

GISELE CALDAS BONATO

**SINCRONIZAÇÃO DE ESTRO EM CABRAS LEITEIRAS COM D-
CLOPROSTENOL EM DIFERENTES INTERVALOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Jeferson Ferreira da Fonseca

Coorientadoras: Joanna Maria Gonçalves de Souza-Fabjan
Maria Emília Franco Oliveira

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2019**

GISELE CALDAS BONATO

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade Federal de Viçosa -
Câmpus Viçosa

T

B699s
2019 Bonato, Gisele Caldas, 1991-
Sincronização de estro em cabras leiteiras com
D-cloprostenol em diferentes intervalos / Gisele Caldas Bonato.
– Viçosa, MG, 2019.
46 f. : il. ; 29 cm.

Inclui anexos.

Orientador: Jeferson Ferreira da Fonseca.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Cabras - Reprodução. 2. Inseminação artificial.
3. Sincronização. 4. Ultrassonografia veterinária. 5. Ovulação.
I. Universidade Federal de Viçosa. Medicina Veterinária.
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária. II. Título.

CDD 22. ed. 636.3908245

GISELE CALDAS BONATO

SINCRONIZAÇÃO DE ESTRO EM CABRAS LEITEIRAS COM D-CLOPROSTENOL EM DIFERENTES INTERVALOS

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

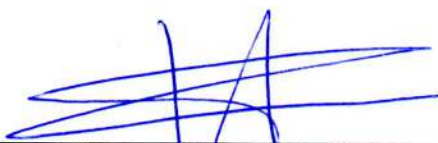
APROVADA: 22 de julho de 2019.

Assentimento:



Gisele Caldas Bonato

Autora



Jeferson Ferreira da Fonseca

Orientador

“O único lugar aonde o sucesso vem antes do trabalho é no dicionário”.

(Albert Einstein)

AGRADECIMENTOS

Todo este trabalho teve a contribuição de muitas pessoas, portanto tenho muito a agradecer.

Primeiramente, a Deus, que me guiou até aqui, sem ele eu nada seria.

À minha família, pelo apoio incondicional em todos os momentos, obrigada por serem a minha fortaleza. Meus avós Lígia e Antônio (*in memoriam*), minha mãe Helena, meu pai Alan, minha irmã Gilmara e sobrinha Laryssa. É por vocês que sigo perseguindo meus sonhos. Ao meu namorado Cristóvão, por todo apoio, amizade, companheirismo, incentivo e ajuda com a tabulação dos meus dados e avaliação das imagens. Todo o meu amor a vocês.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária por todo apoio na minha formação acadêmica.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Ao doutor Jeferson, por ter aceitado me orientar, pela oportunidade de fazer o mestrado em uma universidade tão renomada e por tudo que me ensinou (“Vamos dominar o mundo!”). Serei eternamente grata. O amor pelos pequenos notáveis, levarei eternamente comigo. Obrigada por estar sempre presente.

À minha coorientadora doutora Joanna por todo o auxílio, incentivo e ensinamentos desde a graduação. Sem a sua contribuição eu não teria chegado até aqui.

Às doutoras Ana e Maria Emília, pela indispensável contribuição na redação deste estudo.

Aos professores José Domingos (JD), Eduardo Paulino, Marcelo Teixeira, Edênio Detmann, com os quais fiz disciplinas no primeiro período, obrigada por todos os ensinamentos.

Ao Dr. Guilherme Nunes por ter contribuído nas análises estatísticas.

Aos funcionários da UFV que contribuíram de alguma forma para o meu aprendizado no início do curso.

À Rosi, pelo empenho de auxiliar sempre que precisamos e por ser uma excelente profissional.

Ao Sr. José Maria Moreira Santos, proprietário do capril INLI, por ceder seus animais para este estudo.

Ao seu Joaquim, à Preta e a ao seu Beto, pela amizade, pelas conversas e por cuidarem tão bem dos nossos pequenos.

À toda equipe do Setor de Caprinos e Ovinos da Embrapa, Aline, Luana, Lucas, Taís, pelo apoio e auxílio durante todo o período de experimento, a contribuição de cada um de vocês foi essencial para a realização deste estudo. Ao restante da equipe Isabela, Vitória, Valdecir,

Juarez e Jennifer, os quais vim a conhecer depois, obrigada pelo auxílio no dia-a-dia com os animais e pela amizade.

A todos os funcionários da Embrapa Gado de Leite, Tetesco, Paulo Rosa, seu Gilmar, Zé Luiz, Luíz, Luizinho, Verônica, Del, seu Célio, Chico Tostes, Amarildo, Marcão, seu Pilato, Salvati, seu Raimundo, seu Elso, Ceyla e outros tantos, pela amizade, companheirismo, ensinamentos e conversas. Cada um tem um lugarzinho especial no meu coração. Sentirei muita falta de todos e espero revê-los.

Aos amigos que fiz na Embrapa e levarei para sempre comigo e tantos outros estagiários que passaram por mim e foram importantes de algum modo. Obrigada pela amizade.

Aos amigos que moram longe ou perto, por torcerem por mim.

Às cabras e ovelhas que ficarão para sempre marcados em mim e por contribuírem tanto para o meu aprendizado acadêmico e profissional.

Agradeço de todo o coração!!

RESUMO

BONATO, Gisele Caldas, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2019. **Sincronização de estro em cabras leiteiras com D-cloprostenol em diferentes intervalos.** Orientador: Jeferson Ferreira da Fonseca. Coorientadoras: Joanna Maria Gonçalves de Souza-Fabjan e Maria Emília Franco Oliveira.

Este estudo avaliou a eficiência de duas administrações de d-cloprostenol em diferentes intervalos para sincronizar o estro e a ovulação em cabras cíclicas. No ensaio 1, 32 cabras receberam duas doses de 30 µg de d-cloprostenol em intervalos de 7,5 (T7,5, n = 16) ou 11,5 dias (T11,5, n = 16) e foram monitoradas quanto ao estro e à dinâmica folicular ovulatória. No ensaio 2, os mesmos tratamentos foram realizados (T7,5, n = 40 e T11,5, n = 38) para determinar o início do estro e taxa de gestação após inseminação artificial (IA). No ensaio 1, os exames ultrassonográficos foram feitos a partir da segunda dose, a cada 12 h até a detecção da ovulação, sete dias após o início do estro para detectar o corpo lúteo e para o diagnóstico da gestação 40 dias após. A IA foi realizada com sêmen congelado/descongelado com base no início do estro. No ensaio 1, a resposta ao estro (90,6%, 29/32) foi semelhante ($P > 0,05$) em ambos os grupos. O diâmetro do maior folículo na segunda dose foi maior ($P = 0,01$) em T7,5 do que em T11,5 (7,0 vs. 5,7 mm), enquanto os parâmetros ovulatórios foram semelhantes ($P > 0,05$) entre os grupos. No ensaio 2, a maior concentração ($P < 0,001$) do início do estro (T7,5 = 83,3% e T11,5 = 50,0%) ocorreu após o segundo dia (36 a 48 h). O intervalo para o estro foi inferior ($P < 0,01$) para T7,5 ($40,1 \pm 1,5$ h) em comparação com T11,5 ($48,4 \pm 2,1$ h). A taxa de gestação tendeu ($P = 0,0836$) a ser maior para T7,5 (71,4%, 40/56) que para T11,5 (55,6%, 30/54). Em conclusão, ambos os protocolos permitiram IA em tempo flexível, resultando em alta sincronização de estro e taxas de gestação em cabras leiteiras cíclicas.

Palavras-chave: PGF2 α . IA. Sincronia. Ultrassonografia. Ovulação. Cabras.

ABSTRACT

BONATO, Gisele Caldas, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2019. **Estrus synchronization in dairy goats with of D-cloprostenol at different intervals.** Adviser: Jeferson Ferreira da Fonseca. Co-advisers: Joanna Maria Gonçalves de Souza-Fabjan and Maria Emília Franco Oliveira.

This study evaluated the efficiency of two administrations of d-cloprostenol at different intervals to synchronize estrus and ovulation in cyclic goats. In trial 1, 32 goats received two doses of 30 µg d-cloprostenol at 7.5 (T7.5, n=16) or 11.5-day (T11.5, n=16) intervals and were monitored for estrus and ovulatory follicular dynamics. In trial 2, the same treatments were conducted (T7.5, n=40 and T11.5, n=38) to determine the estrus onset and pregnancy rates after artificial insemination (AI). In trial 1, ultrasound exams were done at the second dose, every 12 h until detection of ovulation, 7 days after estrus onset to detect the corpora lutea, and for pregnancy diagnosis 40 days after. AI was performed with frozen-thawed semen based on the estrus onset. In trial 1, the estrus response (90.6%, 29/32) was similar ($P>0.05$) in both groups. The diameter of the largest follicle at second dose was higher ($P=0.01$) in T7.5 than in T11.5 (7.0 vs. 5.7 mm), while the ovulatory parameters were similar ($P>0.05$) between groups. In trial 2, the highest ($P<0.001$) concentration of estrus onset (T7.5=83.3% and T11.5=50.0%) occurred after the second day (36 to 48 h). The interval to estrus was inferior ($P<0.01$) for T7.5 (40.1 ± 1.5 h) compared to T11.5 goats (48.4 ± 2.1 h). The pregnancy rate after AI tended ($P = 0.0836$) to be higher for T7.5 (71.4%, 40/56) than T11.5 (55.6%, 30/54) goats. Both protocols allowed flexible-time AI, resulting in high estrus synchronization and pregnancy rates in cyclic dairy goats.

Keywords: PGF2 α . AI. Synchrony. Ultrasonography. Ovulation. Goats.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	9
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	11
2.1. Atualidades e perspectivas para a caprinocultura leiteira no Brasil	11
2.2. O ciclo estral na cabra.....	11
2.3. Dinâmica folicular	12
2.4. Luteogênese e luteólise.....	15
2.5. Sincronização do estro na cabra	16
2.6. Inseminação artificial na cabra	18
3. REFERÊNCIAS	20
4. HIPÓTESES	26
5. OBJETIVOS.....	27
6. ARTIGO	28
ANEXO – Fichas de controle de anotações	42

1. INTRODUÇÃO

Pequenos ruminantes prestam considerável contribuição para produção de alimentos em todo o mundo. Diante do crescimento da população humana, sua importância ganha reforço, principalmente em países em desenvolvimento e regiões de clima e ambiente desfavorável (Amiridis e Cseh, 2012) onde sua exploração é dependente da disponibilidade de alimentos e da estacionalidade reprodutiva.

Com a estacionalidade reprodutiva, animais apresentam ciclos estrais naturais em um período de tempo definido. Em caprinos, este fenômeno é dependente da diminuição do fotoperíodo ou do número de horas de luz por dia (Chemineau et al., 1992; Delgadillo et al., 2004). Por isso, caprinos são considerados poliéstricos estacionais de dias curtos. Essa condição tende a diminuir ou mesmo findar em baixas latitudes. No Brasil, na região Sudeste, as cabras Saanen tem estação reprodutiva concentrada do final do verão ao início do inverno (Balara et al., 2019). Isso exige algumas estratégias de controle do ciclo estral como indução do estro através da utilização de protocolos hormonais (Corteel et al., 1975) ou programa de luz (Chemineau et al., 1992). Por outro lado, na estação reprodutiva, é possível obter a sincronização do estro utilizando exclusivamente prostaglandina-F 2α (PGF 2α) e seus análogos sintéticos (Lauderdale, 1975; Maia et al., 2017).

A sincronização de estro por meio da administração de PGF 2α (Lauderdale, 1975; Siqueira et al., 2009; Fierro e Olivera-Muzante, 2017) exige a presença de um corpo lúteo (CL) funcional e maduro (sensível à ação da PGF 2α) (Mccracken et al., 1972). A PGF 2α é rapidamente metabolizada (meia vida de três horas e oito minutos para cloprostenol e dinoprost, respectivamente) (Mccracken et al., 1999), de fácil aplicação, custo menor em relação aos protocolos com progestágenos e gonadotrofinas e não produz anticorpos, como observado com a gonadotrofina coriônica equina (eCG) (Baril et al., 1996). O uso de progestágenos e gonadotrofinas tem sido questionado por causarem distúrbios na fisiologia endócrina padrão, como atresia folicular, folículos persistentes (Noel et al., 1994; Leyva et al., 1998) e formação de anticorpos (Bodin et al., 1997). Diante desses impactos, estão sendo desenvolvidas alternativas para reduzir a dose e duração dos tratamentos (Letelier et al., 2009).

O tratamento que utiliza PGF 2α com duas doses em intervalo de nove a 10 dias já foi bem descrito (González et al., 2008; Siqueira et al., 2009; Fonseca et al., 2012; Siqueira et al., 2012; Esteves et al., 2013; Simões, 2016). Todavia, quando da ocorrência de ciclos curtos

após a primeira dose de cloprostenol, à segunda dose esses animais não apresentavam estro possivelmente em função do CL ser muito jovem (Fonseca et al., 2012; Esteves et al., 2013). Com o encurtamento do intervalo para sete dias, tais animais acabavam por entrar em estro juntamente com aqueles sem ciclo curto após a segunda dose de cloprostenol. Com a elevação do intervalo para 11,5 dias, os animais de ciclos curtos puderam responder à segunda dose de cloprostenol. Tanto o encurtamento, quanto a ampliação do intervalo resultaram em elevada taxa de gestação após a inseminação artificial, mas o intervalo de sete dias teve uma maior dispersão dos estros. (Maia et al., 2017). Como o intervalo longo, cuja última dose foi realizada ao final da tarde, resultou em elevada sincronia de estros, hipotetizou-se que o aumento do protocolo curto em 12 horas, para aplicar a segunda dose de cloprostenol também no final da tarde, pudesse melhorar a sincronização do estro.

Este estudo teve como objetivo investigar a eficiência da sincronização do estro com d-cloprostenol com duas administrações em intervalos de 7,5 e 11,5 dias em cabras leiteiras cíclicas.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Atualidades e perspectivas para a caprinocultura leiteira no Brasil

As regiões sudeste e nordeste são os principais locais de produção de leite de cabra no Brasil e o mercado vem apresentando um crescimento lento nos últimos anos nessas regiões. Na região sudeste, houve um aumento na produção de leite e na quantidade comercializada de 1% e 9,6%, respectivamente, de acordo com o último censo do IBGE, realizado no período de 2006 a 2017. Diferentemente, na região nordeste diminuiu o número de cabras ordenhadas, produção de leite e quantidade comercializada em mais de 30% (Embrapa, 2018).

Apesar do crescimento demorado, é evidente que o programa de melhoramento genético de caprinos leiteiros (CapraGene[®]) na região sudeste contribuiu de forma positiva para a produtividade na região, atualmente comparável à de rebanhos leiteiros europeus especializados (Lôbo et al., 2017). Anteriormente ao CapraGene[®], não havia um programa formal de melhoramento genético de caprinos leiteiros no Brasil. As tentativas de melhora genética estiveram focadas na importação de animais e em cruzamentos isolados sem qualquer controle de registro e sem considerar a seleção para produção de leite (Lôbo et al., 2010).

Pouco tempo após a implantação do programa, já foi possível observar um ganho genético (Facó et al., 2014). Com foco na seleção para produção de leite, testes de progênie e controle leiteiro, o CapraGene[®] está transformando a cadeia leiteira no Brasil. Todavia, há ainda dificuldades para se alcançar o êxito do programa, como o número relativamente baixo de criadores participantes e a expansão do programa para outras regiões, dada a extensão territorial brasileira. Mas este cenário vem se transformando ao longo do tempo e as perspectivas são promissoras (Lôbo et al., 2010).

2.2. O ciclo estral na cabra

O ciclo estral na cabra varia de 20 a 21 dias (Homeida e Cooke, 1982) e pode ser dividido em uma fase luteal (17 dias) e uma fase folicular (quatro dias). A fase luteal compreende o período pós-ovulação onde o hormônio esteroidal ovariano predominante é a progesterona (P₄), enquanto a fase folicular compreende o período de declínio da P₄ com

predominância do hormônio esteroidal estrógeno (Homeida, 1986). Essas fases do ciclo podem ser subdivididas em metaestro e diestro, quando há um incremento das concentrações de P_4 e quando permanece elevada até o início da luteólise, respectivamente. A fase folicular, por sua vez, pode ser subdividida em proestro (2 a 3 dias) e estro (24 a 48 h) (Homeida, 1986), quando antecede o comportamento de estro e que consiste na fase de receptividade sexual, respectivamente (Pineda, 2003).

Durante o estro há secreção de muco, que passa por mudanças cíclicas ao longo desse período. Isso ocorre porque o alto nível de estrogênio estimula as glândulas cervicais a produzirem o muco, que fornece um microambiente receptivo aos espermatozoides, próximo à ovulação (Moghissi, 1979). O tipo de muco determina o melhor horário para a inseminação artificial (IA) (Fonseca et al., 2017a). Assim como o muco, o grau de deposição do sêmen também é um dos pontos críticos para o sucesso da IA. Durante a IA, o sêmen deve ser depositado no corpo do útero para que se tenham taxas superiores de concepção (Tsuma et al., 2015; Fonseca e Alvim, 2018).

O fotoperíodo é um fator que influencia fortemente na ciclicidade de pequenos ruminantes, sendo estes, denominados estacionais de dias curtos (Chemineau et al., 1992). A glândula pineal, na ausência de luz, sintetiza o hormônio melatonina que afeta o ritmo circadiano (Quay, 1963). A estacionalidade reprodutiva é afetada principalmente pela latitude, isto é, tende a diminuir à medida que se aproxima da Linha do Equador. Secundariamente, é influenciada pela raça, que, se nativa, naturalizada ou sem raça definida, pode apresentar vários ciclos durante todo o ano, sem estação de anestro, desde que tenham bom suporte nutricional em qualidade e quantidade (Fonseca, 2005; Fonseca, 2006).

Atualmente, é possível manipular o estro em qualquer estação do ano, sendo que cada uma tem suas particularidades. Na estação reprodutiva, pode-se obter o estro sincronizado utilizando prostaglandinas. Na estação de transição, o efeito macho tem bons resultados e pode ser associado a programas de luz artificial ou indução hormonal de estro. Na contra-estação, o estro pode ser induzido e sincronizado com coquetéis hormonais (progestágenos, gonadotrofinas e prostaglandinas) e programas de luz artificial (Fonseca et al., 2007).

2.3. Dinâmica folicular

Antes da década de 80, o conhecimento sobre o desenvolvimento folicular progredia lentamente e os resultados eram contraditórios (Ginther et al., 1996). Com o advento da ultrassonografia, esse conhecimento pôde ser ampliado, permitindo o controle e mensurações direta e não-invasiva dos folículos em curto intervalo de tempo (Pierson e Ginther, 1984). A partir desse período, notou-se que o padrão de desenvolvimento folicular na cabra ocorre como ondas (folículos emergem em grupo), há presença de dominância folicular e essa dominância pode ser exercida por dois folículos que emergem da mesma onda, culminando em dupla ovulação (Ginther e Kot, 1994).

O desenvolvimento folicular consiste em uma série de modificações celulares e moleculares que são controlados por fatores ovarianos, foliculares e por sinalizações hormonais que conduzem a secreção de andrógenos e estrógenos. Tais hormônios induzem a proliferação e diferenciação das células da teca e da granulosa, capacitando-as a produzir estradiol e responder às gonadotrofinas. Dependendo da habilidade da célula em produzir estradiol, ela adquire receptores para LH, essenciais para ovulação e luteinização. As células que não produzirem estradiol em quantidade suficiente ou que não respondem adequadamente às gonadotrofinas entram em processo de atresia folicular. Além dos hormônios, mensageiros químicos chamados fatores de crescimento também participam ativamente do controle neuroendócrino, regulando o crescimento e desenvolvimento de vários órgãos, tecidos e células (Hafez e Hafez, 2004).

As células foliculares são originadas a partir de um complexo mecanismo de divisão celular, multiplicação e diferenciação. Inicia na vida fetal do indivíduo a partir das células germinativas, que migram para as gônadas e tornam-se oogônias. Proliferam-se por mitose e se diferenciam em oócitos primários. Em mamíferos, geralmente antes do nascimento, começa a primeira divisão da meiose e ocorre até o estágio de diplóteno da prófase I (Alberts et al., 2004), onde permanecem retidos até a maturidade sexual, aos seis meses em caprinos (Pineda, 2003), e durante esse período, ocorre a formação de um revestimento e grânulos corticais (Alberts et al., 2004).

As células da granulosa ficam justapostas ao redor do oócito em camadas, isso depende do estágio de desenvolvimento do folículo, e à medida que se multiplicam, formam mais camadas. São sete estágios de desenvolvimento (Kaur e Guraya, 1983), sendo que nos três primeiros, são folículos pré-antrais com duas a sete camadas de células. No quarto estágio, o maior folículo pré-antral já se destaca, no quinto começa a formar antro (cavidade)

e no sétimo e último estágio já é considerado folículo de Graaf, com antro bem formado e rico em estrógeno (Kaur e Guraya, 1983; Sharma et al., 2000).

Foi observado em cabras que a emergência folicular ocorre em grupos (ondas) e o padrão de ondas foliculares predominante foi de quatro ondas (Ginther e Kot, 1994; De Castro et al., 1999; Simões et al., 2006), sendo mais comum a dominância folicular na primeira (onda 1) e última onda (onda 4) (Ginther e Kot, 1994; De Castro et al., 1999; Rubianes e Menchaca, 2003).

O desenvolvimento folicular é marcado por diferenças entre os folículos maiores de diferentes ondas e entre os folículos maiores e os primeiros subordinados (De Castro et al., 1998). A taxa de crescimento para folículos que adquirem tamanho maior é de 1 mm/dia (Ginther e Kot, 1994). Gonzalez-Bulnes et al. (1999) observaram que $6,2 \pm 0,6$ novos folículos emergiam com 2 a 3 mm, além de encontrar $1,9 \pm 0,3$ folículos com 4 a 5 mm e $1,0 \pm 0,2$ folículo ≥ 6 mm por dia do ciclo.

A análise de crescimento identificou folículos em grupos de 4 mm por dia. Um folículo ovulatório cresce até um diâmetro máximo na onda 4 (9,7 mm), seguido pelo folículo da primeira onda (8,7 mm). Os menores folículos atingiram 4 mm e regrediram, e estes foram detectados principalmente durante os intervalos entre ondas e atingiram o pico apenas durante o dia 0. Os dias de emergência de ondas foram: -1 (onda 1), 4 (onda 2), 8 (onda 3) e 13 (onda 4). Os dias de emergência dos folículos que atingiram os maiores diâmetros foram dia 0 (ovulação), 4, 8 e 14. Constatou-se ocorrência de duplas ovulações em 70% dos animais ao final dos intervalos interovulatórios, pertencem à mesma onda de crescimento folicular e ovulam em menos de 24 horas um do outro (Ginther e Kot, 1994).

O intervalo entre ondas 1 e 4 teve correlação positiva com o diâmetro máximo do folículo maior (onda 4 > onda 1). O intervalo entre ondas (tempo de emergência de uma onda a outra) foi de 2 a 4 dias (Ginther e Kot, 1994).

Assim como a dominância folicular é diferente entre ondas, a produção de estrogênio também é, ambas são marcantes nas ondas 1 e 4, enquanto nas ondas intervenientes tais eventos não foram observados (De Castro et al., 1999). O aumento da concentração de P_4 pode ser um fator promotor da renovação folicular (De Castro et al., 1999); o aumento dos níveis de P_4 no início da fase luteal podem acelerar a renovação folicular com consequente emergência precoce da onda seguinte (Menchaca e Rubianes, 2002), mas a P_4 não tem relação sobre a secreção de FSH e nem sobre a sua própria secreção pelo CL na fase lútea inicial em caprinos (Suganuma et al., 2007).

A fase folicular do ciclo, que na cabra tem duração média de 17 dias, inicia com o recrutamento de um *pool* de folículos antrais, com 2 a 3 mm de diâmetro, que dependem de gonadotrofinas, nesse caso, do FSH (*follicle stimulating hormone*) secretado pela hipófise. Esses folículos entram na fase final de crescimento, mas apenas dois a três deles atingem o estágio pré-ovulatório. Os outros folículos começam a degenerar e sofrem atresia. Na fase final de crescimento, os folículos secretam estradiol 17β e o aumento desse hormônio induz o comportamento de estro e exerce um retrocontrole positivo no eixo hipotalâmico. Essa estimulação leva à secreção de LH pela hipófise que culmina no pico de LH e ovulação (Baril et al., 1993).

2.4. Luteogênese e luteólise

Após a ovulação, ocorre intensa hemorragia dentro da cavidade do folículo, que se transforma em um corpo hemorrágico, um meio nutritivo para a rápida proliferação das células da granulosa e da teca (Pineda, 2003).

Fibroblastos e fatores de crescimento (Gospodarowicz et al., 1976), células do sistema imune e células endoteliais se juntam às células excedentes da teca interna e da granulosa do folículo ovulado (Sangha et al., 2002) e se transformam em grandes e pequenas células luteais (Niswender et al., 2000). Essas células serão capacitadas a sintetizar P_4 , mas essa competência vai depender da adequada angiogênese do CL (Ferrara et al., 1998; Fraser et al., 2000). Então, começa o processo de luteinização com aumento da síntese de P_4 , que é produzida a partir do colesterol proveniente do fígado, e vários mecanismos são articulados para o aumento dos níveis deste hormônio (Smith et al., 1994). Isso leva à maturidade funcional do CL e a completar o seu desenvolvimento, com eficiente produção de P_4 (Smith et al., 1994). Na cabra, o CL é a principal fonte de P_4 durante a gestação (Thibault e Levasseur, 2001).

O CL de uma única ovulação é detectável, por ultrassom, a partir do quarto dia após o estro e aumenta gradualmente de tamanho até o 12º dia do ciclo. Em casos de duas ou mais ovulações, o CL pode ser visto a partir do quinto dia, e atinge área final menor do que o CL de uma única ovulação. As cavidades luteais são características do início da luteogênese, e tendem a regredir de tamanho com a progressão do desenvolvimento luteal (Arashiro et al., 2007).

A maior parte dos estudos sobre luteólise foram feitos em ovelhas e vacas. Então, a

partir dessas espécies, deve-se fazer uma analogia das características histológicas e fisiológicas em cabras. Ocorre um aumento de receptores para $\text{PGF}_2\alpha$ nas pequenas e grandes células luteais e iniciam os pulsos de $\text{PGF}_2\alpha$ (Tsai e Wiltbank, 1997), que ocorrem ao final da fase lútea, em um período de um a três dias (Senger, 2015), sendo um único pulso suficiente para desencadear os mecanismos para que as grandes células produzam $\text{PGF}_2\alpha$ (Tsai e Wiltbank, 1997). Através da circulação local, a $\text{PGF}_2\alpha$ é transferida da veia uterina para a artéria ovariana por um mecanismo de contracorrente. À medida que a $\text{PGF}_2\alpha$ é liberada, os níveis de P_4 vão sendo reduzidos (Pineda, 2003). Os níveis de P_4 no início do ciclo seriam os coordenadores para liberação uterina de $\text{PGF}_2\alpha$ (Homeida e Cooke, 1982; Fredriksson et al., 1984).

Também ocorre síntese de $\text{PGF}_2\alpha$ no útero a partir da ativação de uma série de proteínas, entre elas a fosfolipase A2 (PLA2) que libera ácido araquidônico da membrana do fosfolípido para a célula. O estradiol também estimula a produção de PLA2 (Dey et al., 1982). A cicloxigenase 2 (COX-2) age no ácido araquidônico e forma a prostaglandina H2 (PGH2), que por meio da ação da prostaglandina sintetase, forma $\text{PGF}_2\alpha$ (Burns et al., 1997).

O estradiol estimula a síntese para receptores de ocitocina no endométrio. A ocitocina se liga aos receptores do endométrio, alterando o padrão de liberação de $\text{PGF}_2\alpha$ e provocando luteólise (Beard e Lamming, 1994). Os primeiros sinais angioplásticos são alterações degenerativas no endotélio capilar dos microvasos (Augustin, 2000).

A endotelina é uma proteína produzida pelas células endoteliais da vascularização, estimulada pela $\text{PGF}_2\alpha$, que age como promotora da luteólise, provocando vasoconstrição no CL e hipóxia, e consequente morte de células vasculares e esteroideogênicas (Hinckley e Milvae, 2001). Todo esse processo é acompanhado pela queda na produção de P_4 (Meidan et al., 1999).

Então, ocorre a luteólise estrutural das células, que é um processo que envolve a morte celular programada e resulta em atrofia do CL (Juengel et al., 1993) e formação de tecido conjuntivo fibroso (Fields e Fields, 1996).

2.5. Sincronização do estro na cabra

Por motivos fisiológicos já mencionados, cabras e ovelhas manifestam estros em um determinado período do ano, no qual o fotoperíodo é menor (Fonseca, 2006). Em um sistema de produção intensivo, é importante que esses estros iniciem em intervalos de tempo bem

próximos. Para isso, podem ser utilizadas técnicas reprodutivas que promovam a sincronização do estro.

A sincronização do estro é conceitualmente definida como a concentração de fêmeas em estro em um período relativamente curto (24 a 72 h) (Fonseca et al., 2014) e pode ser implementada isolada durante a estação de acasalamento natural ou associada com a indução do estro, que utiliza progestágenos e gonadotrofinas durante as estações de anestro e transição (Fonseca et al., 2011). Um intervalo de sete dias entre as doses apresenta bons resultados e vantagens em relação ao intervalo de 10 dias, uma delas é a maior sincronização das ovulações, dando margem para inseminação artificial em tempo fixo (IATF) (Fonseca et al., 2011). As razões para isso é que no intervalo de sete dias, a segunda dose é aplicada entre o terceiro e quinto dia do ciclo estral (Rubianes et al., 2003) e, nesse intervalo, os folículos dominantes da primeira onda de desenvolvimento folicular ainda estão em fase de crescimento e os corpos lúteos já tem capacidade para responder à prostaglandina (Menchaca e Rubianes, 2004).

Para que a prostaglandina tenha o efeito esperado, deve ser utilizada em fêmeas que estejam ciclando, ou seja, que possuam um CL funcional, afinal é um agente luteolítico e sem CL não há luteólise (Siqueira et al., 2012).

As principais vantagens desse tratamento com prostaglandinas é o uso racional do hormônio, sem muitas aplicações; facilidade de aplicação; metabolismo rápido (Vázquez et al., 2010); partos sincronizados e lotes homogêneos o que facilita o manejo do rebanho; além do custo ser mais baixo e dos bons resultados obtidos segundo alguns autores (González et al., 2008; Siqueira et al., 2009; Fonseca et al., 2012; Siqueira et al., 2012; Esteves et al., 2013; Simões, 2016). O sucesso da sincronização dependerá, principalmente, do estágio e desenvolvimento folicular durante o tratamento.

As prostaglandinas vão agir induzindo a regressão do CL, reduzindo a fase luteínica, e logo após, começar um novo ciclo com o surgimento de uma nova onda folicular. Os protocolos utilizados inicialmente eram longos e a variabilidade de fêmeas entrando em estro e da ovulação era muito grande também (Romano, 1998), portanto não era um protocolo recomendado para IATF. Alguns anos depois, a prostaglandina passou a ser utilizada em intervalo de 10 dias. Fêmeas irresponsivas no proestro, estro ou metaestro precoce (até dois a três dias após a ovulação), quando ainda não há CLs funcionais até a primeira aplicação também poderiam ser sincronizadas no segundo momento (Simões, 2016).

A ovulação do protocolo com PGF2 α é eficaz sob diferentes condições ambientais-

nutritivas (Khanum et al., 2006). A sincronização da ovulação com $\text{PGF2}\alpha$, geralmente, é mais dispersa do que com protocolos de P_4 . Mesmo assim, a taxa de resposta é alta, chegando a 90 a 100%, a $\text{PGF2}\alpha$ sozinha promove uma boa sincronização, contudo, a sincronização da ovulação para rebanhos de IATF é moderada (Simões, 2016). Uma menor taxa de fertilidade foi observada no protocolo $\text{PGF2}\alpha$ em relação ao protocolo de esponjas com P_4 (67% vs 80%) (Kusina et al., 2000), e a causa disso podem ser deficiências no crescimento e na funcionalidade do tecido luteínico (Vázquez et al., 2010).

A fim de aumentar a eficiência desse protocolo de $\text{PGF2}\alpha$, foi proposto que, ao encurtar-se o intervalo para sete dias seria possível obter maior sincronia de estro e de ovulação, pela razão de que a segunda dose de $\text{PGF2}\alpha$ seria feita entre o terceiro e o quinto dia do ciclo, quando os folículos da primeira onda ainda estariam em fase de crescimento e o CL da última ovulação já estaria responsivo à prostaglandina (Menchaca e Rubianes, 2004).

Maia et al. (2017) observaram alta taxa de sincronização utilizando intervalos de sete e 11,5 dias. Este sincronizou melhor os estros pelo fato da segunda dose ter sido feita no período da tarde e acredita-se que isso influenciou positivamente no resultado. Logo, um intervalo de 7,5 dias pode ter um resultado semelhante ou ainda melhor, já que a segunda dose vai deflagrar a primeira onda folicular, ou seja, possibilita prever o momento exato do ciclo em que vai ocorrer a luteólise. Além disso, a literatura carece de informações relevantes sobre a ovulação de cabras submetidas à sincronização do estro e essas informações são o impulso necessário para que se estabeleça um período ótimo para a IA em cabras leiteiras.

2.6. Inseminação artificial na cabra

A IA é uma biotécnica da reprodução que consiste em depositar o sêmen no trato reprodutivo da fêmea (Aisen, 2004). O local em que o sêmen é depositado apresenta grande relação com a taxa de sucesso da técnica, uma vez que, ao se aproximar do útero, a fertilidade tende a aumentar (Fonseca et al., 2017b). A IA permite obter crias de machos selecionados em um alto número de fêmeas e evita a propagação de doenças transmitidas pelo sêmen, entre outras vantagens (Aisen, 2004).

Dentre as técnicas de IA na cabra, temos:

- **Laparoscopia:** essa técnica é mais utilizada em ovelhas e requer treinamento técnico, podendo ser realizada unicamente pelo médico-veterinário. É uma técnica cirúrgica que consiste em fazer dois orifícios no abdômen da fêmea e através deles inserir dois

trocáteres, um para localizar o útero com o auxílio de uma ótica e o outro para inserir o aplicador com o sêmen que é depositado diretamente no útero. É uma técnica invasiva e envolve o uso de anestésicos e sedativos (Fonseca e Alvim, 2018). Não justifica sua utilização em cabras.

- **Cervical com tração:** é feita por meio da fixação e tração cervical com a deposição diretamente no útero, mas apresenta a desvantagem do tipo de pinça utilizada nesse procedimento, podendo ser doloroso e traumático para o animal. Também não é recomendada na cabra (Fonseca e Alvim, 2018).
- **Cervical sem tração (técnica tradicional ou francesa):** O animal é colocado em apoio bipedal dos membros anteriores e com o auxílio de um espéculo vaginal e uma fonte de luz, o sêmen é depositado no trato reprodutivo (Tsuma et al., 2015). É a técnica mais utilizada no mundo em cabras, mas é deficiente em depositar o sêmen no útero, sendo que o sêmen pode permanecer no interior da cérvix (Fonseca e Alvim, 2018).
- **Técnica Embrapa de inseminação artificial transcervical:** é realizada com o animal em estação, colocado em posição elevada em relação ao inseminador. Com o auxílio de um espéculo vaginal e uma fonte de luz, a cérvix é fixada utilizando uma pinça específica e então os anéis são transpostos sem muita dificuldade. É recomendada em cabras e cabritas (Fonseca e Alvim, 2018).

3. REFERÊNCIAS

AISEN, E.G. Inseminación artificial de ovejas y cabras. **Reproducción Ovina y Caprina**, p. 99-112, 2004.

ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. Células germinativas e fecundação. **Biologia Molecular da Célula**, v. 4, p. 1127-1156, 2004.

AMIRIDIS, G.S.; CSEH, S. Assisted reproductive technologies in the reproductive management of small ruminants. **Animal Reproduction Science**, v. 130, n. 3-4, p. 152-161, 2012.

ARASHIRO, E.K.N.; SIQUEIRA, L.G.B.; VIANA, J.H.M.; FONSECA, J.F.; BRUSCHI, J.H.; CAMARGO, L.S.; FERNANDES, C.A.C.; BRANDÃO, F.Z. Estudo ultra-sonográfico de características luteais no período de luteogênese em cabras da raça Toggenburg. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 35, p. s1291, 2007.

AUGUSTIN, H.G. Vascular morphogenesis in the ovary. **Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology**, v. 14, n. 6, p. 867-882, 2000.

BALARO, M.F.A.; MELLO, S.G.V.; SANTOS, A.S.; CAVALCANTI, L.M.; ALMOSNY, N.R.P.; FONSECA, J.F.; BRANDÃO, F.Z. Reproductive seasonality in Saanen goats kept under tropical conditions. **Tropical Animal Health and Production**, v. 50, p. 345-353, 2019.

BARIL, G.; BREBION, P.; CHESNÉ, P. Caracteristiques de la reproduction chez les ovins et les caprins. **Manuel de formation pratique pour la transplantation embryonnaire chez la brebis et la chevre**, v. 115, p. 3-12, 1993.

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

BEARD, A.P.; LAMMING, G.E. Oestradiol concentration and the development of the uterine oxytocin receptor and oxytocin-induced PGF₂ release in ewes. **Reproduction**, v. 100, n. 2, p. 469-475, 1994.

BODIN, L.; DRION, P. V.; REMY, B.; BRICE, G.; COGNIÉ, Y.; BECKERS, J.F. Anti-PMSG antibody levels in sheep subjected annually to oestrus synchronisation. **Reproduction Nutrition Development**, v. 37, n. 6, p. 651-660, 1997.

BURNS, P.D.; GRAF, G.A.; HAYNES, S.H.; SILVIA, W.J. Cellular mechanisms by which oxytocin stimulates uterine PGF₂alpha synthesis in bovine endometrium: roles of phospholipases C and A2. **Domestic Animal Endocrinology**, v.14, p.181-191, 1997.

DE CASTRO, T.; RUBIANES, E.; MENCHACA, A.; RIVERO, A. Ultrasonic study of follicular dynamics during the estrous cycle in goats. **Theriogenology**, v. 49, n. 1, p. 399, 1998.

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, n. 3, p. 399-411, 1999.

CHEMINEAU, P.; MALPAUX, B.; DELGADILLO, J.A.; GUÉRIN, Y.; RAVVAULT, J. P.; THIMONIER, J.; PELLETIER, J. Control of sheep and goat reproduction: Use of light and melatonin. **Animal Reproduction Science**, v. 30, n. 1-3, p. 157-184, 1992.

CORTEEL, J.M.; BARIL, G.; BARITEAU, F.; BUSSIÈRE, J.; LEBOEUF, B.; MONTIGNY, G. The use of progestagens to control the oestrous cycle of the dairy goat. **Annales de Biologie Animale Biochimie Biophysique**, v. 15, n.2, p. 353-363, 1975.

DELGADILLO, J.A.; CORTEZ, M.E.; DUARTE, G.; CHEMINEAU, P.; MALPAUX, B. Evidence that the photoperiod controls the annual changes in testosterone secretion, testicular and body weight in subtropical male goats. **Reproduction Nutrition. Development**, v. 44, p. 183-193, 2004.

DEY, S.K.; HOVERSLAND, R.C.; JOHNSON, D.C. Phospholipase A2 activity in the rat uterus: Modulation by steroid hormones. **Prostaglandins**, v. 23, n. 5, p. 619-630, 1982.

EMBRAPA. **Centro de inteligência e mercados de caprinos e ovinos da Embrapa, com relação à custos de produção e preços de mercado, Análise da cadeia produtiva de caprinos e ovinos à luz dos recentes dados do IBGE**, 2018. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/assuntos/camaras-setoriais-tematicas/documentos/camaras-setoriais/caprinos-e-ovinos/2018/copy_of_54aro/analise-da-cadeia-produtiva-de-caprinos-e-ovinos.pdf. Acesso em: 13 jun. 2019.

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

FACÓ, O.; BRAGA LÔBO, R.N.; FONSECA, J.F.; LÔBO, A.M.B.O.; VERNEQUE, R.S.; PIMENTEL, C.M.M.; PAIVA, S.R. **Sumário de avaliação genética**. Programa de Melhoramento Genético de Caprinos Leiteiros – Capragene, 2014. v. 1, 30 p.

FERRARA, N.; CHEN, H.; DAVIS-SMYTH T.; GERBER, H.P.; NGUYEN, T.N.; PEERS, D.; CHISHOLM, V.; HILLAN, K.J.; SCHWALL, R.H. Vascular endothelial growth factor is essential for corpus luteum angiogenesis. **Nature Medicine**, v. 4, n. 3, p. 336-340, 1998.

FIELDS, M.J.; FIELDS, P.A. Morphological characteristics of the bovine corpus luteum during the estrous cycle and pregnancy. **Theriogenology**, v. 45, n. 7, p. 1295-1325, 1996.

FIERRO, S.; OLIVERA-MUZANTE, J. Long interval prostaglandin as an alternative to progesterone-eCG based protocols for timed AI in sheep. **Animal Reproduction Science**, v. 180, p. 78-84, 2017.

FONSECA, J.F. Estratégias para controle do ciclo estral e superovulação em ovinos e caprinos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 16, 2005, Goiânia, GO. **Anais...** Goiânia: CBRA, 2005.

- FONSECA, J.F. **Biotecnologia da reprodução em ovinos e caprinos**. Brasília, DF: Embrapa Caprinos e Ovinos, 2006. (Documentos, 64).
- FONSECA, J.F.; SOUZA, J.M.G.; BRUSCHI, J.H. Sincronização de estro e superovulação em ovinos e caprinos. In: SIMPÓSIO DE CAPRINOS E OVINOS DA EV-UFGM, 2, 2007, Belo Horizonte, MG. **Anais...** Belo Horizonte, MG: UFGM, 2007. p. 169.
- FONSECA, J.F.; CRUZ, R.C.; PINTO, P.H.N.; FACÓ, O. Manual de indução e sincronização de estro e ovulação em ovinos e caprinos. **Documentos Online**, v. 103, p. 15-24, 2011.
- FONSECA, J.F.; MAFFILI, V.V.; SANTOS, A.D.F.; FÜRST, R.; PROSPERI, C.P.; ROVAY, H.; SOUZA, J.M.G.; TORRES, C.A.A. Effects of prostaglandin administration 10 days apart on reproductive parameters of cyclic dairy nulliparous goats. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, p. 349-358, 2012.
- FONSECA, J.F.; CRUZ, R.C.; OLIVEIRA, M.E.F.; SOUZA-FABIAN, J.M.G.; VIANA, J.H.M. **Biologias aplicadas à reprodução de ovinos e caprinos**. Brasília, DF: Embrapa Caprinos e Ovinos, 2014. v. 1, 108 p.
- FONSECA, J.F.; SOUZA-FABIAN, J.M.G.; OLIVEIRA, M.E.F.; CRUZ, R.C.; ESTEVES, L.V.; MATOS DE PAIVA, M.P.S.L.; BRANDÃO, F.Z.; MANCIO, A.B. Evaluation of cervical mucus and reproductive efficiency of seasonally anovular dairy goats after short-term progestagen-based estrous induction protocols with different gonadotropins. **Reproductive Biology**, v. 17, n. 4, p. 363-369, 2017a.
- FONSECA, J.F.; ALVIM, G.P.; SOUZA-FABIAN, J.M.G.; OLIVEIRA, M.E.F.; BRAIR, V.L.; BRANDÃO, F.Z.; FACÓ, O. Reproductive features and use of an anti-inflammatory drug in estrus-induced dairy goats artificially inseminated in a standing position with cervix immobilization. **Reproductive Biology**, v. 17, n. 3, p. 268-273, 2017b.
- FONSECA, J.F.; ALVIM, G.P. Recomendações técnicas para execução da inseminação artificial transcervical em caprinos no Brasil. **Circular Técnica**, v. 46, p. 14-15, 2018.
- FRASER, H.M.; DICKSON, S.E.; LUNN, S.F.; WULFF, C.; MORRIS, K.D.; CARROLL, V.A.; BICKNELL, R. Suppression of luteal angiogenesis in the primate after neutralization of vascular endothelial growth factor. **Endocrinology**, v. 141, n. 3, p. 995-1000, 2000.
- FREDRIKSSON, G.; KINDAHL, H.; EDQVIST, L.E. 11-Ketotetranor PGF metabolites, a suitable indicator for measuring prostaglandin release during the normal oestrous cycle and early pregnancy in the goat. **Animal Reproduction Science**, v. 7, n. 6, p. 537-545, 1984.
- GINTHER, O.J.; KOT, K. Follicular dynamics during the ovulatory season in goats. **Theriogenology**, v. 42, n. 6, p. 987-1001, 1994.
- GINTHER, O.J.; WILTBANK, M.C.; FRICKE, P.M.; GIBBONS, J.R.; KOT, K. Selection of the dominant follicle in cattle. **Biology of Reproduction**, v. 55, n. 6, p. 1187-1194, 1996.
- GONZALEZ BULNES, A.; SANTIAGO MORENO, J.; GOMEZ-BRUNET, A.; INSKEEP, E.K.; TOWNSEND, E.C.; LOPEZ-SEBASTIAN, A. Follicular dynamics during the oestrous cycle in dairy goats. **Animal Science**, v. 68, n. 3, p. 547-554, 1999.

- GONZÁLEZ, A.A.T.; RUZ, Y.P.; SANSÓN, C.D. Control del estro y la ovulación em ovinos y caprinos. In: **Reproducción de ovejas y cabras**. Cuautitlán: UNAN, 2008.
- GOSPODAROWICZ, D.; ILL, C.R.; BIRDWELL, C.R. Effects of fibroblast and epidermal growth factors on ovarian cell proliferation in vitro. I. Characterization of the response of granulosa Cells to FGF and EGF. **Endocrinology**, v. 100, n. 4, p. 1108-1120, 1976.
- HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. Folculogênese, maturação oocitária e ovulação. **Reprodução Animal**, v. 7, p. 69-82, 2004.
- HINCKLEY, S.T.; MILVAE, R.A. Endothelin-1 mediates prostaglandin F₂ α -induced luteal regression in the ewe. **Biology of Reproduction**, v. 64, n. 6, p. 1619-1623, 2001.
- HOMEIDA, A.M.; COOKE, R.G. Peripheral plasma concentrations of 13, 14 dihydro-15-keto-prostaglandin f₂ α and progesterone around luteolysis and during early pregnancy in the goat. **Prostaglandins**, v. 24, n. 3, p. 313-321, 1982.
- HOMEIDA, A.M. Evidence for the presence of oxytocin in the corpus luteum of the goat. **British Journal of Pharmacology**, v. 87, n. 4, p. 673-676, 1986.
- JUENGEL, J.L.; GARVERICK, H.A.; JOHNSON, A.L.; YOUNGQUIST, R.S.; SMITH, M.F. Apoptosis during luteal regression in cattle. **Endocrinology**, v. 132, n. 1, p. 249-254, 1993.
- KAUR, P.; GURAYA, S.S. Follicular growth and kinetics during the estrous cycle, pregnancy and postpartum in the Indian mole rat (*Bandicota bengalensis*). **American Journal of Anatomy**, v. 166, n. 4, p. 469-482, 1983.
- KHANUM, S.A.; HUSSAIN, M.; KAUSAR, R. Manipulation of estrous cycle in dwarf goat (*Capra hircus*) using estrumate under different management conditions. **Animal Reproduction Science**, v. 92, n. 1-2, p. 97-106, 2006.
- KUSINA, N.T.; TARWIREI, F.; HAMUDIKUWANDA, H.; AGUMBA, G.; MUKWENA, J. A comparison of the effects of progesterone sponges and ear implants, PGF₂ α , and their combination on efficacy of estrus synchronization and fertility of Mashona goat does. **Theriogenology**, v. 53, p. 1567-1580, 2000.
- LAUDERDALE, J.W. The use of prostaglandins in cattle. **Annales de Biologie Animale Biochimie Biophysique**, v. 15, n. 2, p. 419-425, 1975.
- LETELIER, C.A.; CONTRERAS-SOLIS, I.; GARCÍA-FERNÁNDEZ, R.A.; ARIZNAVARRETA, C.; TRESGUERRES, J.A.F.; FLORES, J.M.; GONZALEZ-BULNES, A. Ovarian follicular dynamics and plasma steroid concentrations are not significantly different in ewes given intravaginal sponges containing either 20 or 40mg of fluorogestone acetate. **Theriogenology**, v. 71, n. 4, p. 676-682, 2009.
- LEYVA, V.; BUCKRELL, B.C.; WALTON, J.S. Regulation of follicular activity and ovulation in ewes by exogenous progestagen. **Theriogenology**, v. 50, p. 395-416, 1998.
- LÔBO, R.N.; FACÓ, O.; BEZERRA OLIVEIRA LÔBO, A.M.; VASQUES VILLELA, L.C. Brazilian goat breeding programs. **Small Ruminant Research**, v. 89, n. 2-3, p. 149-154, 2010.

- LÔBO, A.M.B.O.; LÔBO, R.N.B.; FACÓ, O.; SOUZA, V.; ALVES, A.A.C.; COSTA, A.C.; ALBUQUERQUE, M.A.M. Characterization of milk production and composition of four exotic goat breeds in Brazil. **Small Ruminant Research**, v. 153, p. 9-16, 2017.
- MAIA, A.L.R.S.; BRANDÃO, F.Z.; SOUZA-FABJAN, J.M.G.; BALARO, M.F.A.; OLIVEIRA, M.E.F.; FACÓ, O.; FONSECA, J.F. Reproductive parameters of dairy goats after receiving two doses of d-cloprostenol at different intervals. **Animal Reproduction Science**, v. 181, p. 16-23, 2017.
- McCRACKEN, J.A.; CARLSON, J.C.; GLEW, M.E.; GODING, J.R.; BAIRD, D.T.; GREEN, K.; SAMUELSSON, B. Prostaglandin F_{2α} identified as a luteolytic hormone in sheep. **Nature New Biology**, v. 238, n. 83, p. 129-134, 1972.
- McCRACKEN, J.A.; CUSTER, E.E.; LAMSA, J.C. Luteolysis: a neuroendocrine-mediated event. **Physiological Reviews**, v. 79, n. 2, p. 263-323, 1999.
- MEIDAN, R.; MILVAE, R.A.; WEISS, S.; LEVY, N.; FRIEDMAN, A. Intra-ovarian regulation of luteolysis. **Journal of Reproduction and Fertility Supplement**, v. 54, p. 217-228, 1999.
- MENCHACA, A.; RUBIANES, E. Relation between progesterone concentrations during the early luteal phase and follicular dynamics in goats. **Theriogenology**, v. 57, n. 5, p. 1411-1419, 2002.
- MENCHACA, A.; RUBIANES, E. New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 16, p. 403-413, 2004.
- MOGHISSI, K.S. The cervix in infertility. **Clinical Obstetrics and Gynecology**, v. 22, n. 1, p. 27-42, 1979.
- NISWENDER, G.D.; JUENGEL, J.L.; SILVA, P.J.; ROLLYSON, M.K.; MCINTUSH, E.W. Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. **Physiological Reviews**, v. 80, p. 1-28, 2000.
- NOEL, B.; BISTER, J.L.; PIERQUIN, B.; PAQUAY, R. Effects of FGA and PMSG on follicular growth and LH secretion in Suffolk ewes. **Theriogenology**, v. 41, p. 719-727, 1994.
- PIERSON, R.A.; GINTHER, O.J. Ultrasonography of the bovine ovary. **Theriogenology**, v. 21, n. 3, p. 495-504, 1984.
- PINEDA, M.H.; DOOLEY, M.P. Female reproductive system. **Mc'Donalds Veterinary Endocrinology and Reproduction**, v. 5, p. 283-340, 2003.
- QUAY, W.B. Circadian rhythm in rat pineal serotonin and its modifications by estrous cycle and photoperiod. **General and Comparative Endocrinology**, v. 3, n. 5, p. 473-479, 1963.
- ROMANO, J. Effect of two doses of cloprostenol in two schemes for estrous synchronization in Nubian goats. **Small Ruminant Research**, v. 28, n. 2, p. 171-176, 1998.
- RUBIANES, E.; MENCHACA, A. The pattern and manipulation of ovarian follicular growth in goats. **Animal Reproduction Science**, v. 78, n. 3-4, p. 271-287, 2003.

- RUBIANES, E.; MENCHACA, A.; CARBAJAL, B. Response of the 1-5 day-aged ovine corpus luteum to prostaglandin $f2\alpha$. **Animal Reproduction Science**, v. 78, p. 47-55, 2003.
- SANGHA, G.K.; SHARMA, R.K.; GURAYA, S.S. Biology of corpus luteum in small ruminants. **Small Ruminant Research**, v. 43, p. 53-64, 2002.
- SENGER, P.L. The luteal phase. **Pathways to pregnancy and parturition**. v. 3, 189 p.
- SHARMA, R.K.; GURAYA, S.S.; SHARMA, M.B. Biology of ovarian follicles the goat: a review. **Indian Journal of Animal Sciences**, v. 70, n. 4, p. 369-385, 2000.
- SILVIA, W.J.; LEWIS, G.S.; MCCRACKEN, J.A.; THATCHER, W.W.; WILSON, L. Hormonal regulation of uterine secretion of prostaglandin $F2\alpha$ during luteolysis in ruminants. **Biology of Reproduction**, v. 45, n. 5, p. 655-663, 1991.
- 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, n. 1-2, p. 16-26, 2006.
- SIMÕES, J. Synchronization of ovulation in goats using prostaglandin $F2\alpha$ based protocols during the breeding season. **Journal of Coastal Life Medicine**, v. 4, n. 3, p. 240-243, 2016.
- SIQUEIRA, A.P.; FONSECA, J.F.; SILVA FILHO, J.M.; BRUSCHI, J.H.; VIANA, J.H.M.; PALHARES, M.S.; BRUSCHI, M.C.M.; PEIXOTO, M.P. Parâmetros reprodutivos de cabras Toggenburg inseminadas com sêmen resfriado após diluição em meio à base de gema de ovo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, p. 299-305, 2009.
- SIQUEIRA, A.P.; OLIVEIRA, R.M.P.; SILVA FILHO, J.M.; PALHARES, M.S.; FONSECA, J.F.; BRUSCHI, J.H.; BRUSCHI, M.C.M. Progesterona plasmática e fertilidade de fêmeas caprinas submetidas à sincronização do estro com prostaglandina $F2\alpha$. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, n. 2, p. 305-310, 2012.
- SMITH, M.F.; McINTUSH, E.V.; SMITH, G.W. Mechanisms associated with corpus luteum development. **Journal of Animal Science**, v. 72, p. 1857-1872, 1994.
- SUGANUMA, C.; KUROIWA, T.; TANAKA, T.; KAMOMAE, H. Changes in the ovarian dynamics and endocrine profiles in goats treated with a progesterone antagonist during the early luteal phase of the estrous cycle. **Animal Reproduction Science**, v. 101, n. 3-4, p. 285-294, 2007.
- THIBAUT, C.; LEVASSEUR, M.C. Du corps jaune cyclique au corps jaune gestatif. **La Reproduction Chez les Mammifères et L'homme**, p. 479-504, 2001.
- TSAI, S.J.; WILTBANK, M.C. Prostaglandin $F2\alpha$ induces expression of prostaglandin G/H Synthase-2 in the ovine corpus luteum: a potential positive feedback loop during luteolysis. **Biology of Reproduction**, v.57, p.1016-1022, 1997.
- TSUMA, V.T.; KHAN, M.S.; OKEYO, A.M.; IBRAHIM, M.N.M. Artificial insemination. In: ILRI Manual. **A training manual on artificial insemination in goats**. 2015. v. 19, p. 10-16.
- VÁZQUEZ, M.I.; BLANCH, M.S.; ALANIS, G.A.; CHAVES, M.A.; GONZÁLEZ-BULNES, A. Effects of treatment with a prostaglandin analogue on developmental dynamics

and functionality of induced corpora lutea in goats. **Animal Reproduction Science**, v. 118, p. 42-47, 2010.

4. HIPÓTESES

1. O protocolo de sincronização com duas aplicações de prostaglandina F_{2α} (PGF_{2α}) com intervalo de 7,5 dias sincroniza melhor o estro e a ovulação do que o de 11,5 dias.
2. O intervalo da segunda dose de cloprostenol ao início do estro é parâmetro eficiente para determinar o momento ideal para a inseminação artificial.
3. A adoção da inseminação artificial em tempo flexível resulta em elevadas taxas de concepção.

5. OBJETIVOS

Objetivo geral

Desenvolver um protocolo de sincronização do estro em cabras leiteiras utilizando duas doses de d-cloprostenol administradas em diferentes intervalos.

Objetivos específicos

- Avaliar a eficiência da sincronização do estro com duas doses de d-cloprostenol em intervalo de 7,5 dias;
- Analisar o padrão ovulatório em cabras leiteiras submetidas à sincronização do estro;
- Determinar se cabras com estro sincronizado alcançam boas taxas de gestação após inseminação artificial com base no início do estro.

6. ARTIGO

Two d-cloprostenol administrations at 7.5 and 11.5-day intervals allow high estrus synchronization and pregnancy rates after artificial insemination in cyclic dairy goats

G.C. Bonato^a, A.L.R.S. Maia^b, L.R. Côrtes^b, T.A. Oliveira^c, A.M. Arrais^d, L.M. Figueira^e, M.E.F. Oliveira^f, J.M.G. Souza-Fabjan^b, J.F. Fonseca^{a,g*}

^aPrograma de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Av. Peter Henry Rolfs, s/n, CEP 36570-000, Viçosa, MG, Brazil

^bFaculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Av. Vital Brazil Filho, 64, CEP 24230-340, Niterói, RJ, Brazil

^cMedicina Veterinária, Universidade Presidente Antônio Carlos, Av. Juiz de Fora, 1100, 36047-362, Juiz de Fora, MG, Brazil

^dInstituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rodovia BR 465, Km 07 Zona Rural, CEP 23890-000, Seropédica, RJ, Brazil

^ePrograma de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Lavras, Av. Doutor Sylvio Menicucci, 1001, CEP 37200-000, Lavras, MG, Brazil

^fFaculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Via de acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, CEP 14884-900, Jaboticabal, SP, Brazil

^gEmbrapa Caprinos e Ovinos, Estrada Sobral/Groaíras, km 04, CP 145, CEP 62010-970, Sobral, CE, Brazil

* Corresponding author. Tel.: +55 32 3311-7662. Fax: +55 32 3249-4901.

E-mail address: jeferson.fonseca@embrapa.br (J.F. Fonseca)

Author's address (for correspondence): JF Fonseca, Embrapa Goats and Sheep, Rodovia MG 133, km 42, CEP 36155-000, Coronel Pacheco – MG, Brazil.

Publicado na revista Animal Reproduction Science, v. 209, 2019.

ABSTRACT

This study evaluated the efficiency of two administrations of d-cloprostenol at different intervals to synchronize estrus and ovulation in cyclic goats. In trial 1, 32 goats received two doses of 30 µg d-cloprostenol at 7.5 (T7.5, $n=16$) or 11.5-day (T11.5, $n=16$) intervals and were monitored for estrus and ovulatory follicular dynamics. In trial 2, the same treatments were conducted (T7.5, $n=40$ and T11.5, $n=38$) to determine the estrus onset, cervical mucus score, depth of semen deposition in artificial insemination (AI), and conception/pregnancy rates. In trial 1, ultrasound exams were done at the second dose, every 12 h until detection of ovulation, 7 days after estrus onset to detect the corpora lutea, and for pregnancy diagnosis 40 days after. AI was performed with frozen-thawed semen based on the estrus onset. In trial 1, the estrus response (90.6%, 29/32) was similar ($P>0.05$) in both groups. The diameter of the largest follicle at second dose was higher ($P=0.01$) in T7.5 than in T11.5 (7.0 vs. 5.7 mm), while the ovulatory parameters were similar ($P>0.05$) between groups. In trial 2, the highest ($P<0.001$) concentration of estrus onset (T7.5=83.3% and T11.5=50.0%) occurred after the second day (36 to 48 h). The interval to estrus was inferior ($P<0.01$) for T7.5 (40.1±1.5 h) compared to T11.5 goats (48.4±2.1 h). The pregnancy rate after AI tended ($P = 0.0836$) to be higher for T7.5 (71.4%, 40/56) than T11.5 (55.6%, 30/54) goats. Both protocols allowed AI, resulting in high estrus synchronization and pregnancy rates in cyclic dairy goats.

Keywords: PGF2 α ; AI; synchrony; ultrasonography; ovulation; goats.

1. Introduction

The Brazilian goat milk herd has experienced significant increases in both production and productivity, especially in the southeast region (Lobo et al., 2017). As Saanen goats in this region are considered to be seasonal breeders from winter to spring (Balara et al., 2019), estrous cycle control must be used in the non-breeding season; in the breeding season, this strategy is also applied to optimize the reproductive efficiency of herds. Cyclic goats can be synchronized using protocols with two administrations of prostaglandin F $_{2\alpha}$ (PGF $_{2\alpha}$) synthetic analogues. These protocols can be considered less onerous and simpler than progestogen and gonadotropins associated protocols, and they can also reach a good synchronized estrous response and pregnancy rates in artificially inseminated dairy goats (Maia et al., 2017).

According to Menchaca and Rubianes (2004), two administrations of PGF $_{2\alpha}$ at 7-day intervals make it possible to skip the refractoriness of the corpus luteum (CL) and to obtain great synchrony of estrus and ovulation in ewes. In goats, two doses of PGF $_{2\alpha}$ 10 days apart have been used to synchronize estrus and ovulation, but the CL functionality (P4 concentrations) appears to be affected in comparison to natural ovulation (Vázquez et al., 2010). Moreover, the occurrence of short estrous cycles has been reported in goats subjected to PGF $_{2\alpha}$ at 10-day intervals (Fonseca et al., 2012; Esteves et al., 2013). These findings led our group to test other intervals, namely 7 and 11.5 days (Maia et al., 2017). By adjusting the moment of AI according to the interval to estrus, a high estrus response, synchronization and conception rates were obtained (7 days: 85.2% and 11.5 days: 93.5%), whereby a shorter variation in the interval to estrus was found in the latter (Maia et al., 2017).

It is well known that the follicular status at the time of the second d-cloprostenol administration is a determinant for early or late estrus onset. In sheep, growing and regressing follicular phases have been implicated in early and late estrus onset, respectively (Menchaca and Rubianes, 2004). These concepts have not been proven in goats, but it is expected that an estrus synchronization protocol that controls this phenomenon more efficiently could have good estrus synchrony. Considering the average time from the second PGF $_{2\alpha}$ to estrus onset, most animals require two nights to show estrus following the second dose of PGF $_{2\alpha}$ at the end of the afternoon (Maia et al., 2017). Thus, we hypothesize that using a 7.5-day protocol with the second d-cloprostenol dose in the afternoon, as in the 11.5-day protocol, will lead to the animals having a better synchronization of estrus. Also, we expect that for the 7.5-day protocol, the second dose will trigger the first ovarian follicular wave, and at that time, the larger follicles will still be in the growing phase, thereby causing ovulation of more than one follicle with a similar synchrony to that observed in the 11.5 protocol earlier reported (Maia et al., 2017) and with perhaps greater estrus synchronization. Knowledge of this parameter

could enable the use of timed artificial insemination protocols based on the onset of estrus using cloprostenol only as a protocol of choice for the breeding season, which is not currently applied worldwide.

The objective of this study was to investigate the efficiency of estrus synchronization protocols with two d-cloprostenol administrations at intervals of 7.5 days or 11.5 days in cyclic dairy goats submitted to flexible-time AI based on the onset of estrus.

2. Material and Methods

2.1. Ethics and animal care

This study was approved by the Ethics Committee for the Use of Animals of Embrapa Gado de Leite (protocol #3050060218) and was conducted under the principles of the Brazilian Society of Laboratory Animal Science.

2.2. Location and experimental conditions

The study was conducted in two trials performed during the breeding season from May (estrus synchronization) to July (pregnancy detection). Trial 1 was performed at the Embrapa experimental campus in Coronel Pacheco (21° 35' S and 43° 15' W), and trial 2 was performed in a commercial dairy goat farm in Ouro Fino (22° 16' 59" S and 46° 22' 08" W), both in Minas Gerais State, Brazil.

All goats were kept in an intensive system and fed corn silage. A balanced concentrate supplement was provided on demand (National Research Council, 2007). Mineralized salt (Caprinofós[®] Tortuga, São Paulo, Brazil), and drinking water were available *ad libitum*.

2.3. Experimental animals and treatments

In both trials, two injections of 30 µg of d-cloprostenol (Prolise[♣], Tecnopec LTDA, São Paulo, Brazil) were administered by the latero-vulvar route (Fonseca et al., 2017b) at intervals of 7.5 days (T7.5) or 11.5 days (T11.5). The first dose was given on a random day of the estrous cycle. The 7.5-day protocol started 4 days after the first dose of the 11.5-day protocol, so the second dose for both protocols was given on the same day and time, in the afternoon.

In trial 1, 32 cyclic dairy goats (1 to 4 years old) were equally allocated into two groups according to their category: nulliparous (T7.5, $n = 8$; T11.5, $n = 8$) and pluriparous (T7.5, $n = 8$; T11.5, $n = 8$); and body weight (BW) and body condition score (BCS, 1-5 range; Villaquiran et al., 2007): T7.5 ($n = 16$, BW: 48.2 ± 2.7 kg and BCS: 4.1 ± 0.1) and T11.5 ($n = 16$, BW: 47.6 ± 3.2 kg and BCS: 3.9 ± 0.1). One week before starting the treatments, cyclicity was confirmed by the observation of CL in all animals. This trial was designed to monitor estrus and ovulatory follicular dynamics.

In trial 2, 78 pluriparous cyclic dairy goats (2 to 8 years old) were equally divided into two groups according to their age and BCS: T7.5 ($n = 40$, BCS: 3.2 ± 0.1) and T11.5 ($n = 38$, BCS: 3.3 ± 0.1). This trial was conducted to determine the conception/pregnancy rates after AI based on synchronized estrus onset.

2.4. Ultrasound evaluation

A B-mode and color Doppler transrectal US of ovaries was performed in the morning preceding the second d-cloprostenol administration, at the second d-cloprostenol administration, and every 12 h after the second d-cloprostenol administration until ovulation confirmation as well as 7 days after the second d-cloprostenol administration to identify the corpora lutea formed. All examinations were conducted by the same operator using an ultrasonographic scanner (Mindray®, M5Vet, Shenzhen, China) with a stiffened, variable frequency (5-8 MHz) linear-array transducer. The goats were maintained in a standing position, fecal pellets were removed (if necessary), and 10 mL of carboxymethylcellulose gel (Carbogel UTL®, Carbogel Indústria e Comércio LTDA, São Paulo, Brazil) was deposited with a syringe in the animal's rectum to lubricate and increase the contact surface. After initial visualization of the urinary bladder, the ovaries and their structures were located after the rotation of the transducer. For a better understanding of the ovarian follicular dynamics, the number, relative position, and size of the follicles ≥ 3 mm were recorded. An ovulation was considered to have occurred on the day when a previously identified dominant follicle or follicles were no longer present. The number of follicles ≥ 5 mm in diameter was recorded (Menchaca et al., 2007). The luteal vascularity percentage was calculated by the formula: (vascularization area / total CL area) x 100 using Adobe Fireworks® and Image J® software packages. Finally, a transrectal US pregnancy detection was done approximately 40 days after AI.

2.5. Estrus detection, cervical mucus evaluation, and artificial insemination

After the second administration of d-cloprostenol, estrus was monitored twice daily (0600 to 0800 h and 1600 to 1800 h) using buck teasers with good libido. AI was performed using Embrapa's technique (Fonseca et al., 2017a) 24 h, 18 h and 10 h after the beginning of estrus for goats with estrus onset of 24 to 36 h, 48 h, and 60 h after the second d-cloprostenol administration, respectively (Maia et al., 2017). The cervical mucus evaluation was done as proposed earlier (Fonseca et al., 2017b), using the 1–5 scale as follows: crystalline – 1 (mucus completely translucent); crystalline/striated – 2 (mucus with some opacity but devoid of striation); striated – 3 (evident striation within crystalline areas); striated/caseous – 4 (striation coalescing and no visible translucent areas); and caseous – 5 (mucus appearing as a caseous mass with evident flocculation). The semen used was donated from CapraGene®, the Brazilian Breeding Plan for dairy goats progeny testing (Facó et al., 2011) with 100 to 120 million viable sperm per 0.25 straw before freezing and with at least 40% progressive linear motility (0 to 100% variation) and vigor 3 (speed of viable sperms cells; 0 to 5 variation)

after thawing in a water bath at 35 °C for 30 s. Buck semen was always thawed in paired samples from each buck sequentially, allowing equal use for both groups (T7.5 and T11.5).

2.6. Statistical analysis

All data were initially compared between treatments (T7.5 and T11.5). In trial 1, an additional statistical analysis was made to compare the reproduction parameters between females that ovulated until 66 h (early ovulating) and from 78 to 90 h (late ovulating) after the second d-cloprostenol administration, as proposed by Murtaza et al. (2019).

Continuous variables were described as mean \pm SEM, and categorical variables were described in terms of frequency and percentage within the groups. All continuous variables were tested for normality using the Lilliefors test and variances were tested by the Cochran and Bartlett tests. For the continuous variables considered to have a normal distribution, a one-way analysis of variance was applied and the means were compared by an F-test. The categorical variables were compared using the exact Fisher test or chi-square test, depending on the number of observations. A Pearson correlation was also used to study the relations of dependence between the continuous variables. The minimal significance level adopted was 5% ($P < 0.05$) and 10% as a tendency. The statistical analysis was performed in SAEG 9.0 software (Ribeiro Júnior, 2000).

3. Results

3.1. Trial 1

After the second d-cloprostenol administration, the overall estrus response rate was 90.6% (29/32). The highest concentration of estrus (75%) in both groups was observed from 48 to 72 h after the second d-cloprostenol dose. All data regarding follicular dynamics and ovulation are presented in Table 1. One goat in the T7.5 group had the lowest estrus interval from the second d-cloprostenol administration (12 h). The ovulation range was the same for both groups (24 to 90 h).

The number of follicles ≥ 5 mm at the second d-cloprostenol administration, number of ovulations, and total corpora lutea formed were similar intra- and inter-group ($P > 0.05$). The number of follicles ≥ 5 mm at the second dose was positively correlated to the number of ovulations ($r = 0.54$; $P = 0.01$) and it was also positively correlated to the total number of CL formed ($r = 0.50$; $P = 0.01$). The number of ovulations was also positively correlated to the total number of CL formed ($r = 0.60$; $P = 0.001$). A negative correlation was found between the interval to ovulation and number of ovulations ($r = -0.37$; $P < 0.05$).

The percentages of goats ovulating until 66 h (early ovulating) were 61.5% (8/13) and 38.5% (5/13), while those ovulating from 78 to 90 h were 43.7% (7/16) and 56.3% (9/16) for the T7.5 and T11.5 groups, respectively ($P > 0.05$). Interval to estrus tended ($P = 0.052$) to be shorter for early (42.5 ± 3.5 h) than for late

ovulating goats (50.2 ± 2.0 h). The intervals from the second cloprostenol administration to ovulation (54.0 ± 4.0 and 80.2 ± 1.2 h) and from estrus onset to ovulation and from estrus to ovulation (16.4 ± 3.0 and 30.0 ± 1.5 h) were shorter ($P = 0.0001$), respectively, in early than in late ovulating animals.

In 55.2% (16/29) of goats, the ovulations occurred in both ovaries simultaneously, while in 31.0% (9/29) and 13.8% (4/29) they occurred in either the left or right ovary, respectively.

3.2. Trial 2

As shown in Fig. 1, until 60 h after the second d-cloprostenol administration, all goats had demonstrated estrus behavior. The onset of estrus occurred mainly at night, being detected in the morning (i.e. 36 h and 60 h) in T7.5 (75%, 27/36) and T11.5 (78.1%, 25/32). Two goats from both groups started estrus after the first day, while the highest concentration of estrus (T7.5 = 83.3%, 30/36; T11.5 = 50.0%, 16/32; $P < 0.001$) occurred after the second day (36 to 48 h), followed by the third day (T7.5 = 11.1%, 4/36; T11.5 = 43.7%, 14/32).

The reproductive parameters of estrus induction and AI are shown in Table 2. The interval to estrus was shorter ($P = 0.0022$), while the interval from estrus onset to AI was longer ($P = 0.0016$) in T7.5 than in T11.5. The conception rate according to the interval to estrus, and consequently to the time of AI after estrus onset, was similar (Table 3).

Cervical mucus at AI and the efficiency semen deposition were recorded. Crystalline mucus was noted in two goats, one for each treatment with a 100.0% conception rate. Crystalline/striated was noted in four goats with resultant conception rates of 100.0% (1/1) for T7.5 and 66.7% (2/3) for T11.5 goats. Striated mucus resulted in conception rates of 90.0% (9/10) for T7.5 and 87.5% (14/16) for T11.5 goats. Striated/caseous mucus resulted in conception rates of 87.5% (21/24) for T7.5 and 66.7% (8/12) for T11.5 goats. Intrauterine insemination resulted in conception rates of 93.3% (28/30) for T7.5 and 81.5% (22/27) for T11.5 goats ($P > 0.05$).

Overall, considering both trials, the pregnancy rate tended ($P = 0.0836$) to be higher for T7.5 (71.4%, 40/56) than for T11.5 (55.6%, 30/54) goats.

4. Discussion

The two administrations of d-cloprostenol at 7.5 and 11.5-day intervals were equally efficient to synchronize estrus in cyclic goats. Overall, the pregnancy rate tended to be higher for T7.5 (71.4%) than for T11.5 (55.6%) goats, being the T7.5 protocol slightly superior to the 52.5% reported after laparoscopic insemination in ewes receiving two doses of PGF2 α 7 days apart (Vilarino et al., 2017). It is important to highlight that in trial 1, the pregnancy rate was considered low, which may have been due to the stress caused by handling the animals for the US exams (Dobson et al., 2012; Maia et al., 2017).

The diameter of the largest follicle at the second d-cloprostenol administration was on average 1.4 mm larger in T7.5 than T11.5. Also, the number of follicles ≥ 5 mm diameter tended to be superior in T7.5 (2.9) than in T11.5 (2.3) goats. These data may be related to the shorter intervals to estrus, to AI, and from estrus onset to AI in T7.5 compared to T11.5 when a larger number of animals was used (trial 2). Menchaca and Rubianes (2004) stated that if the second PGF2 α is administered during the growing follicular phase, the onset of estrus should occur earlier compared to animals in which the dominant follicles are regressing. This could explain the differences observed in trial 2 for the interval to estrus and AI. Follicular diameters at the second dose were similar for animals with early or late ovulation; however, it is possible that there was a difference in the growth or regression phase of the dominant follicle. It is suggested that in animals that ovulated up to 66 h (early ovulating), the largest follicles present at the second dose were healthy and able to continue growth after luteolysis when the inhibitory effect of progesterone on LH synthesis ceased. The preovulatory diameter may be reached earlier, in contrast to animals that have the dominant follicle in the regression phase, which need a new follicular wave to reach ovulation (late ovulating). Therefore, it is to be expected that the early ovulating condition was more associated with the 7.5 than the 11.5-day protocol of estrus synchronization.

To the best of our knowledge, this is the first time that correlations among the number of follicles ≥ 5 mm at the second d-cloprostenol administration, number of ovulations, and total number of CL formed have been identified. The correlations identified among these variables indicate that transrectal US in part predicts the success of an estrus synchronization protocol as a whole, including some key points for assisted reproductive technologies like AI or recipient preparation/synchrony for embryo transfer. Nevertheless, in this sense, we believe that US can indicate the dominant follicle health at the time of the second dose. In addition, de Castro et al. (1999) reported that dominant follicles from the first follicular wave of the estrous cycle reached a greater diameter and duration when compared to the following waves. Ginther and Al-Mamun (2009) showed that PGF2 α administered 10 days after ovulation increased the ovulation rate in mares. Probably, these phenomena are associated with a lower progesterone profile at the beginning of the estrous cycle, providing a more favorable environment for follicles to escape from dominance or to establish co-dominance. This could be the reason why more follicles ≥ 5 mm diameter were observed in T7.5 goats.

The diameter of the largest follicle at the second d-cloprostenol administration was not correlated to the intervals to estrus or ovulation; however, as mentioned, the health condition of the follicles could determine an earlier or later onset of estrus. This could be the factor responsible for the synchronization of the beginning of estrus among animals. Most animals in trial 1 showed estrus between 48 and 72 h, while in trial 2 the goats showed estrus with less dispersion and earlier (i.e. up to 60 h after the second dose). In T7.5, a higher concentration of estrus onset was obtained (36 to 48 h after the second dose), which would allow the labor cost to be decreased in a commercial system.

The interval to ovulation was not affected by the time period between the two applications of d-cloprostenol to synchronize estrus in goats (~ 68.6 h after the second administration). Menchaca and Rubianes (2004) reported a highly synchronized ovulation near 60 h after the second dose of PGF2 α (7-day interval) in sheep. In the present study, a negative correlation between the interval to ovulation and number of ovulations was found. Although not assessed in this study, it is likely that more ovulatory follicles produce more estrogen, allowing the threshold level of this steroid necessary to evoke LH to peak earlier. As a consequence, final follicular maturation and ovulation could also occur earlier.

Recently, Murtaza et al. (2019) reported that goats ovulating early had (1) larger follicles and (2) smaller CL in diameter at the time of PGF2 α administration compared to those ovulating late (5.4 ± 0.2 vs. 4.3 ± 0.2 mm and 10 ± 0.6 vs. 11.8 ± 0.3 mm, respectively). In the present study, the effect of the larger follicle was also observed. Nevertheless, ovulatory response, the CL total area, and the percentage of vascularization of luteal tissue were similar in both protocols tested. Thus, the greater determinant for shorter estrus onset interval observed for T7.5 animals was related to the diameter of the largest follicles at the time of the second cloprostenol administration.

Interestingly, a slightly lower number of CLs forming was observed in both groups compared to the number of ovulations. It is possible that a partial premature regression of CL occurred, i.e., normal and abnormal (avascular and pale) CLs were present in the same animal, as reported in synchronized goats (Souza-Fabjan et al., 2013), and that these abnormal CLs were not identified by US.

In the current study, the AI time was defined as proposed earlier for goats (Maia et al., 2017), and this was established based on the ideal cervical mucus (striated or striated-caseous) indicated to perform AI with frozen-thawed semen (Fonseca et al., 2017b). The pregnancy rates observed in the present study, as well as a previous one (Maia et al., 2017), provide significant support for this indication and the repeatability of good results is expected for AI goats following this methodology.

5. Conclusion

Two cloprostenol administrations at either 7.5 or 11.5-day intervals efficiently synchronized estrus and ovulation in dairy goats. The 7.5-day protocol concentrated estrus 36 to 48 h after the second dose, tending to increase pregnancy rates when compared to the T11.5 protocol. Based on estrus onset and the AI strategy, both protocols provided more than 90% of goats in estrus for insemination on the same day and with adequate cervical mucus.

Acknowledgments

The authors wish to thank Mr. José Maria Moreira Santos from the Capril INLI, Ouro Fino, Minas Gerais, Brazil for providing and housing the animals employed in this study /Trial 2. This study was supported

by the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq; 310166/2012-8 and 314952/2018-7), Fapemig (CVZ-PPM 00201-17) and Brazilian Agriculture Research Corporation (EMBRAPA; Project 02.08.02.005.00.04). JFF and MEFO are fellows of the CNPq, ALRSM and JMGS-F of FAPERJ and GCB of CAPES.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

References

- Balaro, M.F.A., Mello, S.G.V., Santos, A.S., Cavalcanti, L.M., Almosny, N.R.P., Fonseca, J.F., Brandão, F.Z., 2019. Reproductive seasonality in Saanen goats kept under tropical conditions. *Trop. Anim. Health Prod.*, 50, 345-353. <http://doi.org/10.1007/s11250-018-1696-2>.
- De Castro, T., Rubianes, E., Menchaca, A., River, A., 1999. Ovarian dynamics, serum estradiol and progesterone concentrations during the interovulatory interval in goats. *Theriogenology*, 53, 399-411. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(99\)00138-7](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(99)00138-7).
- Dobson, H., Fergani, C., Routly, J.E., Smith, R.F., 2012. Effects of stress on reproduction in ewes. *Anim. Reprod. Sci.*, 130, 135-140. <http://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.01.006>.
- Esteves, L.V., Brandão, F.Z., Cruz, R.C., Souza, J.M.G., Oba, E., Facó, O., Fonseca, J.F., 2013. Reproductive parameters of dairy goats submitted to estrus synchronization with prostaglandin F2 α associated or not to hCG at estrous onset. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 65, 1585-1592. <http://doi.org/10.1590/S0102-09352013000600001>.
- Facó, O., Lôbo, R.N.B., Gouveia, A.M.G., Guimarães, M.P.S.L., Fonseca, J.F., Dos Santos, T.N.M., Da Silva, M.A.A., Villela, L.C.V., 2011. Breeding plan for commercial dairy goat production systems in southern Brazil. *Small Rumin. Res.*, 98, 164-169. <http://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2011.03.034>.
- Fonseca, J.F., Alvim, G.P., Souza-Fabjan, J.M.G., Oliveira, M.E.F., Brair, V.L., Brandão, F.Z., Facó, O., 2017a. Reproductive features and use of an anti-inflammatory drug in estrus-induced dairy goats artificially inseminated in a standing position with cervix immobilization. *Reprod. Biol.*, 17, 268-273. <http://doi.org/10.1016/j.repbio.2017.07.002>.
- Fonseca, J.F., Bruschi, J.H., Santos, I.C.C., Viana, J.H.M., Magalhães, A.C.M., 2005. Induction of estrus in non-lactating dairy goats with different estrous synchrony protocols. *Anim. Reprod. Sci.*, 85, 117-124. <http://doi:10.1016/j.anireprosci.2004.03.005>.
- Fonseca, J.F., Souza-Fabjan, J.M.G., Oliveira, M.E.F., Cruz, R.C., Esteves, L.V., Matos de Paiva, M.P.S.L., Brandão, F.Z., Mancio, A.B., 2017b. Evaluation of cervical mucus and reproductive efficiency of seasonally anovular dairy goats after short-term progestagen-based estrous induction protocols with different gonadotropins. *Reprod. Biol.*, 17, 363-369. <http://doi.org/10.1016/j.repbio.2017.10.002>.
- Fonseca, J.F.; Maffili, V.V.; Santos, A.D.F.; Fürst, R.; Prospero, C.P.; Rovay, H.; Souza, J.M.G.; Torres, C.A.A., 2012. Effects of prostaglandin administration 10 days apart on reproductive parameters of cyclic dairy nulliparous goats. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 64, 349-358. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352012000200014>.

- Ginther, O.J, Al-Mamun, Md., 2009. Increased frequency of double ovulations after induction of luteolysis with exogenous Prostaglandin F_{2α}. *J. Equi. Vet. Sci.*, 29, 581-583. <http://doi:10.1016/j.jevs.2009.05.014>
- Lôbo, A.M.B.O., Lôbo, R.N.B., Facó, O., Souza, V., Alves, A.A.C., Costa, A.C., Albuquerque, M.A.M., 2017. Characterization of milk production and composition of four exotic goat breeds in Brazil. *Small Rumin. Res.*, 153, 9-16. <http://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2017.05.005>.
- Maia, A.L.R.S., Brandão, F.Z., Souza-Fabjan, J.M.G., Balaro, M.F.A., Oliveira, M.E.F., Facó, O., Fonseca, J.F., 2017. Reproductive parameters of dairy goats after receiving two doses of d-cloprostenol at different intervals. *Anim. Reprod. Sci.*, 181, 16-23. <http://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2017.02.013>.
- Menchaca, A., Millera, V., Salveraglio, V., Rubianes, E., 2007. Endocrine, luteal and follicular responses after the use of the short-term protocol to synchronize ovulation in goats. *Anim. Reprod. Sci.*, 102, 76-87. <http://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2006.10.001>.
- Menchaca, A., Rubianes, E., 2004. New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. *Reprod. Fertil. Devel.*, 16, 403-413. <http://doi.org/10.1071/RD04037>.
- Murtaza, A., Ahmad, W., Sohail, T., Khan, M.I.R., Mohsin, I., Shahzad, M., Hussain, M., Tahir, M.Z., Ijaz, M., 2019. Follicular dynamics and changes in oestradiol- 17 β , progesterone and LH profiles following PGF_{2α} induced oestrus in early and late ovulating Beetal goats. *Reprod. Dom. Anim.*, 54, 545-550. <https://doi.org/10.1111/rda.13392>.
- National Research Council – NRC, 2007. Nutrient requirements of foats. *Natl. Acad. Science*, Washington.
- Ribeiro Júnior, I., 2001. Análises estatísticas no SAEG. Editora UFV, Viçosa, pp. 301.
- Souza-Fabjan, J.M.G., Pereira, A.F., Melo, C.H.S., Sanchez, D.J.D., Oba, E., Mermillod, P., Melo, L.M., Teixeira, D.I.A., Freitas, V.J.F., 2013. Assessment of the reproductive parameters, laparoscopic oocyte recovery and the first embryos produced in vitro from endangered Canindé goats (*Capra hircus*). *Reprod. Biol.*, 13, 325-332. <http://doi.org/10.1016/j.repbio.2013.09.005>.
- Vázquez, M.I., Blanch, M.S., Alanis, G.A., Chaves, M.A., González-Bulnes, A., 2010. Effects of treatment with a prostaglandin analogue on developmental dynamics and functionality of induced corpora lutea in goats. *Anim. Reprod. Sci.*, 118, 42-47. <http://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2009.05.016>.
- Vilarino, M., Cuadro, F., Santos-Neto, P.C., García-Pintos, C., Menchaca, A., 2017. Time of ovulation and pregnancy outcomes obtained with the prostaglandin-based protocol Synchrovine for FTAI in sheep. *Theriogenology*, 90, 163-168. <http://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.12.003>.
- Villaquiran, M., Gipson, T., Merkel, R., Goetsch, A., Sahlu, T., 2007. Body Condition Scores in Goats. *Ann. Goat Field Day 22*, Langston University, Langston, OK, pp 125-131. https://www.researchgate.net/profile/Terry_Gipson/publication/264889567_Body_Condition_Scores_in_Goats/links/54295b190cf238c6ea7d71ab.pdf (accessed 31 May 2019).

Fig. 1. Number of goats in trial 2 according to the interval to estrus onset after hormonal synchronization with two doses of 30 μ g d-cloprostenol (PGF 2α) at intervals of 7.5 days and 11.5 days.

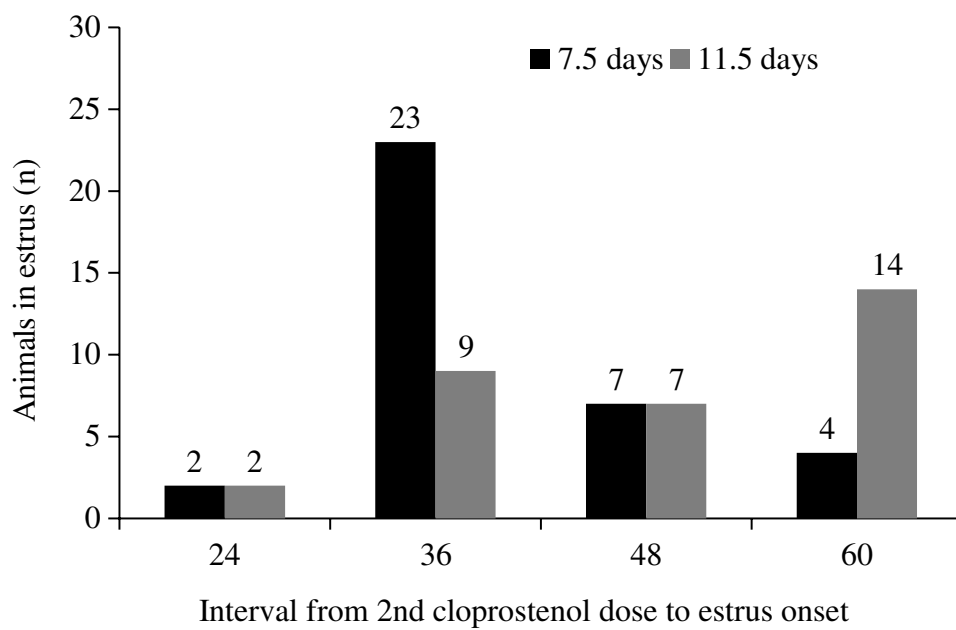


Table 1. Reproductive parameters (mean \pm SEM or %) of cyclic dairy goats given two 30 μ g doses of d-cloprostenol at 7.5 or 11.5-day intervals for estrus synchronization.

Parameters	7.5 days	11.5 days	<i>P</i> value
Animals (<i>n</i>)	16	16	-
Follicles < 5 mm at second d-cloprostenol administration (<i>n</i>)*	1.7 \pm 0.4	2.4 \pm 0.9	n.s.
Follicles \geq 5 mm at second d-cloprostenol administration (<i>n</i>)*	2.9 \pm 0.3	2.3 \pm 0.2	0.0746
Diameter of largest follicle at second d-cloprostenol administration (mm)	7.0 \pm 0.4	5.6 \pm 0.3	0.0117
Estrus response (%)	93.8 (15/16)	87.5 (14/16)	n.s.
Interval to estrus (h)**	44.8 \pm 3.6	48.9 \pm 1.5	n.s.
Interval to ovulation (h)**	65.6 \pm 4.3	71.6 \pm 4.5	n.s.
Interval from estrus to ovulation (h)	22.7 \pm 3.1	26.3 \pm 2.5	n.s.
Diameter of largest ovulatory follicle (mm)	7.6 \pm 0.2	7.4 \pm 0.4	n.s.
Diameter of second largest ovulatory follicle (mm)	6.2 \pm 0.2	6.2 \pm 0.3	n.s.
Average diameter of ovulatory follicles (mm)	6.6 \pm 0.4	6.4 \pm 0.2	n.s.
Number of ovulations (<i>n</i>)	2.6 \pm 0.2	2.4 \pm 0.2	n.s.
Total corpora lutea formed (<i>n</i>)	2.2 \pm 0.2	2.3 \pm 0.2	n.s.
Corpora lutea total area including cavity (mm ²)	15.5 \pm 2.7	20.7 \pm 2.3	n.s.
Corpora lutea total area excluding cavity (mm ²)	14.2 \pm 2.6	18.1 \pm 2.4	n.s.
Luteal vascularity (%)	47.9 \pm 8.6	48.9 \pm 1.5	n.s.
Conception (%)	53.3 (8/15)	35.7 (5/14)	n.s.
Pregnancy (%)	50.0 (8/16)	31.3 (5/16)	n.s.

* Follicle data were recorded considering both ovaries. ** hours after second d-cloprostenol administration. () Number of animals.

Table 2. Reproductive parameters (mean \pm SEM or %) of dairy goats submitted to estrus synchronization protocols with two doses of 30 μ g of d-cloprostenol at 7.5 or 11.5-day intervals and inseminated according to the time of estrus onset.

Parameters	7.5 days	11.5 days	<i>P</i> value
Animals (<i>n</i>)	40	38	-
Estrous response (%)	90.0 (36/40)	84.2 (32/38)	n.s.
Interval to estrus (h)*	40.1 \pm 1.5	48.4 \pm 2.1	0.0022
Interval to artificial insemination (h)*	63.6 \pm 0.7	65.9 \pm 1.0	0.0610
Interval from estrus onset to artificial insemination (h)	23.5 \pm 1.2	17.6 \pm 1.4	0.0016
Cervical mucus at artificial insemination (1-5)	3.6 \pm 0.1	3.2 \pm 0.1	n.s.
Depth of semen deposition (0-5)	4.5 \pm 0.2	4.8 \pm 0.1	n.s.
Conception (%)	88.9 (32/36)	78.1 (25/32)	n.s.
Pregnancy (%)	80.0 (32/40)	65.8 (25/38)	n.s.

* hours after second d-cloprostenol administration.

Table 3. Conception rate (%) according to the time of estrus onset after second d-cloprostenol administration in dairy goats submitted to two doses of 30 µg of d-cloprostenol at 7.5 or 11.5-day intervals and artificially inseminated (AI) according to the time of estrus onset.

Parameters	7.5 days	11.5 days	Total
Animals (<i>n</i>)	36	32	68
24 (AI 24 after estrus onset)	100.0 (2/2)	100.0 (2/2)	100.0 (4/4)
36 (AI 24 after estrus onset)	87.0 (20/23)	100.0 (9/9)	90.6 (29/32)
48 (AI 18 after estrus onset)	85.7 (6/7)	71.4 (5/7)	78.6 (11/14)
60 (AI 10 after estrus onset)	100.0 (4/4)	64.3 (9/14)	72.2 (13/18)
Total	88.9 (32/36)	78.1 (25/32)	83.8 (57/68)

() Number of animals. $P > 0.05$.



Caprinos e Ovinos

ANEXO – Fichas de controle de anotações

Projeto/Propósito: Teste de Progênie em Caprinos Leiteiros Código: 02.08.02.005.00.04

Número do programa de Inseminação Artificial (IA): _____

Capril: _____ Município: _____

Protocolo: _____

IA: 10 a 24 horas após detecção do estro ou tempo fixo (novilhas 50 / cabras 54h após retirada do dispositivo)

Datas do Início e fim: _____ e _____

Período início e fim (M ou T): _____ e _____ Inseminação prevista: _____

	Fêmea Nº Raça	Escore	Início do cio ^a (h)	Data ^b e Período do Estro ^c						Final do cio (h)	Duração do cio (h)
				___/___		___/___		___/___			
				M	T	M	T	M	T		
1											
2											
3											
4											
5											
6											
7											
8											
9											
10											
11											
12											
13											
14											
15											
16											
17											
18											
19											
20											
21											
22											
23											
24											
25											
26											
27											
28											
29											
30											



Caprinos e Ovinos

Horas após retirada da esponja / CIDR/ prostaglandina. ^bM = manhã; T = tarde. ^cApós o final do tratamento de sincronização (retirada da esponja / CIDR /prostaglandina) usar siglas: (+) aceitou monta, () apresentou sinais de cio, mas não aceitou monta e (-) não aceitou monta e não apresentou sinais de cio.



Projeto / Propósito: Teste de Progênie em Caprinos Leiteiros Código: 02.08.02.005.00.04 – IA Caprinos Leiteiros

Número do programa de Inseminação Artificial: _____ Data: _____

Capril: _____ Município: _____

Protocolo: _____ Observações: _____

Datas do Início e fim: _____ e _____

Período início e fim (M ou T): M e M/T Inseminação: _____ : _____ h

	Fêmea N°	Escore	Muco	Profundidade	Bode Código / Partida	Inseminador	Horário	Gestação / /	OBS
1					2015-	Jeferson			
2					2015-	Jeferson			
3					2015-	Jeferson			
4					2015-	Jeferson			
5					2015-	Jeferson			
6					2015-	Jeferson			
7					2015-	Jeferson			
8					2015-	Jeferson			
9					2015-	Jeferson			
10					2015-	Jeferson			
11					2015-	Jeferson			
12					2015-	Jeferson			
13					2015-	Jeferson			
14					2015-	Jeferson			
15					2015-	Jeferson			
16					2015-	Jeferson			
17					2015-	Jeferson			
18					2015-	Jeferson			
19					2015-	Jeferson			
20					2015-	Jeferson			
21					2015-	Jeferson			
22					2015-	Jeferson			
23					2015-	Jeferson			
24					2015-	Jeferson			
25					2015-	Jeferson			
26					2015-	Jeferson			
27					2015-	Jeferson			
28					2015-	Jeferson			
29					2015-	Jeferson			
30					2015-	Jeferson			
31					2015-	Jeferson			
32					2015-	Jeferson			
33					2015-	Jeferson			
34					2015-	Jeferson			
35					2015-	Jeferson			
36					2015-	Jeferson			
37					2015-	Jeferson			
38					2015-	Jeferson			

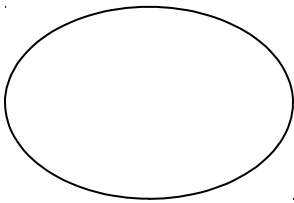
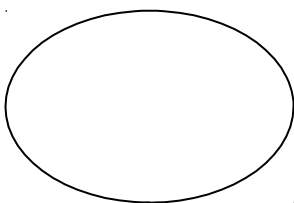
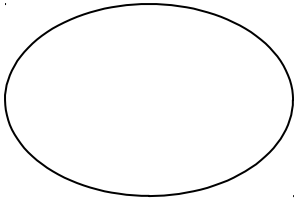
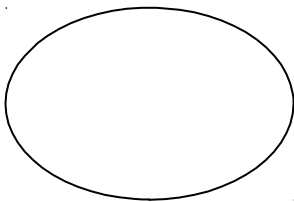
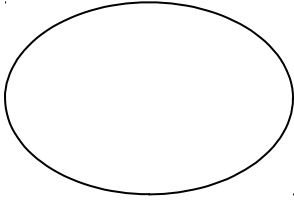
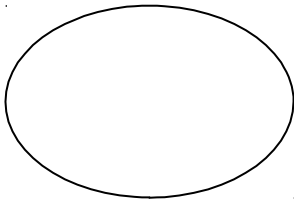
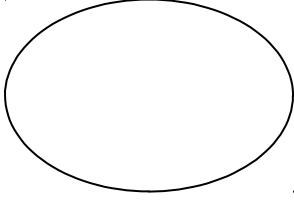
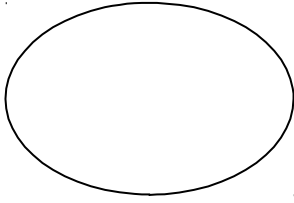
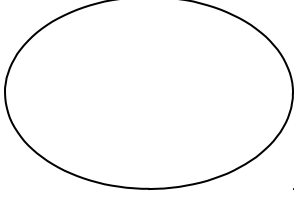
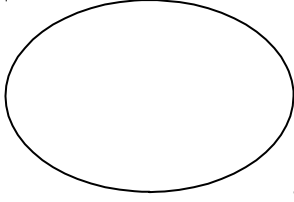
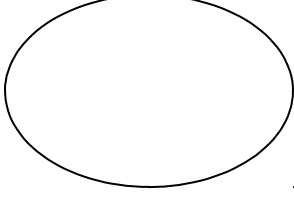
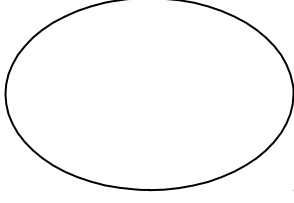
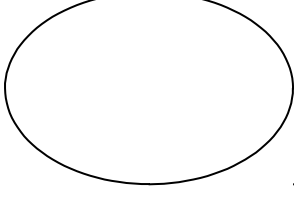
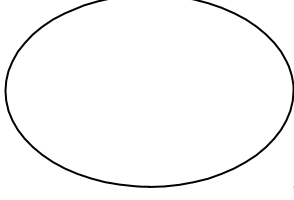
Preparado por: Jeferson Ferreira da Fonseca / Embrapa Caprinos e Ovinos / Núcleo Regional Sudeste
Rodovia MG 133, km 42, CEP: 36.155-000, Coronel Pacheco-MG / (+55) 32-3249-4900 / Fax: (+55) 32-3249-4901

e-mail: jeferson.fonseca@embrapa.br

Número do Animal

Ovário Esquerdo

Ovário direito

Data: Hora:		
Data: Hora:		
Data: Hora:		
Data: Hora:		
Data: Hora:		
Data: Hora:		
Data: Hora:		

Preparado por Jeferson Ferreira da Fonseca, Embrapa Caprinos e Ovinos – Núcleo Regional Sudeste

Preparado por: Jeferson Ferreira da Fonseca / Embrapa Caprinos e Ovinos / Núcleo Regional Sudeste
 Rodovia MG 133, km 42, CEP: 36.155-000, Coronel Pacheco-MG / (+55) 32-3249-4900 / Fax: (+55) 32-3249-4901
 e-mail: jeferson.fonseca@embrapa.br