

KARINE DE CASTRO MEIRELES

**SINCRONIZAÇÃO DO ESTRO E DA OVULAÇÃO EM CABRAS
DURANTE A ESTAÇÃO REPRODUTIVA**

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

**VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2005**

KARINE DE CASTRO MEIRELES

**SINCRONIZAÇÃO DO ESTRO E DA OVULAÇÃO EM CABRAS
DURANTE A ESTAÇÃO REPRODUTIVA**

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

APROVADA: 25 de fevereiro de 2005

Ciro Alexandre Alves Torres
(Conselheiro)

Marcelo Teixeira Rodrigues
(Conselheiro)

Eduardo Paulino da Costa

Théa Mírian Medeiros Machado

Giovanni Ribeiro de Carvalho
(Orientador)

À Deus, por iluminar sempre meu caminho e por permitir que vencesse mais esta batalha.

À minha família, que soube mesmo na distância estar presente em todos os momentos.

Aos animais, que foram a inspiração e o objetivo deste trabalho.

“No início faça o imprescindível, depois o possível e de repente estará fazendo o impossível”.

São Francisco de Assis

AGRADECIMENTOS

Ao professor Giovanni Ribeiro de Carvalho pela orientação durante a execução deste trabalho.

Aos meus conselheiros Ciro Alexandre Alves Torres e Marcelo Rodrigues Teixeira, pela amizade.

Ao professor Eduardo Paulino pelo exemplo, confiança e credibilidade.

À Universidade Federal de Viçosa, e em especial ao Setor de Caprinocultura.

À Tecnopec, pelo fornecimento dos hormônios utilizados durante o experimento.

Ao CNPq pelo apoio financeiro, por meio da concessão da bolsa.

Aos professores, funcionários e colegas do Departamento de Zootecnia, pela amizade e acolhida.

Aos amigos Pedro, Carlão, Kiki, Polyana, Cláudio e Rogério, pelo apoio na execução dos trabalhos de campo, sem os quais não seria possível concluir esta tarefa.

A todos os funcionários do Setor de Caprinocultura, que se tornaram meus amigos.

Aos meus pais queridos, Artur Bernardes e Maria Dail, por terem me ensinado sempre as lições mais importantes. Amo vocês!!!

Aos meus grandes amigos José de Oliveira, Eunice Maria e Cíntia Iolanda, que não permitiram que a saudade superasse a vontade de vencer.

Aos meus amigos Osvaldir, Diquinha, Fabrício (Fá), Flávio, Ana Clariza e Casinho, pelo carinho com o qual sempre me receberam.

BIOGRAFIA

KARINE DE CASTRO MEIRELES, filha de Artur Bernardes de Castro Meireles e Maria Dail de Castro Meireles, nasceu em Leopoldina, Minas Gerais, em 18 de Junho de 1977.

Ingressou na Faculdade Educacional Dom André Arcoverde (RJ) em 1996, onde em Agosto de 2000, obteve o título de Médica Veterinária.

Em Março de 2002, concluiu o curso de Especialização “latu sensu” em Clínica e Cirurgia Veterinárias, área de Clínica e Cirurgia de Grandes Animais, na Universidade Federal de Viçosa.

Iniciou o Curso de Pós-Graduação, em nível de Mestrado em Zootecnia, área de Reprodução Animal, na Universidade Federal de Viçosa, em Maio de 2003.

Em 04 de Março, submeteu-se à defesa de tese para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

CONTEÚDO

	Página
LISTA DE TABELAS E FIGURAS.....	vii
RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	xi
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	5
2.1. Sazonalidade e sua implicação na reprodução.....	5
2.2. Ciclo estral.....	9
2.3. Dinâmica folicular.....	11
2.4. Utilização de progestágenos na sincronização do estro.....	15
2.5. Uso de agentes luteolíticos.....	20
2.6. Uso da eCG.....	24
2.7. Uso do GnRH.....	28
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	31
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	34
5. CONCLUSÃO.....	46
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	47
7. APÊNDICE (análises estatísticas e dados bioclimáticos).....	57

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

	Página
Tabela 1. Percentagem de animais em estro (PAE) em cabras sincronizadas, com utilização de MAP e cloprostenol (T1) associados à eCG (T2) ou eCG + GnRH (T3).	34
Tabela 2. Intervalo referente à retirada da esponja ao início do estro (IREIE) e duração do estro (DE), com utilização de MAP e cloprostenol (T1) associados à eCG (T2) ou eCG + GnRH (T3).	36
Tabela 3. Localização da ovulação no ovário direito (OD) ou esquerdo (OE) e a média dos folículos ovulados no ovário direito (MFOD) e esquerdo (MFOE) segundo os diferentes tratamentos com utilização de MAP e cloprostenol (T1) associados à eCG (T2) ou eCG + GnRH (T3) .	40
Tabela 4. Intervalo referente ao início do estro à ovulação (IEO) e da retirada da esponja à ovulação (IREO), com utilização de MAP e cloprostenol (T1) associados à eCG (T2) ou eCG + GnRH (T3).	40
Tabela 5. Percentagem de cabras com diagnóstico de gestação positivo, realizado após 25 e 40 dias de cobertura, em estro e ovulação sincronizados com MAP e cloprostenol (T1) associados à eCG (T2) ou eCG + GnRH (T3).	45
Figura 1. Intervalo referente a retirada da esponja à ovulação, com utilização de MAP e cloprostenol (T1) associados à eCG (T2) ou eCG + GnRH (T3).	42

RESUMO

MEIRELES, Karine de Castro, MS, Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2005. **Sincronização do estro e da ovulação em cabras durante a estação reprodutiva.** Orientador: Giovanni Ribeiro de Carvalho. Conselheiros: Ciro Alexandre Alves Torres e Marcelo Teixeira Rodrigues.

O experimento foi conduzido no Setor de Caprinocultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, durante o mês de Junho de 2004, época correspondente à estação reprodutiva. O objetivo foi sincronizar a ovulação, através de dois protocolos contendo gonadotrofina coriônica eqüina (eCG) e eCG associado ao hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), em cabras com o estro sincronizado por esponjas contendo acetato de medroxiprogesterona (MAP) e observar o momento de ovulação, por meio de exames ultra-sonográficos seriados. A identificação do momento de ovulação teve como finalidade predizer o melhor momento para cobertura ou inseminação artificial em tempo fixo e, desta forma, tornar possível a obtenção de melhores índices de fertilidade, sem a prévia identificação do estro, após programas de sincronização do estro. Foram utilizadas 44 cabras múltiparas lactantes, sendo: 31 Alpinas e 13 Saanen, com idade entre 2 a 5 anos, peso corporal médio de 58 kg. Estas fêmeas foram distribuídas aleatoriamente em três tratamentos, após a indução do estro pela inserção de esponja intravaginal contendo 60 mg de MAP por 9 dias e administração de 37,5 µg de prostaglandina sintética (d-cloprostenol), por via intramuscular (IM) 48 h antes da retirada da esponja. Os animais do tratamento 1 (controle)

receberam 1 mL de solução salina, os do T2, 200 UI de eCG 48 h antes da retirada da esponja e os do T3, 200 UI de eCG 48 h antes da retirada da esponja e 12,5 µg de Lecirelina, um análogo do GnRH, por via IM, 24 h após a retirada da esponja. Os animais foram acasalados utilizando-se a monta natural 12 h após o início do estro, detectado com o auxílio de um rufião em conjunto com as observações dos sinais característicos do estro nesta espécie. Um segundo acasalamento foi efetuado caso o estro persistisse. A ovulação foi monitorada por exames ultra-sonográficos, via transretal, com início 12 h após a retirada da esponja e término após a detecção da ovulação ou 96h após o início do estro. A observação do estro assim como a detecção do momento de ovulação foram realizadas a cada 4 h. Os diagnósticos de gestação foram realizados aos 25 e 40 dias após a cobertura por exame ultra-sonográfico, via transretal. A percentagem de animais em estro encontrada foi de 100,0, 92,9 e 60,0 % e o intervalo da retirada da esponja ao início do estro foi de $44,0 \pm 14,3$; $41,2 \pm 11,4$ e $38,7 \pm 13,5$ h para os animais do T1, T2 e T3 respectivamente, não diferindo entre os tratamentos. A duração média do estro foi de $19,8 \pm 9,3$; $21,3 \pm 6,4$ e $17,3 \pm 8,3$ h e também não diferiu entre os tratamentos. O intervalo de tempo médio do estro à ovulação foi de $24,5 \pm 10,4$; $19,6 \pm 9,4$ e $14,4 \pm 9,4$ h para os tratamentos T1, T2 e T3 respectivamente. O intervalo da retirada da esponja à ovulação, foi equivalente à $70,3 \pm 13,4$; $60,7 \pm 11,7$; $55,9 \pm 20,7$ h. As taxas de gestação foram maiores para os animais do T1 (78,6 %) e T2 (71,4 %), quando comparadas ao T3 (40 %). Houve diferença estatística ($P < 0,05$) entre os tratamentos T1 e T3. Não foram verificadas perdas embrionárias entre os dias 25 e 40º de gestação em nenhum dos grupos estudados.

ABSTRACT

MEIRELES, Karine de Castro, MS, Universidade Federal de Viçosa, february, 2005. **Synchronization of estrus and ovulation in goats during reproductive season.** Adviser: Giovanni Ribeiro de Carvalho. Committee members: Ciro Alexandre Alves Torres and Marcelo Teixeira Rodrigues.

The experiment was conducted at the Dairy goat research station of Universidade Federal de Viçosa, on June of 2004, during the reproductive season. The objective was to synchronize ovulation in goats by two protocols with equine chorionic gonadotropin (eCG) and eCG associated to gonadotropin releasing hormone (GnRH) and observe optimum moment for ovulation via sequenced ultrasonographic exams. Estrus was synchronized by using sponge fill with medroxyprogesterone acetate (MAP). Determining moment of ovulation targeted to predict either optimum time of mounting or timed artificial insemination in order to obtain better fertility index without previous estrous identification after programming estrous synchronization. It was used 44 multiparous lactating dairy goats where 31 Alpines and 13 Saanen. Goats weighed 58 kg average and age varying from 2 to 5 years. Animals were randomized allotted to three treatments after estrous induction by insertion of intravaginal sponge with 60 mg of MAP by 9 days and administration of 37,5 µg of synthetic prostaglandin (d-cloprostenol) intramuscular 48 h before withdraw of sponge. Animals on treatment 1 (control) received 1 mL of saline solution, on treatment 2, 200 UI of eCG 48 h before withdraw of sponge and for treatment 3, goats were treated with 200 UI of eCG 48 h before sponge withdraw plus 12,5 µg of Lecirelin, an analogue of GnRH via intramuscular, 24 h after pulling sponge out. Animals

were mated by natural mounting 12 h after onset of estrous, detected by using both buck teaser and the characteristics signals of estrous for the specie. A sequenced mounting was performed in the case of persistent estrous. Ovulation was monitored by trans-rectum ultrasound exams beginning 12 h after sponge withdraws and finishing after either detecting ovulation or 96h after the onset of estrous. Estrous observation and detecting moment of ovulation were taken at every 4 h. Pregnancy diagnoses were checked at day 25 and 40 after mounting by ultrasound exams. No statistical difference was found for percent of animals on estrous, found to be 100,0; 92,9; and 60% and for interval for sponge withdraw at onset of estrous with $44 \pm 14,3$; $41,2 \pm 11,4$, and $38,7 \pm 13,5$ h for treatments 1, 2, and 3, respectively. Average time for estrous were $19,8 \pm 9,3$; $21,3 \pm 6,4$, and $17,3 \pm 8,3$ h for treatments 1, 2, and 3, respectively, with no statistic difference among them. Time interval between sponge withdraw to ovulation was equivalent to $70,3 \pm 13,4$; $60,7 \pm 11,7$ and $55,9 \pm 20,7$ h for treatments 1, 2, and 3, respectively. Gestation rates were higher for animals on treatment 1 (78,6 %) and treatment 2 (71,4 %) as compared to treatment 3 (40 %). There was difference ($P < 0,05$) between T1 and T3 treatment. No embryonic losses between day 25 to 40 of gestation were observed for all groups studied.

1. INTRODUÇÃO

A caprinocultura é uma atividade que vem se desenvolvendo muito nos últimos anos. No Brasil, dados do IBGE revelam um crescimento de 64,4% entre 1995 e 2004, onde o rebanho passou de 7.785.665 para 10.033.271 (ANUALPEC, 2004).

Há, contudo, evidentes diferenciações entre os estados no que se refere à distribuição do rebanho e sistemas de produção. Cerca de 93,8% do rebanho encontra-se na região Nordeste, seguida da região Sudeste com 2,1% (ANUALPEC, 2004). Enquanto na região Nordeste esta atividade, na maioria das propriedades, é explorada de maneira semi-intensiva, na região Sudeste a produção é inteiramente intensiva e localizada próxima às regiões metropolitanas e centros urbanos. Nesta, o principal produto produzido é leite em detrimento à carne e pele (SILVA, 1998).

Independente do objetivo da exploração, ressalta-se que a caprinocultura poderá contribuir muito para o desenvolvimento sócio-econômico do país, desde que explorada racionalmente. Desta forma, a utilização de tecnologias eficientes torna-se fundamental para a viabilidade desta atividade. Neste contexto, a reprodução é de fundamental importância, principalmente em virtude da sazonalidade

reprodutiva observada nesta espécie, isto é, manifestação do estro somente em determinadas épocas do ano. Esta sazonalidade constitui um processo fisiológico de adaptação, utilizado com a finalidade de concentrar os partos em épocas de maior disponibilidade de alimento e com temperaturas favoráveis à sobrevivência da espécie (GERLACH e AURICH, 2000; THIÉRY et al., 2002). Com a domesticação, algumas espécies perderam a estacionalidade reprodutiva, como no caso dos suínos e bovinos, ao contrário da maioria das raças ovinas, caprinas e eqüinas, originadas em regiões de latitudes temperadas (MALPAUX et al., 1996).

Desta forma, na espécie caprina, o comportamento estral é observado somente quando há redução da luminosidade, ou seja, final do verão, outono e início do inverno, que corresponde ao meses de março a junho na região Sudeste do Brasil. A diminuição do comprimento de luz do dia é detectada pela glândula pineal, que secreta melatonina, sintetizada a partir do aminoácido triptofano. O aumento na secreção de melatonina culmina com modificações na atividade do eixo gonadotrópico e conseqüente variações no pulso do hormônio luteinizante (LH) e na atividade ovariana (THIÉRY et al., 2002).

Para contornar a sazonalidade e obter estros regulares durante todo o ano, podem ser utilizados tratamentos com luz artificial (HENDERSON, 1987), estimulação pelo macho (TRALDI, 1994) ou ainda pela administração de componentes exógenos (hormonoterapia) que irão manipular artificialmente a atividade ovariana (AMARANTIDIS et al., 2004). O objetivo da hormonoterapia é imitar os mecanismos endócrinos que regulam o ciclo estral, e deste modo, induzir o estro e ovulação em um período pré-determinado.

São utilizados protocolos diferenciados segundo a estação reprodutiva. Fora da estação reprodutiva, preconiza-se o uso de progesterona (P_4) com o intuito de simular a fase luteal do ciclo estral. Elevadas concentrações de P_4 inibem a secreção pulsátil de GnRH pelo hipotálamo, interrompendo, deste modo, a ovulação, até uma próxima

luteólise (LEBOEUF et al., 1998). Comumente o cloprostenol, análogo sintético da prostaglandina ($PGF_{2\alpha}$), e a gonadotrofina coriônica equina (eCG) têm sido associados ao tratamento com progestágeno, com resultados satisfatórios (AMARANTIDIS et al., 2004). Durante a estação reprodutiva, por outro lado, a indução do estro pode ser obtida pela luteólise prematura do corpo lúteo, por meio de aplicações intercaladas de $PGF_{2\alpha}$. Tratamentos que utilizam progestágenos, também podem ser utilizados, caso o objetivo seja não só a indução, mas também a sincronização do estro (WILDEUS, 1999).

Deste modo, por intermédio da hormonoterapia é possível induzir e sincronizar o estro e, conseqüentemente, antecipar o período de reprodução diminuindo os períodos improdutivos. Outras vantagens oriundas do controle artificial da reprodução são inerentes ao fornecimento contínuo de produtos como leite e carne, redução do tempo despendido para detecção do estro, incremento do progresso genético, além de permitir a concentração dos partos, o que facilita a supervisão dos nascimentos, contribui para redução da mortalidade neonatal e organização da desmama (AHMED et al., 1998).

Além disso, com o avanço das biotécnicas de reprodução, a sincronização do estro tem sido utilizada como ferramenta auxiliar nos programas de inseminação artificial (I.A) e transferência de embriões (T.E). Segundo REGUEIRO et al. (1999) a sincronização é importante uma vez que permite a obtenção de ovulações síncronas dentro de um grupo, facilitando a identificação do estro. No entanto, ROMANO (1996) citou que um dos maiores problemas associados com a I.A é a estimação exata do início e duração do estro, após a sincronização, de forma a proporcionar máxima fertilidade, especialmente na I.A em tempo fixo. Deste modo, a fertilização irá depender largamente do grau de sincronização entre estro e ovulação (GREYLING et al 1997).

Na tentativa de se obter uma melhor sincronização da ovulação, alguns protocolos têm associado o GnRH (hormônio liberador de

gonadotrofina) ao tratamento com progestágeno (CAMERON et al., 1988; RUBIANES et al., 1997; PIERSON et al., 2003).

Este trabalho, tem como objetivo a utilização de um sistema de sincronização da ovulação, por meio de esponjas intravaginais contendo progestágeno, em associação com prostaglandina , eCG e um análogo do GnRH, a leirelina, durante a estação reprodutiva, e detecção do momento de ovulação via exames ultra-sonográficos. Desta forma, espera-se tornar possível a preconização do melhor momento da cobertura ou I.A em cabras com estros sincronizados e, por conseguinte, aumentar os índices de fertilidade, em protocolos que utilizam tais tratamentos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. SAZONALIDADE E SUA IMPLICAÇÃO NA REPRODUÇÃO

A sazonalidade na reprodução é um processo adaptativo desenvolvido por raças de ovelhas e cabras de regiões temperadas com latitudes superiores à 40°. Nestas condições, as mudanças sazonais climáticas são bem definidas e interferem na temperatura e disponibilidade de alimento durante o ano (SHELTON, 1978; MALPAUX et al., 1996). Esta sazonalidade implica no aparecimento de estro nas fêmeas e alterações no peso testicular e atividade espermatogênica nos machos (CHEMINEAU et al., 1992a). Desta forma, a estação de cobrição, nestas regiões, concentra-se no outono/inverno e possui a finalidade de assegurar que os partos ocorram em condições ambientais favoráveis, durante a primavera e verão (GERLACH e AURICH, 2000). Segundo CHEMINEAU et al. (1992b), quando estas raças originárias de regiões temperadas são introduzidas nas condições tropicais do Brasil, elas mantêm a sazonalidade reprodutiva sendo necessário utilização de métodos de indução artificiais, para se alcançar índices reprodutivos

eficientes. Ao contrário de algumas raças tropicais, que apresentam estro durante todo o ano, sendo, neste caso, a nutrição e o estado sanitário os principais fatores limitantes da reprodução (HENDERSON, 1987).

Em determinadas raças de caprinos, portanto, a atividade reprodutiva é regulada por estímulos ambientais, dentre os quais o fotoperíodo é o mais importante. Ao contrário da temperatura, disponibilidade de alimento, chuva ou outros fenômenos, o fotoperíodo prevê informações à respeito do comprimento do dia e permanece constante com o passar dos anos (DEVESON et al., 1992). Nas condições ambientais da cidade de Viçosa, local de realização do atual experimento, os ciclos estrais concentram-se nos meses de março à junho, período no qual a luminosidade é decrescente .

Na espécie caprina, o fotoperíodo é percebido primariamente pela retina e transmitido à glândula pineal, via múltiplos caminhos neurais , os quais envolvem o núcleo supraquiasmático e o gânglio cervical superior até a glândula pineal, onde mensagens modulam o ritmo de secreção de melatonina, por esta glândula (HAFEZ, 1995). O padrão de secreção de melatonina é conhecido como um ritmo circadiano uma vez que a elevação e a queda das concentrações de melatonina na circulação tem uma periodicidade de 24h (ROLLAG e NISWENDER, 1976 apud YELLON et al., 1992). A sua liberação ocorre em grandes quantidades durante as horas de escuridão, visto que, durante o dia, a luz suprime a atividade de enzima responsável pela sua síntese a partir do aminoácido triptofano (MINNEMAN e WURTMAN, 1975 apud GERLACH e AURICK, 2000). Desta forma, a duração do pico de secreção de melatonina está positivamente correlacionado com o comprimento do período da noite e sua duração de secreção difere entre os dias curtos e longos (PÉVET, 2003).

A maior concentração de receptores de melatonina localiza-se na *pars tuberalis* da adenohipófise, porém o sítio de ação alvo da melatonina é o hipotálamo médio-basal (MALPAUX et al., 1996). A melatonina atua via modificações no *feedback* de esteróides, responsáveis pelas variações

sazonais na liberação de LH. Durante a estação reprodutiva ou períodos de menor intensidade luminosa, quando sua secreção encontra-se elevada, a melatonina estimula o estradiol, o qual aumenta a frequência dos pulsos de GnRH, e conseqüentemente estimula a secreção de LH, em animais de dias-curtos (GERLACH e AURICH, 2000). Experimentos realizados em ovelhas ovariectomizadas e com implantes de estradiol revelaram que a frequência do LH é reduzida durante o período de anestro ou durante dias longos, confirmando que a inibição sazonal da pulsatilidade do LH resulta principalmente de um aumento no *feedback* negativo do estradiol na frequência do pulso de LH durante os dias longos da primavera e verão (GOODMAN et al., 1982). Por outro lado, em ovelhas ovariectomizadas sem o tratamento com estradiol, também há alterações na pulsatilidade do LH, mas o mecanismo responsável permanece desconhecido (THIÉRY et al., 2002).

Outras teorias da ação da melatonina atuando diretamente nos neurônios GnRH ou por intermédio de interneurônios como a dopamina, serotonina e aminoácidos excitatórios, também têm sido citadas (MALPAUX et al., 1996).

O início do estro em animais de dias curtos, porém, não ocorre somente em resposta à diminuição do comprimento do dia, mas dependente de outros parâmetros, principalmente a experiência anterior de dias longos. Em ovelhas, têm sido demonstrado que o estágio reprodutivo não é determinado pelo comprimento do dia absoluto, mas pela direção da mudança. Assim, a história fotoperiódica mais do que o comprimento do dia torna-se responsável pela atividade reprodutiva (GERLACK e AURICK, 2000). Em ovinos, foi constatado que uma mudança de 16 para 13 h de luz/dia estimulava a liberação de LH, enquanto que uma mudança de 10 para 13 h de luz diminuía esta liberação, indicando que um mesmo fotoperíodo pode estimular ou inibir a secreção de LH (ROBINSON e KARSCH, 1987).

Temperatura, umidade e disponibilidade de alimento podem também ser importantes na determinação da sazonalidade em ambientes

naturais (MALPAUX et al., 1996). Em experimento realizado com hamsters, espécie com sazonalidade reprodutiva, verificou-se que os animais respondiam a um mesmo fotoperíodo diferentemente, dependendo das condições ambientais as quais eram submetidos (STEINLECHNER et al., 1991 apud STEINLECHNER et al., 1992).

A atividade reprodutiva também pode ser influenciada negativamente por um prolongamento à determinados regimes de intensidade luminosa e posterior perda da sensibilidade do animal em responder à duração do dia. Este fenômeno é conhecido como fotorefratariedade e constitui um aspecto crítico no comportamento de muitas espécies de reprodução sazonal. A fotorefratariedade pode ser induzida por fotoperíodo artificial ou em condições naturais, como o caso de animais que hibernam e ficam submetidos a uma completa escuridão dentro de seus abrigos, por longos períodos (CHEMINEAU et al., 1992a; STEINLECHNER et al., 1992). Segundo WILLIAMS e HELLIWELL (1993) a ausência de resposta à luminosidade, em animais fotorefratários, não ocorre devido à alterações na secreção circadiana de melatonina nem à falta de sensibilidade do animal à melatonina, uma vez que a exposição dos animais a um fotoperíodo de duração mais curta, pode ser utilizada para reiniciar a resposta do animal frente ao fotoperíodo.

Para evitar o desenvolvimento deste fenômeno, os animais não devem ser expostos a períodos prolongados de um dado comprimento do dia, uma vez que a percepção de alterações entre dias longos e curtos é imprescindível para ativação do eixo hipotálamo-hipófise-gônada. Artificialmente, o desenvolvimento da refratariedade pode ser controlado por manipulações fotoperiódicas, por meio da administração de luz artificial, durante determinados períodos (CHEMINEAU et al., 1992a). Em um estudo realizado no Brasil, verificou-se que a exposição das cabras, por um período de 30 dias, com início em Agosto (fora da estação reprodutiva), em um regime constituído de 17 h de luz e 8 h de escuro, foi suficiente para antecipar a atividade cíclica das cabras e eliminar o efeito da refratariedade (RODRIGUES, 1992).

2.2. CICLO ESTRAL

O ciclo estral corresponde ao período intercalado entre duas ovulações consecutivas, onde um conjunto de eventos se repete sucessivamente. As cobrições se limitam ao período de estro, coincidindo com a ovulação, na maioria das espécies de mamíferos, ao contrário da espécie humana e outros primatas (HAFEZ, 1995).

Na espécie caprina, o comprimento típico do ciclo estral de rebanhos europeus é de 21 dias, porém em rebanhos caprinos pigmeus, este período é mais variável (18 a 24 dias). Ciclos de comprimento irregular (5 a 7 dias) também podem ocorrer no início e final da estação, principalmente em animais jovens, cabras com problemas individuais ou animais superovulados para programas de transferência de embrião. Neste caso, o corpo lúteo possui vida-curta e somente um breve aumento nos níveis de progesterona pode ser observado (SMITH, 1994). Anormalidades no comprimento do ciclo estral também podem ser evidenciadas após a introdução do macho ou durante o início da estação reprodutiva (SHELTON, 1978).

Segundo HAFES (1995), a duração do estro em cabras compreende um período de 24 a 48 h. A raça, idade, estação e presença do macho, porém, constituem fatores importantes para modificação deste período.

No Brasil, para muitas raças caprinas originárias de latitudes temperadas, a manifestação do estro não ocorre durante todo o ano. Desta forma, a cabra se comporta como poliéstrica estacional, com presença de estro somente durante o outono e inverno, quando o comprimento do dia, ou fotoperíodo é curto (CHEMINEAU, 1992b).

Os sinais de estro expressados pela cabra são bem característicos e de fácil identificação, principalmente com a utilização de um rufião. Estes sinais incluem aumento da intensidade e frequência da vocalização, poliúria, diminuição do apetite e da produção de leite e imobilização à

monta. A vulva torna-se edemaciada, com presença de descarga vaginal , que no início do estro apresenta-se clara e torna-se progressivamente branca e opaca quando se aproxima do final do estro. A cauda balança vigorosamente, no sentido lateral, mesmo na ausência do macho e, presumivelmente, tem como finalidade enviar os feromônios presentes no trato reprodutivo da fêmea para o ambiente ao redor, a fim de atrair o macho. Ocasionalmente, a cabra pode demonstrar comportamento homossexual, montando outras cabras (SMITH, 1994; GORDON, 1997). Da mesma forma, durante a detecção do estro, o macho também exibe alguns sinais característicos como cortejo, vocalização, exposição da língua e reflexo de flêmen, além de montar a fêmea em estro (CHEMINEAU, 1987).

A ovulação é do tipo espontânea e ocorre próxima ao fim do estro. GREYLING et al. (1983) relataram que a ovulação em cabras da raça Boer, após indução do estro com progestágeno associado à eCG, ocorreu 6,5 h antes do término do estro.

A ovulação, sem a presença de estro também pode ocorrer em alguns animais, principalmente da raça Nubiana, antes do início da estação de monta (HAFEZ, 1995) ou após estros induzidos por meio de tratamentos hormonais, durante o anestro sazonal (WESTHUYSEN, 1979).

2.3. DINÂMICA FOLICULAR

Os ovários, durante o desenvolvimento embrionário, contêm um conjunto de folículos primordiais, com o seu desenvolvimento estacionado na prófase I da meiose. Após a maturidade sexual da fêmea, os folículos primários ou primordiais entram no *pool* de folículos em crescimento em resposta a mudanças hormonais. Uma vez iniciado o processo de crescimento, este é contínuo e culmina com a ovulação ou degeneração do folículo (FORTUNE, 1994, HAFEZ, 1995). Segundo HANSEL e CONVEY (1983) o desenvolvimento folicular é um processo dinâmico, no qual folículos grandes aparecem na superfície do ovário, regridem e são substituídos por outros folículos.

Durante muitos anos, o estudo das modificações que ocorrem no ovário, durante o ciclo estral, foi efetuado por abordagens cirúrgicas (laparotomias e laparoscopias seriadas) ou por meio de materiais obtidos em frigoríficos. Estudos laparoscópicos em cabras sugeriram um *turnover* de folículos grandes durante o ciclo estral (CAMP et al., 1983) mas a exata dinâmica folicular permaneceu obscura. Com o advento da ultrasonografia transretal, eventos reprodutivos em pequenos ruminantes puderam ser estudados e aspectos básicos da fisiologia ovariana em cabras foram estabelecidos (RUBIANES, 2000).

Em bovinos, como a técnica ultra-sonográfica foi utilizada mais cedo, quando comparado com pequenos ruminantes, foi possível conhecer a dinâmica folicular nesta espécie e concluir, que o crescimento dos folículos ocorria em ondas ou grupos (SAVIO et al., 1993 apud RUBIANES et al., 1996). Na espécie caprina, avaliações ultra-sonográficas do crescimento e regressão de folículos ovarianos maior que 3mm, durante quatro intervalos interovulatórios, em cinco cabras Saanen, revelaram que o desenvolvimento folicular também é caracterizado por um modelo de ondas (GINTHER e KOT, 1994). Alguns autores, entretanto, acreditam em uma dinâmica folicular contínua em caprinos,

onde folículos ou grupos de folículos entram continuamente em crescimento e atresia (GONZALES et al., 1995).

A onda folicular envolve a emergência de um grupo de folículos antrais pequenos, dos quais comumente um ou dois são selecionados para crescer mais do que 5mm de diâmetro e são chamados de folículos dominantes. Desta forma pode-se observar três fases distintas: emergência (recrutamento), seleção (desvio) e dominância foliculares. Segundo GINTHER e KOT (1994) o número de ondas foliculares por ciclo, para cabras que desenvolvem ciclo interovulatório de comprimento normal (19-22 dias) é predominantemente de quatro ondas e a emergência das ondas ocorre nos dias 0, 4, 8 e 14 (estro = dia 0), com presença de ovulação durante a quarta onda. RUBIANES e MENCHACA (2003) também observaram a emergência de quatro ondas durante os dias 0, 5-6, 10-11 e 15 pós ovulação, respectivamente. Relataram ainda, que em cabras que desenvolveram três ondas foliculares, a segunda emergiu um a dois dias mais tarde e a onda ovulatória, um a dois dias mais cedo, quando comparado com as cabras que apresentaram quatro ondas foliculares.

O estágio da estação reprodutiva pode afetar o número de ondas. Durante a transição para o anestro sazonal, o comprimento do ciclo ovulatório e o número de ondas foliculares são mais variáveis (GINTHER e KOT, 1994). Outros fatores (raça, perfil genético e nutrição) têm sido relacionados com alterações na dinâmica folicular em ovelhas, mas estudos similares em cabras não foram realizados (RUBIANES e MENCHACA, 2003).

Independente do número de ondas presentes durante o ciclo, um folículo grande (dominante) é selecionado de um *pool* de folículos médios e pequenos. Então, este folículo dominante poderá regredir (folículo dominante anovulatório) ou ovular, formando o corpo lúteo (CL) (RUBIANES et al., 1996). Assim, o folículo ovulatório é o folículo dominante presente na última onda, sendo que os outros folículos dominantes entram em processo de atresia. Esta atresia é determinada

pela presença de CL ativo no ovário e produção de P₄, que exerce um *feedback* negativo no eixo hipotálamo-hipófise-gônada, reduzindo a amplitude e frequência dos pulsos de LH, impedindo a maturação final do folículo e ovulação (GINTHER et al., 1996).

Em vacas, a dominância folicular parece ser controlada por um número de mecanismos atuando em conjunto, os quais incluem alterações nas concentrações de FSH, pelo estradiol e inibina secretados pelo folículo dominante durante a fase de crescimento. Segundo GINTHER e KOT (1994), o fenômeno da dominância folicular, está presente também na espécie caprina e ocorre durante as ondas um e quatro. Tal fato foi constatado pelas observações obtidas de que o intervalo entre ondas foi maior para as ondas um (3,4 dias) e quatro (4,3 dias), comparado às ondas dois e três (2,5 dias), associado à observação de que o diâmetro dos folículos presentes nestas ondas foram superiores. O conceito de co-dominância foi sugerido para explicar a presença de dois folículos maiores em uma mesma onda, mas estudos específicos sob este aspecto ainda não foram realizados (RUBIANES e MENCHACA, 2003).

Para explicar o fenômeno da dominância, na espécie caprina, MENCHACA et al. (2002) realizaram um tratamento à base de FSH, em um total de seis aplicações, administradas com intervalo de 12 h. O tratamento teve início no período de emergência do folículo maior da onda um (imediatamente após a ovulação) ou três dias depois, de forma que pudessem ser estudados o efeito deste hormônio na ausência ou presença de um folículo grande, respectivamente. Os folículos foram observados por meio de ultra-sonografia, duas vezes ao dia, e os maiores que 3cm foram documentados. Pelos resultados obtidos, pôde-se concluir que a presença de folículos grandes no dia três afetou o recrutamento folicular, após a administração de FSH, ao passo que em cabras tratadas no dia zero, o FSH promoveu um aumento na população dos folículos pequenos. Somente depois da quarta ou quinta dose de FSH os folículos pequenos e médios, do tratamento iniciado no dia três começaram a

crescer. O atraso no desenvolvimento folicular do tratamento com início no dia três ou na presença de folículos, foi atribuído ao efeito inibitório do folículo dominante no recrutamento folicular.

Alguns hormônios estão relacionados com a emergência das ondas foliculares. Assim, um aumento nas concentrações de FSH comumente precede a emergência de uma onda folicular, sendo que, em seguida, observa-se uma diminuição nos níveis deste hormônio, provavelmente devido ao *feedback* negativo do estradiol, produzido pelo folículo dominante da onda (VIÑOLES et al., 2002). Segundo De CASTRO et al. (1999), as mudanças nas concentrações de estradiol estão relacionadas com a dinâmica folicular. O aumento durante a fase luteal inicial (2-3 dias após a ovulação) está associado com o desenvolvimento da onda um, ao passo que o aumento posterior (ao redor 16° dia), que ocorre juntamente com o declínio da P₄ (luteólise), está relacionado com a onda ovulatória.

A P₄ também possui papel importante na dinâmica folicular como relatado por RUBIANES et al. (1996), que utilizaram CIDR, contendo 0,3 g de P₄, em ovelhas e acompanharam o crescimento folicular da primeira onda até à ovulação e constataram que o crescimento do folículo foi afetado pelos altos níveis séricos de P₄. Posteriormente, MENCHACA e RUBIANES (2002), estudaram a relação entre concentração de P₄ no início do ciclo estral e a dinâmica folicular em cabras e concluíram que altas concentrações deste hormônio foi responsável pelo aumento do *turnover* folicular e pelo maior número de ondas presentes em cada ciclo. Segundo MORAES (2004) a diferença no diâmetro folicular, durante o ciclo estral, ocorre devido à alterações nas concentrações de P₄. Desta forma, durante a primeira onda, graças à baixa concentração de P₄ secretada pelo CL em formação, não ocorre um *feedback* negativo sobre o eixo hipotálamo-hipófise-gônada e, por conseguinte, há um aumento na liberação de LH e crescimento folicular. Por outro lado, durante a segunda onda, como o CL já está formado, a liberação de P₄ é elevada, o que acarreta inibição do LH e menor desenvolvimento dos folículos.

2.4 UTILIZAÇÃO DE PROGESTÁGENOS NA SINCRONIZAÇÃO DO ESTRO

A progesterona (P_4) é um hormônio secretado pelas células luteínicas do corpo lúteo (CL) e pela placenta. Possui a função de manter o tônus uterino relaxado e estimular a liberação de secreções endometriais para a implantação e manutenção da gestação. Altos níveis de P_4 estão relacionados também com a inibição do estro e da onda ovulatória de LH, sendo, portanto, importante para a regulação hormonal do ciclo estral (HAFEZ, 1995).

Desta forma, a P_4 tem sido amplamente utilizada nos protocolos de sincronização de estro em pequenos ruminantes, independente da estação reprodutiva, podendo, em alguns casos, sofrer interferência da estação (BARIL e VALLET, 1990; SENN e RICHARDSON, 1992).

A utilização da P_4 exógena nos protocolos de indução e sincronização do estro tem a finalidade de simular o efeito progesterônico do CL e regular o ciclo estral. Isto é possível devido ao *feedback* negativo exercido pela P_4 exógena sobre a secreção de LH, e, conseqüentemente, inibição do crescimento folicular e ovulação. Cessada a administração da P_4 , a atividade do eixo hipotálamo-hipófise-gônada é reativada, o que torna possível o aparecimento do estro, dentro de um período previsível (GONZÁLEZ e STAGNARO, 1974). TANAKA (2000) relatou que a P_4 também desempenha papel inibitório sobre a liberação pulsátil de GnRH e, conseqüentemente, de LH, visto que, durante a fase luteal, os pulsos de GnRH apresentaram-se reduzidos. GREYLING e VAN der NEST (2000) pesquisaram o efeito das doses de P_4 (60mg ou 30mg) na sincronização do estro de cabras, durante a estação reprodutiva, e encontraram uma concentração média de LH inferior ($10,59 \pm 0,22$ ng/ml) naquelas tratadas com 60mg de P_4 , quando comparado com as que receberam 30 mg de P_4 ($11,9 \pm 0,49$ ng/ml). Trabalho semelhante foi realizado em ovelhas e o resultado foi equivalente, ou seja, uma maior

concentração de LH com utilização de doses menores de P₄ (GREYLING et al., 1997).

A administração da P₄ pode ser conduzida por meio de esponjas intravaginais contendo acetato de fluorogestona (FGA) (FREITAS et al., 1996) ou acetato de medroxiprogesterona (MAP) (GREYLING e van NIEKERK, 1990); via dispositivos de liberação controlada, conhecidos pela sua abreviatura em inglês "CIDR" (ROMANO, 2004); por implantes auriculares de norgestomet (Syncro-Mate B), utilizados nos protocolos de indução de estro em bovinos (MOFFATT et al., 1993) e caprinos (MELLADO e VALDÉZ, 1997) ou pela via intramuscular (PATIL, 2000).

Segundo BRETZLAFF (1997) apud DOGAN (2004), o meio mais utilizado para aplicação de P₄ em cabras são as esponjas intravaginais contendo MAP ou FGA. Pesquisas têm revelado que ambas progesteronas são igualmente eficazes em protocolos de sincronização do estro (ROMANO, 1996).

Algumas diferenças no que a tange ao início do estro em cabras, entretanto, têm sido verificadas entre tratamentos com esponja contendo MAP ou FGA. ROMANO (1996) relatou que os animais que receberam esponjas intravaginais contendo FGA apresentaram estro 12h mais cedo, que os tratados com MAP. Em 2004, ROMANO ao testar dispositivos intravaginais contendo MAP, FGA e CIDR, relatou também que o aparecimento do estro, após a retirada da esponja, ocorreu mais cedo nos animais que receberam FGA (32,9 h) quando comparado com o tratamento com MAP (48,8 h) ou CIDR (40,2 h). Tal fato foi correlacionado à metabolização mais rápida do FGA e, portanto, retorno mais rápido ao estro.

O período de permanência da esponja contendo MAP ou FGA tem sido alterado, segundo o conhecimento maior da fisiologia reprodutiva dos caprinos. Tratamentos tradicionais utilizavam esponjas intravaginais contendo P₄ por longos períodos (11-21 dias) (CORTEEL et al., 1988 apud RUBIANES e MENCHACA, 2003). Atualmente, é possível a utilização de protocolos com duração inferior e mais eficazes, graças ao

conhecimento da dinâmica folicular, por meio da utilização de exames ultra-sonográficos seriados (RUBIANES e MENCHACA, 2003).

RUBIANES et al., (1998) realizaram um tratamento tradicional de indução do estro em cabras, durante o anestro sazonal, no qual o dispositivo intravaginal permaneceu por 12 dias e observaram as concentrações séricas de P_4 durante o tratamento. Assim, após a inserção do dispositivo houve um aumento agudo nas concentrações séricas de P_4 ($> 5\text{ng/mL}$), que permaneceu durante o 3 - 4° dia. Após o 6° dia de tratamento, porém, a P_4 declinou à níveis subluteais (2ng/mL) e permaneceu neste valor até o 12° dia, quando o dispositivo foi retirado. Os autores concluíram que tratamentos curtos de cinco dias permitiam um adequado nível de P_4 , porém tratamentos longos estavam associados com níveis de P_4 séricas subluteais, que alteravam o *turnover* folicular. Segundo VINÖLES et al. (2001) a diminuição no *turnover* folicular, acarreta a ovulação de folículos velhos, que possuem pouca probabilidade de serem fertilizados e caso ocorra fertilização, resulta em desenvolvimento embrionário anormal ou morte embrionária prematura. Desta forma, em protocolos de sincronização de estro espera-se níveis supraluteais de P_4 , por meio de tratamentos curtos, os quais permitem maiores índices de fertilidade, devido a prevalência da ovulação em folículos jovens.

Outro fator que se opõe à utilização de tratamento prolongado de P_4 , nos protocolos de indução e sincronização do estro na espécie caprina, além das baixas concentrações séricas de P_4 obtidas no final do tratamento, está apoiado na dinâmica folicular. Segundo RUBIANES e MENCHACA (2003) no modelo folicular padrão, as ondas emergem a cada 5-7 dias e, desta forma, os tratamentos curtos com P_4 asseguram a presença de folículos jovens grandes disponíveis para ovulação, independente do tratamento ter iniciado na presença ou não de uma nova onda.

Resultados satisfatórios utilizando esponjas intravaginais por um curto período podem ser evidenciados. Desta forma, PROSPERI et al.

(2003) durante o início da estação reprodutiva, utilizaram esponjas contendo 60 mg de MAP, por períodos de 6 ou 9 dias, associadas à 200 UI eCG e 25 µg análogo da prostaglandina, 24 h antes da retirada da esponja. O percentual de cabras em estro foi similar em ambos tratamentos (88,89 %). O início do estro (26,5 h) e a sua duração (39,5 h) também não diferiram entre os tratamentos .

Além do período de permanência, a concentração da P₄ utilizada nos dispositivos intravaginais também é de fundamental importância para o sucesso da indução e sincronização do estro. Segundo LEBOEUF et al. (1998), a concentração de P₄ recomendada depende da categoria dos animais e do tipo de P₄ exógena. Assim, doses de FGA para cabras em lactação e nulíparas são da ordem de 45 e 40 mg, respectivamente. Em relação ao MAP, pesquisas tem demonstrado que doses efetivas para sincronização do estro podem ser encontradas na metade da dose preconizada pelo fabricante. GREYLING e VAN der NEST (2000) pesquisaram a utilização de esponjas inteiras impregnadas com MAP contendo 60 mg e metade da esponja com aproximadamente 36,9 mg, durante um período de 14 dias, seguida da administração de 300 UI eCG para sincronização do estro em ovelhas, durante a estação reprodutiva. Os resultados revelaram que não houve diferença entre os tratamentos no que se refere ao início e duração do estro. Porém, a avaliação da concentração de MAP nas esponjas durante diferentes períodos do tratamento revelaram que somente 23,4 % ou 13,2 mg na esponja inteira e 50,7 % ou 18,7 mg na esponja dividida havia sido absorvida pelo animal. Desta forma concluíram que a P₄ necessária para causar um *feedback* positivo no hipotálamo, encontrava-se em excesso nas esponjas comerciais.

Da mesma forma, FREITAS et al. (1996), trabalhando com a espécie caprina, fora da estação reprodutiva, utilizaram esponjas contendo 45 mg de FGA, durante um período de 11 dias, associada à administração de 400-500 UI eCG e 50 µg de PGF_{2α} 48 h antes da retirada da esponja, em três grupos diferentes. O grupo 1 recebeu

somente uma esponja, ao passo que o grupo 2 e 3 receberam duas esponjas. No grupo 2, as esponjas foram colocadas nos dias zero e sete e no grupo 3 nos dias zero e nove. Os resultados alcançados com a utilização de duas esponjas, em relação a percentagem de animais em estro, índice de ovulação e período médio para o início do estro não foram diferentes daqueles obtidos durante o tratamento convencional, com a utilização de somente uma esponja. Os autores concluíram que o aumento dos níveis de P_4 no final da sincronização do estro não é um método eficiente para reduzir a variabilidade entre os animais no que tange ao início do estro.

ESPESCHIT (1986) utilizou esponjas intravaginais contendo 50 mg de MAP, durante dez dias, associada a diferentes doses de eCG (200 e 400 UI) e cloprostenol (50 a 125 μ g) e encontrou uma percentagem de animais em estro de 88,9 a 100 %. FONSECA (2002), utilizando dose mais elevada de MAP nas esponjas intravaginais (60mg), por um período de nove dias associada a 200 UI de eCG e 22,5 μ g $PGF_{2\alpha}$, também encontrou resultados satisfatórios, em relação a percentagem de animais em estro, equivalente à 90,68 %.

Um dos inconvenientes observados com a utilização de esponjas intravaginais é o desenvolvimento de vaginite, no término do tratamento, embora já tenha sido relatado por GONZÁLEZ e STAGNARO (1974) e SMITH (1986) a não associação com a fertilidade ou detecção de estro pelo rufião. A fim de minimizar a vaginite, recomenda-se o uso de antibióticos diretamente nas esponjas, anteriormente à sua utilização.

2.5. USO DE AGENTES LUTEOLÍTICOS

A luteólise pode ser definida como a lise ou falecimento estrutural do corpo lúteo (CL), o qual perde a capacidade de sintetizar P_4 , seguida da perda das células que o compõem. O agente responsável pela luteólise é a $PGF_{2\alpha}$, que em ruminantes é produzida pelo endométrio, passa diretamente através das paredes das veias útero-ovarianas para o interior da artéria ovariana, alcançando o CL (HAFEZ, 1995), onde atua nas grandes células luteais, originadas das células da granulosa, por ligações nos receptores da família G (SANGHA et al., 2002).

O agente que inicia a luteólise tem sido proposto ser o estradiol advindo dos folículos pré-ovulatórios em desenvolvimento que disparam a liberação de ocitocina da neuro-hipófise, a qual estimula a liberação de pequenas quantidades de $PGF_{2\alpha}$ uterina (NISWENDER et al., 2000).

Em diversos programas reprodutivos, a $PGF_{2\alpha}$ ou o cloprostenol, seu análogo sintético, têm sido utilizados como importante agente luteolítico, em associação ou não com outros hormônios, segundo à fase reprodutiva ou a presença ou não do CL. Desta forma, durante a estação reprodutiva, vários protocolos utilizam somente a $PGF_{2\alpha}$, em vista de existir, nesta fase, a presença de um CL funcional, responsivo à sua atuação (ALAÇAM et al., 1985).

Para o sucesso da indução do estro com o uso de agentes luteolíticos, é importante ressaltar que, na maioria das vezes, no início do tratamento, não se conhece o *status* reprodutivo da fêmea em relação ao ciclo estral e que nem todas as fases do ciclo são responsivas à atuação deste hormônio. Segundo OTT et al. (1980) a $PGF_{2\alpha}$ não atua entre o quarto e sexto dia do ciclo estral. Períodos inferiores foram observados por BOSU et al. (1978), que relataram início da responsividade do CL à $PGF_{2\alpha}$ a partir do quarto dia do ciclo e PROSPERI (2004) a partir do terceiro dia.

Deve-se preconizar, portanto, o uso de duas aplicações de $\text{PGF}_{2\alpha}$, com intervalos que variam de sete (PROSPERI, 2004), onze (FONSECA, 2002), doze (AMARANTIDES et al., 2004) ou treze dias (ROMANO, 1998), a fim de alcançar melhores respostas com a utilização de $\text{PGF}_{2\alpha}$, independente do período de início do estro. PROSPERI (2004), comparou o protocolo com duas aplicações de 125 μg $\text{PGF}_{2\alpha}$, intervaladas de dez dias, com o protocolo de tempo reduzido, com três aplicações de $\text{PGF}_{2\alpha}$ intervaladas de sete dias. A taxa de indução do estro, após a primeira aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$ foi similar entre os dois protocolos, sendo de 75,0% para o tratamento controle e 87,5 % para o tratamento com tempo reduzido. Porém, após a segunda aplicação verificou-se um índice de 100% de estro para o protocolo de tempo reduzido e de 66,67 % para o controle. Resultados semelhantes, foram encontrados por MENCHACA et al. (2004), ao utilizarem o protocolo com tempo reduzido (sete dias) em ovelhas, onde 80,0 % delas apresentaram estro entre 25 à 48 h após a segunda aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$.

Na busca de identificar a melhor dosagem de $\text{PGF}_{2\alpha}$ para os protocolos de indução, durante a estação reprodutiva, ROMANO (1998) administrou 62,5 ou 12,5 μg de cloprostenol entre os dias 8 e 15° do ciclo estral, porém, não observou diferenças em relação ao início e duração do estro. AKUSU e EGBUNINKE (1984) avaliaram o efeito de duas doses de $\text{PGF}_{2\alpha}$ (5 e 10 mg) administradas com intervalo de onze dias e também não observaram diferenças na *performance* reprodutiva dos animais. Segundo outros autores, a dose de $\text{PGF}_{2\alpha}$ pode variar de 7,5 mg administradas em intervalos de doze dias (AMARANTIDIS, 2004) ou 5,0 mg, intervaladas de 10 dias (ALAÇAM et al., 1985). A dosagem também pode variar segundo o peso vivo dos animais. Segundo BRETZLAFF e OTT (1983) a dose de $\text{PGF}_{2\alpha}$ corresponde à 0,0385 mg/kg.

Em relação a via de administração, MELLADO et al (1994) não encontraram diferenças na indução do estro em cabras, ao compararem a via intramuscular ou a submucosa vulvar, na dose de 4 mg.

A eficácia da indução hormonal do estro com $\text{PGF}_{2\alpha}$ foi comprovada, após a comparação com tratamentos à base de progestágenos. ISHWAR e PANDEY (1990) relataram que duas aplicações de 5 ou 10 mg de $\text{PGF}_{2\alpha}$, induziram 100 % das cabras tratadas, em comparação com 90% do tratamento com progesterona intramuscular. AHMED et al. (1998) relataram que duas aplicações de 125 μg de cloprostenol foram mais eficientes na sincronização do estro em cabras nubianas (100 %) quando comparado com outros tratamentos à base de esponjas impregnadas com progesterona (70 %) ou associação desta com 300 UI eCG, 48 h antes da retirada da esponja (77 %). Trabalhos posteriores também relataram a eficácia da indução do estro por meio da aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$ durante a estação reprodutiva (AMARANTIDIS et al., 2004).

A sincronização do estro, pelo uso de $\text{PGF}_{2\alpha}$, entretanto, pode falhar devido a diferentes causas. Em bovinos, estas causas estão relacionadas à ausência do CL, regressão do CL ou presença de ciclos estrais curtos (KING, 1982 apud ROMANO, 1998). Em caprinos, a principal causa da ineficiência dos tratamentos que utilizam $\text{PGF}_{2\alpha}$ é a presença de ciclos estrais curtos. Desta forma, animais que apresentam ciclos estrais curtos, durante a segunda aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$ podem ser não-responsivos à ação deste hormônio, visto que a $\text{PGF}_{2\alpha}$ não atua eficientemente durante todo o ciclo. BOSU et al. (1978) sincronizaram o ciclo estral de quinze cabras com o uso de esponjas impregnadas com 20 mg de FGA. Após a retirada das esponjas, os animais foram divididos em seis grupos, nos quais foram administrados $\text{PGF}_{2\alpha}$ durante os dias 2, 4, 6, 12, 14 ou 16, após o fim do estro. Os autores observaram que o tratamento com $\text{PGF}_{2\alpha}$ realizado dois dias após o fim do estro, ao contrário dos outros tratamentos, não teve efeito sob a funcionalidade do CL e concluíram que a $\text{PGF}_{2\alpha}$ possui efeito luteolítico somente quando administrada após dois dias do fim do estro.

O uso de $\text{PGF}_{2\alpha}$, porém, não é indicado somente durante a estação reprodutiva. Protocolos de reprodução assistida que utilizam

progestágeno, na estação de anestro sazonal, recomendam a associação da $\text{PGF}_{2\alpha}$ 24 h (FONSECA, 2002) ou 48 h (PIERSON et al., 2001) antes da remoção da esponja; no momento da remoção (ROMANO, 2004; AMARANTIDIS et al., 2004) ou durante a inserção da mesma (RUBIANES e MENCHACA, 2003). Neste caso, a utilização de $\text{PGF}_{2\alpha}$ tem como finalidade a eliminação de corpos-lúteos funcionais, que podem impedir uma sincronização eficiente.

2.6. USO DA eCG

A fim de intensificar a resposta dos tratamentos com utilização de progestágenos para sincronização do estro, é recomendada a associação com gonadotrofina, independente da estação. Segundo RITAR et al. (1984), as gonadotrofinas possuem a finalidade de diminuir a variabilidade na resposta ovulatória, além de aumentar o índice de ovulação e fertilidade.

A gonadotrofina mais comumente utilizada é a gonadotrofina coriônica eqüina (eCG) ou gonadotrofina sérica da égua prenhe (PMSG), como foi inicialmente conhecida, após ter sido descoberta em 1930 por Cole e Hart. Recebe este nome pelo fato de ser secretada por células trofoblásticas especializadas, presentes no útero da égua, entre o 40 e 130° dias de gestação (HAFEZ, 1995). Outras gonadotrofinas como o FSH (hormônio folículo estimulante) também podem ser utilizadas em protocolos de sincronização ou em programas de transferência de embrião, onde se objetiva um número maior de ovulações, com resultados superiores àqueles encontrados com a utilização da eCG (ARMSTRONG et al., 1983; MAHMOOD et al., 1991). Porém, quando se trabalha com rebanhos à campo, a eCG é preferencialmente utilizada, devido a sua facilidade de administração e baixo custo (REGUEIRO et al., 1999).

A eCG é uma glicoproteína com subunidades α e β similares ao hormônio folículo estimulante (FSH) e hormônio luteinizante (LH), porém com um conteúdo maior de ácido siálico, que lhe confere uma meia-vida superior. Apesar de possuir ações biológicas de FSH e LH, aquelas inerentes ao FSH são mais evidentes. Desta forma, a eCG promove o crescimento folicular e aumento da produção de estrógenos, os quais acarretam o comportamento característico do estro, além de agir também na liberação de GnRH e LH e, conseqüentemente, na ovulação (FOOTE, 1982).

Durante a estação reprodutiva, a eCG pode ser administrada no momento da remoção da esponja (REGUEIRO et al., 1999; MOTLOMELO et al., 2002; AMARANTIDIS et al., 2004) ou 48 h antes (FREITAS et al., 1997; AHMED et al., 1998).

RITAR et al. (1984) compararam o momento de aplicação da eCG, 48h antes da retirada da esponja ou no momento da retirada da esponja, durante duas estações diferentes. Observaram que, durante o anestro sazonal, ocorreu uma ovulação mais precoce, um pico de LH pré-ovulatório mais pronunciado e uma taxa de ovulação maior quando a eCG foi administrada 48 h antes da retirada da esponja. Porém, em cabras tratadas durante a estação reprodutiva, tanto a dose de eCG, quanto o período de administração não influenciaram o número de fêmeas que ovularam, após a remoção da esponja, sendo apenas constatado uma diferença no período de ovulação, o qual foi mais tardio para os animais que receberam eCG no momento da retirada da esponja.

As dosagens recomendadas de eCG variam segundo alguns autores. ESPESCHIT (1986) relatou que 200 UI foram suficientes para sincronização do estro em cabras, sem riscos de abortamento. Ao contrário, dosagens maiores (400 UI) associadas à 0,125 mg de cloprostenol, resultaram em 44,4 % de abortamento, com presença de 4,3 fetos, em média. Segundo TRALDI (1994) dosagens superiores utilizadas na Europa (400 a 700 UI) não são condizentes com os rebanhos nacionais puros ou mestiços e resulta em prolificidade indesejável com óbito da mãe e dos fetos. Fora da estação de acasalamento natural, LEITE (2004) e FONSECA (2002) utilizaram 200 UI de eCG, associado ao tratamento com progestágenos e encontraram resultados satisfatórios em relação a percentagem de animais em estro, sendo de 100 % e 90,68 %, respectivamente. A dose de eCG pode ser melhor estimada em função da produção de leite, estação e número de partições. BARIL et al. (1992) propuseram que cabras primíparas e múltiparas com produção de leite menor que 3,5 kg deveriam receber 500 UI durante a estação de anestro e 400 UI durante a estação reprodutiva. Quando a produção

correspondesse à valores maior que 3,5 kg, a dose recomendada seria 600 e 500 UI de eCG, durante o anestro e estação reprodutiva, respectivamente. Ao passo que cabras nulíparas uma dosagem menor deveria ser administrada, sendo 300 UI durante a estação anestro e 250 UI na estação reprodutiva.

A eCG pode ser administrada por via intramuscular ou subcutânea, com resultados igualmente eficazes (GREYLING e van NIEKERK, 1990). Porém, alguns outros fatores como diferença racial, escore corporal (REGUEIRO et al., 1999), nutrição (ARMSTRONG et al., 1983) e período do ciclo estral (ESPESCHIT, 1986), estão relacionados com alterações na resposta da eCG.

Vários trabalhos demonstraram a eficiência do eCG no que tange a maior concentração do estro, aumento da fertilidade e diminuição da variabilidade da resposta ovulatória, em programas que utilizam a monta natural (REGUEIRO et al., 1999) ou inseminação artificial em tempo fixo (MOTLOMELO et al., 2002). Existem, porém, alguns empecilhos na utilização da eCG. A regressão prematura do corpo lúteo e conseqüente encurtamento do ciclo estral, segundo ARMSTRONG et al. (1983) é um dos principais fatores que limitam a utilização da eCG. GREYLING e van NIEKERK (1990) relacionaram a regressão do corpo lúteo à meia-vida longa da eCG (seis dias). Segundo estes autores, uma meia-vida longa prolonga o crescimento e desenvolvimento folicular durante o início da fase luteal e eleva os níveis sanguíneos de estradiol, que, por conseguinte, interfere positivamente na liberação de prostaglandinas, via ativação dos receptores de ocitocina, que culmina com a lise do corpo lúteo.

BARIL et al., (1996) relataram ainda a incidência de estros tardios e baixo índice de fertilidade com o uso da eCG e os correlacionaram com a presença de anticorpos anti-eCG, após tratamentos hormonais consecutivos, utilizando este hormônio. Os resultados do experimento revelaram que quando a percentagem de anticorpos anti-eCG, foi menor que 5, 92,6% das fêmeas demonstraram estro, ao passo que quando foi

maior que 5, somente 62,1 % manifestaram estro. A ocorrência de estros tardios (após 30 h) também foi evidenciada em animais com elevado percentagem de anticorpos anti-eCG.

ROY et al. (1999) pesquisaram a interferência de repetidas doses de eCG na indução da ovulação em cabras e relataram que o efeito negativo na fertilidade é decorrência de uma resposta imune-humoral envolvendo o complexo maior de histocompatibilidade. Pelo fato da resposta humoral ocorrer sete dias após a administração de eCG, foi constatado que são os anticorpos residuais presentes no momento da administração da eCG que interferem na bioatividade da eCG e que, portanto, somente a administração consecutiva deste hormônio seria prejudicial. Segundo estes autores, os anticorpos anti-eCG exercem um bloqueio na ação das gonadotrofinas exógenas e, conseqüentemente, apenas a fração livre se liga aos receptores LH e FSH ovarianos, alterando toda a esteroidogênese ovariana. Contudo, FREITAS (1997) sugerem que outros fatores além dos anticorpos anti-eCG possam interferir no atraso da manifestação de estro e baixa fertilidade, uma vez que animais tratados uma única vez, também apresentaram variações no início do estro.

2.7. USO DO GnRH

O hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) é um decapeptídeo sintetizado nos corpos celulares de neurônios neurosecretores, localizados no hipotálamo médiobasal. A atuação do GnRH na adenohipófise, resulta na liberação do hormônio luteinizante (LH) e hormônio folículo estimulante (FSH).

Após a descoberta de sua estrutura molecular, em 1971, por Schally e Guillemin, muitas drogas sintéticas estão sendo elaboradas para utilização em programas de reprodução com diversos fins (MILO e JAMES, 2003). Alterações na estrutura química da molécula de GnRH original resultaram na criação de potentes agonistas disponíveis comercialmente como busarelina e lecirelina, ambos com eficácia comprovada, em experimentos realizados com búfalos (BARUSELLI et al., 2001). Segundo CONN e CROWLEY (1991) apud THATCHER et al. (1993) os agonistas de GnRH têm sido formulados contra ataques enzimáticos, aumentando a sua ligação com proteínas plasmáticas e membranas além de possuírem afinidade superior com seus respectivos receptores.

O mecanismo de ação do GnRH ou de seus análogos compreende modificações na funcionalidade do corpo lúteo ou folículo, por meio de alterações na secreção de LH ou FSH (THATCHER et al., 1993).

Inicialmente, análogos do GnRH foram indicados para o tratamento de cistos ovarianos em bovinos (SEGUIN et al., 1976 apud MILO e JAMES, 2003). Recentemente tem-se constatado sua importância em intensificar a resposta luteal após a cobertura e minimizar as perdas embrionárias, quando administrado doze dias após a cobertura, período crítico para o reconhecimento da gestação e que coincide com o início da regressão do CL em um ciclo estral natural (CAM e KURAN, 2004). Antagonistas de GnRH também têm sido empregados, durante a

superovulação de cabras destinadas a programas de transferência de embriões, com o intuito de aumentar o número de folículos recrutados e embriões coletados. Isto é possível graças ao efeito competitivo do antagonista nos receptores de GnRH, com posterior queda dos níveis plasmáticos de FSH e LH. Conseqüentemente há uma supressão do folículo dominante e aumento do número de folículos pequenos de uma nova onda.(GONZALEZ-BULNES et al., 2004).

Nos programas de indução ou de sincronização do estro, o GnRH proporciona um controle mais apurado da ovulação, fundamental em programas de inseminação com tempo fixo.

Alguns trabalhos, realizados na espécie caprina, citam a utilização de análogos do GnRH, como uma ferramenta importante nos programas de sincronização do estro tanto na estação reprodutiva quanto em cabras em anestro sazonal. CAMERON et al. (1988) sincronizaram 47 fêmeas, durante a estação reprodutiva, por meio de esponja contendo 60 mg MAP e 1200 UI eCG, administrados 48 h antes da retirada da esponja. Um total de 22 animais também receberam 50 µg de GnRH, 20 h após a retirada da esponja. O tratamento com GnRH melhorou a sincronia da ovulação, com 91 % das ovulações ocorrendo entre 36 e 48h, comparado com somente 64 % do grupo controle.

PIERSON et al. (2003) ao utilizarem 50 µg de GnRH, 24 h após a retirada da esponja, associados ao tratamento com PGF_{2α} e eCG, em diferentes estações, constataram que, durante a estação reprodutiva, a administração GnRH não teve efeito significativo no início do estro, que foi verificado 25,8 h e 30,0 h após a retirada da esponja, para tratamentos com e sem GnRH respectivamente. Porém, o GnRH foi responsável pelo aumento no número de ovulações, uma vez que 100 % dos animais ovularam em 60 h, ao contrário do tratamento sem GnRH, onde somente 33,3 % dos animais ovularam. Em ambas as estações, o GnRH também reduziu o intervalo da retirada da esponja à onda de LH e a variabilidade entre os animais.

LEITE (2004) ao induzir o estro e ovulação, fora da estação reprodutiva, com a utilização de esponjas impregnadas com MAP, associadas à administração de eCG e $\text{PGF}_{2\alpha}$, 48 h antes da retirada da esponja e GnRH ou LH, 24 h depois da retirada desta, não encontrou resultados satisfatórios no protocolo com a associação do GnRH. Segundo este autor, a utilização de GnRH não alterou o intervalo da retirada da esponja ao estro nem a duração do estro; sendo somente verificado um maior período entre estro e ovulação ($22,0 \pm 9,8$ h), quando comparado com o tratamento sem utilização de gonadotrofinas ($11,7 \pm 14,1$ h). Com a utilização de GnRH foi constatado também uma menor percentagem de animais em estro (66,66 %) e uma alta perda embrionária aos 40 dias de gestação. A baixa indução do estro foi correlacionada com o efeito inibitório do GnRH na esteroidogênese ovariana, apoiado nos dados de SRIDARAN et al (1999), que relataram que o GnRH agonista inicialmente estimula a secreção de grandes quantidades de gonadotrofinas e, posteriormente, provoca dessensibilização da hipófise e gônadas, o que acarreta uma inibição da função gonadal e esteroidogênese.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido na cidade de Viçosa, situada na Zona da Mata do Estado de Minas Gerais, durante o período de junho e julho de 2004, que corresponde a estação de monta fisiológica dos caprinos desta região. O local do experimento foi o Setor de Caprinocultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, cuja localização e dados climáticos correspondem a 20°46'23" latitude sul e 42°51'53" longitude oeste, altitude média de 692,74 m, clima Cwa pela classificação Köppen (inverno seco e verão úmido), com temperatura média anual de 19,4 °C e precipitação pluviométrica anual de 1221 mm³. Foram utilizadas 44 fêmeas multíparas lactantes, sendo 31 da raça Alpina e 13 da raça Saanen, com idade entre 2 a 5 anos, peso corporal médio de 58 Kg as quais foram distribuídas eqüitativamente entre os três tratamentos.

Os animais foram mantidos em baias cobertas com cama de cepilho e com acesso ao solário, em um sistema intensivo. A alimentação foi composta de silagem de milho *ad libitum* e mistura concentrada, duas vezes ao dia, sendo o sal mineral e água disponíveis permanentemente.

Todas as fêmeas foram tratadas com esponjas intravaginais impregnadas com 60 mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP)¹ durante um período de nove dias, e por uma aplicação de 37,5 µg de cloprostenol², análogo da prostaglandina, no sétimo dia. Os animais foram, então, distribuídos aleatoriamente em três grupos: T1 - controle; T2 - aplicação 200 UI eCG no sétimo dia e T3 - aplicação 200 UI eCG³ no sétimo dia + 12,5 µg de Lecirelina⁴, um análogo de GnRH, 24 h após a retirada da esponja. Após a retirada das esponjas, os animais foram monitorados quanto ao início do estro em intervalos de quatro horas, com a utilização de um rufião por translocação peniana e por meio da visualização dos sinais de estro característicos da espécie, como: inquietação, vocalização, micção freqüente, balançar da cauda, vulva edemaciada e hiperêmica, descarga vaginal de muco e imobilidade à monta.

Os animais foram acasalados, utilizando monta natural, 12 h a partir do início do estro, sendo novamente cobertos após este período, caso o estro ainda persistisse. Os reprodutores utilizados foram do próprio Setor de Caprinocultura da UFV.

Para a visualização dos ovários e acompanhamento do crescimento folicular até a ovulação, foi utilizado ultra-sonografia transretal com um transdutor linear de 5 MHz⁵ adaptado a uma haste acrílica (diâmetro de 25 mm; comprimento de 50 cm), a fim de obter uma maior rigidez e facilitar a manipulação no reto. Durante a avaliação ultra-sonográfica, as cabras foram contidas em um tronco, onde as fezes foram removidas com os dedos. As imagens observadas após a inserção do transdutor foram compatíveis com aquelas citadas por GINTHER e KOT (1994), que relataram a visualização da bexiga, porção cranial da cérvix no plano longitudinal, e posteriormente os ovários esquerdo e direito,

¹ Progespon ®, Syntex S.A., Indústria Bioquímica e Farmacêutica, Buenos Aires, Argentina

² Prolise ®, ARSA S.L.R., Buenos Aires, Argentina

³ Novormon ® 5000, Syntex S.A., Indústria Bioquímica e Farmacêutica, Buenos Aires, Argentina

⁴ Gestran Plus ® ARSA S.R.L., Buenos Aires, Argentina

⁵ Aloka, modelo SSD-500, Tóquio, Japão.

após uma rotação do transdutor em um ângulo de 45° a 90° no sentido horário e anti-horário, respectivamente.

Os exames ultra-sonográficos foram realizados nos dias da aplicação da esponja (dia zero), na aplicação dos hormônios (dia sete) e na retirada da esponja (dia nove). Após 12 h da retirada da esponja, os exames foram realizados com intervalos de quatro horas e perduraram até a detecção da ovulação ou 96 h horas após o início do estro, caso não ocorresse a ovulação. O exame teve a finalidade de mensurar os folículos e estimar o momento da ovulação. Desta forma, acompanhou-se, por consecutivas avaliações, o crescimento do folículo com maior diâmetro e seu colapso.

Os diagnósticos de gestação foram realizados aos 25 e 40 dias após a cobertura, com auxílio da ultra-sonografia trans-retal.

Na análise estatística, todos os dados foram submetidos aos testes de homogeneidade de variância (Teste de Cochran e Bartlett) e normalidade (Teste de Lilliefors). Posteriormente os dados referentes ao intervalo da retirada da esponja ao início do estro e à ovulação, do início do estro à ovulação, assim como a duração do estro e diâmetro do folículo ovulatório, foram interpretados pela análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas, utilizando-se o teste de Newman Keuls (SNK), processadas pelo SAEG (UFV-1999). Para análise dos dados qualitativos: taxa de gestação, prevalência de ovulação com relação ao folículo direito e esquerdo, porcentagem de animais em estro, utilizou-se o teste do qui-quadrado (X^2).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os protocolos de sincronização da ovulação utilizados neste experimento, durante a estação reprodutiva, em relação à percentagem de animais em estro, apresentaram alterações significativas ($P < 0,05$), como pode ser observado na Tabela 1. O grupo controle (T1), no qual foi utilizado somente esponjas impregnadas com MAP e $\text{PGF}_{2\alpha}$ apresentou 100 % dos animais em estro, seguido do T2 (92,9 %) com utilização da eCG e T3 (53,3 %) que correspondeu ao tratamento com eCG associada ao GnRH.

Tabela 1- Percentagem de animais em estro (PAE) em cabras sincronizadas, com utilização de MAP e cloprostenol (T1) associados à eCG (T2) ou eCG + GnRH (T3)

Tratamento	PAE (%)
T1	100 (14/14) ^a
T2	92,9 (13/14) ^{a b}
T3	53,3 (9/15) ^c

^{abc} Valores seguidos por letra diferente, diferem ao nível de 5% pelo teste do qui-quadrado.

Durante o tratamento com progestágeno, nenhum animal perdeu a esponja ou manifestou característica de estro, demonstrando que 60 mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP), foi suficiente para inibir a manifestação do estro, enquanto permanecia *in situ* e sincronizá-lo após sua retirada. Um animal do T2 foi excluído do experimento, visto ter uma produção de leite elevada quando comparado com os outros animais do mesmo tratamento.

Outros estudos têm demonstrado resultados semelhantes quando tratamentos com progestágenos são associados à eCG, durante a estação reprodutiva. MOTLOMELO et al. (2002), encontraram 93,1% dos animais em estro quando a esponja intravaginal foi impregnada com MAP, durante um período de 16 dias, associado à 300 UI de eCG aplicada à remoção dos dispositivos. PIERSON et al. (2001) comparando a sincronização do estro, durante as três estações reprodutivas, por meio da utilização de MAP durante 10 dias e 125 µg de cloprostenol 48 h antes da remoção da esponja, associados à 300 UI de eCG, durante a remoção, encontraram 100 % dos animais em estro, durante a estação reprodutiva. Posteriormente AMARANTIDES et al. (2004) relataram também 100 % de estro, utilizando protocolo semelhante. Resultados inferiores com apenas 77,7 % dos animais apresentando sinais de estro foi observado quando esponjas impregnadas com progesterona foram utilizadas durante um período de 16 dias associadas à 300 UI de eCG administrada 48 h antes da remoção da esponja (AHMED et al., 1998).

Em relação a eficiência do tratamento com a utilização de GnRH, o experimento atual apresentou percentagem de animais em estro inferior (53,3 %), quando comparado com os resultados de PIERSON (2003), que ao sincronizarem cabras anãs, durante a estação reprodutiva, com administração de GnRH 24 h após a remoção da esponja, encontraram 83,3 % de animais em estro.

Fora da estação reprodutiva, LEITE (2004) relatou uma percentagem de 66,66 % de cabras da raça Saanen e Alpina em estro, com a utilização do GnRH associado à progestágeno, sendo que entre o

período de 24-36 h após a remoção da esponja, o índice de manifestação do estro foi equivalente ao experimento atual, ou seja, 53,3 %.

Estros silenciosos podem ter ocorrido durante o experimento e contribuído para subestimar os resultados obtidos, principalmente em relação ao tratamento que utilizou eCG associado ao GnRH (T3). Neste 20 % (3/15) dos animais ovularam, porém não manifestaram os sinais característicos de estro. PRETORIUS et al. (1971) relataram que a associação de gonadotrofinas (eGG e hCG) à tratamento com progestágeno para indução do estro, fora da estação, resultou na presença de estros pouco evidentes ou silenciosos, mesmo com a utilização de um rufião para sua detecção. A presença de ovulação sem estro evidente também pôde ser verificada em um animal do tratamento no qual a eCG foi associada à esponja contendo MAP (T2), o que correspondeu à 1,4 % dos animais

Em relação ao início do estro das cabras, após a retirada da esponja, as médias dos tratamentos demonstraram valores equivalentes à $44,0 \pm 14,3$ (T1); $41,2 \pm 11,4$ (T2) e $38,7 \pm 13,5$ (T3), como pode ser verificado na Tabela 2 ($P > 0,05$). A observação do estro foi realizada por um período de 96 h. Apenas uma cabra do T1 apresentou estro após este período, sendo, portanto, excluída da análise estatística para, intervalo de retirada da esponja ao início do estro, duração do estro, como também do início do estro à ovulação.

Tabela 2- Intervalo referente à retirada da esponja ao início do estro (IREIE) e duração do estro (DE), com utilização de MAP e cloprostenol (T1) associados à eCG (T2) ou eCG + GnRH (T3).

Parâmetros	T1	T2	T3
IREIE (horas)	$44,0 \pm 14,3$	$41,2 \pm 11,4$	$38,7 \pm 13,5$
DE (horas)	$19,8 \pm 9,3$	$21,3 \pm 6,4$	$17,3 \pm 8,3$

No atual experimento, os dados referentes ao início do estro em relação ao tratamento com associação da eCG, não estão de acordo com REGUEIRO et al. (1999), os quais relataram que a associação da eCG, nos protocolos de indução e sincronização do estro em caprinos, reduz significativamente o intervalo do início do estro, após a retirada da esponja. Por outro lado, GREYLING e van der NEST (2000), encontraram intervalos referentes ao início do estro superiores à este experimento, equivalentes à $50,7 \pm 26,3$ h em cabras nativas e $53,2 \pm 27,5$ h em cabras da raça Boer, quando eCG foi administrada no momento da remoção da esponja. Da mesma forma, AHMED et al. (1998) relataram que o início do estro, após a retirada do dispositivo ocorreu mais tardiamente, sendo $52,3 \pm 14,3$ h, quando utilizou cabras da raça Nubiana e administração de eCG 48h antes da retirada do dispositivo. Por outro lado, intervalos inferiores aos deste experimento, para o início do estro após a retirada da esponja $32,2 \pm 0,5$ h também foram verificados (MOTLOMELO et al., 2002). A diferença observada no intervalo da retirada da esponja ao início do estro em tratamentos hormonais, relatada por diferentes autores, pode ser devido aos diferentes períodos de permanência da esponja. GREYLING et al. (1985) avaliaram diferentes períodos de permanência da esponja contendo MAP (12, 14, 16 ou 18 dias) em cabras da raça Boer, associada à 300 UI de eCG e concluíram que apesar dos animais terem recebido o mesmo tratamento, o início do estro foi significativamente diferente nos tratamentos em que a esponja permaneceu por um período de 14 e 16 dias, quando comparado com o tratamento com utilização da esponja durante 12 dias, embora não tenha sido observado diferença em outros parâmetros como resposta ao estro, atividade folicular e taxa de ovulação.

Quando GnRH é incluído nos protocolos de sincronização em conjunto com progestágenos, prostaglandinas e eCG, pode-se verificar aparecimento do estro mais precoce após a retirada da esponja. Segundo PIERSON et al. (2003) a utilização de GnRH, resultou no aparecimento do estro 25,8 h após a retirada da esponja em comparação com um intervalo

de 30 h, quando o GnRH não foi incluído no protocolo. No atual experimento, ocorreu uma redução no intervalo da remoção da esponja ao início do estro com a utilização do GnRH ($38,7 \pm 13,5$ h), quando comparado com o experimento sem a sua utilização ($44,0 \pm 14,3$ h) como observado na Tabela 2, porém estes resultados não foram estatisticamente significativos.

O início da manifestação do estro não difere somente dentro da mesma estação, mas também em diferentes estações reprodutivas. Comparando os resultados do experimento atual com experimentos realizados fora da estação reprodutiva, verifica-se uma manifestação de estro mais tardia em relação aos dados de LEITE (2004) que observaram um período para manifestação de estro equivalente $34,8 \pm 10,4$ e $31,5 \pm 3,0$ h, para os tratamentos com eCG e GnRH associados à progestágenos, respectivamente. A diferença no início de manifestação do estro segundo diferentes estações foi estudada por PIERSON et al. (2001), os quais relataram que o aparecimento do estro, durante a estação reprodutiva, ocorreria mais tarde em relação à estação de anestro sazonal, visto que a presença de um ou mais corpo-lúteos, durante a estação reprodutiva, aumentaria os níveis de P_4 sangüíneos, atrasando, portanto, o surgimento do estro. Esta variabilidade em relação ao início do estro, depois de tratamentos hormonais para sincronização, segundo FREITAS (1997) pode explicar o baixo índice de fertilidade em cabras inseminadas em período pré-determinados após a retirada da esponja. Estes autores relataram ainda que o início do estro e a onda de LH são menos variáveis em animais sincronizados do que durante um ciclo estral natural e que esta variação não se deve a características individuais dos animais, mas a demora no pico pré-ovulatório de estradiol e, conseqüentemente, da onda de LH.

A duração média do estro das cabras experimentais foi de 19,5h. Outros trabalhos têm demonstrado duração do estro superiores, equivalente à 31,5 h (GREYLING e van der NEST, 2000) ou 32,6 h (MOTLOMELO et al., 2002). Porém, LEITE (2004), utilizando o mesmo

protocolo para sincronização do estro, fora da estação reprodutiva, encontrou resultados similares em relação à duração do estro (19,7 h). Pelo fato dos estros mais duradouros observados nos trabalhos citados serem oriundos de protocolos de sincronização, nos quais utilizou-se a eCG, no momento da retirada da esponja e não 48 h antes, como foi realizado neste experimento, pode-se especular que o momento da administração deste hormônio pode ter interferência na duração do estro. Desta forma, a aplicação da eCG 48 h antes da retirada da esponja pode ter ocasionado um pico pré-ovulatório de LH, o que acarretou uma ovulação prematura. Ovulações prematuras com a utilização de eCG 48h antes da retirada da esponja foi constatada por CAMERON et al. (1988), os quais observaram, por meio de laparoscopias, realizadas antes e dois dias após a administração da eCG, a presença de ovulação, antes mesmo da retirada da esponja. Segundo CAMERON e BATT (1991) a ovulação prematura é advinda da atividade de LH presente na eCG e não pela secreção de LH pela adenohipófise, visto que esta encontra-se suprimida pelos níveis de progesterona circulantes oriundos da esponja.

Neste experimento, a ovulação foi identificada eficientemente por meio de imagens ultra-sonográficas do ovário, com acompanhamento sucessivo do crescimento do maior folículo até a sua ruptura. Foi constatado que o diâmetro médio dos folículos ovulados no ovário direito (OD) foi de 0,77 cm e no ovário esquerdo (OE) 0,75 cm, como pode ser observado na Tabela 3. Em relação ao número de ovulação por ovário, não houve diferença estatística, sendo no OD observado 24 ovulações e no OE 21. Resultados semelhantes foram relatados por ROMANO e ABELLA (1997), que também não encontraram uma predominância de ovulação em determinado ovário. Outros autores, porém, indicaram ser o OD mais ativo, concentrando um maior número de ovulações (FONSECA, 2002, CAMP et al., 1983). Entre os animais estudados, somente seis ou 13,3 % apresentaram dupla ovulação em ovários diferentes e um animal ou 2,22 % no mesmo ovário.

Tabela 3- Localização da ovulação no ovário direito (OD) ou esquerdo (OE) e a média dos folículos ovulados no ovário direito (MFOD) e esquerdo (MFOE) segundo os diferentes tratamentos com utilização de MAP e cloprostenol (T1) associados à eCG (T2) ou eCG + GnRH (T3)

Parâmetros	T1	T2	T3
OD (%)	53,3 (8/14)	71,4 (10/14)	40 (6/15)
OE (%)	71,4 (10/14)	35,7 (5/14)	40 (6/15)
MFOD (cm)	0,77 ± 0,94	0,81 ± 0,90	0,77 ± 0,88
MFOE (cm)	0,75 ± 0,14	0,70 ± 0,79	0,50 ± 0,44

Em relação ao intervalo entre estro e ovulação, como pode ser verificado na Tabela 4 não houve diferença estatística entre os resultados, embora o tratamento com utilização de gonadotropina tenha alcançado intervalo menor ($14,4 \pm 9,4h$).

Tabela 4- Intervalo referente ao início do estro à ovulação (IEO) e da retirada da esponja à ovulação (IREO), com utilização de MAP e cloprostenol (T1) associados à eCG (T2) ou eCG + GnRH (T3).

Parâmetros	T1	T2	T3
IEO (horas)	24,5 ± 10,4	19,6 ± 9,4	14,4 ± 9,4
IREO (horas)	70,3 ± 13,4	60,7 ± 11,7	55,9 ± 20,7

LEITE (2004) relatou, fora da estação reprodutiva, um intervalo maior do início do estro à ovulação para o tratamento que utilizou GnRH e eCG e justificou que o atraso no momento de ovulação poderia ter sido ocasionado pela formação de anticorpos anti-eCG. BARIL (1996) e DRION et al. (2001) observaram que repetidas indução/sincronização do estro com eCG estão relacionadas com um aumento na resposta imune a este hormônio e formação de anticorpos anti-eCG. Como conseqüência,

relataram um atraso na manifestação do estro e pico de LH, seguida de diminuição na fertilidade.

Neste experimento, a presença de anticorpos anti-eCG possivelmente não interferiu no momento de ovulação. Segundo ROY et al. (1999), os anticorpos residuais ou aqueles presentes no momento da administração de eCG são os responsáveis pela interferência na bioatividade da eCG exógena e que a resposta imune humoral inicia-se somente sete dias após a administração da eCG. Desta forma, mesmo com a utilização de eCG no protocolo do atual experimento, é improvável que este teria algum tipo de interferência na onda de LH e na iniciação do estro.

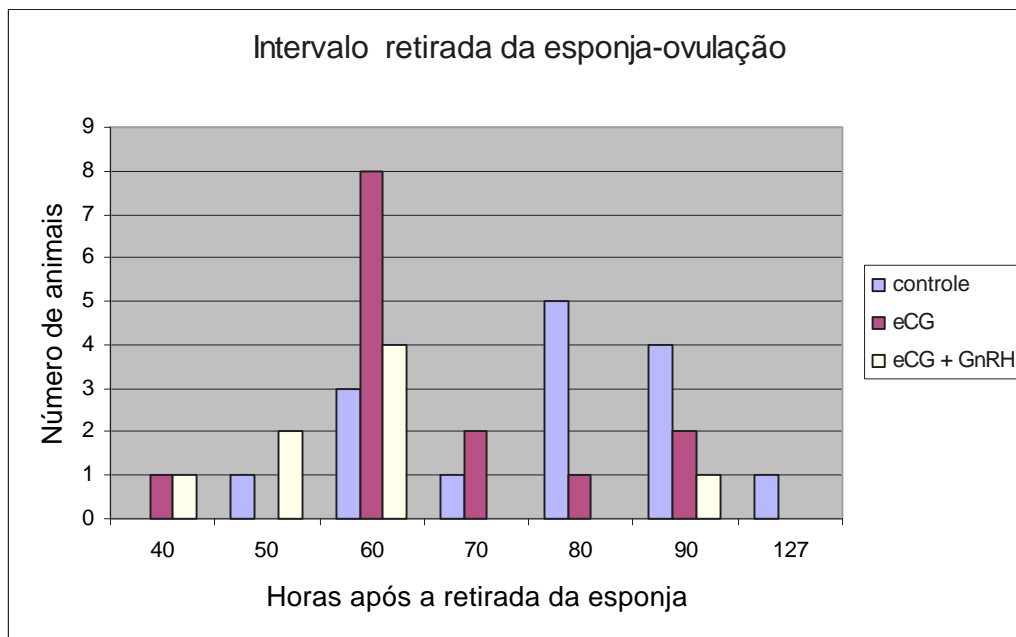
Um fator importante que pode ter contribuído para o menor intervalo do estro à ovulação nos tratamentos com utilização de eCG (T2 e T3), diz respeito à função de LH e FSH presente na molécula de eCG, como relatado por FOOTE (1982). Desta forma a função de FSH da eCG, pode ter contribuído para a ovulação, por meio do aumento do número de receptores de LH na membrana das células da granulosa, preparando a luteinização destas células em resposta a onda ovulatória de LH (HAFEZ, 1995).

A grande variabilidade do período entre estro e a ovulação, em relação aos diferentes tratamentos ou mesmo dentro de um mesmo tratamento, é freqüentemente observada em trabalhos que utilizam tratamentos hormonais para indução da ovulação. ROY et al. (1999) sugeriram a determinação da onda de LH, como uma ferramenta mais precisa para detecção do exato momento de ovulação. Talvez esta variabilidade pudesse ser minimizada com a utilização de uma técnica mais precisa que os exames ultra-sonográficos seriados, como proposto por MENCHACA e RUBIANES (2002) e que constituiu a metodologia deste experimento.

Em relação ao intervalo da retirada da esponja à ovulação, os resultados demonstraram que não houve diferença estatística entre os tratamentos, como pode ser verificado na Tabela 4

Porém, uma maior concentração das ovulações ocorreu 60 h após a retirada da esponja, quando foi utilizado a eCG. (Figura 1).

Figura 1. Intervalo referente a retirada da esponja à ovulação, em cabras sincronizadas com MAP e cloprostenol (T1) associados à eCG (T2) ou eCG + GnRH (T3).



Outros trabalhos, entretanto, têm demonstrado que a utilização da eCG ou GnRH reduz o intervalo entre a retirada da esponja e a ovulação. CARDWELL et al. (1997) sincronizaram o estro em ovelhas, via implantes de norgestomet associados à eCG e concluíram que o uso da eCG em combinação com o progestágeno diminuiu o intervalo da remoção do implante à ovulação, quando comparado com o tratamento controle, que recebeu somente o implante de norgestomet. PIERSON et al. (2003) ao associarem GnRH no protocolo de indução, verificaram também uma redução no intervalo da remoção da esponja à ovulação, além de uma melhora na sincronização da ovulação. RITAR et al. (1984) administraram eCG em diferentes períodos (- 48 e 0 h) após a retirada da esponja, durante a estação reprodutiva e o anestro sazonal e observaram que as ovulações, durante a estação reprodutiva, iniciaram mais cedo (46 h) no

grupo que recebeu eCG 48 h antes da retirada da esponja, ao contrário dos animais tratados fora da estação, em que pode ser observado o início da ovulação somente 56 h após a retirada da esponja. Desta forma, torna-se importante adequar os protocolos de indução e sincronização do estro em caprinos segundo a estação reprodutiva, alterando a metodologia de administração dos hormônios, a fim de se alcançar índices de fertilidade satisfatórios.

Os dados do experimento demonstraram também que GnRH não foi eficiente em induzir a ovulação em todos os animais. Desta forma, 26,6 % (4/15) dos animais tratados com GnRH e eCG não ovularam durante as 96h após a retirada da esponja. A falha para indução da ovulação, pode ter sido ocasionada por diversos fatores relacionados à fisiologia do GnRH e sua forma de administração nos protocolos de sincronização do estro. Uma das possibilidades, portanto, diz respeito ao tipo de secreção do GnRH endógeno, que ocorre de forma pulsátil (MILO e JAMES, 2003) e que não correspondeu ao modo como foi administrado neste experimento. Além disso, a frequência e a amplitude do GnRH variam, durante as diferentes fases do ciclo estral, de acordo com os níveis de estrogênio e progesterona, dificultando ainda mais a obtenção de níveis adequados de GnRH exógeno. Assim, o GnRH é secretado com pulsos de baixa frequência durante a fase luteal, quando os níveis de P_4 estão altos e estradiol relativamente baixos e pulsos de alta frequência e baixa amplitude durante o meio da fase folicular, quando P_4 declina e estradiol aumenta (KARSCH et al., 1997).

Além disso, falha de ovulação em alguns animais pode ter sido advinda também da ausência de folículos dominantes no momento da aplicação do GnRH. Os folículos que não são dominantes não expressam os receptores de LH e, portanto, não irão ovular em resposta à onda de LH. Assim, caso o GnRH seja administrado no momento em que não há folículo dominante no ovário, como durante a emergência de uma onda, os folículos irão continuar a se desenvolver e não ovularão (MILO e JAMES, 2003). Neste experimento, no momento da aplicação do GnRH

os folículos apresentavam diâmetro médio de 0,26 cm, possivelmente não expressando receptores para LH. HARESIGN e LAMMIMG apud SOUTHEE et al. (1988) também relataram que a função luteal sub-normal pode ser o resultado de um desenvolvimento folicular inadequado antes da indução da ovulação com GnRH. Por outro lado, RUBIANES et al. (1997), ao realizarem uma avaliação endócrina e ultra-sonográfica, durante diferentes estágios da fase luteal, em resposta à administração de $\text{PGF}_{2\alpha}$ e GnRH em ovelhas, concluíram que, o ambiente endócrino no qual o folículo está exposto no momento da administração do GnRH é mais importante que o tamanho do mesmo. Desta forma, níveis elevados de P_4 determinaram a não ovulação de folículos em resposta ao GnRH. Segundo estes autores, a P_4 na fase luteal reduz a secreção de LH e diminui a produção de estradiol folicular. Por conseguinte, pode ocorrer uma redução na concentração ou afinidade do receptor de LH, levando a uma falência na resposta ovulatória, após a administração de GnRH. Para que os folículos presentes na fase luteal venham a ovular em resposta à administração de GnRH, os autores recomendam a indução prévia da luteólise por meio da aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$. Neste experimento, apesar de ter sido administrada $\text{PGF}_{2\alpha}$ 72 h antes da aplicação do GnRH, esta teve a finalidade de provocar luteólise em algum corpo lúteo que porventura estivesse presente e impedir que este interferisse na sincronização. Porém, a esponja contendo progestágeno permaneceu *in situ* até 24 h antes da aplicação de GnRH e, portanto, pode ter contribuído para um ambiente endócrino inapropriado no momento da aplicação do GnRH e gerado falência da ovulação.

O diagnóstico de gestação foi realizado no 25 e 40º dia após a cobertura dos animais. As taxas de gestação dos animais diferiram entre os tratamentos 1 e 3 ($P < 0,05$), sendo o resultado mais satisfatório alcançado pelo tratamento que utilizou somente cloprostenol associado com MAP (T1), como pode ser observado na Tabela 5.

Tabela 5. Percentagem de cabras com diagnóstico de gestação positivo, realizado após 25 e 40 dias de cobertura, em estro sincronizado com MAP e cloprostenol (T1) associados à eCG (T2) ou eCG + GnRH (T3).

Tratamento	Diagnóstico 25 dias (%)	Diagnóstico 40 dias (%)
T1	78,6 ^a	78,6 ^a
T2	71,4 ^{ab}	71,4 ^{ab}
T3	40 ^b	40 ^b

^{abc} Valores seguidos por letra diferente, diferem ao nível de 5% pelo teste do qui-quadrado.

A menor taxa de fertilidade em tratamentos com associação de eCG, nos protocolos de sincronização do estro com progestágeno, segundo BARIL et al. (1996), está relacionado ao maior intervalo de tempo da retirada da esponja ao início do estro, durante estes tratamentos, em virtude da presença de anticorpos anti-eCG.

Resultados semelhantes com utilização de eCG foram observados em outros trabalhos. PATIL et al. (2000), relataram um índice de concepção de 66,7% em cabras submetidas ao tratamento com 400 UI de eCG após administração de 125 mg de progesterona, intamuscular, durante sete dias. GREYLING et al. (1997) encontraram índices de 70,5 % em ovelhas tratadas com esponjas impregnadas com MAP e 300 UI de eCG, após utilização de I.A com sêmen resfriado, 55 h após a retirada da esponja, durante a estação reprodutiva.

Não foi verificada perda embrionária, sendo os dois resultados dos exames ultra-sográficos, realizados 25° e 40° dia após a cobertura equivalentes. LEITE (2004) fora da estação reprodutiva, entretanto, utilizando protocolo semelhante, com utilização de eCG e GnRH mais progestágeno, encontrou perdas embrionárias elevadas, chegando até 40 %. Este autor sugeriu que a elevada perda embrionária poderia ser oriunda dos efeitos da I.A em tempo fixo, após tratamento com eCG, no que diz respeito à variabilidade no momento da ovulação e atraso na onda pré-ovulatória de LH.

5. CONCLUSÃO

Os resultados deste trabalho demonstraram que a utilização de lecorelina, um análogo do GnRH associado ou não à gonadotrofina coriônica eqüina, não foi eficiente em sincronizar a ovulação e nem garantir resultados de fertilidade superiores àqueles em que apenas o dispositivo intravaginal contendo progesterona foi utilizado em conjunto com agente luteolítico.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMED, M.M.M.; MAKAWI, S.E.; JUBARA, A.S. Synchronization of oestrus in Nubian goats. **Small Ruminant Research**, v.30, p.113-120, 1998.

AKUSU, M.O., EGBUNINKE, G.N. Fertility of the West-African dwarf goat in its native environment following PGF_{2α} induced oestrus. **The Veterinary Quaterly**, v.6, p.173-176, 1984.

ALAÇAM, E.; ÖSZAR, S.; KILIÇOĞLU, Ç., GÜVEN, B., IZGÜR, H. Induction of oestrus in Saanen goats early breeding season by intravaginal progesterone sponges (MAP) or by PGF_{2α} injections. Effect on different age groups. **Theriogenology**, v.24, p.283-290, 1985.

AMARANTIDIS, I., KARAGIANNIDIS, A., SARATSIS, P.H., BRIKAS, P. Efficiency of methods used for estrous synchronization in indigenous Greek goats. **Small Ruminant Research**, v.52, p.247-252, 2004.

ANUALPEC - **Anuário Estatístico de Produção Animal**. 10ed. 2004. p.302.

ARMSTRONG, D.T., PFITZNER, A.P., PORTER, K.J., WARNES, G.M., JANSON, P.O., SEAMARK, R.F. Ovarian responses of anoestrus goats to stimulation with pregnant mare serum gonadotrophin. **Animal Reproduction Science**, v.5, p.15-23, 1982.

ARMSTRONG, D.T. PFITZNER, A.P., WARNES, G.M., SEAMARK, R.F. Superovulation treatments and embryo transfer in Angora goats. **Journal Reproduction and Fertility**, v.67, p.403-410, 1983 .

BARIL, G.; VALLET, J.C. Time of ovulations in dairy goats induced to superovulate with porcine follicle stimulating hormone during and out of the breeding season. **Theriogenology**, v.34, p.303-311, 1990.

BARIL, G., REMY, B., VALLET, J.C, BECKERS, J.F. Effect of repeated use of progestagen - PMSG treatment for estrus control in dairy goats out of breeding season. **Reproduction in Domestic Animal**, v.27, p.161-168, 1992.

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.

BARUSELLI, P.S., AMARAL, R., BARUFI, F.B., VALENTIM, R., MAEQUES, M.O. Lecirelin and buserelin (gonadotrophin releasing hormone agonists) are equally effective for fixed time insemination in buffalo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.38, n.3, 2001.

BOSU, W.T.K. SERNA, J., BARKER, C.A.V. Peripheral plasma levels of progesterone in goats treated with flurogestone acetate and prostaglandin F₂ α during estrus cycle. **Theriogenology**, v.9, p.371-390, 1978.

BRETZLAFF, K.N., HILL, A., OTT, R.S. Induction of luteolysis in goats with prostaglandin F₂ alpha. **American Journal of Veterinary Research**, v.44, p.1162-1164, 1983.

CAM, M.A., KURAN, M. GnRH agonist treatment on day 12 post-mating to improve reproductive performance in goats. **Small Ruminant Research**, v.52, p.169-172, 2004.

CAMERON, A. W. N.; BATTYE, K. M.; TROUNSON, A. O. Time of ovulation in goats (*Capra hircus*) induced to superovulate with PMSG. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.83, p.747-752, 1988.

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

CARDWELL, B.E., FITCH, G.Q., GEISERT, R.D. Ultrasonic evaluation for the time of ovulation in ewe treated with norgestomet and pregnant mare serum gonadotropin during the spring and fall breeding seasons. **Animal Science Research Report**, p.163-167, 1997.

CHEMINEAU, P. Possibilities for using bucks to stimulate ovarian and oestrous cycles in anovulatory goats – a review. **Livestock Production Science**, v.17, p.135-147, 1987.

CHEMINEAU, P., MALPAUX, B., DELGADILLO, J.A., GUÉRIN, Y., RAVAUULT, J.P., THIMONIER, J., PELLETIER, J. Control of sheep and

goat reproduction: use of light and melatonin. **Animal Reproduction Science**, v.30, p.157-184, 1992a.

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

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

DEVESON, S. L.; ARENDT, J.; FORSYTH, I. A. The influence of the pineal gland and melatonin on the reproductive performance of domesticated female ungulates. **Animal Reproduction Science**, v.30, p.113-134, 1992.

DOGAN, I., NUR, Z., GUNAY, U., SOYLU, M.K., SONMEZ, C. Comparison of fluorgestone and medroxiprogesterone intravaginal sponges for oestrus synchronization in Saanen does during the transição period. **South African Society for Animal Science**, v.34, p.18-29, 2004.

DRION, P.V., FURTOSS, V., BARIL, G., MANFREDI, E., BOUVIER, F., POUGNARD, J., BERNELAS, D., CAUGNON, P., McNAMARA, E.D., REMY, B., SULON, J., BECKERS, J., BODIN, L. Four years of induction/synchronization of estrus in dairy goats. Effect on the evolution of eCG binding rate in relation with the parameters of reproduction. **Reproduction, Nutrition and Development**, v.41, p.411-412, 2001.

ESPESCHIT, C. J. B. **Sincronização do estro em cabras tratadas com Progestágeno (MAP) associado à Gonadotrofina Sérica (PMSG) e Cloprostenol.** 1986. 64p. Tese (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1986.

FONSECA, J. F. **Reprodução assistida em cabras.** 2002. 105p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2002.

FOOTE, W. Hormonal control of reproduction in sheep and goats. **Dairy Goat Journal**, v.60, n.8, p.24-32, 1982.

FORTUNE, J.E. Ovarian follicular growth and development in mammals. **Biology of Reproduction**, v.50, p.225-232, 1994.

FREITAS, V.J. F.; BARIL, G.; SAUMANDE, J. Induction and synchronization of estrus in goats: the relative efficiency of one versus two fluorogestone acetate-impregnated vaginal sponges. **Theriogenology**, v. 46, p.1251-1256, 1996.

FREITAS, V. J. F.; BARIL, G.; MARTIN, G. B.; SAUMANDE, J. Physiological limits to further improvement in the efficiency of oestrous synchronization in goats. **Reproduction Fertility and Development**, v.9, p.551-556, 1997.

GERLACH, T.; AURICH, J.E. Regulation of seasonal reproductive activity in the stallion, ram and hamster. **Animal Reproduction Science**, v.58, p.197-213, 2000.

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

GINTHER, O.J., WILTBANK, M.C., FRICHE, P.M., GIBBONS, J.R., KOT, K. Selection of the dominant follicle in cattle. **Biology Reproduction**, v.55, p.1187-1194, 1996.

GONZALES, A.; SANTIAGO, M.J.; GOMEZ, B.A., CABELLOS, B., GARCIA, L.M., LOPES, S.A. Dinamica del crecimiento folicular durante el ciclo sexual de la cabra. **JORNADAS SOBRE PRODUCCIÓN ANIMAL**. 6., 1995, Zaragoza, España, 1995, p.368-370.

GONZÁLEZ STAGNARO, C. Control hormonal del ciclo estroal en cabras criollas. Sincronización artificial del celo y fertilidad antes de la estacion sexual principal com esponjas vaginales impregnadas com cronolone (SC 9880) e inyección gonadotrópica (PMSG). **Ciências Veterinárias**, v.4, p.131-161, 1974.

GONZALEZ-BULNES, A., SANTIAGO-MORENO, J., GARCIA-GARCIA, R.M., SOUZA, C.J.H., LOPEZ-SEBASTIAN, A., McNEILLY, A.S. Effect of GnRH antagonists treatment on gonadotrophin secretion, follicular development and inhibin A secretion in goats. **Theriogenology**, v.61, p.977-985, 2004

GOODMAN R.L., BITTMAN, E.L., FOSTER, D.L., KARSCH, F.J. Alterations in the control of luteinizing hormone pulses frequency underlie the seasonal variation in estradiol negative feedback in the ewe. **Biological Reproduction**, v.9, p.275-280, 1982.

GORDON, I. **Controlled reproduction in sheep and goats**. Cambridge, UK: University Press, 1997. 470p.

GREYLING, J. P. C.; van NIEKERK, C. H.; GROBBELAAR, J. A. N. Synchronization of oestrus in the Boer goat doe: The response to the use of intravaginal progestagen and PMSG. **South Africa Journal of Animal Science**, v.15, p.52-55, 1985.

GREYLING, J. P. C.; van NIEKERK, C. H. Effect of pregnant mare serum gonadotrophin (PMSG) and route of administration after progestagen

treatment on oestrus and LH secretion in the Boer goat. **Small Ruminant Research**, v.3, p.511-516, 1990.

GREYLING, J. P. C.; ERASMUS, J. A.; TAYLOR, G. J.; van der MERWE, S. Synchronization of estrus in sheep using progestagen and inseminating with chilled semen during the breeding season. **Small Ruminant Research**, v.26, p.137-143, 1997.

GREYLING, J. P. C.; van der NEST, M. Synchronization of oestrus in goats: dose effect of progestagen. **Small Ruminant Research**, v.36, p. 201-207, 2000.

HAFEZ, E. S. E. **Reprodução Animal**. 6ed. São Paulo:Editora Manole 1995. 582p.

HANSEL, W.; CONVEY, E. M. Physiology of the estrous cycle. **Journal of Animal Science**, v.57, supl. 2, p. 404-424, 1983.

HENDERSON, D.C. Manipulation of the breeding season in goats. A review. **Goat Veterinary Society Journal**, v.8, p.7-16, 1987.

ISHWAR, A.K.; PANDEY, J.N. Estrus synchronization and fertility behavior in black Bengal goats, following either progesterone or prostaglandin treatment. **Theriogenology**, v.34, p.1015-1024, 1990.

KARSCH, F.J., BOWEN, J.M., CARATY, A., EVANS, N.P., MOENTER, S.M. Gonadotropin-releasing hormone requirements for ovulation. **Biology of Reproduction**, v.56, p.303-309, 1997.

LEBOEUF, B.; MANFREDI, E.; BOUE, P.; PIACÈRE, A., BRICE, G.; BARIL, G.; BROQUA, C.; HUMBLLOT, P.; TERQUI, M. Artificial insemination of dairy goats in France. **Livestock Production Science**, v.55, p.193-203, 1998.

LEITE, P.A.G. **Indução da ovulação em cabras fora da estação reprodutiva com a utilização de GnRH e LH com estro induzido pelo MAP**. 2004. 54p. Tese (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG,2004.

MAHMOOD, S.; KOUL, G.L.; BISWAS, J.C. Comparative efficacy of FSH-P and PMSG on superovulation in Pashmina goats. **Theriogenology**, v. 35, p.1191-1196, 1991.

MALPAUX, B.; VIGUIÉ, C.; SKINNER, D.C., THIÉRY, J.C., PELLETIER, J., CHEMINEAU, P. Seasonal breeding in sheep: Mechanism of action of melatonin. **Animal Reproduction Science**, v.42, p.109-117, 1996.

MELLADO, M., ALEMÁN, R., OROZCO, F.J., URIBE, G. Effect of PGF₂ dosage and route of administration on estrus response in Criollo goats. **Small Ruminant Research**, v.14, p.205-208, 1994.

MELLADO, M., VALDÉZ, R. Synchronization of estrus in goats under range conditions treated with different doses of new or recycled norgestomet implants in two seasons. **Small Ruminant Research**, v.25, p.155-160, 1997.

MENCHACA, A.; RUBIANES, E. Relation between progesterone concentrations during the early luteal phase and follicular dynamics in goats. **Theriogenology**, v.57, p.1411-1419, 2002.

MENCHACA, A.; MILLER, V.; GIL, J.; PINCZAK, A.; LACA, M.; RUBIANES, E. Prostaglandin F_{2α} treatment associated with timed artificial insemination in ewes. **Reproduction in Domestic Animals**, v.39, p.352, 2004.

MILO, C.W.; JAMES, M.H. GnRH: Bases fisiológicas para entender sua utilização em protocolos de sincronização. **CURSO NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS**, 7., 2003, Uberlândia - MG. 2003, p.121-131.

MOFFATT, R.J., ZOLLERS, W.G., WELSHONS, W.V., KIEBORZ, K.R., GARVERICK, H.A., SMITH, M.F. Basis of norgestomet action as a progestogen in cattle. **Domestical Animal Endocrinology**, v.10, p.21-30, 1993.

MORAES, E. A. **Parâmetros produtivos e reprodutivos de cabras da raça Toggenburg em lactação tratadas com somatotropina bovina recombinante**. 2004. 84p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2004.

MOTLOMELO, K. C.; GREYLING, J. P. C.; SCHWALBACH, L. M. J. Synchronization of oestrus in goats: the use of different progestagen treatments. **Small Ruminant Research**, v.45, p.45-49, 2002.

NISWENDER, G.D., JUENGEL, J.L., SILVA, P.J., ROLLYSON, M.K., McINTUSH, E.W. Mechanisms controlling the function and life span of corpus luteum. **Physiological Reviews**, v.80, p.1-19, 2000.

OTT, R.S.; NELSON, D.R.; HIXON, J.E. Fertility of goats following synchronization of estrus with PGF_{2α}. **Theriogenology**, v.13, p.341-345, 1980.

PATIL, A.D.; KURHE, B.P.; PHALAK, K.R.; DHOBLE, R.L. Synchronization of oestrus using progesterone and PMSG in Osmanabadi goats. **Indian Journal of Animal Science**, v.70, p.281-282, 2000.

PÉVET, P. Melatonin: from seasonal to circadian signal. **Journal of Neuroendocrinology**, v.15, p.422-426, 2003.

PIERSON, J. T.; BALDASSARRE, H.; KEEFER, C. L.; DOWNEY, B. R. Seasonal variation in preovulatory events associated with synchronization of estrus in dwarf goats. **Theriogenology**, v.56, p.759-769, 2001.

PIERSON, J. T.; BALDASSARRE, H.; KEEFER, C. L.; DOWNEY, B. R. Influence of GnRH administration on timing of the LH surge and ovulation in dwarf goats. **Theriogenology**, v.63, p.1-10, 2003.

PRETORIUS, P.S., WESTHUYSEN, J.M. van der. Induction of breeding activity in anoestrous angora goat does. **Agroanimalia**, v.3, p.27-30, 1971.

PROSPERI, C.P.; TORRES, C.A.A.; MAFFILI, V.V., FÜRST, F., FONSECA, J.F., RODRIGUES, M.T. Indução do estro em cabras Saanen nulíparas utilizando-se diferentes tempos de exposição ao progestágeno. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.27, n.3, 2003.

PROSPERI, C.P. **Parâmetros reprodutivos de fêmeas caprinas tratadas com os hormônios hCG, progesterona, eCG e cloprostenol**. 2004. 47p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2004.

REGUEIRO, M.; PÉREZ CLARIGET, R.; GANZÁBAL, A.; ABA, M.; FORSBERG, M. Effect of medroxyprogesterone acetate and eCG treatment on the reproductive performance of dairy goats. **Small Ruminant Research**, v.33, p.223-230, 1999.

RITAR, A. J.; MAXWELLT, W. M. C.; SALAMON, S. Ovulation and LH secretion in the goat after intravaginal progestagen sponge-PMSG treatment. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.72, p.559-563, 1984.

ROBINSON, J.E., KARSCH, F.J. Photoperiodic history and a changing melatonin pattern can determine the neuroendocrine response of the ewe to daylength. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.80, p.159-165, 1987.

RODRIGUES, M.H. **Efeito da manipulação do fotoperíodo na indução do estro em cabras leiteiras mestiças**. 1992. 65p. Tese (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1992.

ROMANO, J.E. Comparison of fluorgestone and medroxyprogesterone intravaginal pessaries for estrus synchronization in dairy goats. **Small Ruminant Research**, v.22, p.219-223, 1996.

ROMANO, J. E.; ABELLA, D. F. Effect of service on duration of oestrus and ovulation in dairy goats. **Animal Reproduction Science**, v.47, p.107-112, 1997.

ROMANO, J.E. Effect of two doses of cloprostenol in two schemes for estrous synchronization in Nubian goats. **Small Ruminant Research**, v.28, p.171-176, 1998.

ROMANO, J.E Synchronization of estrus using CIDR, FGA or MAP intravaginal pessaries during the breeding season in Nubian goats. **Small Ruminant Research**, v.55, p.15-19, 2004.

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

RUBIANES, E., CASTRO, T., CARBAJAL, B. Effect of high progesterone levels during the growing phase of the dominant follicle of wave 1 in ultrasonically monitored ewes. **Canadian Journal of Animal Science**, v.76, p.473-475, 1996.

RUBIANES, E.; BEARD, A.; DIERSCHKE, D.J.; BARTLEWSKI, P., ADAMS, G.P., RAWLINGS, N.C. Endocrine and ultrasound evaluation of the response to PGF_{2α} and GnRH given at different stages of the luteal phase in cyclic ewes. **Theriogenology**, v.48, p.1093-1104, 1997.

RUBIANES, E.; de CASTRO, T.; KMAID, S. Estrous response after a short progesterone priming in seasonally anestrous goats. **Theriogenology**, v.49, p.356, 1998.

RUBIANES, E. Avances en el conocimiento de la fisiología ovárica de los pequeños rumiantes y su aplicación para el manejo reproductivo. **Actas de Fisiología**, v.6, p.93-103, 2000.

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

SAHARREA, A.; VALENCIA, J.; BALCÁZAR, A., MEJÍA, O., CERBÓN, J.L., CABALLERO, V., ZARCO, L. Premature luteal regression in goats superovulated with PMSG: effect of hCG or GnRH administration during the early luteal phase. **Theriogenology**, v.50, p.1039-1052, 1998.

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.

SENN, B.J.; RICHARDSON, M.E. Seasonal effects on caprine response to synchronization of estrus and superovulatory treatment. **Theriogenology**, v.37, p.579-585, 1992.

SHELTON, M. Reproduction and breeding of goats. **Journal of Dairy Science**, v.61, n.7, p.994-1010, 1978.

SILVA, R.R. **Agribusiness da caprinocultura de leite no Brasil**. Salvador : Bureau, 1998. 74p.

SMITH, M.C., SHERMAN, D.M. Reproduction System. In: SMITH, M.C., SHERMAN, D.M. **Goat Medicine**. USA: Williams & Williams Press, 1994. cap.13, p.411-463.

SMITH, M.C. Synchronization of estrus and the use of implants and vaginal sponges. In: MORROW, D. A. **Current Therapy in Theriogenology**. Philadelphia: W. B. Saunders, 1986. p.582-583.

SOUTHEE, J. A.; HUNTER, M. G.; HARESIGN, W. Function of abnormal corpora lutea *in vivo* after GnRH-induced ovulation in the anoestrous ewe. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.84, p.131-137, 1988.

STEINLECHNER, S., NIKLOWITZ, P. Impact of photoperiod and melatonin on reproduction in small mammals. **Animal Reproduction Science**, v.30, p.1-28, 1992.

TANAKA, T. Mechanisms regulating gonadotropin - releasing hormone (GnRH) secretion in Shiba goats. **Journal of Reproduction and Development**. Supl.46, p.1-12, 2000.

THATCHER, W.W., DROST, M., SAVIO, J.D., MACMILLAN, K.L., ENTWISTLE, K.W., SCHMITT, E.J., SOTA, R.L., MORRIS, G.R. New clinical uses of GnRH and its analogues in cattle. **Animal Reproduction Science**, v.33, p.27-49, 1993.

THIÉRY, J.C.; CHEMINEAU, P.; HERNANDEZ, X.; MIGAUD, M.; MALPAUX, B. Neuroendocrine interactions and seasonality. **Domestic Animal Endocrinology**, v.23, p.87-100, 2002.

TRALDI, A.S. **Tópicos em reprodução e inseminação artificial em caprinos**. São Paulo, 1994, 54p. (Manual técnico)

VIÑALES, C., FORSBERG, M., BANCHERO, G., RUBIANES, E. Effect of long and short-term progestagen treatment on estrus response, conception rate and follicular development in cycling ewes. **Theriogenology**, v.55, p.993-1004, 2001.

VINÖLES, C., FORSBERG, M., BANCHERO, G., RUBIANES, E. Ovarian follicular dynamics and endocrine profiles in Polwarth ewes in high and low body condition. **Journal Animal Science**, v.74, p.539-545, 2002.

WESTHUYSEN, J.M. van der. The control of ovarian function in cycling and anoestrus Angora goat does. **Agroanimalia**, v.1, p.23-25, 1979.

WILDEUS, S. Current concepts in synchronization of estrus: Sheep and goats. **Proceeding of the American Society of Animal Science**, p.1-14 1999.

WILLIAMS, L.M., HELLIWELL, R.J.A. Melatonin and seasonality in the sheep. **Animal Reproduction Science**, v.33, p.159-182, 1993.

YELLON, S. M.; FOSTER, D. L.; LONGO, L. D.; SUTTIE, J. M. Ontogeny of the pineal melatonin rhythm and implications for reproductive development in domestic ruminants. **Animal Reproduction Science**, v.30, p.91-112, 1992.

7. APÊNDICE

Quadro 1. Análise de variância, aplicada ao intervalo (horas) da retirada da esponja ao início do estro

FV	GL	SQ	QM	F	Significância
TRAT	2	158.4304	79.21520	0.459	*****
Resíduo	33	5696.792	172.6301		
CV =31.491%					

Quadro 2. Análise de variância, aplicada ao intervalo (horas) do início do estro à ovulação

FV	GL	SQ	QM	F	Significância
TRAT	2	570.0223	285.0111	2.931	0.06734
Resíduo	33	3208.728	97.23417		
CV = 48.695%					

Quadro 3. Análise de variância para a duração do estro (horas)

FV	GL	SQ	QM	F	Significância
TRAT	2	87.43101	43.71551	0.657	*****
Resíduo	33	2196.791	66.56943		
CV = 41.253%					

Quadro 4. Análise de variância, aplicada ao intervalo (horas) da retirada da esponja à ovulação

FV	GL	SQ	QM	F	Significância
TRAT	2	1335.029	667.5143	2.913	0.06759
Resíduo	35	8020.971	229.1706		
CV = 24.029%					

Quadro 5. Análise de variância para o diâmetro médio do folículo ovulado no ovário direito

FV	GL	SQ	QM	F	Significância
TRAT	2	0.3214583E-01	0.1607292E-01	1.954	0.16664
Resíduo	21	0.1727500	0.8226190E-02		
CV = 11.735%					

Quadro 6. Análise de variância para o diâmetro médio do folículo ovulado no ovário esquerdo

FV	GL	SQ	QM	F	Significância
TRAT	2	0.6904762E-01	0.3452381E-01	1.837	0.18797
Resíduo	18	0.3383333	0.1879630E-01		
CV = 18.222%					

Quadro 7. Condições bioclimáticas médias durante o período experimento

Mês/2003	Temperatura (°C)	Umidade Relativa (%)	Precipitação (mm)	Evaporação (mm)
Junho	17,2	80	0	2,59