadamente, 70 horas após sua administração (Gordon, 1997).

O início do aparecimento do estro e um maior número de animais ovulando são esperados durante o tratamento inicial da fase lútea (Gonzalez-Bulnes et al., 2005). Entretanto, se os animais estiverem em condições de fase lútea muito inicial, os mesmos não responderiam ao processo de luteólise (Fernandez-Moro et al., 2008).

3.2. Progesterona

A progesterona ou seus análogos permitem controlar o momento de aparecimento do estro e da ovulação, pois bloqueiam (retroalimentação negativa sobre as gonadotrofinas) e

desbloqueiam (resposta hipofisária algum tempo após o final do tratamento) o eixo hipotalâmico-hipofisário, permitindo assim que os ciclos estrais iniciem de um mesmo ponto após o fim do tratamento.

As principais fontes de progestágenos utilizados em pequenos ruminantes são: CIDR-G[®] (dispositivo intravaginal de liberação controlada de droga contendo progesterona); esponjas intravaginais de MAP ou FGA e administração oral de MGA, oferecido juntamente a ração.

A inserção de um dispositivo intravaginal de progesterona (CIDR-G[®]) em cabras em anestro resulta em um aumento rápido nas concentrações séricas de progesterona (> 5 ng/mL) por três ou quatro dias, o que é maior que aquelas observadas durante a metade da fase luteal fisiológica (Rubianes et al., 1998). Após seis dias de tratamento, as concentrações séricas de progesterona caem a níveis subluteais (2 ng/mL) e permanecem baixas até o dispositivo ser retirado (Dia 12). Resultados farmacocinéticos similares têm sido relatados utilizando esponjas intravaginais contendo MAP (Greyling et al., 1994) e FGA (Gaston-Parry et al., 1988) em ovelhas. No entanto, o perfil sérico de progesterona induzido por estes tratamentos é o oposto daquele observado durante o ciclo estral normal, quando as concentrações de progesterona são inicialmente baixas e depois aumentam até a luteólise. Resultados satisfatórios utilizando MAP também foram obtidos por Kausar et al. (2009) os quais obtiveram eficiente sincronização em cabras, apresentando alta taxa de concepção e fertilidade dos animais.

Romano et al. (2004) realizaram um estudo que mostrou que, mesmo que o CIDR não antecipasse o início do estro quando comparado a FGA, produziu uma sincronização mais compacta do estro. No grupo de CIDR, 79% dos estros foram detectados entre 36 e 44 h depois da retirada do dispositivo. Este efeito poderia fazer do CIDR um método mais desejável na sincronização do estro, especialmente em programas de inseminação artificial

em tempo fixo (IATF). Primeiramente, o CIDR contém doses baixas de progestágeno natural, isto é, a progesterona, e esta poderia ser uma opção melhor para os animais criados para a produção de carne. Não há nenhuma necessidade de quebrar hímen 2 semanas antes da época da inserção da esponja intravaginal, o que reduziria as possibilidades de adesões vaginais. Além disso, na remoção do CIDR, o acúmulo da secreção na mucosa vaginal não é observado como, freqüentemente, ocorre com o uso de esponjas intravaginais (Romano et al., 2004).

Trabalhos utilizando o MGA para indução do estro, em ovelhas em anestro, têm sido realizados (Wildeus, 1999; Daniel et al., 2001; Whitley et al., 2003); contudo, não têm sido observados muitos estudos para determinar o seu potencial em caprinos. Na utilização de MGA em cabras, é observada uma maior variabilidade de intervalo de estro e pico pré-ovulatório de LH, em consequência do estro à ovulação, em comparação com cabras sincronizadas com esponjas de FGA (Álvarez et al., 2001). Embora a utilização de MGA não tenha sido uma fonte progestágena de maior preferência para a indução do estro, Valenzuela-Jiménez et al. (2004) observaram que a proporção de cabras em estro e a fertilidade de cabras tratadas com MGA por via oral é similar àquela obtida com o uso de esponjas intravaginais impregnadas com FGA.

Os efeitos da progesterona sobre a dinâmica folicular têm sido estudados em ovinos (Johnson et al., 1996; Rubianes et al., 1996; Leyva et al., 1998; Viñoles et al., 1999) e caprinos (Menchaca e Rubianes, 2002). Atenção especial tem sido dada aos efeitos das concentrações de progesterona subluteais sobre a qualidade folicular. Em ovelhas, os níveis subluteais de progesterona promoveram crescimento excessivo e persistência do maior folículo (Viñoles et al., 1999), aumentando a idade dos folículos ovulatórios (Johnson et al., 1996). Tratamentos progestágenos de 12 dias induzem a ovulação de folículos velhos nestas espécies (Flynn et al., 2000; Viñoles et al., 2001).

A progesterona promove feed-back negativo sobre a secreção e a pulsatilidade de LH (Goodman e Karsh, 1980) e os pulsos de LH regulam o crescimento final dos folículos antrais (McNeilly et al., 1991). Uma consequência dos baixos níveis séricos de progesterona é um aumento na frequência do pulso de LH, o qual está associado com um aumento no diâmetro do folículo dominante. Normalmente, quando as concentrações de progesterona são muito baixas (após a luteólise), um feed-back positivo é estabelecido entre as concentrações de estradiol, oriundas do folículo dominante em crescimento, e as concentrações de GnRH e LH, a partir do eixo hipotalâmico-hipofisário. Este efeito positivo induz o pico pré-ovulatório de LH e a ovulação. Concentrações subluteais de progesterona aumentam a frequência dos pulsos de LH, mas o pico de LH não ocorre. Como consequência, o maior folículo persiste e sua dominância é prolongada.

Altas concentrações de progesterona, todavia, têm um efeito positivo sobre a renovação folicular, aumentando o número de folículos jovens grandes com potencial para ovular. Níveis supraluteais de progesterona afetam a dominância do maior folículo da Onda 1, induzindo a regressão precoce e acelerando a emergência da próxima onda folicular (ovelhas: Rubianes et al., 1996; cabras: Menchaca e Rubianes, 2002). De uma forma geral, estes achados sugerem o conceito de que um tratamento curto com alto nível de progestágeno poderia ser melhor no controle da dinâmica folicular e na melhoria da taxa de concepção em um programa reprodutivo para pequenos ruminantes baseado em progestágenos, do que tratamentos longos.

4. Gonadotrofinas e outros hormônios utilizados com a IATF

4.1. *GnRH*

O hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) tem mostrado ser efetivo no controle e sincronização do estro e ovulação quando utilizado em associação com outros hormônios (Tamanini et al., 1985; Cameron et al., 1988).

Cameron et al. (1988) observaram que a administração de GnRH melhorou a sincronização da ovulação em cabras durante a estação reprodutiva e, aproximadamente, a metade das cabras sincronizadas foram tratadas com 50 mg de GnRH i.m., 20 h após a retirada da esponja de MAP. Neste mesmo experimento, constatou-se que os tratamentos com GnRH resultaram em uma maior proporção de cabras ovulando pela observação final em 54 h após a remoção da esponja: 91% para aquelas tratadas com o eCG e o GnRH comparadas a 64% para aquelas que receberam somente o eCG. A precisão no sincronismo da ovulação que segue a administração do GnRH foi enfatizada quando a época da aparência de cada ovulação foi determinada, com os 91% das ovulações que ocorrem entre 36 e 48 h.

Em outro trabalho, notou-se que a administração de 50 mg de GnRH, 24 h após a remoção da esponja, não teve nenhum efeito significativo no sincronismo do estro; entretanto, reduziu o intervalo da remoção da esponja ao pico de LH e melhorou a sincronia do surgimento do LH. Estes resultados indicaram que a adição de GnRH aos protocolos da sincronização de estro pode ser útil quando o sincronismo preciso da ovulação é requisitado, facilitando a implementação de coberturas e inseminações artificiais em momentos fixos (Pierson et al., 2003).

Titi et al. (2008) avaliando tanto caprinos quanto ovinos, indicaram a administração de GnRH cinco dias após a administração de $PGF_{2\alpha}$ para induzir a ovulação, luteinização do folículo dominante e induzir uma nova emergência folicular. No entanto, observaram que a administração de GnRH nem sempre induz a ovulação, porque a resposta depende do estágio do ciclo em que é administrado. Contudo, a combinação do GnRH, esponjas de

progestágeno e $\text{PGF}_{2\alpha}$ tem sido efetiva para sincronizar o estro e aumentar a fecundidade em caprinos e ovinos.

4.2. hCG

Devido às suas propriedades luteotrópicas, o efeito da aplicação da hCG, administrada vários dias após a inseminação artificial ou cobertura, sobre a fertilidade dos animais tem sido objeto de vários estudos em diversas espécies de ruminantes (Santos et al., 2001; Fonseca e Torres, 2005; Khan et al., 2006). No entanto, também tem sido investigada a sua utilização em protocolos de indução e sincronização do estro, em detrimento da eCG em caprinos (Machado e Simplício, 2001).

Além disso, sobrepor a administração de GnRH ou hCG para indução do pico de LH, pode ser uma alternativa viável em situações em que o momento e a sincronia para a ovulação são críticos para a inseminação (Tamanini et al., 1985). Em trabalho realizado por Rensis et al. (2002), não foi verificado efeito sobre as características observadas quando são realizadas substituições da segunda dose do GnRH pela hCG, concluindo que o uso de outro hormônio está condicionado ao preço de aquisição e de outros benefícios advindos da escolha.

Em um estudo, utilizando hCG (250 UI), não foram observados efeitos positivos da utilização do mesmo sobre as variáveis reprodutivas de cabras leiteiras nulíparas tratadas cinco dias após a cobertura (Fonseca e Torres, 2005).

Maffili et al. (2005) observaram que, embora a utilização de hCG em caprinos tenha induzido 100% de ovulações, estas ocorreram num grande intervalo de tempo, entre 48 e 66 horas após a retirada do CIDR-G, o que inviabilizaria sua utilização em programas de IATF. Outro ponto também abordado seria que pelo fato do hCG ser um hormônio

glicoprotéico de origem humana, seu uso rotineiro pode levar à formação de anticorpos, o que culminaria na redução de atividade biológica. Outro fator a ser considerado é o elevado custo de aquisição desse hormônio.

4.3. eCG

A combinação da gonadotrofina coriônica eqüina (eCG) e progesterona em tratamentos de sincronização do estro elimina a variabilidade da resposta ovulatória em cabras nas estações de anestro e reprodutiva. Entretanto, um fator de utilização de eCG tem chamado a atenção dos pesquisadores pelo fato de que a sua utilização repetida nos rebanhos provoca o acúmulo de anticorpos anti-eCG, os quais impedem a resposta ovulatória ou atrasam o aparecimento do estro e/ou da ovulação, com a consequência final da diminuição dos rendimentos de fertilidade após IA em tempo fixo (Driancourt et al., 2001).

Rubianes et al. (1998) concluíram que a associação entre eCG e progesterona em CIDR, usando um protocolo curto de cinco dias, é eficiente para induzir estro com aceitáveis taxas de gestação em estação de anestro. A utilização de eCG tem sido realizada em diversas doses, assim como 200 UI, 400UI (Fonseca et al., 2005), 400 UI, 500 UI e 600 UI (Baril et al., 1996).

No Nordeste do Brasil, a dose de eCG comumente empregada em ovelhas deslanadas é de 200 UI (Nunes et al., 1997), mostrando-se bem inferior à dose, freqüentemente, utilizada em animais criados em clima temperado, a qual pode variar de 300 a 600 UI na estação reprodutiva, e de 400 a 700 UI em estação não-reprodutiva (Brice e Perret, 1997).

Diversos trabalhos tem sido realizados para checar a dose ideal para utilização do eCG em caprinos e ovinos. Rodrigues et al. (2004) avaliaram o efeito do aumento

progressivo da dose de eCG (0; 200; 300 e 400 UI), associado ao uso de progestágenos, sobre a taxa de ovulação em ovelhas deslanadas (Morada Nova e Santa Inês), visando determinar a dose ideal para o uso mais racional da reprodução programada nas condições de clima e manejo características da região. Os autores concluíram que as doses de 200, 300 e 400 UI de eCG permitem taxas de ovulações satisfatórias, sem riscos de uma superovulação. Estes resultados assemelham-se aos obtidos por Dias (2000) que utilizou doses de 0, 200 e 400 UI de eCG em ovelhas deslanadas mestiças.

Em determinado estudo, Barbas et al. (2002) relataram que utilizando as doses de eCG (250 vs. 500 UI) em ovelhas submetidas a duas IA, durante o período de estro induzido, tais doses não afetaram, significativamente, os parâmetros reprodutivos avaliados: fertilidade, prolificidade e fecundidade, cujas taxas foram, respectivamente, 52 %, 143 % e 74 %. Afirmaram ainda, que os resultados deste ensaio sugerem que a dose de eCG poderá ser reduzida, na ovelha Serra da Estrela, sem que seja afetada a eficiência reprodutiva.

Karaca et al. (2009) realizaram um estudo na Turquia para avaliar a eficácia de injeções múltiplas de eCG na indução do estro e da gestação de cabras Angorá durante a estação de anestro. Estes optaram por avaliar um protocolo apenas com eCG, sem a associação de progestágenos, em que foram avaliados 2 grupos: o grupo controle, onde as cabras não receberam nenhum tratamento; e o grupo do eCG, que foi tratado, durante 6 dias, com doses intramusculares diárias de eCG (300 UI, 200 UI, 200 UI, 100 UI, 100 UI e 50 UI), perfazendo uma dosagem total de 950 UI de eCG. Os resultados obtidos sugeriram que as injeções múltiplas divididas de um total 950 IU de eCG seriam eficazes sem pré-tratamento do progestágeno na indução do estro e para obter gestação bem sucedida.

4.4. Melatonina

A melatonina é um hormônio de ocorrência natural em todos os mamíferos, sendo sintetizado e secretado, exclusivamente, durante a noite, pela glândula pineal. A luz, através da retina, provoca um efeito inibitório sobre a sua secreção (Ribeiro, 1997). Devido a sua relação direta com a percepção que o animal possui do fotoperíodo, tem sido estudada a administração de melatonina como complementação aos programas de indução de estro através do fornecimento por meio de injeção, alimentação ou implante, sendo este último aquele que tem apresentado melhores resultados (Ribeiro, 1997).

A estação reprodutiva dos caprinos e ovinos explorados em clima temperado ou subtropical é determinada pela redução do fotoperíodo, que, por sua vez, regula o aumento da secreção de melatonina, intimamente ligada à secreção púlsatil de LH, fazendo, desta forma, que a atividade sexual máxima desta espécie se concentre nos meses de outono e inverno.

Meira Junior et al. (2007) avaliaram animais que receberam implante de melatonina, 30 dias antes que estes fossem submetidos a protocolos de IATF, juntamente com um grupo controle. Ao avaliar a presença de estro entre os dois grupos, notou-se que 95% das fêmeas do grupo experimental com melatonina apresentaram um comportamento clássico de estro, permitindo a monta do rufião. Desta forma, esses dados permitem afirmar que a utilização do implante de melatonina otimizou a manifestação do estro em animais que possuíam baixa fertilidade (Meira Junior et al., 2007).

Em ovelhas, verificou-se a utilização de implante de melatonina (18 mg), quando usado com tratamentos com progesterona no fim da primavera e início do verão. Foi observado que as ovelhas que receberam melatonina, além de progesterona e 600 UI de eCG, apresentaram maiores taxas de concepção e gestação, do que aquelas tratadas

somente com eCG e progesterona. Inversamente, na ausência de eCG, a melatonina foi ineficaz na indução fora da época da atividade, embora as ovelhas tenham sido tratadas com progesterona (De Nicolo et al., 2008). Isso sugere que implantes de melatonina, quando utilizados de forma conjugada à progesterona e eCG, podem ser uma opção viável para uso na estação não reprodutiva em ovelhas.

4.5. Estradiol

O uso do cipionato de estradiol (CE), um éster do estradiol que apresenta níveis plasmáticos por períodos superiores a 100 horas, tem sido inibido por apresentar resultados mais variáveis na sincronização da emergência de onda do que fármacos de ação mais curta (Mapletoft et al., 2000), como o 17 β -estradiol (17 β -E) (Bo et al., 1995) e o benzoato de estradiol (BE) (Cassia e Bo, 1995). Corroborando com esses resultados, Colazo et al. (2003) observaram que o CE foi menos eficaz em sincronizar a emergência da onda e ovulação, sem, no entanto, repercutir na taxa de gestação.

Valenzuela-Jiménez et al. (2004) avaliaram o efeito da administração de 0,25 mg de BE, 6 h depois do início do estro, em cabras sincronizadas com MGA, e observaram que este tratamento reduziu a percentagem de concepção, todavia a administração do BE no início do estro, apesar de ter induzido o pico de LH e ovulação, resultou em um efeito negativo na fertilidade. Desta forma, Valenzuela-Jiménez et al. (2004) relataram que seria necessário avaliar se doses menores podem provocar o pico de LH e a ovulação, sem um efeito desfavorável na fertilidade.

5. Os diferentes tratamentos hormonais

5.1. *Tratamentos com prostaglandina F_{2α}*

Na maioria dos animais, os análogos da PGF_{2α} provocam a regressão do corpo lúteo, promovendo a formação de uma nova onda folicular. Porém, a eficácia pode não ser total porque nem todos os animais estão com um corpo lúteo sensível à PGF_{2α} e, em outros, a luteólise já ocorreu. Os agentes luteolíticos mais utilizados na cabra são análogos sintéticos de PGF_{2α}, os quais são utilizados em intervalos entre 11 e 14 dias (Greyling e Van Niekerk, 1991). Os resultados mostrados na literatura afirmam que a indução e sincronização do estro com prostaglandinas são conflitantes e inconstantes, por causa da alta variabilidade observada para o início do estro e da ovulação após o fim do tratamento.

Foi notado que cabras inseminadas, após tratamento de sincronização de estro com PGF_{2α}, apresentaram redução na taxa de concepção de, aproximadamente, 10% (Bretzlaff, 1995). Já Ott et al. (1980) verificaram que a indução de estro com PGF_{2α} não causa efeitos negativos na fertilidade.

Estudos mostraram que a fertilidade das ovelhas no primeiro serviço, após o uso de análogos da PGF_{2α}, foi reduzida quando comparada àquela após o uso de esponjas de progestágenos (Boland et al., 1978; Godfrey et al., 1997).

No entanto, estudos também em ovelhas mostraram que doses de PGF_{2α} são eficazes a partir de 3 dias após a ovulação (Rubianes et al., 2003). Assim, duas doses de PGF_{2α} no intervalo de sete dias seriam eficientes para induzir o estro fértil (Menchaca e Rubianes, 2004), com uma alta sincronização de, aproximadamente, 80%, mostrando aparecimento de comportamentos estrais entre 25 e 48 h após a segunda dose de prostaglandina. Isto é possível porque a segunda dose da PGF_{2α} é administrada entre o terceiro e o quinto dia do

ciclo estral. Neste período, os folículos dominantes da primeira onda folicular ainda estão em fase de crescimento e os corpos lúteos já estão responsivos à ação da $\text{PGF}_{2\alpha}$ (Menchaca e Rubianes, 2004).

O emprego de doses (75 μg) e sub-doses (50 μg) de $\text{PGF}_{2\alpha}$ por via intramuscular e intramuscular-vulvar mostrou-se eficaz na sincronização do estro e resposta de fertilidade em marrãs caprinas, não diferindo significativamente (Rego et al., 2007). A menor dose recomendada para induzir luteólise é de 50 μg de cloprostenol por injeção intramuscular (Leboeuf et al., 1994) ou 31,25 μg de cloprostenol por administração submucosa-intravulvar (Mgnongo, 1988).

5.2. Tratamentos progestágenos de curta e longa duração

Progestágenos são os principais hormônios utilizados para sincronização do estro em pequenos ruminantes (Bretzlaff e Romano, 2001). Em tratamentos progestágenos tradicionais, utilizam-se longos períodos, os quais são similares à vida de um corpo lúteo cíclico (11 a 19 dias; Corteel et al., 1988; Gordon, 1983). Os tratamentos progestágenos de longa duração sincronizam eficientemente o estro, mas com fertilidade variável. Estes protocolos tradicionais foram delineados antes dos anos 90 e não levaram em consideração o conhecimento atual da dinâmica folicular. Em associações de tratamentos progestágenos de FGA, por 16 dias, associando a utilização de duas doses de $\text{PGF}_{2\alpha}$, a 1ª no dia 10 do tratamento e a 2ª dose no momento da retirada da esponja, observaram-se baixas taxas de fertilidade. No entanto, supõe-se que esses resultados poderiam estar mais relacionados com o momento do tratamento do que com o tratamento propriamente dito (Fernandez-Moro et al., 2008).

De acordo com as informações já citadas, a impregnação progestágena de longa duração pode induzir, inapropriadamente, baixas concentrações de progesterona no final do tratamento. Como as ondas foliculares emergem numa frequência de cinco a sete dias, impregnações longas não são justificadas. Recentemente, têm sido avaliados diferentes tratamentos progestágenos curtos alternativos em caprinos e ovinos, consistindo de cinco a sete dias de impregnação progestágena. Desta forma, a melhor resposta do ovário seria observada quando o tratamento ocorreu durante o início ou após a fase lútea.

Em ovelhas, diferentes experimentos durante o anestro estacional foram realizados para avaliar a fertilidade utilizando diferentes progestágenos e tempos de impregnação progestágena, associado a doses médias de eCG (300 a 400 UI) no momento da retirada da esponja. A taxa de gestação, após a aplicação de esponjas intravaginais contendo MAP (60 mg) por um, dois, três, seis e 12 dias, combinado com a cobertura pelo carneiro, resultou em taxas de gestação de 12,5, 20,0, 50,0, 75,0, e 68,8%, respectivamente. Portanto, foi observado que os animais tratados durante seis e doze dias apresentaram as mesmas taxas de gestação, sendo, porém, significativamente superiores aos demais. (Ungerfeld e Rubianes, 1999). O uso de dispositivos intravaginais com diferentes progestágenos (esponjas com FGA ou MAP ou um CIDR-G com progesterona), por seis dias, em ovelhas estacionalmente em anestro, resultou em percentuais similares de estros induzidos (91,5, 94,1 e 95,9%, respectivamente) e taxas de concepção (67,4, 62,5 e 59,6%, respectivamente) entre grupos. Foi concluído, portanto, que tratamentos curtos de seis dias induzem eficazmente estro durante a estação não sexual, resultando em alta fertilidade. Além disso, durante a estação sexual e utilizando monta natural, Viñoles et al. (1999) obtiveram uma maior taxa de gestação após um tratamento curto (seis dias de esponjas com MAP, 87%) comparado ao tratamento tradicional de 12 dias, tanto com (67%) quanto sem (63%) uma dose de eCG no momento da retirada da esponja. Contudo, o momento do

estro foi variável, provavelmente, devido à regressão luteal ter sido atrasada em algumas ovelhas cíclicas, já que a $\text{PGF}_{2\alpha}$ ou qualquer de seus análogos não foi utilizada.

Como descrito acima, para obter uma resposta estral aceitável, após o uso do tratamento curto e durante a estação sexual, é necessário garantir a regressão luteal. Se a luteólise é induzida no momento do início do tratamento curto, todas as fêmeas manterão níveis séricos similares e adequados de progesterona exógena durante o tratamento. Isto pode ser obtido com uma dose de $\text{PGF}_{2\alpha}$ no momento da inserção da esponja (Beck et al., 1993). A aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$ no início do tratamento pode não funcionar em corpos hemorrágicos (não responsivos). Por isso, já existem trabalhos que fazem a aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$ um dia antes da retirada do progestágeno, no D5, se o tratamento for de seis dias. Este procedimento em um programa de IATF não tem sido largamente realizado em ovinos, mas tem sido executado com sucesso em caprinos.

Tratamento curto tem sido rotineiramente utilizado em cabras leiteiras, associado com 200 a 300 UI de eCG, dadas no momento da retirada do dispositivo. Na estação sexual, este tratamento foi associado com uma dose de $\text{PGF}_{2\alpha}$, dada no momento da inserção do dispositivo. Para uma resposta estral aceitável, durante a estação não sexual, foi necessário associar o tratamento curto com eCG; a resposta com o uso de 200 ou 400 UI de eCG no momento da retirada do dispositivo não resultou em uma diferença na taxa de gestação (só progesterona, 22%, n = 18; progesterona associada com 200 UI de eCG, 58%, n = 26; progesterona associada com 400 UI de eCG, 64%, n = 25). Outros estudos comparando o uso do tratamento curto por quatro, cinco, seis, sete ou oito dias sugeriram uma maior taxa de gestação quando a impregnação progestágena foi aplicada por 5 dias.

6. Considerações finais

Os estudos sobre a dinâmica folicular em pequenos ruminantes aumentaram o conhecimento da fisiologia ovariana, bem como permitiram o desenvolvimento de novos tratamentos hormonais e melhor controle do estro e da ovulação. Uma eficiente sincronização do estro associada a melhores procedimentos de inseminação artificial permitirá uma maior difusão dessas biotecnologias em diferentes rebanhos e propriedades.

7. Referências bibliográficas

- Álvarez, L. J., Hernández, G., Perera, Y. J., Valencia. 2001 Pico preovulatorio de LH y momento de ovulación en cabras sincronizadas con acetato de melengestrol (MGA) y acetato de fluorogestona (FGA). In Proceedings of the XXV Congreso Nacional de Buiatria. Veracruz, México. p. 16-18.
- Amorim, E. A. M., Torres, C. A. A., Amorim, L. S., Fonseca, J. F., Bruschi, J. H., Guimarães, J. D., Carvalho, G. R., Alves, N. G., Cecon, P. R. 2007 Dinâmica folicular em cabras da raça Toggenburg em lactação tratadas ou não com somatotropina bovina recombinante. *Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.* 59, 1500-1508.
- Barbas, J., Baptista, C., Mascarenhas, R., Horta, A. E. M. 2002 Effect of two doses of ecg on fertility, prolificacy and fecundity in serra da estrela ewes subjected to double artificial insemination. *Rev. Port. Zoot.*, Ano IX, 2, 13-26.
- Baril, G., Remy, B., Leboeuf, B., Beckers, J. F., Saumande, J. 1996 Synchronization of oestrus in goats: the relationship between eCG binding in plasma, time occurrence of oestrus and fertility following artificial insemination, *Theriogenology*. 45, 1553–1559.

- Bartlewski, P. M., Beard, A. P., Cook, S. J., Rawlings, N.C. 1998 Ovarian follicular dynamics during anoestrus in ewes. *J. Reprod. Fertil*, 113, 275-285.
- Beck, N. F. G., Davies, B., Williams, S. P. 1993 Oestrous synchronization in ewes: the effect of combining a prostaglandin analogue with a 5-day progestagen treatment. *Anim. Prod.* 56, 207-210.
- Bo, G. A., Adams, G. P., Caccia, M., Martinez, M., Pierson, R. A. 1995. Ovarian follicular wave emergence after treatment with progestogen and estradiol in cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 39, 193-204.
- Boland, M. P., Gordon, I. R., Kellcher, D. L. 1978. The effect of treatment by prostaglandin analogue (ICI-80996) or progestagen (SC-9880) on ovulation and fertilization in cyclic ewes. *J. Agric. Sci. Cambri.* 91, 727-30.
- Bretzlaff, K. 1995. Goat breeding and infertility. In: Meredith, M.J. (Ed.), *Animal Breeding and Infertility. Blackwell Sci.*, London, UK, p. 169-208.
- Bretzlaff, K. N., Romano, J. E. 2001 Advanced reproductive techniques in goats. *The Veterinary Clinics of North America and Food animal practice.* 17, p.421-34.
- Brice, G., Perret, G. 1997 *Guide de bonnes pratiques de l'insémination artificielle ovine.* (Paris: Institut d'Élevage) 64p.
- Cahil, L. 1981 Folliculogenesis in the sheep as influenced by breed, season and oestrous cycle. *J Reprod Fertil Suppl*, 30, 135-142.
- Cameron, A. W. N., Battye, K. M., Trouson, A., O. 1988. Time of ovulation in goats (*capra hircus*) induced to superovulate with PMSG. *J. Reprod. Fert.* 83, 747-752.
- Cassia, M.; Bo, G. A. 1995 Follicle wave emergence following treatment of CIDR-G-B implanted beef heifers with estradiol benzoate and progesterone. *Theriogenology*, 49, 341, 1995.

- Chemineau, P., Martin, G.B., Saumande, J., Normant, E. 1988. Seasonal and hormonal control of pulsatile LH secretion in the dairy goat (*Capra hircus*). *J. Reprod. Fertil.* 83, 91–98.
- Colazo, M. G., Kastelic, J. P., Mapletoft, R. J. 2003 Effects of estradiol cypionate (ECP) on ovarian follicular dynamics, synchrony of ovulation, and fertility in CIDR-G-based, fixed-time AI programs in beef heifers. *Theriogenology*, 60, 855-865.
- Corteel, J. M., Leboeuf, B., Baril, G. 1988 Artificial breeding of adult goats and kids induced with hormones to ovulate outside the breeding season. *Small Rumin. Res.* 1, 19-35.
- Cruz, J. F., Teixeira, D. I. A., Rondina, D., Freitas, V. J. F. 2008 Dinâmica folicular ovariana em cabras em anestro após tratamento progestágeno. *Rev. Bras. Saúde Prod.* An. 9, n.4, 825-833.
- Daniel, J. A., Sterle, S. W., Mcfadin-Buff, E. L., Keisler, D. H. 2001 Breeding ewes out-of-season using melengestrol acetate, one injection of progesterone, or a controlled internal drug releasing device. *Theriogenology*. 56, 105-110.
- de Castro, T., Rubianes, E., Menchaca, A., Rivero, A. 1999 Ovarian dynamics, serum estradiol and progesterone concentrations during the interovulatory interval in goats. *Theriogenology*. 52, 399–411.
- de Nicolo, G., Morris, S. T., Kenyon, P. R., Morel, P. C. H., Parkinson, T. J. 2008 Melatonin-improved reproductive performance in sheep bred out of season *Anim. Reprod. Sci.* 109, 124–133.
- Dias, F. E. F. 2000. Efeito de diferentes doses de gonadotrofina coriônica equina (eCG) na sincronização do estro, indução da ovulação e fertilidade de ovelhas deslanadas inseminadas por laparoscopia. 74p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Veterinária. Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza.

- Driancourt, M. A. 2001 Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. *Theriogenology*, 55, 1211–1239.
- Evans, A. C. O. 2003. Ovarian follicle growth and consequences for fertility in sheep. *Anim. Rep. Sci.*, 78, 289-306.
- Evans, A. C. O., Duffy, P., Hynes, N. Boland, M. P. 2000. Waves of follicle development during the estrous cycle in sheep. *Theriogenology*. 53, 699–715.
- Fernandez-Moro, D., Veiga-Lopez, A., Ariznavarreta, C.; Tresguerres, J. A. F., Encinas, T.; Gonzalez-Bulnes, A. 2008. Preovulatory Follicle Development in Goats Following Oestrous Synchronization with Progestagens or Prostaglandins. *Reprod Dom Anim*. 43, 9–14.
- Flynn, J. D., Duffy, P., Boland, M. P., Evans, A. C. O. 2000 Progestagen synchronisation in the absence of a corpus luteum results in the ovulation of a persistent follicle in cyclic ewe lambs. *Anim. Reprod. Sci.* 62, 285–296.
- Fonseca, J. F., Bruschi, J. H., Santos, I. C. C., Viana, J. H. M., Magalhães, A. C. M. 2005 Inducion of estrus in non-lactating dairy goats with different estrous synchrony protocols. *Anim. Reprod. Sci.* 85, 117-124.
- Fonseca, J. F., Torres, C. A. A. 2005 Administration of hCG 5 days after Breeding and Reproductive Performance in Nulliparous Dairy Goats. *Reprod Dom Anim*. 40, 495–499.
- Freitas, V. J. F.; Lopes Júnior, E. S. 2002 Controle do estro e da ovulação em caprinos. In: Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal (Eds Gonçalves, P. B. D.; Figueiredo, J. R.; Freitas, V. J. F.) 1ªEd. São Paulo, Varela Editora e Livraria, pp. 57-67.
- Gaston-Parry, O., Heasman, K., Nemorin, J. K. E., Robinson, T. J. 1988. Aradioimmunoassay for fluorogestone acetate (FGA) and its application to the

- measurement of plasma FGA and progesterone in ewes treated with FGA-impregnated intravaginal sponges. *Aust. J. Biol. Sci.* 41, p. 57–67.
- Gibbons, J. R., Kot, K., Thomas, D. L., Wiltbank, M. C., Ginther, O. J. 1999 Follicular and FSH dynamics in ewes with a history of high and low ovulation rates. *Theriogenology*. 52, 1005–1020.
- Ginther, O. J., Kot, K. 1994 Follicular dynamics during the ovulatory season in goats. *Theriogenology*. 42, 987–1001.
- Ginther, O. J., Kot, K., Wiltbank, M. C. 1995 Associations between emergence of follicular waves and fluctuations in FSH concentrations during the estrous cycle in ewes. *Theriogenology*. 43, 689–703.
- Godfrey, R. W., Gray, M. L., Collins, J. R. A 1997. Comparison of two methods of oestrus synchronization of hair sheep in the tropics. *Anim. Reprod. Sci.* 47, 99-106.
- Gonzalez-Bulnes, A., Santiago Moreno, J., Gomez-Brunet, A., Inskip, E. K., Townsend, E. C., Lopez-Sebastian, A. 1999 Follicular dynamics during the oestrous cycle in dairy goats. *Anim. Sci.* 68, 547–554.
- Gonzalez-Bulnes A., Veiga-Lopez A., Garcia P., Garcia-Garcia R. M., Ariznavarreta C., Sanchez, M. A., Tresguerres, J. A. F., Cocero, M. J. Flores, J.M. 2005. Effects of progestagens and prostaglandin analogues on ovarian function and embryo viability in sheep. *Theriogenology*, 63, 2523–2534.
- .Goodman, R. L., Karsh, F. J. 1990 Pulsatile secretion of luteinizing hormone: differential suppression by ovarian steroids. *Endocrinology*. 107, 1286–1290.
- Gordon, I. R., 1997. Controlled Reproduction in Sheep and Goats. CAB International, UK., p.62.

- Greyling, J. P. C., Kotze, W. F., Taylor, G.J., Hagendijk, W. J., Cloete, F. 1994. Synchronization of oestrus in sheep: use of different doses of progestagen outside the normal breeding season. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 24, 33–37.
- Greyling, J. P. C., Van Niekerk, C.H. 1991 Different synchronization techniques in Boer does outside the normal breeding season. *Small Rumin. Res.* 5, 233–243.
- Henderson, K. M. McNatty, K. P., Smith, P., Gibb, M., O'Keeffe, L. E., Lun, S., Heath, D. A., Prisk, M. D. 1987 Influence of follicular health on the steroidogenic and morphological characteristics of bovine granulosa cells in vitro. *J. Reprod. Fert.* 79, 185-193.
- Hirshfield, A. N. 1991 Development of follicles in the mammalian ovary. *Int. Rev. Cytol.*, 124, 43-101.
- Johnson, S. K., Dailey, R. A., Inskeep, E. K., Lewis, P. E. 1996. Effect of peripheral concentrations of progesterone on follicular growth and fertility in ewes. *Dom Anim Endocrinol.* 13, 69-79.
- Karaca, F., Tasal, I., Alan, M. 2009. Preliminary report on induction of estrus with multiple eCG injections in Colored Mohair goats during the anestrus season. *Anim. Reprod. Sci.* 114, 306–310.
- Kausar, R., Khanum, S. A., Hussain, M., Shah, M. S. 2009 Estrus synchronization with medroxyprogesterone acetate impregnated sponges in goats (*capra hircus*). *Pakistan Vet. J.*, 29(1), 16-18.
- Khan, T. H., Beck, N. F., Khalid, M. 2006 The effects of GnRH analogue (buserelin) or hCG (Chorulon) on Day 12 of pregnancy on ovarian function, plasma hormone concentrations, conceptus growth and placentation in ewes and ewe lambs. *Anim. Reprod. Sci.* 102, 247-257.

- Lassala, A. J., Hernández-Cerón, R., Rodríguez-Maltos, R., Gutierrez, C. G. 2004 The influence of the corpus luteum on ovarian follicular dynamics during estrous synchronization in goats. *Anim. Reprod. Sci.*, 84, 369-375.
- Leboeuf, B., Nercy, C., De Ruyter, T. 1994 L'issemínation artificielli caprine au Rwanda. Adaptation à la chévre rwandaise de lá methode utilisée pour les races laitières européennes. *Rev. Elev. Med. Vet. Pays. Trop.* 47, 240-243.
- Leyva, V., Buckrell, B. C., Walton, J. S. 1998. Regulation of follicular and ovulation in ewes by exogenous progestagen. *Theriogenology*, 50, 395-416.
- Machado, R., Simplicio, A. A. 2001. Avaliação de programas hormonais para a indução e sincronização do estro em caprinos. *Pesq. Agrop. Bras.* 36, 171-178.
- Maffili, V. V., Torres, C. A. A., Pontes, R. A. M., Guimarães, J. D., Prospero, C. P. 2005. Utilização de gonadotrofina coriônica humana e cipionato de estradiol associado ao dispositivo de liberação controlada de drogas para sincronização de ovulação em cabras da raça Saanen. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 57, n.2, 210-216.
- Mapletoft, R. J., Bo, G. A., Adams, G. P. 2000 Avanços na manipulação do ciclo estral de doadoras e receptoras nos programas de transferência de embriões em bovinos. In: Proceedings of the Reunião anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões, Rio Quente, p.24-51.
- Martin, G. B., Milton, J. T. B., Davidson, R. H., Hunzicker, G. E. B., Lindsay, D. R., Blache, D. 2004. Natural methods for increasing reproductive efficiency in small ruminants. *Anim. Reprod. Sci.* 82, 231-246.
- McNatty, K. P., Heath, D. A., Lundy, T., Fidler, A. E., Quirke, L., O'Connell, A., Smith, P., Groome, N. P., Tisdall, D. J. 1999 Control of early ovarian follicular development. *J. Reprod. Fertil.* 54, 3-16.

- McNatty, K. P., Kieboom, L. E., McDiarmid, J., Heath, D. A., Lun, S. 1986. Adenosine cyclic 3',5'- monophosphate and steroid production by small ovarian follicles from Booroola ewes with and without a fecundity gene. *J. Reprod. Fertil.*, 76, 471-80.
- McNeilly, A. S., Picton, H. M., Campbell, B. K., Baird, D. T. 1991 Gonadotrophic control of follicle growth in the ewe. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 43, 177-86.
- Medan, M. S., Watanabe, G., Sasaki, K., Sharawy, S., Groome, N. P., Taya, K. 2003. Ovarian dynamics and their associations with peripheral concentrations of gonadotropins, ovarian steroids, and inhibin during the estrous cycle in goats. *Biol. Reprod.* 69, 57-63.
- Meira Junior, E. B. S, Gregory, L., Hasegawa, M. Y., Rizzo, H., Decuadro, G; Alvarenga, C. O. 2007 Avaliação da sincronização de cio com implantes de melatonina exógena como tratamento de fêmeas ovinas com baixa fertilidade. In Proceedings of the Congresso Brasileiro de Reprodução Animal. Curitiba, p.84.
- Menchaca, A.; Rubianes, E. 2004 New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. *Rep. Fert. Dev.* 16, 403-414.
- Menchaca, A., Rubianes, E. 2002 Relation between progesterone concentrations during the early luteal phase and follicular dynamics in goats. *Theriogenology*, 57, 1411-1419.
- Mgongo, F. O. K. 1988 The effects of buck teasing on synchronization of estrus in goats after intravulvo-submucosal administration of cloprostenol. *Theriogenology*, 30, 987-995.
- Moraes, J. C. F., Souza, C. J. H., Gonçalves, P. B. D. 2002 Controle do estro e da ovulação em bovinos e ovinos. In: Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal. (Eds. Gonçalves, P.B.D.; Figueiredo, J.R.; Freitas, V.J.F.) pp. 25-55. (1ªEd., Varela Editora e Livraria, São Paulo-BR)

- Nunes, J. F., Ciríaco, A. L. T., Suassuna, U. 1997. Produção e reprodução de ovinos e caprinos. (Fortaleza: LCR) 197p.
- Ott, R. S., Memon, M. A. 1990 Breeding soundness examination in rams and bucks. In: Sheep and Goat Manual. (Eds. Ott, R.S., Memon, M.A.) *Theriogenology*, 38–43.
- Pierson, J. T., Baldassarre, H., Keefer, C. L., Downey, B. R. 2003 Influence of GnRH administration on timing of the LH surge and ovulation in dwarf goats. *Theriogenology*, 60, 397–406.
- Rego, J. P. A., Santos, D. O., Farias, J. L. S., Oliveira, L. S. 2007 Sincronização do estro de novilhas caprinas mestiças com PGF: dose e sub-dose em duas vias de aplicação. In: Proceedings of the Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, Curitiba, PR, p.17.
- Rensis, F., Marconi, P., Capelli, T., Gatti, F., Facciolongo, F., Franzini, S., Scaramuzzi, R. J. 2002. Fertility in postpartum dairy cows in winter or summer following estrus synchronization and fixed time AI after the induction of an LH surge with GnRH or hCG. *Theriogenology*. 58, 1675-1687.
- Ribeiro, S. D. A. 1997 Caprinocultura: criação racional de caprinos. (Editora Nobel).
- Rodrigues, L. F. S., Araujo, A. A., Nunes, J. F., Moura, A. A. A., Moreira, E. P. 2004 Sincronização do estro em ovelhas deslanadas: efeito de diferentes doses de gonadotrofina Coriônica eqüina sobre a taxa de ovulação. *Rev. ciênc. agrár.* 41, p. 215-222.
- Romano, J. E. 2004 Synchronization of estrus using CIDR, FGA or MAP intravaginal pessaries during the breeding season in Nubian goats. *Small Rumin. Res.* 55, 15–19.
- Rubianes, E., de Castro, T., Kmaid, S. 1998 Estrus response after a short progesterone priming in seasonally anestrous goats. *Theriogenology*, 49, 356.

- Rubianes, E., de Castro, T., Carbajal, B. 1996 Effect of high progesterone levels during the growing phase of the dominant follicle of wave 1 in ultrasonically monitored ewes. *Can. J. Anim. Sci.*, 76, 473-475.
- Rubianes, E., Menchaca, A. 2003 The pattern and manipulation of ovarian follicular growth in goats. *Anim. Reprod. Sci.* 78, 271-287.
- Santos, J. E., Thatcher, W. W., Pool, L., Overton, M. W. 2001. Effect of human chorionic gonadotropin on luteal function and reproductive performance of high-producing lactating Holstein dairy cows. *J. Anim. Sci.* 79, Issue 11 2881-2894.
- Schwarz, T.; Wierzchos, E. 2000 Relationship between FSH and ovarian follicular dynamics in goats during the estrous cycle, *Theriogenology*. 53, p.381.
- Silva, J.R.V.; Ferreira, M.A.L.; Costa, S.H.F.; Figueiredo, J.R. 2002. Características morfológicas e controle do crescimento folicular durante a foliculogênese em ruminantes domésticos. *Ciência animal*, v.12, p.105-117.
- Simões, J., Almeida, J. C., Valentim, R., Baril, G., Azevedo, J., Fontes, P., Mascarenhas, R. 2006 Follicular dynamics in Serrana goats. *Anim. Reprod. Sci.* 95, 16–26.
- Souza, C. J. H., Campbell, B. K., Baird DT. 1997 Follicular dynamics and ovarian steroid secretion in sheep during the follicular and early luteal phases of the estrus cycle. *Biol Reprod* . 56, 483-488.
- Tamanini, C., Bono, G., Cairoli, F., Chiesa, F. 1985 Endocrine responses induced in anestrus goats by the administration of different hormones after a fluorogestone acetate treatment. *Anim. Reprod. Sci.*, 9, 357-364.
- Titi, H. H., Kridli, R. T., Alnimer, M. A. 2008 Estrus Synchronization in Sheep and Goats Using Combinations of GnRH, Progestagen and Prostaglandin F_{2a} *Reprod Dom Anim* doi: 10.1111/j.1439-0531.

- Turnbull, K. E., Braden, A. W. H., Mattner, P. E. 1977 The pattern of follicular growth and atresia in the ovine ovary. *Aust. J. Biol. Sci.* 30, 229-241.
- Ungerfeld, R., Rubianes, E. 1999 Effectiveness of short-term progestogen primings for the induction of fertile oestrus with eCG in ewes during late seasonal anoestrus. *Anim. Sci.* 68, 349–353.
- Valenzuela-Jiménez, N., Hernández-Cerón, J., Murcia-Mejía, C., Rodríguez-Maltos, R., Gutiérrez, C. G., 2004 Efecto del benzoato de estradiol en la presentación del pico preovulatorio de lh, momento de ovulación y fertilidad en cabras sincronizadas con acetato de melengestrol. *Agrociencia.* 38, 603-611.
- van Wezel, I., Rodgers, R. J. 1996. Morphological characterization of bovine primordial follicles and their environment *in vivo*. *Biol Reprod.* 55, 1003-1011.
- Viñoles, C., Forsberg, M., Banchemo, G., Rubianes, E. 2001. Effect of long-term and short-term progestágeno treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. *Theriogenology*, 55, 993–1004.
- Viñoles, C., Forsberg, M., Banchemo, G., Rubianes, E. 2000. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in the ewe. In: Proceedings of the 14th International Congress on Animal Reproduction, Stockholm, Sweden. p. 32.
- Viñoles, C., Meike, A., Forsberg, M., Rubianes, E. 1999 The effect of subluteal levels of exogenous progesterone on follicular dynamics and endocrine patterns during early luteal phase of the ewe. *Theriogenology*, 51, 1651-1661.
- Whitley, N. C., Jackson, D. J., Schoenian, S. 2003 Out-of-season breeding in hari sheep using melengestrol acetate (MGA). *J. Anim. Sci.*, 81, suplement.1, 123.
- Wildeus S., 1999 Current concepts in synchronization of estrus: sheep and goats. In: Proceedings of the American Society of Animal Science, 39, pp.1–14.

CAPÍTULO 02

Uso da dinâmica folicular ovariana na avaliação de diferentes tratamentos de sincronização de estro em cabras Canindé exploradas no semiárido do Nordeste do Brasil

(Use of ovarian follicular dynamic in the evaluation of different estrus synchronization treatments in Canindé goats explored in semiarid zone of northeast of Brazil)

A SER ENVIADO PARA REVISTA: ANIMAL REPRODUCTION SCIENCE

Borges-Brandão, G.S.¹; Nascimento, T.V.C.²; Barros, C.H.S.C.³; Ferreira, V.C.D.³; Magalhães, L.C.³; Miranda, M.S.⁴; Nogueira, D.M.⁵; Freitas, V.J.F.⁶; Teixeira, D.I.A.⁶; Lopes Júnior, E.S.⁷

¹Mestranda do Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal – UNIVASF- Rodovia BR 407, Km 12 – Lote 543 – Projeto de Irrigação Senador Nilo Coelho, s/nº - C1 – CEP 56300-990 – Petrolina – PE, Brasil Bolsista FACEPE, e-mail: gabrielleborges@yahoo.com.br

²Mestrando do Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal – UNIVASF/Petrolina-PE. Bolsista FACEPE.

³Discente de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Vale do São Francisco – UNIVASF/Petrolina-PE.

⁴Discente de Zootecnia da Universidade Federal do Vale do São Francisco – UNIVASF/PE

⁵Pesquisador da Embrapa Semi-Árido – Petrolina-PE.

⁶Laboratório de Fisiologia e Controle da Reprodução – LFCR - Universidade Estadual do Ceará, Faculdade de Veterinária – Fortaleza-CE, Brasil.

⁷Professor Adjunto II da Universidade Federal do Vale do São Francisco- UNIVASF/PE; e-mail: edilson.lopes@univasf.edu.br

Resumo

Quinze cabras Canindé (n=15) foram submetidas a diferentes protocolos de sincronização de estro (SE) e monitoradas por ultra-sonografia com o objetivo de avaliar tais tratamentos

através da dinâmica folicular ovariana. Os animais foram divididos em 3 grupos, sendo o G1 (n=5) formado por cabras submetidas à SE de 5 dias de impregnação progesterônica e 75 µg de d-cloprostenol no início do tratamento; no G2 (n=5), cabras foram tratadas como em G1, mas com a administração de eCG no final do tratamento; e o G3 (n = 5), foi feito o mesmo como em G2, com exceção da aplicação de benzoato de estradiol ao invés de eCG, 24 horas após o final do tratamento. Imagens ovarianas foram obtidas com um ultrassom, visando acompanhar a dinâmica folicular, antes, durante e depois dos tratamentos hormonais. Dentre os animais, 80% apresentaram estro, sendo 60% (3/5), 100% (5/5) e 80% (4/5) nos grupos 1, 2 e 3, respectivamente. O grupo 3 apresentou, significativamente ($P < 0,05$), maior intervalo entre o fim do tratamento e o início do estro ($61,0 \pm 5,6$ h), em comparação aos grupos 1 ($28,0 \pm 6,5$ h) e 2 ($17,6 \pm 5,0$ h). No entanto, a duração do estro não diferiu ($P > 0,05$) entre os protocolos, sendo de $29,3 \pm 8,1$ h vs. $48,8 \pm 6,2$ h vs. $38,0 \pm 7,0$ h, respectivamente, para os grupos 1, 2 e 3. No Grupo 2, apesar do folículo ovulatório ter apresentado um diâmetro menor, este se mostrou apto, respondendo às gonadotrofinas e levando à ovulação de 100% dos animais, e ocorrendo, em média, 31,2 h após o início do estro. Portanto, observou-se que o tratamento utilizado no G2 se mostrou atividade folicular mais eficiente, devendo ser o protocolo de eleição para o controle do ciclo reprodutivo de cabras Canindé exploradas no semiárido do Nordeste do Brasil.

Abstract

Fifteen Canindé goats (n=15) were submitted to different estrus synchronization (ES) protocols and they were monitored by ultra-sonografia in order to evaluate such treatments concerning to the ovarian follicular dynamic. The animals were allocated in three groups, being the G1 (n=5) formed by goats submitted to ES characterized by 5 days of impregnation progestagen and by 75 µg d-cloprostenol at the beginning of the treatment; in

the G2 (n=5), goats were treated as in G1, but with the administration of eCG in the end of the treatment; and in the G3 (n = 5), was made the same as in G2, but it was administrated benzoate of estradiol instead of eCG, 24 hours after the end of the treatment. Ovarian images had been gotten with an ultrasound in order to monitor the follicular dynamic, before, during and after the hormonal treatments. Concerning estrus response, 80% presented estrus, being 60% (3/5), 100% (5/5) and 80% (4/5) in groups 1, 2 and 3, respectively. Group 3 showed significantly ($P<0.05$) a higher interval between the end of treatment and the onset of estrus (61.0 ± 5.6 h) compared to groups 1 (28.0 ± 6.5 h) and 2 (17.6 ± 5.0 h). However, the length of estrus did not differ ($P>0.05$) among protocols, being 29.3 ± 8.1 h vs. 48.8 ± 6.2 h vs. 38.0 ± 7.0 h, respectively, for groups 1, 2 and 3. Group 2, despite the ovulatory follicle had shown a smaller diameter, it proved to be able to respond to gonadotropins and, moreover, to ovulate in 100% of animals that occurred on average 31.2 h after the onset of estrus. Therefore, It was observed that the treatment used in the G2 was the most efficient and it might be the chosen protocol to control the reproductive cycle of Canindé goats explored in semiarid zone of northeast of Brazil.

Introdução

A manutenção do material genético de raças caprinas em bancos de embriões e de sêmen é a melhor forma de preservá-los, tanto da extinção quanto da diluição genética com animais mais produtivos, porém menos resistentes ao ambiente do semi-árido. Assim, estes recursos podem ser utilizados posteriormente para resgate de rusticidade ou implementação de programas de produção de caprinos no semiárido, fornecendo proteína animal de qualidade para a população, além de ser uma alternativa econômica para pequenos produtores (Egito et al., 2002). Tais objetivos podem ser alcançados pela implantação de

bancos de germoplasma através da produção *in vivo* de embriões (Gordon, 1994) ou de animais por inseminação artificial (Leboeuf et al., 2000).

Ambos os processos, envolvem principalmente, manipulações artificiais da atividade ovariana com auxílio de compostos exógenos, que são precedidos por protocolos de sincronização de estro, os quais, por sua vez, devem ser cada vez mais compreendidos e aperfeiçoados. Estes protocolos conferem ao criador a capacidade de sincronizar as coberturas e os partos resultando em enormes benefícios para o gerenciamento e viabilidade econômica do sistema de produção adotado (González-Bulnes et al., 2005).

O controle da vida do corpo lúteo ou a manipulação da concentração da circulação de progesterona permite a regulação e sincronização do ciclo estral e da ovulação (Hansel e Convey, 1983). Os tratamentos progestágenos de longa duração (11 a 19 dias) sincronizam eficientemente o estro, mas com fertilidade variável. Estes protocolos tradicionais foram delineados antes dos anos 90 e não levaram em consideração o conhecimento atual da dinâmica folicular. Recentemente, têm sido avaliados diferentes tratamentos progestágenos curtos em caprinos e ovinos, consistindo de cinco a sete dias de impregnação progestágena.

Em associação aos tratamentos progestágenos em pequenos ruminantes o hormônio amplamente utilizado para induzir a ovulação é a gonadotrofina coriônica eqüina (eCG). No entanto, o uso repetido da eCG está associado a uma reação imunogênica em caprinos (Baril et al., 1992, 1996; Roy et al., 1999; Drion et al., 2001). Tratamentos repetidos induzem uma maior ligação do eCG aos seus anticorpos, associado a um atraso no aparecimento de estro e uma menor taxa de gestação. Em bovinos, o benzoato de estradiol (BE) é amplamente utilizado para induzir um aumento súbito de LH pré-ovulatório e a ovulação após um tratamento de progesterona. (Bo et al., 2000). O estradiol diminui a amplitude dos pulsos de LH em ovelhas (Rawlings et al., 1984) e vacas (Price e Webb, 1988; Portela Junior et al., 2003).

Para auxiliar e aperfeiçoar os programas de sincronização de estro, o acompanhamento da atividade folicular nos caprinos tem um papel fundamental, principalmente, na identificação do momento de ovulação, favorecendo assim, o controle e uso das técnicas de reprodução nesta espécie.

Dados de atividade reprodutiva, incluindo a dinâmica folicular, em cabras nativas da raça Canindé são escassos, sendo estes fatores importantes na contribuição da preservação desses animais. Desta forma, objetivou-se com este trabalho, avaliar, através da dinâmica folicular ovariana, três diferentes protocolos de sincronização do estro em cabras Canindé exploradas na região semiárida do Nordeste do Brasil.

Material e Métodos

1. Animais e tratamento

O presente experimento foi realizado em agosto de 2009 na Embrapa Semiárido, localizada em Petrolina, Pernambuco. O município está localizado a 9° 4' de latitude Sul, 40° 19' de longitude Oeste, altitude de 376 m e precipitação média anual de 567 mm, distribuída entre os meses de novembro a abril (Teixeira, 2004).

Foram utilizadas 15 fêmeas caprinas pluríparas da raça Canindé, as quais foram distribuídas ao acaso, segundo a idade, peso, escore corporal, condição e histórico reprodutivo. Tais animais fazem parte do rebanho da Embrapa Semiárido. As fêmeas foram selecionadas após ultra-sonografia, evitando assim, que algum animal prenhe, bem como portador de alguma patologia genital, participasse do experimento. Foi, ainda, utilizado um bode Canindé de fertilidade comprovada, como reprodutor. Os animais estiveram em um sistema extensivo, realizando pastejo em piquetes na caatinga e, durante a tarde, receberam, em instalações cobertas, volumoso à base de feno de maniçoba e torta

de algodão. Os animais tiveram, ainda, livre acesso à água e a sal mineral. A sanidade destes animais foi mantida através de vermifugação quatro vezes ao ano e casqueamento periódico para evitar pododermatite.

As cabras foram distribuídas ao acaso em três grupos: **Grupo 1** (n = 5), formado por cabras submetidas a um tratamento de sincronização do estro estabelecido por Rubianes e Menchaca (2003), de 5 dias de impregnação progesterônica. Para tanto, no dia zero, foram inseridos dispositivos intravaginais impregnados com 300 mg de progesterona (CIDR-G[®], Intervet, Brasil), e administrada uma dose de 75 µg de d-cloprostenol (Ciosin[®], Coopers Ltda., Brasil); **Grupo 2** (n = 5), formado por cabras submetidas a um tratamento de sincronização do estro de 5 dias de impregnação progesterônica com CIDR-G[®]. Além disso, as fêmeas deste grupo receberam uma dose de 75 µg de d-cloprostenol (Ciosin[®], Coopers Ltda., Brasil) e 250 UI de eCG (Novormon[®], Syntex, Argentina) no início e no final do tratamento progesterônico, respectivamente; e o **Grupo 3** (n = 5), composto por cabras submetidas ao mesmo protocolo descrito para os animais do Grupo 2, com exceção da substituição da eCG no final do tratamento progesterônico, pela aplicação de 200 µg de benzoato de estradiol, 24 horas após o final do tratamento progesterônico.

2. Comportamento estral

O comportamento estral foi verificado duas vezes ao dia, por 30 minutos, a partir do dia - 5 ao Dia 0 (início do tratamento progestágeno), bem como a cada quatro horas, por 120 horas a partir da retirada do dispositivo, através da utilização de rufião.

3. Ultrassonografia

Imagens ultra-sonográficas ovarianas foram obtidas com um equipamento de ultrassonografia modo-B (Áquila Vet, Pie Medical, Holanda), equipado com um transdutor

transretal linear de 6 a 8 MHz de frequência, visando acompanhar a dinâmica folicular, antes, durante e depois dos tratamentos hormonais. O transdutor foi acoplado a um bastão plástico e atraumático, o qual permitiu a manipulação da probe, externamente ao reto.

O diâmetro, posição e características dos corpos lúteos e dos folículos antrais com, no mínimo, 2 mm de diâmetro, foram checados como descrito por De Castro et al. (1999). Os exames foram capturados com auxílio de uma placa de captura de vídeo (Easycap Usb 2.0) acoplada a um computador e, assim, os vídeos puderam ser visualizados e editados utilizando o software “Ulead Vídeo Studio 8.0 SE DVD”, sendo, em seguida, registrados em DVD, visando a análise de dados adicionais.

Os exames foram realizados, em todos os animais, uma vez ao dia, do dia – 5 ao dia 5 e, duas vezes ao dia, durante as 120 h seguidas à retirada do CIDR-G.

4. Análise Estatística

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com três tratamentos e cinco repetições por tratamento. Os resultados foram expressos como média (\pm erro padrão). Para comparação entre os parâmetros, foi utilizada a análise de variância (ANOVA) do SAS (1999), sendo as comparações entre médias efetuadas pelo teste Tukey. Os dados expressos em porcentagem foram submetidos ao Teste de Qui-quadrado, conforme a normalidade dos dados. Os valores foram considerados estatisticamente significativos quando apresentarem nível de significância menor que 5%.

Resultados

Após a indução e a sincronização do estro, 100% dos animais do Grupo 2 (5/5), manifestaram estro e ovulação.

Imagens ultrassonográficas de estruturas ovarianas são apresentadas na Figura 1. Os folículos foram detectados como círculos pretos (anecóicos) enquanto os corpos lúteos foram detectados como uma estrutura circular cinzenta (hipoecóica), a qual poderia apresentar uma área mais escura (anecóica), centralmente, caracterizando um corpo lúteo cavitário.

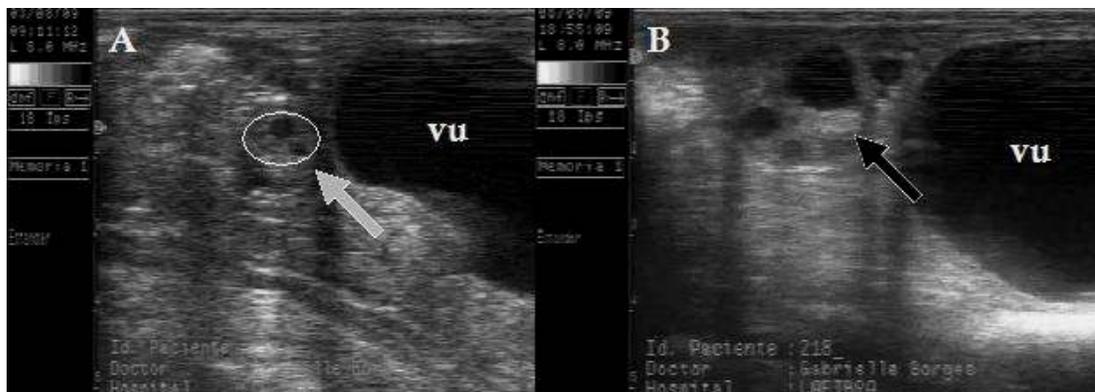


Figura 1. Imagens ultrassonográficas de ovários de cabras utilizando transdutor transretal de 8,0 MHz. (A) Ovário contendo corpo lúteo de 11,7 mm de diâmetro (seta cinza). (B) Ovário contendo três folículos com 3,27 mm, 4,02 mm e 8,0 mm (seta preta). (vu) Indica vesícula urinária.

A utilização do CIDR por apenas cinco dias e a ausência de eCG no Grupo 1 foi incapaz de induzir o estro e a ovulação na totalidade das cabras. Um desses animais apresentou cisto folicular, apresentando persistência, antes, durante e após o tratamento, de uma grande área anecóica delimitada no ovário, com diâmetro médio de 11,9 mm (Figura 2).



Figura 2. Imagens ultrassonográficas de cabras Canindé, Letras A, B e C representam D(0), D(2) e D(6) respectivamente, vu: vesícula urinária, c: cisto folicular.

Conforme os resultados relacionados na Tabela 1, as manifestações do início do estro foram mais tardias ($p < 0,05$) no Grupo 3, quando comparado aos Grupos 1 e 2, enquanto entre esses não foi verificada diferença significativa.

Utilizando os protocolos de curta duração, o início do estro foi disperso, entre 16 a 80 h. A aplicação de 200 μg de benzoato de estradiol não sincronizou a emergência de uma nova onda folicular, havendo uma assincronia no início das manifestações do estro e no momento da ovulação nos Grupos 3 (entre 36 e 72 h) e 1 (entre 16 e 40 horas).

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 Canindé exploradas no semiárido do Nordeste do Brasil.

Tratamentos	Proporção de cabras em estro (%)	FT – IE (h)	Duração estro (h)
1	60(3/5)	28,0 \pm 6,5 ^b	29,3 \pm 8,1 ^a
2	100(5/5)	17,6 \pm 5,0 ^b	48,8 \pm 6,2 ^a
3	80(4/5)	61,0 \pm 5,6 ^a	38,0 \pm 7,0 ^a

^{a, b} Letras sobrescritas diferentes na mesma coluna diferem ($P < 0,05$).

A Figura 3 mostra a distribuição de ocorrência de estro nos três tratamentos realizados. Pôde-se observar que o protocolo utilizado no Grupo 2 foi capaz de sincronizar os estros de todas as cabras em intervalo inferior a 20 h após o fim do tratamento progestágeno, as quais podem ter apresentado maior atividade ovariana, causando antecipação do estro. Enquanto no Grupo 3, todas as cabras que apresentaram estro, o fizeram após 36 h.

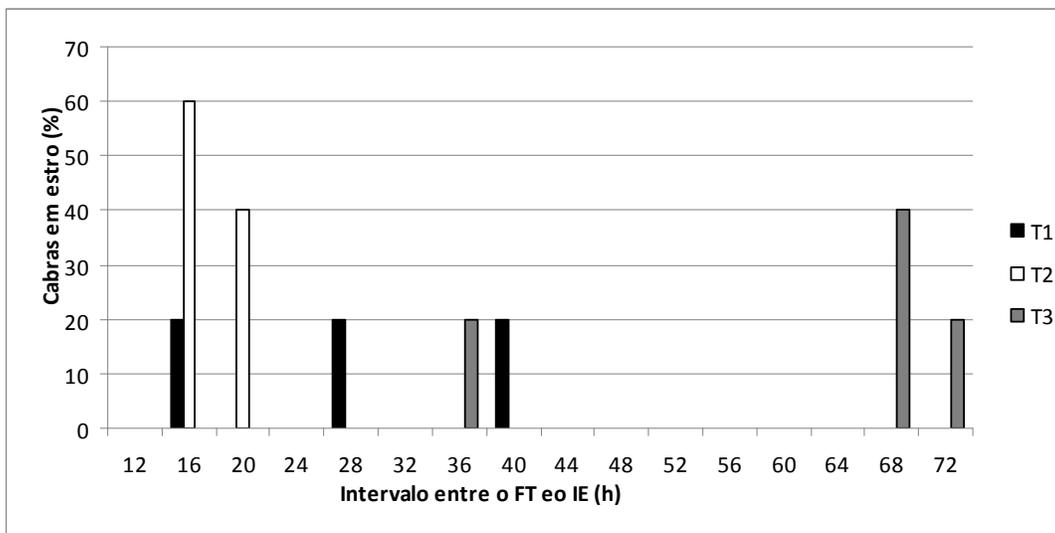


Figura 3. Percentual de cabras em estro após o fim do tratamento progestágeno.

Em cabras Saanen e Alpina, foram encontrados intervalos entre a retirada da esponja e o início do estro, mais curtos que 33 h (Baril et al., 1996). Enquanto Greyling e Van Niekerk (1990) encontraram cabras Boer apresentando estro 43,5 h após a retirada da esponja. Portanto, diferenças na resposta da raça aos tratamentos hormonais devem ser consideradas.

Logo em seguida a retirada do CIDR e aplicação de eCG, o diâmetro médio do folículo no Grupo Controle (1) foi maior que aquele observado nos do Grupos 2 e tendeu a ser superior também ao Grupo 3 (Tabela 2), sendo que, nesses últimos, os valores foram próximos ao encontrado por Letelier et al. (2009), em protocolos de curta duração. No Grupo 2, com a retirada do CIDR e aplicação da eCG, o folículo ovulatório já apresentava um diâmetro maior, mais apto, portanto, para responder às gonadotrofinas, ovulando, em média, 31,2 h após o início do estro. Viñoles et al. (2001) argumentaram que esses folículos têm um processo completo de maturação, produzindo grandes quantidades de estradiol, induzindo comportamento estral, após a retirada da esponja, e ovulação 48 h após o estro.

Tabela 2. Desenvolvimento folicular e indução da ovulação após tratamento progestágeno curto (5 dias com CIDR) somente (Grupo 1), ou associado com 250 UI de eCG no momento da retirada do CIDR (Grupo 2), ou com 200 µg de benzoato de estradiol, 24 horas após o final do tratamento com CIDR (Grupo 3).

	Grupo 1 (controle)	Grupo 2 (eCG)	Grupo 3 (BE)
Folículo Ovulatório			
Diâmetro máximo do folículo na retirada do dispositivo (mm)	8,14 ± 0,78 ^a	4,34 ± 0,78 ^b	5,23 ± 0,78 ^{ab}
Diâmetro folicular na ovulação (mm)	7,69 ± 0,57 ^a	6,73 ± 0,36 ^a	8,09 ± 0,57 ^a
Ovulação			
Cabras que ovularam	40,00% (2/5) ^b	100,00% (5/5) ^a	40,00% (2/5) ^b
FT-ovulação (h)	48,00 ± 13,70 ^a	58,80 ± 8,7 ^a	66,00 ± 13,70 ^a
IE-ovulação (h)	30,00 ± 6,66 ^a	31,20 ± 4,21 ^a	24,00 ± 6,66 ^a

^{a, b} Letras sobrescritas diferentes na mesma linha diferem (P<0,05).

No Grupo 1, o diâmetro máximo do folículo, logo após a retirada do dispositivo, foi maior ($p < 0,05$) que nos demais grupos (Tabela 2). Este achado pode ter relação com a possibilidade de que os folículos dos animais deste grupo tiveram a emergência da onda antes da avaliação e apresentando assim maior diâmetro no momento da mesma (Takada et al., 2009). O número de cabras que ovulou no Grupo 2 diferiu ($P < 0,05$) daquele dos demais grupos, como mostra a Tabela 2. Embora não tenha sido constatada diferença significativa ($P > 0,05$), as fêmeas do Grupo 3 tenderam a apresentar estro mais tarde em relação ao final do tratamento progestágeno, o que também foi relatado por Takada et al. (2009). Estes autores, utilizando protocolo curto associado a estrógeno, observaram que as doses deste não foram capazes de sincronizar o crescimento folicular e levaram a uma ovulação tardia. Os intervalos dos estros até as ovulações foram similares em todos os tratamentos, assemelhando-se ao encontrado por Evans et al. (2004) ($28,8 \pm 0,8$ h) e Hashemi et al. (2006) ($29,6 \pm 5,6$ h).

Discussão

A manifestação do estro e da ovulação de 100% dos animais do grupo 2, foi semelhante ao observado por Nogueira et al. (2008) e Takada et al. (2009), em que 100% dos animais apresentaram estro após a sincronização com protocolo de curta duração, utilizando MAP e CIDR, respectivamente, e associado a eCG na retirada da esponja ou dispositivo.

Quanto aos animais que não mostraram estro e/ou não ovularam com a retirada do CIDR, supõe-se que, embora possa ter ocorrido um aumento na secreção de gonadotrofinas provocado pela diminuição da progesterona, induzindo, assim, o crescimento dos folículos ovarianos até o diâmetro pré-ovulatório, parece que a produção folicular de 17β -estradiol não foi suficiente para induzir o pico de LH e, conseqüentemente, a ovulação. Tais achados corroboram os relatos de Hunter (1991), o qual verificou que folículos nessas condições, não atingiriam o completo desenvolvimento de receptores gonadotróficos ou da habilidade máxima de sintetizar 17β -estradiol, existindo, portanto, um comprometimento da duração da estimulação do folículo pré-ovulatório, antes do pico de LH.

Além disso, segundo Rubianes et al. (1998), a eCG deve estar associada ao progestágeno para estimular a ovulação, não só na estação reprodutiva como fora dela, pois, na ausência deste hormônio, não há manifestação de estro. Barrett et al. (2008) observaram que, quando a eCG foi aplicada no final do tratamento com progestágenos e estradiol, houve melhor sincronia do estro e da ovulação.

A dispersão do início do estro (entre 16 à 80h) nos tratamentos utilizados, foram similares às encontradas por Viñoles et al. (2001), que verificaram que, no protocolo de longa duração, houve maior sincronia no início do estro, enquanto que no de curta duração, houve maior dispersão, a qual foi causada pela presença de um corpo lúteo funcional no término do tratamento na maioria das ovelhas.

As cabras do Grupo 2 apresentaram um intervalo entre o fim do tratamento e início de estro similar ao encontrado por Nogueira et al. (2008), em que cabras, também exploradas em ambiente semiárido e utilizando protocolo de sincronização de estro de 6 dias com progestágenos associados à aplicação de eCG na retirada da esponja, apresentaram valores de $17,9 \pm 5,6$ h.

O grupo que utilizou o benzoato de estradiol obteve uma assincronia no início das manifestações do estro e no momento da ovulação no (entre 36 e 72 h). Tal acontecimento mostrou-se diferente do observado por Bo et al. (2000), em novilhas, e por Meikle et al. (2001) e Barrett et al. (2008), em ovelhas, em que a aplicação de estrógeno, gerou a atresia do folículo dominante, sincronizando o estro e a ovulação a partir de uma nova emergência da onda de crescimento folicular.

Em estudos realizados por Barrett et al. (2004), o folículo pré-ovulatório encontrado durante a estação reprodutiva foi de $7,5 \pm 0,5$ mm, resultado semelhante à média encontrada nos folículos do grupo controle. Este achado, mostra que, em ambos os trabalhos, as médias encontradas foram capazes de apresentar diâmetro já responsivo, mesmo sem a presença de associações como a eCG e o benzoato de estradiol dos outros tratamentos.

O tratamento curto empregado nesse experimento se caracteriza por uma alta concentração de progesterona no final do tratamento, o que causa uma brusca queda dos níveis deste esteróide e a conseqüente descarga hormonal de FSH e LH, induzindo a maturação folicular, aumento nos índices de 17β -estradiol e a ocorrência precoce do estro (Rubianes et al., 1998).

O estresse calórico é outro fator importante a ser levado em consideração, pois contribui para baixos índices reprodutivos em ambientes quentes, sendo esse problema de natureza multifatorial e causado por hipertermia. Esta, por sua vez, altera e prejudica,

diretamente, as funções celulares de várias partes e tecidos do sistema reprodutivo (Wolfenson et al., 2000; Marai et al., 2007). Dentre estas, pode-se destacar o tecido ovariano, que já foi monitorado por ultrassonografia, para verificar alterações na dinâmica folicular provocadas pelo estresse calórico (Wolfenson et al., 1995; 2000). Esse monitoramento mostrou uma queda na dominância folicular, 2 a 3 dias anterior ao surgimento do folículo dominante da segunda onda pré-ovulatória (Wolfenson et al., 1995; 2000). Isso pode ter um significado fisiológico importante, porque a precocidade da emergência do folículo pré-ovulatório pode resultar em ovulação de folículos mais velhos. A duração da dominância do folículo pré-ovulatório foi correlacionada, negativamente, com a fertilidade em bovinos (Mihm et al., 1994).

Diante de todos esses fatores e influências do estresse térmico na dinâmica folicular, deve ser levado em consideração que os animais experimentais foram mantidos em uma região semiárida e consumindo pastagem nativa. O que pode ter influenciado nos resultados, sabendo que o estresse por calor e o nível nutricional podem afetar o padrão de desenvolvimento folicular (Bo et al., 2000).

Conclusões

As doses de benzoato de estradiol não foram capazes de sincronizar a emergência de uma nova onda de crescimento folicular e, conseqüentemente, o estro e a ovulação. O protocolo de curta duração apresentou melhor sincronia do estro e da ovulação, quando associado ao eCG. Quando se utiliza protocolo de curta duração na pré-estação reprodutiva sem eCG a resposta ovariana é menor, resultando em menor número de animais em estro e que ovulam. Espera-se que animais da raça Canindé sejam submetidos a estudos seguindo o protocolo com resultados complementares para, assim, favorecer o conhecimento da

atividade reprodutiva e utilizar meios para preservar a espécie. Contudo, estudos avaliando doses e análogos do estradiol devem ainda ser avaliados a fim de se obter alternativas de menores custos dos protocolos.

Agradecimentos

Ao Laboratório Pfizer e a Jica pelo apoio no fornecimento dos hormônios utilizados no experimento.

À Embrapa Semiárido por disponibilizar as instalações e os animais experimentais.

Referências Bibliográficas

- Baril, G., Remy, B., Leboeuf, B., Beckers, J.F., Saumande, J. 1996. Synchronization of oestrus in goats: the relationship between eCG binding in plasma, time occurrence of oestrus and fertility following artificial insemination, *Theriogenology*. v.45, p.1553–1559.
- Baril, G., Remy, B., Vallet, J.C., Beckers, J.F., 1992. Effect of repeated use of progestagen-PMSG treatment for estrus control in dairy goats out of breeding season. *Reprod. Domest. Anim.* 27:161–168.
- Barrett, D.M.W., Bartlewski, P.M., Batista-Arteaga, M., Symington, A., Rawlings, N.C. 2004. Ultrasound and endocrine evaluation of the ovarian response to a single dose of 500 IU of eCG following a 12-day treatment with progestagen-releasing intravaginal sponges in the breeding and nonbreeding seasons in ewes. *Theriogenology*, v.61, n. 2-3, p.311- 327.

- Barrett, D.M.W., Bartlewski, P.M., Duggavathi, R., Davies, K.L., Huchkowsky, S.L., Epp, T., Rawlings, N.C. 2008. 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.
- Bo, G.A., Bergfelt, D.R., Brogliatti, G.T., Pierson, R.A., Adams, G.P., Mapletoft, R.J. 2000. Local versus systemic effects of exogenous estradiol-17 β on ovarian follicular dynamics in heifers with progestagen implants. *Anim. Reprod. Sci.* v.59, n. 3-4, p.141-157.
- Corteel, J.M., Leboeuf, B., Baril, G. 1988. Artificial breeding of goats and kids induced to ovulate with hormones outside the breeding season. *Small Rumi. Res.* v.1, p.19–35.
- de Castro, T., Rubianes, E., Menchaca, A., Rivero, A. 1999. Ovarian dynamics, serum estradiol and progesterone concentrations during the interovulatory interval in goats. *Theriogenology*. v.52, p.399-411.
- Drion, P.V., de Roover, R., Houtain, J.Y., Mcnamara, E.M., Remy, B., Sulon, J., Beckers, J.F. 2001. Increase of plasma eCG binding rate after administration of repeated high dose of eCG to cows. *Reprod. Nut. Dev.* v.41, p.207-215.
- Egito, A.A., Mariante, A.S., Albuquerque, M.S.M. 2002. Programa brasileiro de conservação de recursos genéticos animais. *Arch. Zoot.* v.51, p.39-52.
- Evans, A.C.O., Duffy, P., Crosby, A.T.F., Hawken, P.A.R.B., Boland, M.P., Beard, A.P.B. 2004. Effect of ram exposure at the end of progestagen treatment on estrus synchronization and fertility during the breeding season in ewes. *Anim. Reprod. Sci.* v.84, n. 3-4, p.349-358.
- Gibon, A., Sibbald, A.R., Thomas, C. 1999. Improved sustainability in livestock systems, a challenge for animal production science. *Livest. Prod. Sci.* v. 61, p.107-110.

- Gonzalez-Bulnes A., Veiga-Lopez A., Garcia P., Garcia-Garcia R.M., Ariznavarreta C. Sanchez, M.A., Tresguerres, J.A.F., Cocero, M. J., Flores, J.M. 2005. Effects of progestagens and prostaglandin analogues on ovarian function and embryo viability in sheep. *Theriogenology*, v.63, p.2523–2534.
- Gordon, I. 1994. Developments in *in vitro* fertilization (IVF) technology. In: Laboratory production of cattle embryos. Ireland: CAB International, p.1-29.
- Gordon, I. 1983. Fixed-time sheep artificial insemination. In: Controlled Breeding in Farm Animals. Oxford: Pergamon Press, p.197-208.
- Greyling, J.P.C., Van Niekerk, C.H. 1990. Effect of pregnant mare serum gonadotrophin (PMSG) and route of administration after progestágeno treatment on estrus an LH secretion in the Boer goat. *Small Rumi. Res.* v.3, p.511-516.
- Hansel, W., Convey, E. M. 1983. Physiology of the estrus cycle. *Journal of Anim. Sci.* v.57, n. 3, p.404-424.
- Hashemi, M.A., Safdarian, M.A., Kafib, M. 2006. Estrous response to synchronization of estrus using different progesterone treatments outside the natural breeding season in ewes. *Small Rumi. Res.* v.65, n. 3, p.279-283.
- Hunter, M. G. 1991. Characteristics and causes of the inadequate corpus luteum. *J. reprod. fert.* v.43, n. 1, p.91-99.
- Leboeuf, B., Restall, B., Salamon, S. 2000. Production and storage of goat semen for artificial insemination. *Anim. Reprod. Sci.* v.62, p.113-141.
- Letelier, C.A., Contreras-Solis, I., García-Fernández, R.A., Ariznavarreta, C., Tresguerres, J.A.F., Flores, J.M., Gonzalez-Bulnes, A. 2009. Ovarian follicular dynamics and plasma steroid concentrations are not significantly different in ewes given intravaginal

- sponges containing either 20 or 40 mg of fluorogestone acetate. *Theriogenology*, v.71, n. 4, p.676-682.
- Marai, I., El-Darawany, A., Fadiel, A., Abdel-Hafez, B. 2007. Physiological traits as affected by heat stress in sheep - A review *Small Rumin. Res.* v.71, p. 1-12.
- Meikle, A., Forsberg, E.G., Garófalo, E.G., Carlsson, M.A., Lundeheim, N., Rubianes, E. 2001. Circulating gonadotrophins and follicular dynamics in anestrous ewes after treatment with estradiol-17 β . *Anim. Rep. Sci.* v.67, n. 1-2, p.79-90.
- Mihm, M., Baguisi, A., Boland, M.P., Roche, J.F. 1994. Association between the duration of dominance of the ovulatory follicle and pregnancy rate in beef heifers. *J. Reprod. Fertil.* 102, 123–130.
- Nogueira, D.M., Lopes Júnior, E.S., Borges, G.S., Monte, A.P.O., Martins, S.R. 2008. Atividade estral de cabras leiteiras exploradas na região semiárida do nordeste do Brasil utilizando diferentes protocolos de sincronização de estro. In: V Congresso Nordestino de Produção Animal, 2008, Aracaju. Anais... Sergipe.
- Portela Junior, V.M., Moraes, J.C.F., Jaume, C.M., Goncalves, P.B.D., Oliveira, J.F.C. 2003. Influência de diferentes concentrações de acetato de medroxi-progesterona associados ou não ao benzoato de estradiol no crescimento folicular de vacas Hereford. *Acta Sci. Vet.* v.31, p.532-533.
- Price, C.A., Webb, R. 1988. Steroid control of gonadotrophin secretion and ovarian function in heifers. *Endocrinology*, v.122, n. 5, p.2222-2231.
- Rawlings, N.C., Jeffcoate, I.A., Rieger, D.L. 1984. The influence of estradiol 17 β and progesterone on peripheral serum concentrations of luteinizing hormone and follicle stimulating hormone in the ovariectomized ewe. *Theriogenology*, v.22, n. 5, p.473-488.

- Rensis, F. D., Scaramuzzi, R. J. 2003. Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow - a review *Theriogenology* v.60, p.1139–1151.
- Roy, F., Maurel, M.C., Combes, B., Vaiman, D., Cribiu, E.P., Lantier, I., Pobel, T., Deletang, F., Combarous, Y., Guillou, F. 1999. The negative effect of repeated eCG treatment on subsequent fertility in Alpine goats is due to a humoral immune response involving the major histocompatibility complex. *Biol. Reprod.* v.60, p.805-813.
- Rubianes, E. 2000. Nociones básicas de fisiología reproductiva em cabras y ovejas. In: *Controle farmacológico do ciclo estral em ruminantes*, São Paulo. p. 255-282.
- Rubianes, E., de Castro, T., Kmaid, S. 1998. Estrus response after a short progesterone priming in seasonally anestrous goats. *Theriogenology*. v.49, n. 1, p.356.
- Rubianes, E., Menchaca, A. 2003. The pattern and manipulation of ovarian follicular growth in goats. *Anim. Reprod. Sci.* v.78, p.271-287.
- Sas Institute. 1999. SAS user's guide: statistics. Version 8. Cary. 965 p.
- Silanikove, N. 2000. Effects of heat stress on the welfare of extensively managed domestic ruminants *Livest Prod Sci* v.67, p. 1-18.
- Takada, L., Bicudo, S.D., Rodrigues, C.F.C., Coelho, L.A., Perri, S.H.V. 2009. Sincronização do estro e da ovulação utilizando protocolos de curta duração durante a pré-estação reprodutiva em ovelhas Suffolk. *Acta Scient.. Animal Sci.* v.31, n. 4, p.453-460.
- Teixeira, A.H.C. 2004. Cultivo da videira – Sistemas de Produção (clima). Embrapa Semi-árido, v. 1, versão eletrônica.
- Viñoles, C., Forsberg, M., Banchemo, G., Rubianes, E. 2001. Effect of long-term and short-term progestágeno treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. *Theriogenology*, v.55, p.993–1004.

Wolfenson, D., Roth, Z.; Medan, R. 2000. Impaired reproduction in heat-stressed cattle: basic and applied aspects Anim. Reprod. Sci. v.61, p.535–547.

Wolfenson, D., Thatcher, W.W., Badinga, L., Savio, J.D., Medan, R., Lew, B.J., Braw-Tal, R., Berman, A. 1995. Effect of heat stress on follicular development during the estrous cycle in lactating dairy cattle. Biol. Reprod. v,52, p.1106–1113.