

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

ADERSON MARTINS VIANA NETO

INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM CABRAS LEITEIRAS COM ESTRO INDUZIDO E SINCRONIZADO POR BIOESTIMULAÇÃO (EFEITO MACHO)

ADERSON MARTINS VIANA NETO

INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM CABRAS LEITEIRAS COM ESTRO INDUZIDO E SINCRONIZADO POR BIOESTIMULAÇÃO (EFEITO MACHO)

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, do Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Zootecnia. Área de concentração: Produção e Melhoramento Animal

Orientador: Prof. Dr. Arlindo Alencar Araripe Noronha Moura (UFC).

Coorientador: Prof. Dr. Airton Alencar de Araújo (UFC).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação Universidade Federal do Ceará Biblioteca de Ciências e Tecnologia

V667i Viana Neto, Aderson Martins.

Inseminação artificial em cabras leiteiras com estro induzido e sincronizado por bioestimulação (Efeito Macho) / Aderson Martins Viana Neto. -2013.

77 f.: il., color., enc.; 30 cm.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Zootecnia, Mestrado em Zootecnia, Fortaleza, 2013.

Área de Concentração: Produção e melhoramento animal. Orientação: Prof. Dr. Arlindo Alencar Araripe Noronha Moura. Coorientação: Prof. Dr. Airton Alencar de Araújo.

1. Caprino - Criação. 2. Reprodução animal. I. Título.

CDD 636.08

ADERSON MARTINS VIANA NETO

INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM CABRAS LEITEIRAS COM ESTRO INDUZIDO E SINCRONIZADO POR BIOESTIMULAÇÃO (EFEITO MACHO)

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, do Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Zootecnia. Área de concentração: Produção e Melhoramento Animal

Aprovado em 13 / 12 / 2013

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Arlindo Alencar Araripe Noronha Moura (Orientador)
Universidade Federal de Ceará (UFC)

Prof. Dr. Airton Alencar de Araújo (Coorientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Maria Gorete Flores Salles (Examinadora)
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB)

Prof. Dr. Vicente José de Figueirêdo Freitas (Examinador)
Universidade Estadual do Ceará (UECE)

Dr. Maurício Fraga yan Tilburg (Examinador) Pós-Doutorando (PPGZ-UPC)

Aos meu avós paternos Aderson Martins Viana (*in Memoriam*) e Teresinha de Jesus Viana, e maternos Sigefredo Alves Nojosa (*in memoriam*) e Maria Zilmar Nojoza (*in memoriam*)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo dom da vida, pela sua infinita misericórdia, pela sua fidelidade e por sua presença em meu dia a dia ("Eis que a Virgem conceberá e dará à luz um filho, que se chamará Emanuel (Is 7, 14), que significa: Deus conosco. Mt 1, 23).

Aos meus pais, Antonio Gilvan e Fernanda Maria, e à minha irmã Camila Nojoza, por sempre buscarem o melhor, acreditarem em mim, e por permitirem a liberdade de escolha da minha carreira.

À minha namorada, Maria Tereza e sua família, pelo carinho, paciência, apoio e oração, os quais sou muito grato.

À Dra. Maria Gorete, minha COORIENTADORA, pela amizade, afeto e incentivo. Por me apresentar a caprinocultura, além da fundamental formação e inspiração pela pesquisa. Por acreditar no meu potencial, quando muitos não acreditaram, e contribuir de maneira incontestável para minha formação acadêmica e pessoal. MUITO OBRIGADO!

Ao professor Airton, meu ORIENTADOR, pela orientação e amizade. Por confiar em mim um trabalho de grande valia. Professor, obrigado!

Ao professor Dr. Vicente José Figueirêdo Freitas (LFCR, UECE) e ao Dr. Maurício Fraga van Tilburg, pela colaboração e participação na banca.

À sra Anália Bueno, presidenta do Lar Antônio de Pádua, pela concessão do espaço e dos animais para a realização do experimento.

Aos funcionários do Lar Antônio de Pádua, Misael, Antônio, Diego, Roni, pela ajuda, paciência, além das descontrações nos intervalos de trabalho, pela disponibilidade e atenção para que todo o experimento procedesse conforme o esperado.

Aos amigos e colegas de profissão que me ajudaram, Inti Salles, Juliana Paula, Larissa Firmino, Leyllane Moura, que colaboraram de maneira primorosa na execução do experimento.

Às amigas Janiele Coutinho e Marília Filgueira, companheiras de mestrado, amizade que se iniciou em sala de aula e se prolonga na vida. Obrigado pela companhia, apoio e incentivo. Espero ter ajudado vocês tanto quanto vocês me ajudaram.

Aos amigos que mesmo distante sempre estão presentes e fazem a diferença, tornando a vida melhor e a quem admiro bastante, Franciely Costa e Adália Freitas. Além dos amigos Newton Sá e Rafaela Cipriano, a quem sempre me digiro para boas conversas e descontração.

Aos amigos de graduação, Lucas Fonseca, Carlos Alberto, Junior Capelli e Adrielle Albuquerque.

Aos amigos da "igreja" Emmanuella Cezário, Paulo Souza, e aos demais amigos da Comunidade Católica Anunciadores da Paz.

À amiga Leonília Maria (in Memoriam), pela amizade e carinho, e por me ensinar a acreditar que ciência se faz para os outros.

À Universidade Federal do Ceará (UFC), pela promoção do curso de Zootecnia.

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia (PPGZ).

Ao CNPq pela concessão da bolsa.

"Infeliz quem conhece todos essas coisas (terrenas) e não Vos conhece, ó meu Deus! Feliz quem Vos conhece, embora ignore todo o resto. Quanto a quem Vos conhece e conhece também as coisas terrenas, não é mais feliz por conhecê-las, mas é unicamente o conhecimento que tem de Vós que o faz feliz."

(Santo Agostinho)

RESUMO

Novas exigências de mercado são estabelecidas e com estas, novos modelos produtivos, com menor impacto ambiental, devem ser adotados para atender as necessidades dos consumidores, sem que resulte em prejuízos à produtividade do sistema. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a eficiência da bioestimulação (Efeito Macho) pela taxa de concepção e parição de cabras inseminadas artificialmente com sêmen fresco. Para tanto, foram avaliadas a taxa de fertilidade e parição de 73 cabras, pertencentes ao grupo genético Saanen e seus mestiços com Anglonubiano, submetidas à inseminação artificial, que tiveram o estro induzido e sincronizado pelo efeito macho. O experimento ocorreu durante os períodos chuvoso (março-abril) e seco (agosto-setembro) de 2012. Foram coletados dados referentes às variáveis climáticas (TA: temperatura ambiente; e UR: umidade relativa do ar) para o cálculo do ITU (Índice de temperatura e umidade). Os dados foram submetidos à análise estatística a 5% de probabilidade. O ITU foi mais elevado (P<0,05) para o período chuvoso, e assumiu valores acima dos ideais para caprinos, apresentando situação de emergência para o período chuvoso, e de perigo para o período seco. O efeito macho mostrou-se eficiente independente da época do ano, resultando em 94,5% cabras em estro. A duração do primeiro estro foi semelhante entre o período chuvoso e seco, com média geral de 23,4 horas. O intervalo entre início do efeito macho e manifestação do estro de 11 dias, havendo uma maior manifestação de estro (primeiro estro) logo na primeira semana para ambos os períodos. Em geral, 65% das cabras retornaram em estro, sendo o intervalo entre o início do efeito macho e a manifestação do segundo estro foi maior (P<0,05) para o período chuvoso (27,8 dias), isto está relacionado ao tipo de ciclo estral, onde houve um maior (P<0,05) número de ciclos normais (20) para este período, e um elevado (P<0,05) número de ciclos curtos (15) para o período seco. A fertilidade para o período seco (57,6%) foi proporcionalmente superior ao período chuvoso (44,4%). No entanto, a taxa de parição mostrou uma tendência (P=0,57) a ser superior para o período seco. Esta menor taxa para o período chuvoso pode estar relacionado à alta variação climática observada durante o período experimental. Em geral, o segundo estro foi mais propício à resultar em fertilidade, seja para o período chuvoso ou seco. Com isso, conclui-se que a inseminação artificial de cabras com estro induzido e sincronizado pelo uso do efeito macho é um manejo que pode ser empregado para a produção de caprinos resultando em índices reprodutivos satisfatórios.

ABSTRACT

New market requirements are established and with them, new production models it should be adopted to meet the consumers demands, without resulting in damage to system productivity, with less environmental impact. The aim this study was to evaluate the effectiveness of Male Effect by fertility rate of goats inseminated artificially. Thus, we evaluated the fertility and calving rates of 73 goats belonging to genetic group Saanen and its crossbred. This does had their estrus induced and synchronized by the male effect and it were artificially inseminated with fresh semen. The experiment took place during the rainy (March-April) and dry (August-September) seasons of 2012. We collected data on climatic variables (RT: room temperature; and RH: relative humidity) for calculating the THI (temperature and humidity index). Data were analyzed statistically at 5% probability. The THI was higher (P<0.05) in the rainy season, and it assumed values above ideal for goats, with an emergency situation to the rainy season, and dangerous situation to the dry season. The male effect was effective regardless of season, it resulting in 94.5% of estrus. The duration of the first estrus was same between the rainy and dry season, it had a mean duration of 23.4 hours. The interval between the onset of the male effect and estrus was 11 days, and there was a greater manifestation of estrus (first heat) in the first week for both seasons. Overall, 65 % of goats returned in estrus, it been the interval between the onset of the male effect and second estrus manifestation was greater (P<0.05) during the rainy season (27.8 days). This is related to the estrous cycle length, where there was a greater (P < 0.05) number of normal estrus cycles (20) during rainy season, and high (P < 0.05) number of short estrus cycles (15) during dry season. The fertility during the dry season (57.6 %) was proportionally greater than rainy season (44.4 %). However, the calving rate showed a trend (P = 0.57) to be higher the dry season. This lower rate during rainy season may be related to high climate variability observed during this experimental period. The second estrus was more like to result in fertility, during rainy or dry season. This indicates that the artificial insemination of goats with induced and synchronized estrus by male effect is a management can be utilized in goat production systems resulting in satisfactory reproductive rates.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 - Mecanismo de percepção e ação dos feromônios do bode sobre o eixo
hipotálamo-hipófise-gônadas de cabras (Adaptado de Murata et al., 2009)27
Figura 02 – Esquema explicativo da realização da inseminação (a: cabra com duração
de estro normal; b: cabra com longa duração de estro)46
Figura 03 – Valores do Índice de Temperatura e Umidade (ITU; médio, máx. e mín.) e
Umidade Relativa do Ar (UR), para o período chuvoso
Figura 04 – Distribuição semanal de estros (1º estro), de cabras leiteiras submetidas à
indução do estro pelo uso do efeito macho, para os períodos chuvoso e seco52
Figura 05 – Distribuição semanal, de cabras em estro (1º estro) e quantidade de estros
subsequentes (ES) de cabras que retornaram em estro (a: período chuvoso; b: período
seco)55
Figura 06 - Distribuição de cabras prenhes por estro em que foi inseminada, para o
período chuvoso e seco
Figura 07 – Distribuição total de cabras em estro, inseminadas e férteis por semana. (a: período chuvoso; b: período seco)

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Dados climáticos para os períodos chuvoso e seco, durante a realização do
experimento
Tabela 2 – Eficiência do Efeito Macho na indução do estro de cabras leiteiras durante o
período chuvoso e seco
Tabela 3 – Percentagem de cabras que retornaram ao estro (Estro²), médias do intervalo
entre o início do efeito macho e manifestação do segundo estro (IEME²), intervalo entre
estros (IEE) e duração do segundo estro (DE2), bem como tipo de ciclo estral (TCE) de
cabras leiteiras submetidas ao efeito macho53
Tabela 4 – Eficiência da utilização do efeito macho como indutor e sincronizador do
estro de cabras leiteiras submetidas à inseminação56

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

Sigla	Significado em Inglês	Significado em Português
ECC	X	Escore de Condição Corporal
eCG	Equine chorionic gonadotrophin	Gonadotrofina coriônica equina
FGA	Fluorogestone acetate	Acetato de Fluorogestona
FSH	Follicle-stimulating hormone	Hormônio folículo estimulante
GnRH	gonadotropin releasing hormone	Hormônio liberador de gonadotrofinas
kg	X	Quilograma
LH	Luteinizing hormone	Hormônio luteinizante
mL	X	mililitro
mm	X	milímetro
ng	X	nanograma
pg	X	picograma
ORNs	Olfactory receptor neurones	Neurônios receptores do órgão olfativo
$PGF_{2}\alpha \\$	F2 α prostaglandin analogue	Prostaglandina-F ₂ -alfa
PMSG	Pregnant mare serum gonadotrophin	Gonadotrofina do soro de égua prenhe
ROS	Reactive oxygen species	Espécies reativas ao oxigênio
$\mathrm{SMB}^{\scriptscriptstyle{\circledR}}$	Syncro-Mate-B®	X
VRNs	Vomeronasal receptor neurones	Neurônios receptores do órgão vomeronasal

SUMÁRIO

1 INTRODUÇAO	14
2 OBJETIVOS	16
2.1 Objetivo Geral	16
2.2 Objetivos Específicos	16
3 REVISÃO DE LITERATURA	17
3.1 Ciclo Estral	17
3.1.1 Fase Folicular	18
3.1.2 Fase Lútea	21
3.2 Efeito Macho	23
3.2.1 Fatores que afetam a resposta ao Efeito Macho	24
3.2.2 Condição fisiológica proporcionada pelo Efeito Macho	26
3.2.2.1 Feromônios na comunicação sexual do Efeito Macho	
3.2.3 Interações comportamentais	29
3.2.3.1 Efeito Fêmea.	30
3.2.4 Eficiência na indução e sincronização do estro	31
3.2.4.1 Eficiência de protocolos hormonais de indução e sincronização do	
associados ao Efeito Macho	32
3.2.4.2 Efeito macho e sua aplicação em protocolos de inseminação artificial	33
3.3 Inseminação Artificial	34
3.3.1 Papel do macho na inseminação artificial	36
3.3.2 Condição de conservação do sêmen	
3.3.3 Diluidores e meios de conservação do sêmen	
3.3.4 Dose inseminante	
3.3.5 Momento da inseminação	
3.3.6 Técnicas de inseminação artificial	
3.3.6.1 Cervical e Laparoscópica	41
4 MATERIAL E MÉTODOS	43
4.1 Local do experimento	43
4.2 Animais experimentais	43
4.2.1 Fêmeas	43
4.2.2 Machos	43
4.3 Variáveis climáticas	44
4.4 Coleta, análise e preparo do sêmen	44
4.5 Indução e sincronização do estro	45
4.6 Inseminação artificial	
4.7 Diagnóstico de gestação	
4.8 Variáveis estudadas	47
4.9 Análise estatística	47
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	
5.1 Variáveis ambientais	
5.2 Variáveis reprodutivas	49
6 CONCLUSÕES	60
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	61
REFERÊNCIAS	62

1 INTRODUÇÃO

Os caprinos são animais difundidos em todo o mundo, tendo importância econômica e social. Sua produção pode ser caracterizada como de subsistência ou industrial, capaz de ser a principal atividade de empresas no agronegócio. Para alcançar um nível produtivo industrial deve-se buscar a especialização e melhoria da produção, sendo necessário o aprimoramento de áreas essenciais a toda atividade da produção animal, como nutrição, sanidade e reprodução, além do bem-estar animal.

No que diz respeito à reprodução, a adoção de biotécnicas reprodutivas é um dos meios para se alcançar uma maior produtividade (FONSECA, 2006). Dentre estas biotécnicas destaca-se a inseminação artificial, que atualmente é a técnica mais empregada, tendo como características sua fácil execução e capacidade de gerar resultados favoráveis pela rápida disseminação de genes benéficos (NUNES; SALGUEIRO, 2011). Este acelerado ganho genético deve-se à utilização de reprodutores selecionados, comprovadamente melhoradores, e de alto mérito genético.

A inseminação artificial deve ser precedida pela indução e sincronização do estro (WHITLEY; JACKSON, 2004). Para tanto, existem diversos protocolos para indução e sincronização do estro, sempre com o objetivo de induzir a ciclicidade das fêmeas a qualquer momento do ano (CHEMINEAU *et al.*, 1992). Há métodos que consistem na administração de hormônios exógenos (progesterona, prostaglandina, eCG, melatonina), e métodos baseados na manipulação do fotoperíodo e/ou exposição das fêmeas ao reprodutor (efeito macho ou bioestimulação) (WILDEUS, 1999).

A bioestimulação se dá pela percepção dos feromônios advindos do macho, que ao serem captados pelas vias olfativas da fêmea atuam sobre o eixo hipotálamo-hipófise-gonadal, elevando os níveis de LH, culminando com a ovulação (GELEZ; FABRE-NYS, 2004). A principal característica do efeito macho é induzir e sincronizar o estro com eficácia e baixo custo, podendo ser empregado em qualquer época do ano, demonstrando produtividade em diversas regiões (SALLES *et al.*, 2008). Com isso, o efeito macho pode ser uma alternativa em substituição ao uso de hormônios exógenos.

O emprego da bioestimulação em protocolos de inseminação artificial não é uma alternativa difundida e sua utilização está restrita a pesquisa, e mesmo estas, disponibilizam pouca informação sobre o estado da arte. Estudos como o de Restall (1988) e Moore e Hall (1991) demostram o potencial da substituição do uso de hormônios pelo efeito macho quando utilizado juntamente à inseminação artificial.

Portanto, visando um manejo reprodutivo em que se empregue a inseminação artificial, com um baixo custo e sem a utilização de hormônios, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência da bioestimulação em programa de inseminação artificial de cabras leiteiras no Nordeste de Brasil.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a eficiência da bioestimulação (Efeito Macho) em associação à protocolos de inseminação artificial pela taxa de prenhez e parição de cabras inseminadas artificialmente.

2.2 Objetivos Específicos

Avaliar a eficácia do efeito macho como principal indutor e sincronizador do estro de cabras como alternativa à utilização de hormônios (taxa de prenhez e taxa de parição).

Determinar o estro (1°, 2°, 3° ou 4° após o início da bioestimulação) mais propício à concepção, de cabras submetidas ao efeito macho.

Verificar a eficiência do efeito macho conjuntamente à inseminação artificial em dois períodos do ano (chuvoso e seco).

Analisar as características do ciclo estral, bem como de estro, de cabras durante a estação de monta quando são submetidas ao efeito macho.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Ciclo Estral

A estreita relação entre o eixo hipotálamo-hipófise-gônadas, bem como seu ordenado funcionamento, faz com que haja uma periodicidade de eventos bastante sincronizados, relacionados à reprodução, conhecido como ciclo estral. Em termos práticos, o ciclo estral pode ser definido como o intervalo entre dois estros ou duas ovulações sucessivas, e consiste em modificações de ordem morfológica e fisiológica que ocorrem nos ovários e no trato genital culminando com o estro (período de receptividade), ovulação e preparação do trato genital para a cópula, fertilização e implantação embrionária (FATET et al., 2011).

Animais criados em regiões temperadas apresentam estacionalidade reprodutiva devido ao fotoperíodo (quantidade de horas luz/dia), que é o principal fator regulador da melatonina (YELLON *et al.*, 1992). Já em regiões tropicais, a influência do fotoperíodo é mínima e/ou inexistente, portanto, a nutrição inadequada destes animais, é considerada o fator de maior influência na ciclicidade reprodutiva (DE SANTIAGO-MIRAMONTES; MALPAUX; DELGADILLO, 2009) resultando em menor atividade ovariana e baixo desempenho reprodutivo (KUSINA *et al.*, 2001). Mesmo uma subnutrição, em um período curto de tempo, é capaz de provocar efeitos negativos sobre a função do folículo pré-ovulatório (SOSA *et al.*, 2010). Além desses fatores, o clima exerce efeito direto sobre a resposta reprodutiva (CERBITO *et al.*, 1995).

Em caprinos o ciclo estral tem duração média de 21 dias, podendo sofrer variações de acordo com a raça, condição corporal (Santiago-Miramontes *et al.*, 2009), profundidade do anestro, ordem de parto e idade. Ciclos estrais com duração de 17-24 dias são considerados normais, assim pode ser de curta duração (< 17 dias) ou de longa duração (> 24 dias) (EVANS; MAXWELL, 1990). Existem raças que possuem fisiologia diferenciada, resultando em ciclo estral fora do convencional, fato demonstrado por Kano *et al.* (1977), que ao avaliar o comprimento do ciclo estral de cabras da raça Shiba, relataram um comprimento médio de 20,4 ± 0,2 dias. Dias *et al.*, (2012) observaram que grande parte das cabras que retornam ao estro mostrou ciclo

estral curto, com média de $6,53 \pm 0,99$ dias. Cerbito *et al.*, (1995) relataram 13% de ciclos estrais curtos em cabras que retornaram ao estro.

Alterações morfológicas e referentes ao peso do trato reprodutivo da fêmea ocorrem durante o ciclo (BOTT *et al.*, 2006). Estas modificações podem ser notadas visualmente, como vulva edemaciada (LLEWELYN *et al.*, 1993), a nível histológico e citológico (LI; DAVIS, 2007) que seguem o ritmo fisiológico/hormonal da fêmea.

Características bioquímicas também sofrem alteração em função da fase do ciclo estral, como visto por Řezáč *et al.* (2001) onde observaram que a impedância próxima à cérvix tem relação com a atividade estral de cabras, atingindo menores valores durante o estro, podendo ser uma ferramenta para a identificação do estro.

3.1.1 Fase Folicular

A fase folicular compreende o início do ciclo estral, incluindo o proestro e estro, com duração de 3-5 dias (FATET *et al.*, 2011). Durante o pro-estro os níveis de progesterona são reduzidos a concentrações inferiores a 1ng/ml (HOMEIDA; COOKE, 1989), por ação da PGF₂α, que *lisa* o corpo lúteo, findando o processo de *feed-back* negativo imposto ao hipotálamo, resultando na liberação de hormônios hipofisários que atuarão sobre os folículos culminando com uma nova onda folicular que dará origem a um ou mais folículos ovulatórios (MORELLO; CHEMINEAU, 2008).

O tamanho do folículo está diretamente relacionado à concentração de progesterona, assim folículos da primeira e última onda tendem a ser maiores que folículos de ondas intermediárias (GINTHER; KOT, 1994), isso porque após a ovulação os níveis de progesterona são suficientes para evitar uma ovulação prematura, mas insuficientes para evitar um pico de estradiol-17β (ABENAYAWARDENE; POPE, 1990), hormônio este, responsável pelo comportamento estral em cabras (SUTHERLAND, 1987). De tal modo que o folículo dominante não tem seu desenvolvimento afetado pela progesterona (LASSALA *et al.*, 2004). Endo *et al.* (2012) observaram que vacas lactantes apresentaram um folículo de maior tamanho, mesmo não havendo diferença entre as concentrações de estradiol.

O crescimento e manutenção dos folículos são mediados pela ação do FSH (follicule-stimulating hormone), glicoproteína de origem hipofisária (PALERMO, 2007) e seus níveis estão subordinados ao feed-back negativo proporcionado pela inibina, uma

glicoproteína de origem gonadal (TAYA *et al.*, 1996). Para fêmeas caprinas os níveis de FSH podem alcançar concentrações triplamente superiores aos níveis basais no dia 19 do ciclo estral e apresentam outro pico, de menor magnitude, no dia do estro, podendo alcançar 28 ng/ml (LEYVA-OCARIZ *et al.*, 1995).

A eleição do folículo predestinado à ovulação ocorre por ação da dominância folicular, fenômeno que regula a diferenciação dos folículos. Este evento ocorre em caprinos, porém é menos pronunciado que em bovinos, isso porque múltiplas ovulações são constatadas em fêmeas caprinas, assim diversas vezes observa-se o evento denominado de codominância (GINTHER; KOT, 1994).

Caprinos exibem uma dinâmica folicular equivalente a ondas, podendo apresentar de três a quatro ondas por ciclo estral (LASSALA *et al.*, 2004), que podem ser bem definidas ou até mesmo se fundirem (GINTHER; KOT, 1994). LASSALA *et al.*, (2004) observaram que em caprinos, na existência de apenas três ondas foliculares, a terceira onda tem duração de 7.0 ± 0.5 dias, já quando ocorrem quatro ondas, seu comprimento é reduzido a 3.6 ± 0.24 dias.

O estradiol, secretado pelos folículos de acordo com seu crescimento desempenha um papel fundamental no momento do estro, sendo o principal promotor das alterações morfológicas no trato reprodutivo da fêmea. No dia do estro seus níveis alcançam valores superiores a 28 pg/mL (LEYVA-OCARIZ *et al.*, 1995).

No momento do estro a fêmea torna-se receptiva ao macho, permitindo a cópula. Podem-se utilizar como indicadores do estro o reflexo de imobilidade (ROMANO, 1994), a presença de muco cervical – que está relacionado à fertilidade – (SIQUEIRA *et al.*, 2009a) ou através reflexo de agitação da cauda (AL YACOUB *et al.*, 2011) que permitem avaliar o estado estral visualmente.

O estro de fêmeas caprinas apresenta duração média de 24 horas (SAMPAIO et~al., 2012) podendo perdurar por até 96 horas e tende a aumentar com o número de ovulações (PATHIRAJA et~al., 1991). O estímulo da cópula pode reduzir em até 40% a duração do estro, pelo fato da ação do pênis contra o fórnix vaginal (ROMANO, 1994), resultando em uma duração média de 29,4 \pm 8,2 h para cabras que receberam o estímulo da cópula, em contra partida, fêmeas que não foram acasaladas permaneceram em estro por 42,0 \pm 9,4 h (ROMANO, 1993). Cerbito et~al. (1995) demostraram que a duração do estro de cabras que apresentam ciclo curto é menor, apresentando 17,5 \pm 2,5 h.

Após a luteólise a concentração de LH aumenta significativamente (GINTHER; BEG, 2012), passando de 1,6 ± 0,1 ng/ml para valores superiores a 10 ng/ml (LLEWELYN *et al.*, 1993). A liberação de LH, principal hormônio atuante na ovulação, é dependente dos níveis de progesterona e principalmente de GnRH (GINTHER; BEG, 2012), sendo variável de acordo com a fase do ciclo estral, tendo sua concentração basal, amplitude e pulsatilidade aumentados ao final da fase lútea (KAWATE *et al.*, 2000). Fato confirmado por Cardoso *et al.* (2009) que observaram os níveis de LH em fêmeas bovinas, ovariectomizadas ou inteiras, são dependentes do efeito negativo dos hormônios advindos das gônadas.

O momento da ovulação é de extrema importância para obtenção de resultados positivos quando se trabalha com biotécnicas reprodutivas. O período médio de tempo entre o início do estro e a ovulação, é em torno de 12 horas e 24 horas. Simões et al. (2008) relataram que para cabras nulíparas deve-se proceder à técnica de inseminação mais cedo, em relação a fêmeas multíparas, isso porque a ocorrência de ovulação monovular é fato recorrente nestes animais, ovulando em um breve período. Em cabras, podem-se observar ovulações tanto no período do estro, bem como fora do período em que as fêmeas demonstram estro. Romano e Fernandez Abella (1997) observaram que 58,3% das cabras apresentaram ovulação durante o estro.

A ocorrência dos eventos que culminam com a ovulação é dependente de uma série de fatores. Assim, o intervalo de tempo entre o início do estro e ovulação pode estar relacionado ao tipo de tratamento (hormonal ou natural), via de administração, dose e duração do tratamento (MARTÍNEZ-ÁLVAREZ *et al.*, 2007).

Vilariño *et al.* (2011) ao sincronizar o estro de cabras utilizando CIDR[®], de primeiro, segundo e terceiro uso, obtiveram uma média geral de $36,2 \pm 0,63$ horas, entre o momento do estro e ovulação, já Martínez-Álvarez *et al.* (2007) relataram um período de $37,6 \pm 0,5$ h. Simões *et al.* (2008) observaram que o intervalo entre o início do estro e momento das ovulações, em cio natural, foi de $32,5 \pm 1,0$ para cabras nulíparas e de $36,5 \pm 1,1$ h para cabras multíparas. Souza *et al.*, (1995) observaram que ovelhas, na presença de machos, apresentam uma maior concentração das ovulações, superior a 80%, entre 24 e 32 horas após o início do estro.

Em caprinos, a ordem de parto, nulíparas ou multíparas, exerce efeito sobre o tipo de ovulação (monovular ou poliovular), intervalo de tempo entre o início do estro e o pico pré-ovulatório de LH e entre o início do estro e segunda ovulação, bem como na taxa de ovulação (SIMÕES *et al.*, 2008). O pico pré-ovulatório de LH, em cabras,

apresenta valores médios de $60,1\pm3,5$ ng/ml, podendo alcançar uma concentração de 151,3 ng/ml, e o intervalo deste evento à primeira ovulação de $18,9\pm0,7$ horas, em estro natural (SIMÕES *et al.*, 2008) e de $22,4\pm0,8$ h em estro induzido por FGA (MARTÍNEZ-ÁLVAREZ *et al.*, 2007).

Ambos os ovários podem ser responsáveis pela ovulação (ROMANO; FERNANDEZ ABELLA, 1997). A taxa de ovulação de caprinos é variável, apresentando alteração de acordo com a idade (ANWAR; AHMAD, 1999), nutrição (SANTIAGO-MIRAMONTES *et al.*, 2008), e tende a ser maior quanto menor a taxa de atresia (MANDIKI *et al.*, 2000). Goel e Agrawal (2003) observaram um efeito do momento da ovulação atuando sobre a taxa de ovulação em cabras, onde relataram que 36 horas após o início do estro a taxa de ovulação tende a ser superior. Cerbito *et al.*, (1995) observaram uma taxa de ovulação de 1,4 para cabras Filipinas, e Romano e Fernandez Abella (1997) relataram que o intervalo entre a primeira e a última ovulação pode chegar a 2,7 horas.

3.1.2 Fase Lútea

A fase lútea envolve a maior parte do ciclo estral podendo perdurar por 16 a 18 dias (FATET *et al.*, 2011), compreende o metaestro e o diestro. Ginther e Kot (1994) observaram que o comprimento do período luteal pode variar entre fêmeas. No diestro a concentração de progesterona alcança valores superiores a 1ng/ml (ŘEZÁČ *et al.*, 2001).

Após a ovulação, o tecido ovariano que envolvia o folículo ovulatório sofre uma série de alterações, culminando com a formação do corpo lúteo (KAWATE et al., 2000). As células da teca e da granulosa darão origem as células luteais, que por sua vez se diferenciam em pequenas (função esteroidogênica) e grandes (função secretória) células luteais (SANGHA et al., 2002). Durante o período mid-luteal há uma intensa atividade esteroidogênica das células luteais (SELVARAJU et al., 2010). Como observado por Llewelyn et al. (1993) os níveis de progesterona são elevados durante as fases mid-luteal e late-luteal.

O corpo lúteo é uma glândula transitória de rápida formação que controla o ciclo estral, podendo também atuar na manutenção da gestação (SALLES; ARAÚJO, 2010). Seu crescimento é acelerado, torna-se mais pesado de acordo com seu desenvolvimento (SELVARAJU *et al.*, 2010). Em bovinos o corpo lúteo chega a pesar

 $2,65 \pm 0,28$ g no dia 5, alcançando $6,02 \pm 0,27$ g no dia 8 do ciclo estral, seguido pelo contínuo aumento da concentração de progesterona (MANN, 2009).

O LH é essencial para um normal desenvolvimento e manutenção da função do corpo lúteo durante o ciclo estral em caprinos (KAWATE *et al.*, 2000). A prolactina também atua como fator luteotrópico (GINTHER; BEG, 2012).

Enquanto no início da fase lútea a concentração de pequenas células luteais é alta, ao passar do tempo, na fase lútea tardia, este índice é diminuído, enquanto que com as grandes células luteais ocorre o inverso, aumentando assim a relação entre as pequenas e grandes células (SELVARAJU $et\ al.$, 2010). Em caprinos Das $et\ al.$ (2009) observaram que o corpo lúteo de cabras tratadas com fluido folicular de búfalas alcançou uma média de 5.2 ± 0.3 mm.

Esta glândula é responsável por secretar e manter os altos níveis de progesterona plasmática (SANGHA *et al.*, 2002), mantendo os níveis máximos até sete dias antes da luteólise (FREDRIKSSON *et al.*, 1984), sofrendo ação da estacionalidade (DI FRANCESCO *et al.*, 2012). Permanece ativa por todo o período luteal até que sofra luteólise promovendo assim um novo ciclo estral.

Ovulações múltiplas resultam em maiores níveis de progesterona no inicio da fase lútea, bem como em um menor período de tempo para que esses níveis sejam superiores a 2 ng/ml (PATHIRAJA *et al.*, 1991). Os níveis de progesterona plasmática, em caprinos podem exceder 5 ng/mL (AL YACOUB *et al.*, 2011), já em ovinos estes valores são inferiores a 3 ng/mL (HAWKEN *et al.*, 2007).

A progesterona desempenha uma importante atividade sobre o eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal e também é responsável pela supressão do desenvolvimento folicular, assim, são baixos os níveis de estradiol (SCHWARZ; WIERZCHOŚ, 2010). O corpo lúteo é capaz de diminuir o número de folículos em crescimento e atenuar o desenvolvimento folicular no ovário onde este se encontra (SCHWARZ; WIERZCHOŚ, 2010), porém os níveis de progesterona não afetam o recrutamento folicular (LASSALA *et al.*, 2004).

O corpo lúteo de animais que apresentam ciclo curto não é completamente funcional (AL YACOUB *et al.*, 2011), não sendo capaz de manter os níveis de progesterona para uma fase luteal normal, que leva a luteólise em um espaço de tempo menor que o normal e o início de um novo ciclo estral (SAHARREA *et al.*, 1998).

A luteólise ocorre por volta do dia 16 a 18 do ciclo estral, sendo a ação da PGF₂α, o principal fator luteolítico, que é secretada pelo útero, tendo sua produção e

liberação intermitente (FREDRIKSSON et al., 1984). Outros processos colaboram para a luteólise. Selvaraju et al. (2010) observaram que o processo de apoptose, nível de peroxidação oxidativa e da enzima superóxido dismutase são pronunciados durante a fase lútea tardia, diferentemente dos níveis das enzimas catalase e glutationa peroxidase que se apresentam baixos. Estas enzimas tem função antioxidante sobre as células do corpo lúteo, já que espécies reativas a oxigênio (ROS) atuam sobre fatores que regulam a função luteal (KATO et al., 1997).

3.2 Efeito Macho

Os métodos naturais de indução da atividade reprodutiva têm se mostrado capazes e eficientes, e são uma alternativa aos sistemas de produção, visando um manejo livre de hormônios, principalmente quando se trata da produção orgânica (CHANVALLON *et al.*, 2010; ZARAZAGA *et al.*, 2012). Resultados de diversas pesquisas demonstram que a utilização de hormônios exógenos não se faz necessário, quando se introduz um macho em rebanho de fêmeas, seja para avançar o período reprodutivo e/ou para induzir a atividade ovariana (AVDI *et al.*, 2004; ABI SALLOUM; CLAUS, 2005).

Dentre estes métodos naturais, se destaca o efeito macho e, conforme Ungerfeld (2003), os resultados obtidos com a utilização do efeito macho são similares aos obtidos com a utilização de tratamentos hormonais, com a vantagem do seu custo quase nulo e da ausência de resíduos hormonais, um fator atualmente de grande importância dado as pressões dos consumidores (ROSA; BRYANT, 2002; SCARAMUZZI; MARTIN, 2008).

A exposição de fêmeas a machos sexualmente ativos, previamente separados, provoca a elevação dos níveis do hormônio luteinizante (LH), resultando em comportamento estral das fêmeas, sendo também capaz de induzir ovulações (CHEMINEAU *et al.*, 1986). Esta técnica vem sendo empregada com eficiência em bovinos (MENEZES *et al.*, 2010), ovinos (UNGERFELD, 2011), caprinos

(DELGADILLO *et al.*, 2011), e também em bovídeos selvagens (ROWELL *et al.*, 2003).

A introdução de carneiros ou bodes num efetivo de ovelhas ou cabras previamente isoladas de machos, antes da época reprodutiva normal, foi inicialmente descrito por Underwood *et al.* (1944). O efeito macho é caracterizado como uma bioestimulação sexual, promovida pelo contato multisensorial (visual, olfatório, tátil e auditivo) entre machos e fêmeas, capaz de induzir e sincronizar a atividade sexual feminina, mesmo em períodos de anestro, apresentando uma resposta mais eficiente quando ocorre o contato direto entre os sexos. Assim, o efeito macho pode ser utilizado para controlar a reprodução, ao tornar a puberdade mais precoce ou, avançar a estação reprodutiva e fornecer algum grau de sincronização do estro na fase tardia do anestro estacional (MARTIN *et al.*, 1986).

Vantagens como acelerar o início das ovulações (SOUZA et al., 1995) e do comportamento estral, reduzir a idade ao primeiro parto (ÁLVAREZ; ANDRADE, 2008), possuir um baixo custo, evitar a presença de resíduos hormonais (CONTRERAS-SOLIS et al., 2009), promover um curto intervalo de tempo entre o início do trabalho experimental e a manifestação da atividade ovariana e de estro (FLORES et al., 2000), melhorar a resposta de protocolos de indução e sincronização do estro que utilizam quantidades reduzidas de hormônios (MELLADO et al., 2000) e aumentar a fertilidade, são atribuídas ao efeito macho (HORTA; CAVACO GONÇALVES, 2006).

3.2.1 Fatores que afetam a resposta ao Efeito Macho

Fatores como experiência, temperamento, ordem de parto (CHANVALLON et al., 2010), interação social (ALVAREZ et al., 2009), intensidade de contato, peso corporal (MELLADO et al., 1994), estado fisiológico do macho, intensidade do anestro (VÉLIZ et al., 2006), idade do reprodutor, qualidade do estímulo (UNGERFELD et al., 2008), fase do ciclo estral que a fêmea se encontra (HAWKEN et al., 2009), atuam diretamente na eficiência do efeito macho.

A resposta ao efeito macho quanto à rapidez, intensidade de sincronia e percentual de fêmeas que chegam à ovulação, está na dependência de diversos fatores, envolvendo tanto a intensidade do estimulo emanado pelo macho, como a influência de fatores ambientais, sociais, fisiológicos (WALKDEN-BROWN *et al.*, 1999) e raça (WHITLEY; JACKSON, 2004).

O período de separação entre machos e fêmeas é considerado por diversos pesquisadores como fator primordial quando se trabalha com o efeito macho, porém alguns trabalhos relatam que este fato torna-se discutível quanto a sua importância no resultado do efeito macho. Este período é variável, podendo ser de 60 dias (HORTA; CAVACO GONÇALVES, 2006; SALLES *et al.*, 2008), 45 dias (FLORES *et al.*, 2000), 30 dias (DELGADILLO *et al.*, 2011; HAWKEN *et al.*, 2009), 3 semanas (CHEMINEAU, 1985) e sem separação (VÉLIZ *et al.*, 2006), apresentando resultados similares entre si. Vale ressaltar que estes estudos foram realizados em diferentes condições, assim, a importância do isolamento não deve ser desconsiderada, ou tomada como verdade absoluta, devendo avaliar as condições em que estes animais estejam submetidos.

A duração do estímulo pode variar de acordo com o estado fisiológico e protocolo a ser empregado. Vale ressaltar que curtos períodos de indução podem fazer com que a fêmea não tenha a oportunidade de retornar em estro e tornar-se prenhe (MELLADO *et al.*, 1994). Assim também, longos períodos tendem a induzir o estro de cabras já cobertas provocando um desbalanço hormonal, podendo levar a diminuição da performance reprodutiva (BRUCE, 1959).

A situação sexual do reprodutor é de extrema importância para obtenção de um resultado favorável quando se trabalha com bioestimulação (VÉLIZ *et al.*, 2006). Bodes sexualmente ativos são capazes de atenuar diversos efeitos negativos relacionados à eficiência da bioestimulação. Mesmo animais que não estejam em sua máxima atividade sexual são capazes de induzir o estro em fêmeas, sejam em condições experimentais ou de campo (AVDI *et al.*, 2004).

Flores *et al.*, (2000) observaram que bodes tratados com melatonina foram hábeis na indução do estro de cabras em anestro sazonal (100% de fêmeas estro com ovulação), em um curto período de tempo, com maior intensidade de comportamentos sexuais. Fato também demonstrado por Véliz *et al.* (2002), que ao trabalhar com a associação de machos sexualmente ativos, aliado a introdução de fêmeas em estro ao início do tratamento, observou uma eficiente resposta ao efeito macho (94,7% de fêmeas em estro) e, concentrada, onde 79% das cabras demostraram estro nos três primeiros dias.

A nutrição e a sanidade dos animais envolvidos na bioestimulação pelo efeito macho são de fundamental importância com interferência direta nos resultados (SCARAMUZZI; MARTIN, 2008). O peso corporal desempenha influência direta sobre

a resposta reprodutiva da fêmea quando submetida ao efeito macho (RIVAS-MUÑOZ et al., 2010), mesmo quando se utiliza reprodutores sexualmente ativos (VÉLIZ et al., 2006), este fator limitante continua exercendo efeito negativo sobre a resposta ao efeito macho, resultando em anormalidades referentes ao ciclo estral, taxa de ovulação, além de aumentar o número de cabras que apresentam estro não seguido por ovulação (DE SANTIAGO-MIRAMONTES; MALPAUX; DELGADILLO, 2009). Assim, os animais selecionados para a execução do efeito macho não devem estar abaixo do peso corporal ideal, referente a raça, fisiologia, idade, dentre outros.

Véliz *et al.* (2006) observaram que fêmeas caprinas, da raça Criola Mexicana, com peso corporal superior a 34 kg, apresentaram 83 % estro nos cinco primeiros dias em contato com os machos, enquanto fêmeas com peso inferior a 34 kg, apresentaram apenas 47 % (P<0,006). Já Mellado *et al.* (1994) observaram em condições extensivas, que cabras com bom escore corporal (ECC: 7, na escala de 1-9), quando comparadas às com baixo escore (ECC: 2, na escala de 1-9), tendem a responder ao efeito macho mais precocemente. Fitz-Rodríguez et al. (2009), ao avaliarem a resposta de cabras à pasto ao efeito macho, relataram que a suplementação por sete dias, iniciada à introdução dos machos, resultou em um maior número de cabras ovulando; enquanto que a suplementação durante 14 dias acarretou em um maior número de cabras prenhes.

A profundidade do anestro é capaz de alterar a resposta ao efeito macho. Porém, em regiões onde não se observa um elevado efeito da sazonalidade, o emprego de técnicas para elevar a atividade sexual dos reprodutores, seja pela utilização de programas de luz ou de melatonina não se faz necessário (AVDI *et al.*, 2004). O estado fisiológico da fêmea seja pré-púbere, lactante, anestro estacional, atua de forma a alterar o resultado da introdução do efeito macho, porém não se torna um fator limitante, e assim, pode ser empregado como técnica de sincronização do estro (HORTA; CAVACO GONÇALVES, 2006).

3.2.2 Condição fisiológica proporcionada pelo Efeito Macho

A introdução do reprodutor em um rebanho de cabras é capaz de estimular a atividade sexual das fêmeas (AVDI *et al.*, 2004), pois a presença de machos sexualmente ativos provoca alterações na fisiologia da fêmea, sendo esta resposta aguda designada de efeito macho (ROSA; BRYANT, 2002) e, parece depender

principalmente, de sinais olfativos com origem em feromônios produzidos pelos machos, por estímulo dos andrógenos (GELEZ; FABRE-NYS, 2004), em associação com estímulos comportamentais gerados essencialmente durante a atividade de cortejo (ROSA; BRYANT, 2002).

3.2.2.1 Feromônios na comunicação sexual do Efeito Macho

O odor emanado pelo bode é estimulante para as cabras (SANTOS, 2004). Das glândulas de Schietzel, localizadas na parte posterior do ponto de inserção dos chifres, que são odoríferas e produzem um odor hircino, o qual aumenta na estação sexual e estimula o comportamento sexual da fêmea (NUNES, 2001). Essas glândulas sebáceas com tamanho de 20-25 mm de comprimento, 7-10 mm de largura e 5-6 mm de espessura, segregam um líquido especial, de onde exalam um odor extremamente ativo, muito característico, que estimula sexualmente as cabras, modificando o comportamento destes animais (SAMPAIO; SALLES; SAMPAIO, 2006).

Na maioria dos mamíferos os sinais olfatórios influenciam profundamente nas interações sociais. Esses sinais olfatórios são emitidos pela urina, fezes, saliva e secreções de diversas glândulas cutâneas e quando emitidos por um indivíduo são percebidos por outro de mesma espécie por meio do sistema olfativo principal e do sistema vomeronasal e, podem provocar nos indivíduos que os percebem diversos efeitos, tanto fisiológicos como comportamentais, fazendo parte de uma comunicação química (CASTAÑEDA *et al.*, 2007). No macho, durante a captação dos sinais olfativos a comunicação química é bem visível pelo reflexo de Flehmen. É através desses estímulos do feromônio, da visão do macho e do contato físico com ele que se dá a retomada de atividade hormonal na fêmea, com o aparecimento do estro.

A presença do macho é percebida pelo reconhecimento dos feromônios através do sistema olfativo, que transmite um sinal levado ao núcleo medial da amígdala, e daí é retransmitido ao hipotálamo, que é o gerador dos pulsos de GnRH (Figura 1; MURATA *et al.*, 2009). A partir daí, ocorre um aumento da frequência e amplitude da pulsatilidade da secreção de LH, elevando de 2 a 3 vezes o número de pulsos (CHEMINEAU *et al.*, 1986; ALVAREZ *et al.*, 2009). Assim, a exposição de fêmeas a machos promove uma rápida ativação na secreção LH e uma redução da retroalimentação negativa do estradiol no eixo hipotalâmico hipofisário, que culmina com a onda pré-ovulatória de LH (SIGNORET, 1980), gerando uma resposta aguda

(*short-term response*) seguida por uma resposta crônica (*long-term response*), quando há continuidade desta interação (CHANVALLON *et al.*, 2010).

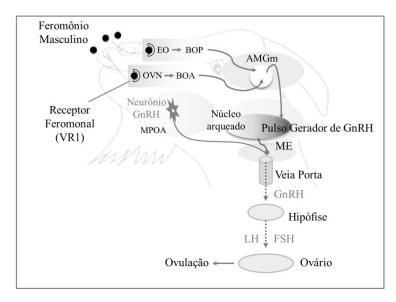


Figura 1. Mecanismo de percepção e ação dos feromônios do bode sobre o eixo hipotálamo-hipófise-gônadas de cabras. **EO**: epitélio olfativo; **BOP**: bulbo olfativo principal; **OVN**: órgão vomeronasal; **BOA**: bulbo olfativo auxiliar; **AMGm**: amígdala medial. (Adaptado de Murata et al., 2009)

Essa rápida resposta gerando o incremento na frequência dos pulsos e na concentração de LH aumenta significantemente após a exposição ao macho, e tende a aumentar progressivamente com o tempo (ALVAREZ et al., 2009). Martin et al. (1986) observaram que aos dois minutos da introdução dos machos, o LH apresentou aumento na sua concentração. Chanvallon et al. (2010) observaram que 7 minutos após a introdução do macho, ovelhas multíparas, da raça Merino, já apresentavam alterações fisiológicas quanto a frequência dos pulsos de LH. Esse aumento da concentração de LH se mostrou generalizado, assim, é observado um aumento em todos os aspectos, seja a nível basal, seja na concentração média e máxima desse hormônio (CHANVALLON et al., 2010; CLAUS et al., 1990).

Bodes são capazes de induzir estro em fêmeas cíclicas, porém este fator é regulado pela progesterona, assim, cabras no inicio, ou no fim da fase lútea são susceptíveis a essas alterações, porém aquelas fêmeas que apresentam concentrações de progesterona superiores a 5 ng/mL o efeito do macho tem baixo poder de ação. Esse fato é diferente em ovelhas, já que estes animais por terem um ciclo estral mais curto apresentam níveis de progesterona insuficientes para bloquear a ação do macho

(HAWKEN *et al.*, 2009). Portanto, a atuação endócrina em resposta ao macho é diferenciada de acordo com a fase do ciclo estral em que a fêmea se encontra, sendo a concentração de progesterona um fator limitante para alterar o padrão endócrino da cabra.

Após a introdução do macho, o crescimento do folículo é pronunciado, chegando a 1,5 mm/dia, e esse desenvolvimento foi maior para folículos pequenos, assim, fica evidente o papel do macho na indução da ovulação (DELGADILLO *et al.*, 2011). O efeito macho é capaz, por si só, de modificar a fisiologia da fêmea, como relatado por Abi Salloum e Claus (2005) onde observaram que o nível de atividade ovariana foi superior nos grupos de ovelhas expostas ao efeito macho, sejam estas previamente submetidas a programas de luz ou não.

O pico de LH, em cabras após a introdução do macho, ocorreu de 80 a 317 minutos, apresentando de 5,7 a 8 pulsos em 39 horas, e a ovulação se deu entre 8 a 10 como visto por Alvarez, Ramos e Zarco (2009). Já Freitas *et al.* (1996) observaram que o intervalo entre o início do estro e o pico de LH, em cabras, apresentou média de 12 horas, independente do tratamento com progestágenos (FGA ou Norgestomet[®]). O primeiro estro induzido pela presença do macho pode ser acompanhado de ovulação. A taxa de ovulação dos estros induzidos pelo efeito macho é semelhante (1.8 ± 0.2; 2.0 ± 0.9) para o 1° e 2° estro, respectivamente (DELGADILLO *et al.*, 2011). Assim, uma fêmea inseminada natural ou artificialmente logo ao primeiro estro, é capaz de tornar-se fértil.

Com a introdução do reprodutor ocorre um ajuste hormonal progressivo, promovendo a estabilização de sua fisiologia e adequada funcionalidade do ovário. Com isso, é comum no início da bioestimulação a manifestação de ciclos estrais curtos (CHEMINEAU et al., 1986; SUTHERLAND, 1987). Estes ciclos curtos dependem do estágio de desenvolvimento em que o folículo se encontra no momento da introdução do macho (GONZALEZ-BULNES *et al.*, 2006). Essa regulação fisiológica faz com que as fêmeas estejam mais aptas à concepção no estro seguinte, quando comparado à situação fisiológica existente ao primeiro estro, já que a função ovariana é reestabelecida a sua normalidade (MELLADO *et al.*, 1994). Flores *et al.*, (2000), obtiveram uma taxa de 95% de concepção ao segundo estro, e apenas 10% ao primeiro estro.

3.2.3 Interações comportamentais

As relações sociais entre os animais da mesma espécie, ou até espécies diferentes, são capazes de afetar a atividade reprodutiva, seja relação entre machos, fêmeas, ou entre machos e fêmeas (ROSA; BRYANT, 2002; SAMPAIO *et al.*, 2012). Em regiões onde o fotoperíodo exerce ação reguladora sobre a atividade reprodutiva dos animais, a interação sócio-sexual é capaz de modificar esta situação, ou seja, reverter a condição de estacionalidade reprodutiva (DELGADILLO *et al.*, 2012).

A interação inicial entre machos e fêmeas se dá pela ação e reconhecimento dos feromônios. Os feromônios são substâncias químicas transmitidas pelo ar, e excretadas por meio de fezes ou urina ou pelas glândulas cutâneas, percebidas pelo sistema olfatório capazes de provocar alterações comportamentais e endócrinas (REKWOT *et al.*, 2001).

O odor característico, advindo do macho, é proveniente das glândulas sebáceas, onde ocorre sua produção, e está diretamente relacionado à concentração de testosterona (IWATA *et al.*, 2000). Essas substâncias são captadas através dos neurônios receptores olfativos (ORNs), capazes de detectar odores voláteis, ou dos neurônios receptores vomeronasal (VRNs), que detectam moléculas de feromônio (MURATA *et al.*, 2009).

Utilizando apenas a via olfativa para estimular cabras em anestro, CLAUS et al. (1990) fez uso de pêlos dos bodes ou do seu extrato (gorduras e lipídeos), e observaram um aumento nos níveis de LH de 69% e 57%, respectivamente, e relataram também o aumento dos níveis de estradiol 17-beta. O fator "olfato" é o principal meio para a resposta ao efeito macho, porém ao comparar resultados de pesquisas envolvendo apenas a via olfativa e uma bioestimulação completa, assume-se então que, para uma maior efetividade do efeito macho, deve-se preservar a ação de todos os sentidos, visual, tátil, auditivo e olfativo (WALKDEN-BROWN; RESTALL; HENNIAWATI, 1993).

A experiência da fêmea que será submetida ao efeito macho se apresenta como um fator importante (FERNÁNDEZ et al., 2011; VÉLIZ et al., 2009). Ovelhas nulíparas tendem a ser mais demoradas em responder a bioestimulação, assim apresentam estro mais tardiamente. Chanvallon *et al.* (2010) observaram que cabras multíparas apresentaram menor latência entre a introdução do macho e início das alterações fisiológicas, quando comparado a fêmeas nulíparas, que demonstraram alteração fisiológica 45 min após as multíparas. No entanto, a latência entre a introdução dos machos e o pico de LH não foi afetado pela experiência da fêmea.

Já Walkden-Brown, Restall e Henniawati (1993) observaram que, quando expostas ao velo de bodes, cabras multíparas apresentaram maior resposta ao tratamento do que as nulíparas. Deste modo, é notória a importância da experiência, por terem conhecimento da situação de reprodução, são capazes de reconhecer e direcionar seu sistema a partir do momento que percebem a alteração do ambiente através da introdução do macho, com isso, são capazes de responder ao efeito macho com maior intensidade e rapidez.

As relações sociais existentes em um rebanho também atuam de modo assíduo na resposta a bioestimulação. Existe uma relação positiva entre o índice de sucesso, que classifica os animais quanto ao ranking social (MENDL *et al.*, 1992), e o índice de associação, referente a interação entre a fêmea e o macho (MARTIN; BATESON, 2009), como demonstrado por Alvarez *et al.* (2003), quanto maior a intensidade de contato, mais eficiente será o efeito macho. Fato que está em consonância com os relatados por Flores *et al.*, (2000) onde houve uma relação entre o maior número de comportamentos sexuais e alto índice de indução do estro.

Alvarez et al. (2003) observaram que entre as fêmeas que ovularam, o número de dias entre o início do efeito macho e a ovulação, bem como o intervalo entre a introdução dos machos e a concepção, foi menor para cabras dominantes que para cabras submissas. Em cabras da raça Cashmere, Alvarez et al. (2007) afirmaram que as categorias sociais assumem importância na manifestação do estro, sendo que fêmeas dominantes expressaram de forma mais rápida o comportamento estral em relação a fêmeas subordinadas e que a diferença de peso não foi relevante para o comportamento manifestado.

3.2.3.1 Efeito Fêmea

A introdução de fêmeas em estro é apontada como uma alternativa para a indução do estro, ou em associação ao efeito macho, objetivando uma melhor resposta ao estímulo sócio-sexual (RESTALL *et al.*, 1995). Knight (1985) observou que a proporção de fêmeas em anestro ovulando após a introdução de machos, aumenta quando simultaneamente são introduzidas fêmeas em estro. Véliz *et al.* (2002) confirmaram que o estímulo proporcionado somente pela cabra em estro não demonstrou eficácia em induzir estro em fêmeas em anestro, apenas quando foi utilizado em associação com o efeito macho.

Uma resposta semelhante foi observada em carneiros que estiveram em contato com ovelhas em estro por um breve período antes da sua introdução num rebanho de ovelhas em anestro (HORTA; GONÇALVES, 2006). As ovelhas em estro induzem a secreção de pulsos de LH e o aumento dos níveis de testosterona durante as primeiras 4-8 horas de contato (UNGERFELD; FORSBERG; RUBIANES, 2004) e as secreções dos esteroides estimulam a produção de feromônios (REKWOT *et al.*, 2001). Além do que, o comportamento dos carneiros em relação às ovelhas em estro fornece estímulos visuais adicionais para as ovelhas anovulatórias. Desta forma, a presença de ovelhas em estro associadas a carneiros, ou a presença de carneiros que tenham tido experiência sexual recente com ovelhas em estro, irá permitir que as ovelhas anovulatórias sejam expostas a estímulos olfativos, táteis, e particularmente, visuais, que podem aumentar a potência do estimulo, e melhorar a eficácia do efeito macho (ROSA; JUNIPER; BRYANT, 2000).

Um outra forma seria a androgenização de cabras, já que estes animais são capazes de sintetizar o "feromônio do efeito macho" pela ação da progesterona, como relatado por (KAKUMA *et al.*, 2007), que ao tratar cabras ovariectomizadas com testosterona observaram a produção de feromônio na região da cabeça e garupa destas fêmeas, e grande quantidade de comportamentos reprodutivos apresentados por bodes.

3.2.4 Eficiência do Efeito Macho na indução e sincronização do estro

O efeito macho tem sido empregado em diversas situações, seja durante o período de anestro estacional, seja na estação de reprodução. A utilização única e exclusiva de efeito macho quando executada de forma correta e, buscando minimizar os diversos fatores que atuam negativamente sobre sua resposta, revela-se eficaz e reafirma seu poder de indução e sincronização do estro, não sendo necessário o uso de hormônios exógenos.

Mellado *et al.*, (2000) utilizando apenas o efeito macho, em cabras multíparas, obtiveram resultados de 92% de estro, 82,6% de fertilidade e 1,76 de prolificidade. Estes tendem a ser superiores quando comparados a resposta ao empregar SMB (Syncro-Mate-B[®]), ou até mesmo SMB[®]+EM (Efeito Macho).

Salles *et al.* (2008) e Salles *et al.* (2010) ao utilizarem o efeito macho após sucessivos anos, em caprinos Saanen, criados no nordeste do Brasil, apresentam valores

crescentes ao passar dos anos, e superiores a 80% de taxa de parição e 1,7 de prolificidade.

A aplicação do efeito macho interespécie, ou seja, a inserção de machos ovinos em um rebanho de fêmeas caprinas, ou vice-versa, é uma possibilidade já comprovada para a indução e sincronização do estro (ICHIMARU *et al.*, 2008; SAMPAIO *et al.*, 2012; VITALIANO, 2011). Esta forma de implantação se dá pelo fato da semelhante composição entre os feromônios envolvidos no efeito macho, das espécies caprinas e ovinas (ICHIMARU *et al.*, 2008).

Sampaio *et al.* (2012) ao utilizar o efeito macho em cabras multíparas e nulíparas, observaram um efeito da ordem de parto sobre os resultados de indução de estro e taxa de concepção, sendo estas 81,2% e 75% para cabras multíparas e de 6,0% 33,3% para cabras nulíparas, respectivamente. Ao utilizar o carneiro como indutor do estro em cabras, os mesmos autores relataram uma taxa de indução de 81,3% para cabras multíparas e 83,3% para cabras nulíparas.

3.2.4.1 Eficiência de protocolos hormonais de indução e sincronização do estro associados ao Efeito Macho

O efeito macho pode ser empregado em harmonia com outros métodos, aumentando assim a eficácia do tratamento, já que a bioestimulação é capaz de potencializar a resposta do protocolo (MELLADO *et al.*, 2000). Demonstrado por Celi *et al.* (2013), o emprego de melatonina associada ao efeito macho, resultou em uma maior fertilidade (91,7%), e maior percentagem de fêmeas demostrando estro com ovulação (95,8%), durante solstício de inverno.

A associação entre aplicação de $PGF_2\alpha$ e efeito macho, resultou em 100% de estro, reduziu o intervalo de tempo entre a aplicação do hormônio e o momento da ovulação (49,5 \pm 3,4) resultados estes, expressivos, demonstrados por Contreras-Solis *et al.* (2009).

Protocolos de sincronização que empregam o uso de progesterona (via intramuscular) e efeito macho têm sido eficientes e relevantes. Trabalhando com cabras Murciano-Granadinas, Díaz Delfa *et al.* (2002) ao utilizarem o efeito macho com ou sem progesterona, encontraram taxas semelhantes de indução de estro (87.3 vs 79.6%, respectivamente), porém obteve maior sincronia e prolificidade com a implementação

de progesterona. Esta maior sincronia é confirmada por Véliz *et al.* (2009) onde cabras tratadas com progesterona, demonstraram maior percentagem de estro nos primeiros cinco dias, bem como apenas um pico de estro, diferentemente das não tratadas, que apresentaram dois picos de estro.

Ao submeter cabras pré-púberes a protocolos de indução e sincronização do estro, Mellado *et al.*, (2000), relataram que o efeito macho foi capaz de amplificar a resposta do tratamento, ao comparar os protocolos *Efeito Macho*, SMB[®] (*Synchro Mate B*[®]) + PMSG e SMB[®]+PMSG+EM (16,6%, 66,6% vs. 91,6% de estro, respectivamente).

Maia Júnior *et al.* (2009) observaram que ao sincronizar o estro de cabras leiteiras com CIDR[®] utilizando o efeito macho em substituição ao eCG, obtiveram valores de 90% de estro 61,1% de prenhez e 1,7 de prolificidade, estes valores foram similares aos obtidos utilizando CIDR[®] + eCG.

Estes resultados demostram que o efeito macho, mesmo quando não empregado exclusivamente, sejam por questões experimentais ou por ineficiência ao objetivo que se deseja alcançar, pode ser empegado juntamente com outros protocolos, evitando assim, o uso excessivo de hormônios exógenos, o que favorece a vida produtiva e o bem estar animal, por uso de tecnologia sustentavelmente viável, que resultará em uma menor quantidade de resíduos hormonais no animal e no meio ambiente, culminando com um menor impacto ambiental.

3.2.4.2 Efeito macho e sua aplicação em protocolos de inseminação artificial

A inseminação artificial é uma biotécnica reprodutiva disseminada em todo o mundo e aplicada no manejo reprodutivo de caprinos (MARTÍNEZ-ROJERO et al., 2006). Quando se faz uso da inseminação, esta vem precedida por protocolos hormonais, desde os mais simplificados, aos mais sofisticados (WILDEUS, 1999). O efeito macho em substituição à larga utilização de hormônios torna-se uma alternativa, seja por seu baixo custo ou mesmo às produções orgânicas, além de atender as exigências emergentes advindas dos consumidores, que buscam por produtos limpos, verdes e éticos (MARTIN; KADOKAWA, 2006; PELLICER-RUBIO *et al.*, 2007).

Na literatura, grande parte dos trabalhos que envolvem efeito macho e biotécnicas reprodutivas compreende o uso de hormônios exógenos, sendo muitas vezes

utilizado apenas para iniciar a atividade reprodutiva das fêmeas (LÓPEZ-SEBASTIAN et al., 2007; PELLICER-RUBIO et al., 2008). Assim, existem poucos trabalhos utilizando apenas o efeito macho como principal meio de indução e sincronização do estro de caprinos. Dentre estes, o de Restall (1988) aliou o efeito macho à inseminação artificial durante o outono, e obteve mais de 80% das cabras inseminadas nos 10 dias após início da sincronização. No entanto, quando a fêmea foi inseminada entre o primeiro e o quinto dia após o início do efeito macho, foi baixa, sendo inferior a de 52%.

Já Moore e Hall (1991) ao induzirem estro com o efeito macho e inseminarem cabras, baseado no método Trimberg (estro observado pela manhã, execução da inseminação à tarde, e vice-versa), obtiveram uma taxa de prenhez 56%, sendo mais elevadas quando a inseminação foi realizada entre 6-10 dias após o início do efeito macho.

Portanto o emprego do efeito macho como técnica de indução e sincronização do estro de cabras para um programa de inseminação artificial é uma alternativa, porém é necessário observar os principais fatores que interferem na eficiência do efeito macho, bem como, o momento da ovulação, que é primordial para resultar em bons resultados de prenhez.

3.3 Inseminação Artificial

As biotécnicas de reprodução são ferramentas que permitem um melhor uso e difusão de genética superior, podendo ainda contribuir para o desenvolvimento da raça local mais rapidamente (THA, [s.d.]). Baldassarre e Karatzas (2004) agrupam as biotécnicas por sua principal característica, ou seja, técnicas que aumentam a seleção diferencial (inseminação artificial, transferência de embriões) ou que aceleram este processo diminuindo o intervalo de geração (colheita de embriões de fêmeas jovens).

A inseminação artificial é a técnica mais antiga e atualmente mais utilizada em reprodução assistida, seja em animais ou humanos (VERBERCKMOES; VAN SOOM; DE KRUIF, 2004). Esta biotécnica proporciona uma rápida progressão no mérito genético dos animais (HOLTZ *et al.*, 2008), permite uma maior produção de descendentes (BALDASSARRE; KARATZAS, 2004) advindos de reprodutores de alto mérito genético, com problemas fisiológicos ou físicos (ENGLAND; VERSTEGEM,

1996), transferência de genes entre populações (DURRANT, 2009) sem transmitir doenças (em situação ideal) (LEBOEUF; RESTALL; SALAMON, 2000), sendo uma ferramenta de grande importância para reprodução, em especial, para sistemas de produção intensivos (LEBOEUF; RESTALL; SALAMON, 2000).

Em definição, a inseminação artificial é a deposição de sêmen no trato reprodutivo da fêmea, no momento propício à fecundação (FAIGL *et al.*, 2012), de simples aplicação, baixo custo, bem sucedida e pouco invasiva (BALDASSARRE; KARATZAS, 2004; VISHWANATH, 2003).

A prática da inseminação artificial tem sido realizada em diversas espécies, dos animais de produção (bovinos, bubalinos, caprinos, ovinos, suínos), visando uma maior produtividade e disseminação de genética superior, voltada para uma finalidade produtiva (BARIL *et al.*, 1996). O emprego de novas tecnologias no processo produtivo deve ser compensado pela sua rentabilidade; em animais leiteiros, está diretamente relacionado à reprodução e produção de leite (ALI *et al.*, 1983).

De maneira menos expressiva, mas de grande importância, observa-se sua aplicação em animais selvagens com o objetivo de propiciar a continuidade da espécie em risco de extinção (SANTIAGO-MORENO *et al.*, 2008) ou formação de um banco de germoplasma (DURRANT, 2009).

O emprego da inseminação artificial tem como requisito a sincronização do estro (BARIL *et al.*, 1993). Alguns tratamentos hormonais, mesmo que necessários trazem prejuízos à biotécnicas, bem como o uso de ocitocina no momento da inseminação trás consequências negativas sobre a fertilidade (VIUDES-DE-CASTRO *et al.*, 2009), a aplicação de eCG por repetidas vezes, resulta em uma diminuição de 22,5% na fertilidade de cabras (BARIL *et al.*, 1996). Uma alternativa seria a inseminação de fêmeas naturalmente já que de acordo com Durrant (2009) a inseminação de fêmeas naturalmente cíclicas, não traz alterações nos processos naturais de foliculogênese, ovulação e luteinização, bem como em todo o ambiente hormonal em que estes processos estão envolvidos.

Existem ainda outros fatores que atuam de forma direta sobre os resultados da inseminação artificial. Burguete *et al.*, (1998) observaram o efeito da época do ano e constataram uma maior prolificidade durante as estações de inverno e primavera.

Azevedo *et al.* (1998), observaram uma maior taxa de parição para cabras multíparas quando submetidas à inseminação artificial com sêmen congelado-descongelado, fato confirmado por Nascimento *et al.* (2010) que obtiveram 58,33% de

fertilidade. Em fêmeas nulíparas nota-se um declínio na eficiência da inseminação por via cervical (NASCIMENTO *et al.*, 2010). Nesta categoria observa-se um nervosismo e estresse acentuado quando submetidas à inseminação transcervical (BATISTA *et al.*, 2009), ocorrendo uma maior dificuldade em transpor a cérvix, havendo um maior número de deposições vaginais, comprometendo assim a eficiência da técnica (AZEVEDO *et al.*, 1998).

Em termos produtivos a inseminação artificial tende a gerar um maior número de parto simples, seguido por duplos e triplos (BURGUETE *et al.*, 1998), e também uma maior proporção de machos, seja para raças de corte ou leite (BERRY; CROMIE, 2007).

3.3.1 Papel do macho na inseminação artificial

O reprodutor atua diretamente sobre os resultados da inseminação artificial (BURGUETE *et al.*, 1998) e seu desempenho reprodutivo é resultante de fatores genéticos e não genéticos (FURSTOSS *et al.*, 2010; KARAGIANNIDIS; VARSAKELI; KARATZAS, 2000). Existe entre os machos, variações individuais, relacionadas a anormalidades espermáticas (ROCA *et al.*, 1992), a viabilidade quando incubado, ao processo de lavagem seminal (RITAR; SALAMON, 1982), a habilidade do sêmen em permanecer viável após o processo de congelabilidade (BATISTA *et al.*, 2009). Com isso, é necessário realizar avaliações individuais para aperfeiçoar a eficiência reprodutiva (KARAGIANNIDIS; VARSAKELI; KARATZAS, 2000).

Assim, aliado a inseminação artificial tem-se a adoção de um teste de progênie, que é uma ferramenta utilizada para a seleção e obtenção de reprodutores geneticamente superiores e melhoradores (FURSTOSS *et al.*, 2010), diminuindo a carga de genes contrários aos objetivos produtivos.

Além da avaliação genética e produtiva, é necessário que o reprodutor passe por avaliações sanitárias, estando livre de doenças, pois diversas enfermidades podem ser transmitidas através do sêmen (CSEH; FAIGL; AMIRIDIS, 2012). Mesmo em animais saudáveis observa-se a presença de bactérias e até mesmo leveduras (SOUZA *et al.*, 2006). Andrioli *et al.* (2006) observaram que machos positivos para AEC (Artrite Encefalite Caprina) transmitem o vírus através do sêmen, apresentando carga viral

reduzida quando este foi lavado, e carga aumentada quando o animal apresentava dano testicular.

3.3.2 Condição de conservação do sêmen

Os resultados obtidos em um programa de inseminação artificial são dependentes do sêmen a ser empregado (ROCA *et al.*, 1992), assim são necessários cuidados, desde a escolha do reprodutor, até o manejo do material coletado (LEBOEUF; RESTALL; SALAMON, 2000). Por sua vez, características seminais como motilidade, morfologia e integridade do acrossoma são fatores fundamentais na eficiência da inseminação (DORADO *et al.*, 2009).

O tipo de conservação do sêmen irá direcionar algumas características ligadas à inseminação, como a dose, o local de deposição (mínimo) e momento da inseminação, sendo distintos para o tipo de sêmen que se está trabalhando (MEDEIROS *et al.*, 2002).

A inseminação artificial com sêmen fresco, quando bem executada, alcança eficiência comparável ao uso da monta natural (SOHNREY; HOLTZ, 2005), com fertilidade superior ao sêmen resfriado e congelado, e pode ser aplicada quando o reprodutor encontra-se no rebanho (BALDASSARRE; KARATZAS, 2004). O potencial de fecundidade do sêmen fresco pode chegar a cinco horas resultando em boa taxa de fertilidade (SALVADOR *et al.*, 2006). Além destas características a inseminação com sêmen fresco não evidencia as diferenças entre reprodutores, que se tornam evidentes ao trabalhar com sêmen congelado (APU *et al.*, 2012). Quando se utiliza este tipo de sêmen, comumente se empregam os métodos de inseminação artificial vaginal ou cervical, com doses de 200 x 10⁶ espermatozoides (CSEH; FAIGL; AMIRIDIS, 2012).

A taxa de fertilidade, após a inseminação artificial cervical, obtida ao utilizar sêmen fresco mostra-se superior aos índices alcançados com a utilização de sêmen congelado-descongelado, mesmo se este for diluído em meios que geram uma boa resposta quando se utiliza laparoscopia (SÁNCHEZ-PARTIDA *et al.*, 1999). Apu *et al.* (2012) alcançaram 58,9% de parição ao inseminar cabras com sêmen fresco, enquanto que ao utilizar sêmen congelado-descongelado esta taxa foi inferior, 43,9% (P<0,01).

Além do sêmen fresco, pode-se fazer uso do sêmen resfriado, no qual sua aplicação permite a conservação do sêmen, a 5°C, e transporte para localidades próximas, podendo ser utilizado por até 48 horas após a coleta, gerando bons resultados (SIQUEIRA *et al.*, 2009). Tha [s.d.] obteve uma taxa de parição de 66,7% ao utilizar sêmen resfriado.

O sêmen congelado seria outra forma para a conservação do material genético oriundo do macho. A criopreservação favorece a utilização do sêmen em locais distantes daquele onde foi coletado e processado, além de propiciar um longo tempo de armazenamento (BALDASSARRE; KARATZAS, 2004), porém reduz a viabilidade e fertilidade do espermatozoide por causar danos estruturais, bioquímicos e funcionais (DORADO *et al.*, 2009; LEBOEUF; RESTALL; SALAMON, 2000; SALAMON; MAXWELL, 2000). O efeito negativo da congelação sobre os espermatozoides é distinto em diferentes reprodutores (APU *et al.*, 2012), sendo uma característica intrínseca do animal, podendo suportar melhor, ou não, o processo de congelabilidade (SÁNCHEZ-PARTIDA *et al.*, 1999).

A principal via de congelação e armazenamento do sêmen se dá em nitrogênio líquido, porém Batista *et al.* (2009) obtiveram sucesso ao conservar sêmen caprino em ultrabaixa temperatura, - 152° C em meio tris, e propuseram seu uso, visto que os parâmetros seminais (motilidade, integridade do acrossoma e baixo numero de células anormais) mantiveram-se estáveis, resultando em boa fertilidade.

3.3.3 Diluidores e meios de conservação do sêmen

A diluição do sêmen atua beneficamente sobre os espermatozoides (ARAÚJO; DACHEUX; YVON, 2012), além de resultar em maior número de doses de um mesmo reprodutor, permitindo um maior aproveitamento e disseminação de sua genética (MIAN *et al.*, 1990) além de favorecer a sanidade do sêmen (SOUZA *et al.*, 2006). É necessário que a diluição resulte em um adequado volume de diluidor e suficiente número de espermatozoides para obtenção de sucesso, sendo realizada com base na concentração espermática ou adicionando quantidade específica de diluente (PURDY, 2006).

Além disso, a diluição deve ser bem executada, pois caso contrário resulta em consequências negativas à fertilidade (MAXWELLL; JOHNSON, 1999),

aumentando os movimentos anormais (circulares ou irregulares) dos espermatozoides quando submetidos a altas diluições (TAMPION; GIBBONS, 1962).

Um bom diluente deve prover substâncias que mantenham o ambiente adequado para as células espermáticas (PURDY, 2006), podendo ser capaz de melhorar a motilidade e o poder fecundante dos espermatozoides (ARAÚJO; DACHEUX; YVON, 2012). Existem diversos diluidores, para diferentes espécies de animais, com múltiplos constituintes, desde os mais elaborados aos mais simples (SALAMON; MAXWELL, 2000).

O soro fisiológico, substância de simples aquisição e valor acessível, pode ser utilizado como diluidor seminal gerando resultados favoráveis sobre a qualidade do sêmen e sua longevidade (ENGLAND; VERSTEGEM, 1996). A utilização de soro fisiológico como diluidor seminal pode ser observada em aves (MIAN *et al.*, 1990; SLANINA *et al.*, 2012), cães (SCHÄFER-SOMI; AURICH, 2007), coelhos (EL-KELAWY *et al.*, 2012), touros (TAMPION; GIBBONS, 1962) e caprinos (LEBOEUF; RESTALL; SALAMON, 2000).

Resultados como o de Lima *et al.* (1997), ao trabalharem com sêmen caprino, mostram que o soro fisiológico gera bons resultados para uma utilização em curto prazo, resultando numa queda de apenas de 3,2 % na motilidade, após 15 minutos. Os mesmos autores observaram que quando este diluente foi utilizado para congelação das células espermáticas, houve uma redução na motilidade de 22,7%, isto pode ser explicado pelo fato do soro fisiológico não apresentar substâncias energéticas nem crioprotetores em sua composição, portanto, não favorece a manutenção das células espermáticas.

A composição do diluidor atua sobre os resultados de fertilidade. MARA *et al.* (2007) obtiveram uma melhor taxa de prenhez ao utilizar leite desnatado, 66,6%. Além disso, Sánchez-Partida *et al.* (1999) observaram que os diluidores podem gerar uma maior perda embrionária, sendo nula em meio tris e ácido cítrico, e de 60% ao utilizar o mesmo princípio (Tris) adicionado de prolina e glicina-betaína.

3.3.4 Dose inseminante

A concentração de sêmen na palheta, ou seja, a dose inseminante é de fundamental importância para o sucesso da inseminação artificial, pois mesmo se a

inseminação não for realizada no melhor momento, uma dose maior aumenta a probabilidade da fêmea se tornar prenhe (BEILBY *et al.*, 2009).

Quanto mais profunda for a inseminação menor será o requerimento de espermatozoides (SALAMON; MAXWELL, 2000). Paulenz *et al.* (2005) ao trabalhar com caprinos e adotarem uma dose de 200 x 10⁶ espermatozoides, obtiveram uma taxa de parição semelhante para deposição vaginal ou cervical, sendo de 74,3% e 78,0%, respectivamente.

A redução da dose inseminante pode alcançar 2% de uma dose comercial (DE GRAAF *et al.*, 2007a), resultando em um maior número de doses por ejaculado, porém sua utilização deve ser medida de acordo com os resultados de prenhez obtidos (ANDERSSON *et al.*, 2004). Existem diferenças entre os reprodutores, assim, alguns destes não apresentam a mesma eficiência quando se faz a redução da concentração de espermatozoides por dose (ANDERSSON *et al.*, 2004).

Em ovinos, De Graaf *et al.* (2007b) ao avaliarem a eficiência de concentrações distintas, 50 x 10⁶ e 15 x 10⁶ espermatozoides, sobre a eficiência reprodutiva de ovelhas inseminadas por via laparoscópica, observaram taxas de prenhez semelhantes, de 54,3 % e 48,6 %, respectivamente. Esta redução da concentração pode chegar a 1 x 10⁶ espermatozoides por dose de sêmen ovino sexado, não comprometendo os resultado de fertilidade, quando a fêmea é inseminada por via laparoscópica, e sendo superior a dose de 1 x 10⁶ de sêmen não sexado e semelhante às doses de 15 x 10⁶ espermatozoides (BEILBY *et al.*, 2009). Também Araújo, Dacheux e Yvon (2012), ao avaliarem a eficiência de duas doses inseminantes (4,0 x 10⁸ e 2,5 x 10⁸) observaram que esta redução, para 2,5 x 10⁸ espermatozoides, é capaz de elevar em 45% o número de doses, promovendo benefícios de ordem reprodutiva e produtiva, ao trabalharem com sêmen de resfriado a 4 °C e inseminação por via cervical superficial.

3.3.5 Momento da inseminação

Em mamíferos, a longevidade do espermatozoide no trato reprodutivo da fêmea é curta (DURRANT, 2009), tornando o momento da inseminação fator primordial para a eficiência da técnica (LEBOEUF; RESTALL; SALAMON, 2000; OLIVERA-MUZANTE *et al.*, 2011), pois quando realizada no momento adequado,

aumentam as chances da fêmea tornar-se prenhe, do contrário, fêmeas inseminadas tardiamente apresentam baixa fertilidade (BARIL *et al.*, 1993).

A identificação do estro é de fundamental importância para a obtenção de resultados que demonstrem sucesso ao utilizar a inseminação artificial (ALLISON; HAGEVOORT, 2009), já que a relação início do estro e inseminação artificial é considerada bem estabelecida sendo de grande importância para a eficiência da técnica (BARIL *et al.*, 1993). A estreita relação entre momento do pico pré-ovulatório de LH e momento da inseminação exerce efeito direto sobre a resposta positiva (BARIL *et al.*, 1993), quando se avalia a associação entre protocolo de indução e sincronização do estro e inseminação artificial a tempo fixo (IATF) (CONTRERAS-SOLIS *et al.*, 2009)

Cabras que apresentam estro natural devem ser inseminadas entre 12 e 24 horas após a observação do início do estro (SIMÕES; MASCARENHAS; BARIL, 2008), Sohnrey e Holtz (2005) inseminaram cabras de 12 a 27 horas após o início do estro natural, obtendo uma taxa de prenhez e parição de 79 % e 71%, respectivamente. Al Yacoub *et al.* (2011) relatam que cabras sincronizadas com prostaglandina devem ser inseminadas entre 16 a 18 horas após a detecção do estro.

Fiéni *et al.* (1991) observaram que cabras inseminadas por via cervical após 45 horas da remoção das esponjas apresentaram uma taxa de prenhez de 52%. Holtz *et al.*, (2008) obtiveram 58% de parição ao inseminar cabras 16 horas após a aplicação da segunda dose de GnRH, ao trabalharem com protocolo *Ovsynch*. Baril *et al.* (1996) afirmam que o uso contínuo de eCG traz prejuízos à fertilidade, e recomendam que o momento da inseminação seja atrasado, fato justificado pelo atraso fisiológico causado pela utilização de gonadotrofina coriônica equina.

Dependendo da via de inseminação, o momento mais adequado tende a variar de acordo com a metodologia utilizada, assim, a inseminação de fêmeas por laparoscopia deve ser realizada mais tardiamente do que em fêmeas inseminadas por via cervical, sendo esta diferença de até 10 horas, alcançando assim, melhores resultados de prenhez (FIÉNI *et al.*, 1991). Em ovinos, Beilby *et al.* (2009) notaram que a inseminação, por via laparoscópica, 58h após a remoção da esponja resultou nos melhores resultados de fertilidade, mesmo com doses reduzidas de sêmen.

O momento da inseminação é capaz de influenciar o sexo da cria, alguns trabalhos relatam que quando realizada mais cedo, tende a resultar em um maior número de fêmeas, e do contrário, maior número de machos (RORIE, 1999). Martinez *et al.* (2004), ao trabalharem com bovinos, observaram que um intervalo entre 8 e 18 h, entre

o início do estro e o momento da inseminação, resultou em 73,05% de fêmeas. Portanto a manipulação do momento da inseminação pode ser uma ferramenta para auxiliar na proporção de crias machos e fêmeas, resultando em um benefício econômico (MARTINEZ *et al.*, 2004; RORIE, 1999).

3.3.6 Técnicas de inseminação artificial

3.3.6.1 Transervical e Laparoscópica

A técnica de inseminação artificial por via transcervical é a mais aplicada em caprinos (VIUDES-DE-CASTRO *et al.*, 2009) e exige apenas habilidade e experiência por parte do inseminador (SOHNREY; HOLTZ, 2005) bem como material simples e de baixo custo (BALDASSARRE; KARATZAS, 2004). Diferentemente da técnica de inseminação artificial por laparoscopia, que envolve alto custo, seja este de trabalho ou equipamentos, também requer uma alta utilização de fármacos (BATISTA *et al.*, 2009; SALAMON; MAXWELL, 2000; SÁNCHEZ-PARTIDA *et al.*, 1999; SOHNREY; HOLTZ, 2005).

Os materiais inerentes à técnica por via transcervical compreendem um espéculo, fonte de luz, pipeta, bainha. O objetivo é a passagem da pipeta por todos os anéis cervicais e deposição do sêmen no útero, caracterizando uma inseminação artificial via transcervical uterina. Porém em alguns animais há dificuldade na penetração da pipeta, fazendo com que o sêmen seja depositado superficialmente à cérvix ou em seu interior.

Existe uma estreita relação entre o local de deposição do sêmen e os resultados de fertilidade. Andersson *et al.* (2004) observaram que a inseminação ipsilateral ao folículo iminente à ovular tende a melhorar a eficácia da técnica. Ritar e Salamon (1983) obtiveram uma maior percentagem de fêmeas paridas quando a deposição do sêmen foi realizada no útero, seja para apenas uma ou duas inseminações.

Visando a deposição do sêmen no útero, a utilização de fármacos (ocitocina, relaxina) que permitiriam uma inseminação cervical profunda ou mesmo uterina (SALAMON; MAXWELL, 2000). Viudes-de-Castro *et al.* (2009) relataram que em caprinos a aplicação de ocitocina, no momento da inseminação, proporcionou a deposição do sêmen mais profundamente.

Sohnrey e Holtz (2005) em busca de um método para a inseminação uterina de cabras, por via transcervical, que não envolvesse uma pipeta rígida, utilizando ao invés desta um cateter, obtiveram uma taxa de parição de 74%, superior àquelas alcançadas com o uso da laparoscopia, 53% de taxa de parição. Wulster-Radcliffe, Wang e Lewis (2004) buscaram desenvolver uma técnica para inseminação intrauterina por via transcervical em ovelhas, e relataram que não houve dano nem aos espermatozoides nem a estrutura anatômica, porém resultou em baixa fertilidade, sendo levantada a hipótese de que a manipulação da cérvix e vagina podem gerar efeitos espermicidas e embriocidas, já que a deposição transcervical, que não é um processo natural nesta espécie, poderia ativar vias que estão associadas à defesa imune do útero.

Além da via cervical, a laparoscopia poderia ser utilizada para a inseminação. Este método é responsável pela alta disseminação da inseminação artificial uterina em ovelhas (CSEH; FAIGL; AMIRIDIS, 2012). A principal vantagem da laparoscopia é a deposição do sêmen próximo ao local de fertilização, além do uso de baixa quantidade de espermatozoide. Porém há desvantagens quanto a seu uso onde há restrição alimentar sofrida pelo animal, que é dita como uma das causas de baixa fertilidade, além da tensão imposta ao animal, durante o procedimento (SOHNREY; HOLTZ, 2005).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Local do experimento

O experimento foi realizado no setor de caprinocultura leiteira, do Sítio Esperança, localizado no município de Pacatuba - CE, à latitude de 3°53'49,9" Sul, longitude de 38°34'32,5" Oeste, altitude de 70m, com clima tropical úmido, distante19 km de Fortaleza. Este pertence à instituição filantrópica Lar Antônio de Pádua.

O período experimental compreendeu os meses de março a abril (caracterizando o período chuvoso) e de agosto a setembro (caracterizando o período seco), do ano de 2012.

4.2 Animais experimentais

4.2.1 Fêmeas

Foram utilizadas 73 fêmeas, pertencentes aos grupos genéticos Saanen e seus mestiços, oriundas do cruzamento com Anglonubiano. No período chuvoso foram utilizadas 38 cabras, com peso médio de 41.2 ± 5.66 kg e 20.3 ± 3.54 meses idade. Enquanto que durante o período seco foram utilizadas 35 cabras, com peso médio de 49.2 ± 11.16 kg e 31.6 ± 13.03 meses de idade.

As fêmeas foram alojadas em baias, providas de área de solário, compreendendo 48 m²/baia, com uma lotação máxima de 12 animais, em um aprisco de alvenaria com piso de madeira ripado e suspenso. A nutrição dos animais era composta por volumoso, contendo 70% de Capim Elefante (*Pennisetum purpureum schum*) e 30% de Leucena (*Leucaena leucocephala*) e, concentrado, produzido na propriedade, possuindo 22,5% de proteína bruta, sendo adicionado neste, o suplemento vitamínicomineral comercial (Caprinofós®, Tortuga) e água *ad libitum*.

4.2.2 Machos

Foram selecionados quatro bodes, de fertilidade comprovada, das raças Saanen (dois animais) e Anglo Nubiano (dois animais), com peso médio de 61.3 ± 8.53 kg e 47.3 ± 18.9 meses de idade. Os machos eram mantidos em um aprisco de piso

ripado, suspenso, e uma área de solário, compreendendo uma área total de 218 m², situado distante do aprisco das cabras e em posição leste-oeste, de modo que seus odores não chegassem ao aprisco das fêmeas. A nutrição dos reprodutores foi composta por volumoso, contendo 70% de Capim Elefante (*Pennisetum purpureum schum*) e 30% de Leucena (*Leucaena leucocephala*) e, concentrado, produzido na propriedade, possuindo 22,5% de proteína bruta, sendo adicionado neste, o suplemento vitamínicomineral comercial e 3% de bicarbonato de sódio e água *ad libitum*.

Todos os animais se apresentavam livres de patologias, assim sendo, em bom estado sanitário, para serem incluídos no procedimento experimental.

4.3 Variáveis climáticas

Foi utilizado um termohigrômetro digital (INCONTERM®), para as medições de temperatura ambiental (TA) e umidade relativa do ar (UR), localizado dentro do galpão das fêmeas. O equipamento foi posicionado na altura do centro de massa do animal, no inicio e ao final do efeito macho, durante os turnos da manhã e tarde bem como no momento da inseminação artificial.

Os dados coletados de TA e UR foram posteriormente utilizados para calcular o Índice de Temperatura e Umidade (ITU), para o período experimental, de acordo com a fórmula de Thom (1959).

ITU = 0.8 x TA + (UR (%) / 100) x [(TA - 14.4) + 46.4], onde:

TA = Temperatura do ar em °C

UR = Umidade Relativa do ar em %

O ITU tem por finalidade medir a condição de conforto térmico.

4.4 Coleta, análise e preparo do sêmen

Foi realizado exame andrológico em cada reprodutor (CBRA, 1998), anteriormente a cada período experimental, tendo por objetivo verificar as condições reprodutivas dos mesmos. A coleta de sêmen foi realizada por meio de uma vagina artificial, acoplada a esta, um tubo coletor e um tubo falcon de 15 mL, com auxílio de uma fêmea em estro (manequim).

Após a coleta o sêmen foi analisado em microscópio, tendo suas características seminais avaliadas quanto ao volume, cor, aspecto, movimento de massa,

motilidade total, motilidade individual progressiva, vigor, concentração. Também foram confeccionadas lâminas, coradas com azul de bromofenol, para avaliação morfológica dos espermatozoides. Foram realizadas três coletas de sêmen de cada reprodutor, antes de se iniciar o período experimental.

No momento da inseminação, o sêmen seguiu o mesmo procedimento de coleta e análise, e teve como parâmetros avaliados, volume, cor, aspecto, motilidade massal. Após a análise, o sêmen foi mantido em banho-maria, a 37 °C. O diluidor utilizado foi soro fisiológico comercial, também mantido em banho-maria, a 37 °C. O volume de diluidor necessário foi calculado para obter uma concentração final estabelecida de 200 x 10⁶ sptz/dose. Após estes cálculos, foi realizado o procedimento de enchimento das palhetas, de 0,25mL, pré-aquecidas em placa aquecedora (37 °C), para evitar choque térmico. Logo após o envasamento do sêmen, as palhetas eram utilizadas rapidamente para a realização da inseminação artificial.

4.5 Indução e sincronização do estro

Para indução e sincronização do estro, foi realizado o efeito macho, método de bioestimulação, natural, sem a utilização de hormônios exógenos. Os bodes ficaram separados das cabras por um período de quatro semanas, anterior ao início do período experimental, tendo em vista que um dos princípios do efeito macho é a prévia separação dos progenitores (machos e fêmeas) anterior ao seu início. No período da manhã e tarde, o bode era conduzido às baias das fêmeas do experimento, onde permanecia por 15 minutos em cada baia, para que houvesse as interações sociais características do efeito macho, sob a supervisão do manejador. Totalizando assim, uma duração de efeito macho/baia de 30 minutos diários.

A detecção do estro era realizada durante a prática do efeito macho. A cabra foi considerada em estro, no momento em que aceitava ser montada pelo reprodutor (LEBOEUF *et al.*, 2003), este era impedido, manualmente, pelo manejador, de concretizar a cópula.

4.6 Inseminação artificial

A inseminação artificial foi realizada por via transcervical, objetivando a deposição do sêmen no útero, com a utilização de pipeta (IMV®), específica para pequenos ruminantes, revestida por bainha.

As fêmeas foram inseminadas 24-30 horas após o momento da detecção do estro. Se a fêmea observada em estro no dia anterior não estivesse em estro no dia seguinte, momento da inseminação artificial, o procedimento de inseminação artificial era realizado. Assim, como exemplo, se uma fêmea se encontrava em estro no dia 05, e dia 06 ela não estivesse mais em estro, esta seria inseminada; já no caso de uma fêmea apresentar estro longo, ou seja, dia 05 em estro, e no dia 06 (provável dia da inseminação) ela ainda estivesse em estro, a inseminação desta cabra seria realizada no dia seguinte (Figura 2).

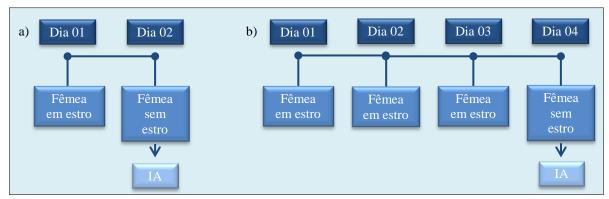


Figura 2. Esquema explicativo da realização da inseminação (a: cabra com duração de estro normal; b: cabra com duração de estro longa).

A inseminação era realizada na própria baia em que a cabra se encontrava para evitar situação de estresse. A cabra era contida de maneira que ficasse com o quarto posterior levantado, permitindo a visualização da cérvix pelo inseminador. O procedimento da inseminação era realizado de maneira tranquila e rápida, evitando assim todo tipo de estresse desnecessário.

Após a contenção, o espéculo vaginal do tipo bico de pato (lubrificado com glicerina líquida), com fonte luminosa, era inserido na vagina possibilitando assim a visualização da cérvix. Em seguida, a pipeta de inseminação era introduzida em direção à entrada da cérvix e levemente forçada, com a finalidade de passar os anéis cervicais, objetivando assim a inseminação intrauterina. Posteriormente a inseminação artificial, a cabra era colocada em posição de estação de maneira lenta e tranquila. Todo o material

de inseminação, após o uso individual em cada cabra, era submetido ao procedimento de limpeza e desinfecção.

4.7 Diagnóstico de gestação

O diagnóstico de gestação foi realizado 35 dias após a última inseminação do período experimental, por ultrassonografia utilizando um aparelho da marca CHISON®, modelo D600VET, com transdutor transretal de 5,0 MHz.

4.8 Variáveis estudadas

Foi avaliada a eficiência do efeito macho, as característica dos estros (duração, repetição de estro, intervalo entre estros, tipo de ciclo estral entre os estros), a eficácia da inseminação precedida pelo efeito macho (taxa de prenhez e taxa de parição), bem como o efeito do período do ano, chuvoso ou seco, sobre as variáveis supracitadas.

4.9 Análise estatística

Para as análises estatísticas utilizou-se o programa SYSTAT versão 12 (SYSTAT Software, Inc.).

As médias do intervalo entre o início do efeito macho e a manifestação do estro (primeiro e segundo estro) em dias, a duração do estro em horas (primeiro e segundo), o intervalo entre o início do efeito macho e a realização da inseminação em dias, o intervalo entre o primeiro e o segundo estro e o estro fértil em dias, foram avaliadas pelo teste *t de Student*, a 5% de probabilidade.

Os dados de indução do estro, repetição de estro, tipo de ciclo estral do segundo estro, taxa de prenhez e taxa de parição, foram avaliados pelo teste de *Pearson Chi-square* a 5% de probabilidade.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Variáveis ambientais

Os dados ambientais, temperatura ambiente (TA), umidade relativa do ar (UR) e o índice de temperatura e umidade (ITU), bem como seus valores máximos (máx.) e mínimos (mín.), para os períodos chuvoso (março-abril) e seco (agosto-setembro), são apresentados na tabela 1.

Tabela 1. Dados climáticos para os períodos chuvoso e seco, durante a realização do experimento.

PERÍODO	TA	UR	ITU	ITU máx.	ITU mín.
Chuvoso	30,5	80,8 ^a	83,8 ^a	85,2 ^a	81,7 ^a
Seco	30,1	54,9 ^b	78,9 ^b	88,0 ^b	71,3 ^b

TA: temperatura ambiente; UR: umidade relativa do ar; ITU: índice de temperatura e umidade (THOM, 1989), valor máximo (ITU máx.) e valor mínimo (ITU mín.). Letras diferentes (a,b) na mesma coluna, mostram diferenças entre os períodos (P<0,05)

Não houve diferença (P>0,05) para a TA média, entre os períodos, porém os valores médios UR e ITU foram superiores (P<0,05) para o período chuvoso. O ITU mínimo foi maior (P<0,05) para o período chuvoso, enquanto que o ITU máximo mostrou ser mais elevado (P<0,05) para o período seco.

De acordo com Hahn (1985) o ITU está diretamente relacionado à condição de estresse proporcionada ao animal promovido pelo ambiente, onde valores inferiores ou iguais a 70 indicam condição normal, não estressante; entre 71 e 78 são considerados críticos; entre 79 e 83 indicam perigo; e acima de 83 caracterizam uma situação de emergência (1985). Para o presente trabalho, os valores de ITU são mais elevados que os relatados por Vitaliano (2011) e Souza (2010), sendo superiores aos ideais como proposto por Hahn (1985), caracterizando situação de emergência para o período chuvoso, e de perigo para o período seco. Em âmbito reprodutivo, o estresse térmico é capaz de prejudicar desde a formação dos gametas até o desenvolvimento fetal (HANSEN, 2009) reduzindo a eficiência reprodutiva (JORDAN, 2003). García-Ispierto et al. (2006) observaram que, para vacas leiteiras, quanto maior os valores do ITU

menores foram as taxas de gestação, de modo que para ITU superiores à 69 esta perda apresentou valores de 12%. Além disso, relataram que o risco perda embrionária foi de 3,4 vezes maior para gestações duplas em relação a gestações simples.

Houve uma intensa variação climática durante o período chuvoso (figura 3). Estas mudanças, juntamente com alta umidade, podem ser consideradas uma das causas que resultaram na menor eficiência reprodutiva para este período.

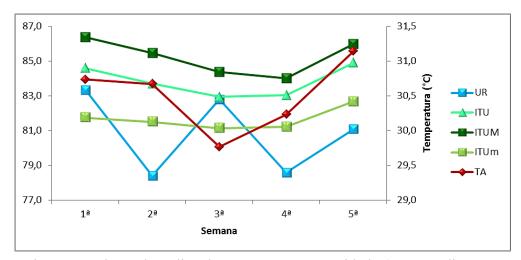


Figura 3. Valores do índice de Temperatura e Umidade (ITU; médio, máx. e mín.), Umidade Relativa do Ar (UR) e Temperatura Ambiente (TA), para o período chuvoso.

Marai *et al.* (2007) concluíram que o estresse térmico é fator potencial para atuar negativamente sobre as funções reprodutivas de fêmeas. Em caprinos, Romero-R, López e Luna-M (1998) relatam que o estresse térmico leva à secreção de cortisol, e como consequência é capaz de provocar aborto. Além disso, Ozawa *et al.* (2005) observaram que o estresse térmico é capaz de reduzir os receptores de LH presentes no folículo, a taxa de crescimento do folículo e concentração de estradiol, atuando assim negativamente sobre a função folicular.

5.2 Variáveis reprodutivas

Os resultados associados à eficiência do efeito macho em induzir estro em cabras leiteiras estão apresentados na tabela 2. O período do ano, chuvoso ou seco, não demonstrou exercer influência (P>0,05) sobre os resultados de eficiência do efeito

macho, seja para percentagem de estro, seja para os intervalos entre o início do efeito macho e aparecimento dos estros ou inseminações, bem como sobre a duração do estro.

Bedos *et al.* (2012), ao trabalharem com efeito macho à latitude 26°N, afirmaram que o macho sexualmente ativo é fator primordial para uma bioestimulação eficaz resultando em resposta ovulatória. Quando os bodes se encontram sexualmente ativos, realizam uma maior frequência de comportamentos sexuais (VÉLIZ *et al.*, 2002), o que favorece a qualidade do estímulo, fator de grande importância para o sucesso do efeito macho (VÉLIZ *et al.*, 2006). Isto esclarece os bons resultados de indução do estro durante ambos os períodos, já que, na região onde o estudo foi realizado, os animais não sofrem influência negativa do fotoperíodo, permanecendo sexualmente ativos, principalmente os machos, durante todo o ano.

Tabela 2. Eficiência do Efeito Macho na indução do estro de cabras leiteiras durante o período chuvoso e seco.

Período	n	% Estro		IEME	IEMIA	DE
Chuvoso 3	-	-	\overline{x}	$10,8 \pm 1,34$	$12,8 \pm 1,53$	$22,9 \pm 3,29$
	38	94,7	Max	27	31	96
			Min	0	1	12
Seco 35			\overline{x}	$11,4 \pm 1,46$	$13,1 \pm 1,42$	$24,0 \pm 2,56$
	35	94,3	Max	30	31	48
			Min	2	3	12
Total	73	94,5		11,1	12,9	23,4

 \bar{x} : média; Max: valor máximo; Min: valor mínimo; IEME: Início do efeito macho aparecimento dos estros (em dias); IEMIA: início do efeito macho realização da inseminação artificial (em dias); DE: duração do estro (h).

O efeito macho foi eficiente, induzindo estro em 94,5% das cabras, não havendo diferença (P>0,9) entre os períodos chuvoso (94,7%) e seco (94,3%). Apenas duas fêmeas, em ambos os períodos, não manifestaram estro. Estes resultados são semelhantes aos de Celi *et al.* (2013) que obtiveram 100% de estro e superiores aos de Sampaio *et al.* (2012) onde relataram que apenas 47% das cabras apresentaram estro. Assim, confirma-se a afirmação de Mellado, Olivas e Ruiz (2000) o qual destacaram que em regiões onde o efeito macho é comprovadamente eficaz dever-se-ia dispensar o

uso de tratamentos hormonais, e utilizar apenas a bioestimulação, já que este método é capaz de gerar bons resultados quanto à eficiência reprodutiva.

Em termos gerais, o intervalo entre o início do efeito macho e início dos estros (IEME), foi de 11 dias, semelhantes aos de Zarazaga *et al.* (2012) e Llewelyn *et al.* (1993), e superiores aos de Poindron, Malpaux e Delgadillo (2007) que relataram um intervalo de 2.5 ± 0,4 dias ao trabalhar com cabras confinadas. Sabe-se que o tipo de tratamento empregado sobre a fêmea (fotoperíodo, progestágenos, melatonina), aliado ao efeito macho, é capaz de modificar este intervalo, como observado por Chemineau *et al.* (1986), ao incorporar a utilização de melatonina e fotoperíodo artificial, e Mellado, Olivas e Ruiz (2000), ao empregar Norgestomet[®], ambos em associação ao efeito macho, notaram um efeito redutor destes tratamentos sobre o intervalo entre o início do efeito macho e a manifestação dos estros, sem prejuízos à indução do estro.

Outra hipótese que justifique este maior intervalo observado no presente estudo, pode ser resultado dos diferentes estágios do ciclo estral em que os animais se encontravam no início do efeito macho. Como visto por Hawken *et al.* (2007), na espécie ovina, o efeito macho é capaz de elevar os níveis de LH em qualquer que seja a fase do ciclo estral, porém suas consequências não estão claras. Entretanto, Hawken *et al.* (2009), trabalhando com cabras cíclicas submetidas ao efeito macho, não observaram a elevação da concentração dos níveis de LH durante a fase *mid-luteal*.

A distribuição semanal dos estros (1º estro) é apresentada na figura 4. Tanto para o período chuvoso quanto para o período seco, um maior número de cabras em estro foi observado logo na primeira semana. Estes achados estão de acordo com os de Chemineau (1983) onde relatou uma maior manifestação de estro durante os primeiros dias do início do efeito macho em cabras "criolas" em clima temperado. Todavia, são distintos dos achados de Vitaliano (2011) que observou uma maior quantidade de estros durante a terceira semana, ao avaliar o efeito macho em cabras Saanen, criadas em clima tropical.

O intervalo entre o início do efeito macho e a execução da inseminação artificial (IEMIA), consistiu em geral de 13 dias, com um máximo de 31 dias para ambos os períodos, chuvoso e seco. Estes resultados são análogos aos de IEME, já que o dia da realização da inseminação artificial era dependente do momento em que a cabra manifestasse estro, ou seja, resposta ao efeito macho.

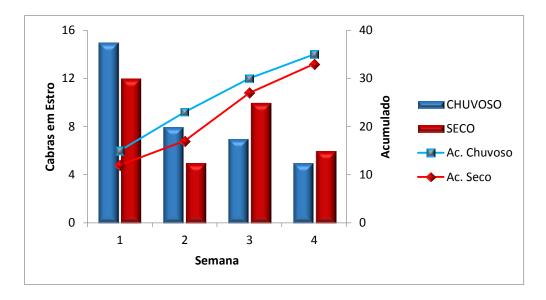


Figura 4. Distribuição semanal e acumulada de estros (1º estro), de cabras leiteiras submetidas à indução do estro pelo uso do efeito macho, para os períodos chuvoso e seco (Ac chuvoso: acumulado chuvoso; Ac. Seco: acumulado Seco).

A duração do estro (DE), em horas, foi semelhante em ambos os períodos, chuvoso e seco, resultando em uma média de 23,4 horas. No entanto, durante o período chuvoso uma fêmea apresentou estro com duração de 96 horas, enquanto que no período seco, o valor máximo para a duração do estro foi de 48 horas. Esta longa duração do estro pode ser resultado da ausência de estímulo sobre o fórnix, já que ao invés de serem cobertas por monta natural, era realizada a inseminação artificial. Como visto por Romano e Fernandez Abella (1997), cabras que foram copuladas naturalmente por machos, tiveram sua duração do estro diminuída, em média, por 10 horas. A duração do estro também sofre influência da raça, Camp *et al.* (1983), ao trabalhar com cabras Nubianas multíparas, observaram que a duração do estro apresentou média de 72 horas.

Quando se trabalha com efeito macho é comum que cabras retornem em estro, muito provavelmente, pela má formação do corpo lúteo tendo como consequência uma fase luteal transiente (THOMPSON; ABRAMS; MILLER, 1983), assim, de curta duração (ROSA; BRYANT, 2002). A tabela 3 apresenta as características dos ciclos estrais das fêmeas que retornaram em estro.

Tabela 3. Percentagem de cabras que retornaram ao estro (Estro²), médias do intervalo entre o início do efeito macho e manifestação do segundo estro (IEME²), intervalo entre estros (IEE) e duração do segundo estro (DE²), bem como tipo de ciclo estral (TCE) de cabras leiteiras submetidas ao efeito macho.

Período	Estro ² (%)	IEME ²	IEE (dias)	DE ² (h)	TCE		
					CN	CC	CL
Chuvoso	61	27,8ª	20,3ª	23,1	20ª	2ª	1
Seco	70	21,1 ^b	11,5 ^b	26,2	7 ^b	15 ^b	0
Total	65	24,6	15,9	24,7	27	17	1

*Letras distintas na mesma coluna (a,b), P<0,05. TCE: Tipo de ciclo estral; CN: ciclo normal; CC: ciclo curto; CL: ciclo longo

Em geral, 65% das cabras submetidas ao efeito macho retornaram em estro pelo menos uma vez, sendo que, durante o período chuvoso uma cabra apresentou quatro estros, enquanto que durante o período seco, duas cabras apresentaram três estros. Walkden-Brown e Restall (1993) relataram que 95% das cabras que manifestaram estro até o quinto dia de exposição ao macho retornaram em estro apresentando ciclo curto. O estabelecimento da ciclicidade pode ser caracterizado pela alta frequência de ciclos estrais curtos, como observado por Abi Ssalloum e Claus (2005).

O intervalo entre o início do efeito macho e a manifestação do segundo estro (IEME²), bem como o intervalo entre estros (IEE) sofreram influência do período experimental (P<0,05), sendo ambos, superiores para o período chuvoso. Este fato está relacionado ao tipo de ciclo estral (TCE) apresentado durante o segundo estro, já que para o período chuvoso, em sua maioria, foi classificado como de normal duração, havendo apenas dois ciclos curtos e um de longa duração. Não obstante, para o período seco ocorreu um maior número (P<0,05) de cabras apresentando ciclos de curta duração (15) e apenas sete ciclos de duração normal. Esta alta frequência de ciclos curtos está de acordo com os achados de Chemineau (1983) que observou uma alta percentagem de fêmeas apresentando ciclos de curta duração após a introdução do macho.

Ciclos de curta duração estão associados ao desenvolvimento anormal do corpo lúteo (SIGNORET, 1980), consequentemente à ineficiência do corpo lúteo em manter elevados os níveis de progesterona (CHEMINEAU *et al.*, 2006), levando à

liberação precoce de PGF₂α pelo útero, resultando em ciclos estrais de duração reduzida (LASSOUED *et al.*, 1997). Esta menor produção de progesterona pode está conexo aos achados de Cárdenas, Wiley e Pope (2004), onde relataram que corpos lúteos de ovelhas, advindos de ciclos com duração igual ou superior a 18 dias tendem a apresentar uma maior quantidade de células da granulosa, o que favoreceria a produção de progesterona.

A incapacidade do corpo lúteo em manter uma fase lútea normal é resultado de diversos fatores, dentre estes, seu processo de formação, podendo estar correlacionado à baixa qualidade do folículo recrutado, como destacado por Chemineau *et al.* (2006) e Pellicer-Rubio *et al.* (2012). Gonzalez-Bulnes *et al.* (2006) constataram que ciclos curtos são dependentes do estágio de desenvolvimento folicular no momento da introdução do macho, e estão diretamente relacionados ao menor número de folículos pré-ovulatórios e corpos lúteos, como visto por Camp *et al.* (1983).

O ciclo estral de curta duração teve média de 7,7 dias, variando de 5-12 dias. Walkden-Brown e Restall (1993) observaram que a duração do ciclo curto de cabras australianas foi, em média de 5,4 dias, variando de 2-8 dias. Dados semelhantes foram relatados por Véliz *et al.* (2006), ao estudar a resposta reprodutiva de cabras mexicanas, previamente isoladas dos machos, submetidas ao efeito macho, notaram que o comprimento do ciclo estral curto destas fêmeas foi de 5,6 dias.

Quanto à duração do estro para a segunda manifestação de estro (DE²), este se apresentou semelhante entre os períodos, resultando em uma média de 24,7 horas, não sendo distintos dos valores obtidos ao primeiro estro (tabela 2), com valores máximos de 48h e 96h, para o período chuvoso e seco, respectivamente. Estes achados estão de acordo com os relatos de Camp *et al.* (1983), onde notaram que não há diferença na duração do estro, seja este precedido de ciclo estral curto ou longo.

A distribuição semanal, dos primeiros estros e quantidade de estros subsequentes (ES) de cabras que retornaram em estro é ilustrada na figura 5. Houve um total de 20 estros subsequentes, para um total de 17 fêmeas para o período chuvoso (dois estros: 15 fêmeas; três estros: 1 fêmea; quatro estros: 1 fêmea). Já para o período seco, 22 cabras retornaram em estro, resultando em 32 estros subsequentes, (dois estros: 13 cabras; três estros: 6 cabras; quatro estros: 2 cabras).

Trabalhos envolvendo métodos naturais para indução do estro, com utilização do efeito macho ou de fotoperíodo, ainda são escassos, dentre estes, temos o de Restall (1988) e Moore e Hall (1991). Na tabela 4 são apresentados os valores

relacionados à eficiência do emprego da inseminação artificial, em substituição à monta natural, ao utilizar o efeito macho como indutor do estro de cabras leiteiras.

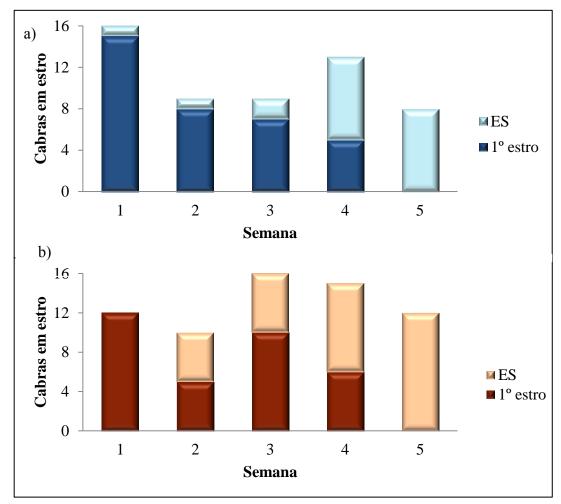


Figura 5. Distribuição semanal, de cabras em estro (1º estro) e quantidade de estros subsequentes (ES) de cabras que retornaram em estro (a: período chuvoso; b: período seco).

A fertilidade para o período seco foi proporcionalmente superior, 57,6%, porém não houve diferença (P>0,05) quanto ao período chuvoso, 44,4%. Estes resultados são superiores aos encontrados por Morais *et al.* (2008) ao inseminar cabras mestiças, pertencentes ao grupo genético ½ Murciano x ½ SPRD, com estro sincronizado com esponjas impregnadas com progestágenos (MAP), resultando em 36,5 de prenhez à primeira inseminação.

No entanto, a taxa de parição mostrou uma tendência a ser superior (P=0,57) para o período seco, resultando em 57,6%, enquanto que, para o período chuvoso a taxa de parição obtida foi de 36,1%. Esta ação do período do ano (chuvoso e seco) sobre os

resultados de fertilidade também foram encontrados por Figueirêdo *et al.* (2007), que ao inseminar ovelhas Santa Inês, obteve um aumento de aproximadamente 18% na taxa de prenhez destas fêmeas quando a inseminação artificial foi realizada durante o período seco.

Estas taxas de fertilidade e parição satisfatórias, porém não elevadas, pode estar relacionado à variação do momento do pico de LH, que se apresenta bastante variável quando se emprega o efeito macho, e desta forma se põe como um entrave para a associação entre o efeito macho e a inseminação artificial (PELLICER-RUBIO *et al.*, 2007)

Tabela 4. Eficiência da utilização do efeito macho como indutor e sincronizador do estro de cabras leiteiras submetidas à inseminação.

Período	Fêmeas inseminadas	Taxa de fertilidade (%)	Taxa de parição (%)	Estro fértil
Chuvoso	36	44,4	36,1*	$1,6 \pm 0,20$
Seco	33	57,6	57,6*	$2,2\pm0,21$
Total	67	51,0	46,9	1,9

^{* (}P=0,57).

Em geral, os resultados de fertilidade obtidos no presente trabalho são inferiores aos obtidos por Restall (1988), ao inseminar cabras induzidas ao estro pelo efeito macho, utilizando sêmen fresco, com $200x10^6$ espermatozoides por dose. No entanto, são semelhantes aos relatados por Moore e Hall (1991), empregando efeito macho e inseminação, obtiveram 56% de cabras gestantes, e superiores aos de Zaragaza *et al.* (2012), ao trabalhar com efeito macho e monta natural, obtiveram apenas 43,8% de fertilidade.

Uma hipótese para esta menor parição, decorrente do período chuvoso, pode ser a elevada variação climática (figura 3) durante este período experimental. O efeito do clima é capaz de exercer influência sobre a reprodução, tanto em machos quanto nas fêmeas. O estresse térmico atua diretamente sobre o eixo reprodutivo podendo levando à redução da fertilidade (RENSIS; SCARAMUZZI, 2003) pode ser responsável pela liberação de prostaglandina, culminando em perda embrionária. Biggers et al. (1987) observaram que o peso do concepto foi inferior em vacas submetidas ao estresse

térmico, evidenciando que existe um efeito do ambiente sobre o desenvolvimento embrionário. Berg et al. (2010) relataram que a perda embrionária no início da gestação pode ser advinda de problemas durante migração transuterina. Assim, o estresse sofrido pela fêmea durante a fase inicial da gestação pode levar a modificações fisiológicas que irão atuar sobre a viabilidade do embrião, consequentemente sobre seu desenvolvimento.

Putney, Orost e Thatcher (1989) apontaram que a transferência de embriões de qualidade, em substituição à inseminação artificial, para vacas leiteiras em estresse térmico, resultou em uma melhor taxa de gestação. Também Bedos *et al.* (2012) observaram que machos sofrem influência do clima, tendo seus comportamentos reprodutivos, quando em contato com as fêmeas, diminuídos com o decorrer do dia, por interferência da elevação da temperatura.

A variável estro fértil (EF) foi determinada como sendo o estro no qual a fêmea tornou-se prenhe, podendo ser observado claramente na figura 6, onde é discriminado o número de cabras prenhes de acordo com a sequência de estro (1°, 2°, 3° e 4°). Em geral, o segundo estro foi mais propício a resultar em prenhez, seja para o período chuvoso ou seco. Este fato pode estar relacionado aos achados de Chemineau (1983) onde observou uma elevação superior a 20% na quantidade de estros seguidos por ovulação para o segundo estro em comparação ao primeiro estro, ou uma maior taxa de ovulação, como relatado por Delgadillo *et al.* (2011).

Em consonância, para o período chuvoso, cabras que apresentaram dois estros ou mais, durante o período experimental, obtiveram 50% de fertilidade. Fato observado com maior efeito para o período seco. Das 11 cabras que apresentaram apenas um estro apenas quatro tornaram-se prenhes (36%) e uma apresentou pseudogestação. No entanto, 22 cabras que apresentaram dois ou mais estros, resultaram em 68% de fertilidade.

Isto pode ser resultado da regulação fisiológica, que atua sobre a função reprodutiva, após a introdução do macho. Alguns autores relatam que uma boa parte das fêmeas quando submetidas ao efeito macho apresentam curtos intervalos entre o 1° e 2° estro, e esta ação da progesterona, mesmo que resultante do ciclo curto, pode resultar numa maior fertilidade (RESTALL, 1988).

Restall (1988) observou que a inseminação realizada nos primeiros cinco dias do início do efeito macho, resultou em uma taxa de concepção de apenas 18,9%

enquanto que para o período de 6-10 do seu início, foi obtido um percentual de 82,4%, e inferiu que a fertilidade para o primeiro estro induzido é baixa e variável.

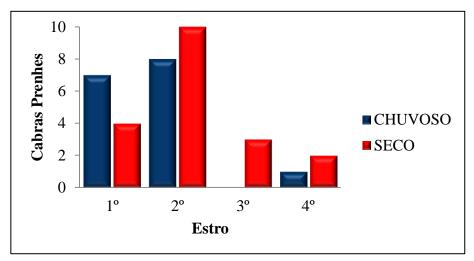


Figura 6. Distribuição de cabras prenhes por estro em que foi inseminada, para o período chuvoso e seco.

O número total de estros, inseminações e cabras férteis, por semana, é apresentado na figura 7 (a: período chuvoso e b: período seco). Vale ressaltar que algumas cabras manifestaram estro em uma determinada semana e foram inseminadas na semana seguinte, por este fato, o número de cabras em estro e inseminações podem não coincidir semanalmente, mas no total são harmônicos.

Foram realizadas 55 inseminações durante o período chuvoso, e 65 durante o período seco. Com isso, ao calcularmos o número de inseminações por cabra prenhe, obtemos uma média de 3,4 inseminações por prenhez, um valor alto, porém resultante dos vários ciclos estrais, repetições, apresentados pelas fêmeas durante o período experimental. Uma hipótese para esta alta relação, Inseminação Artificial vs. Fertilidade, poderia ser associado ao momento da execução da inseminação, em especial para fêmeas que apresentaram estros de longa duração, já que cabras ovulam no terço final do estro (ROMANO; FERNANDEZ ABELLA, 1997), o que resultaria em uma inseminação tardia reduzindo a possibilidade de prenhez.

Podemos perceber que a fertilidade foi mais elevada na quarta e quinta semana. Isto estaria possivelmente vinculado à adequação fisiológica ao qual a cabra é submetida, ajustando o eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal após o início do efeito macho, regulando assim sua ciclicidade reprodutiva, tornando a fêmea apta à concepção.

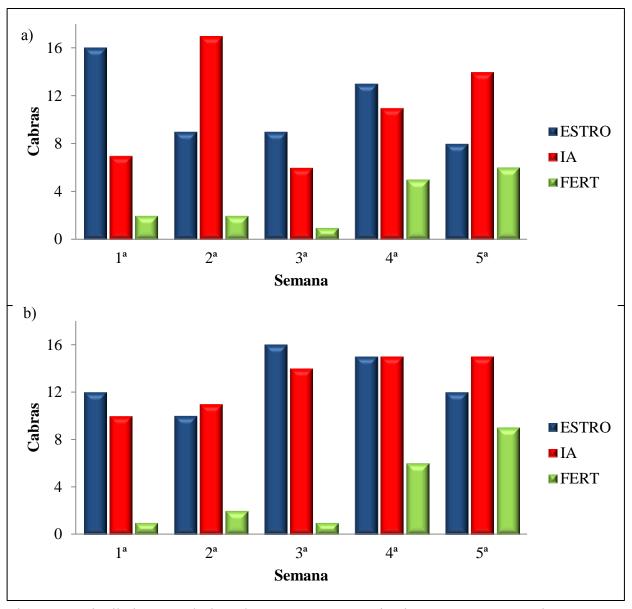


Figura 7. Distribuição total de cabras em estro – primeiro estro e estro subsequente -, inseminadas e férteis por semana. (a: período chuvoso; b: período seco).

6 CONCLUSÕES

A inseminação artificial de cabras com estro induzido e sincronizado pelo uso do efeito macho, realizada 24 horas após a identificação do estro, é um manejo simples e viável resultando em índices reprodutivos satisfatórios.

A inseminação artificial com emprego do efeito macho deve ser realizada a partir do segundo estro, visto que as taxas de prenhez e parição, obtidas neste estudo foram mais elevadas para fêmeas inseminadas neste momento da estação de monta.

O período chuvoso exerceu influência negativa sobre a taxa de parição. Não obstante, observou-se que o período seco é menos impactante em termos de desconforto ambiental, sendo mais favorável para o emprego da inseminação artificial em associação com o efeito macho.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em face das condições climáticas desfavoráveis – ITU alcançando valores de emergência e perigo – em que o trabalho foi realizado, melhorias nas instalações são necessárias, objetivando melhor conforto ambiental para um desempenho reprodutivo mais satisfatório de cabras Saanen com o emprego da inseminação artificial com a utilização do efeito macho.

REFERÊNCIAS

ABENAYAWARDENE, S. A.; POPE, G. S. Concentrations of oestradiol-17ß in plasma and milk and progesterone in plasma during the oestrus cycle and in early pregnancy in goats. **British Veterinary Journal**, v. 146, n. 2, p. 1–5, 1990.

ABI SALLOUM, B.; CLAUS, R. Interaction between lactation, photoperiodism and male effect in German Merino ewes. **Theriogenology**, v. 63, n. 8, p. 2181–93, maio. 2005.

AL YACOUB, A. N. et al. Fixed-time deep uterine insemination in PGF2 α -synchronized goats. **Theriogenology**, v. 76, n. 9, p. 1730–5, dez. 2011.

ALI, A K. et al. Relationships among lactation and reproduction traits of dairy goats. **Journal of dairy science**, v. 66, n. 9, p. 1926–36, set. 1983.

ALLISON, C.; HAGEVOORT, G. R. **Artificial Insemination of Dairy Goats**. Disponível em: http://aces.nmsu.edu/pubs/_d/d-704/welcome.html>.

ALVAREZ, L. et al. Social dominance of female goats affects their response to the male effect. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 84, p. 119–126, 2003.

ÁLVAREZ, L.; ANDRADE, S. El efecto macho reduce la edad al primer estro y ovulación en corderas pelibuey. **Archivos De Zootecnia**, v. 57, n. 217, p. 91–94, 2008.

ALVAREZ, L.; RAMOS, A. L.; ZARCO, L. The ovulatory and LH responses to the male effect in dominant and subordinate goats. **Small Ruminant Research**, v. 83, p. 29–33, 2009.

ANDERSSON, M. et al. Effect of insemination with doses of 2 or 15 million frozenthawed spermatozoa and semen deposition site on pregnancy rate in dairy cows. **Theriogenology**, v. 61, n. 7-8, p. 1583–8, maio. 2004.

ANDRIOLI, A. et al. Fatores de risco na transmissão do lentivírus caprino pelo sêmen. **Pesq. agropec. bras.**, v. 41, n. 8, p. 1313–1319, 2006.

ANWAR, M.; AHMAD, K. . Ovulation rate, number of fetuses and embryo loss in Teddy goats of Pakistan. **Small Ruminant Research**, v. 31, n. 3, p. 281–283, fev. 1999.

APU, A. S. et al. A comparative study of fresh and frozen-thawed semen quality in relation to fertility of Black Bengal goats. **Iranian J. Appl. Anim. Sci.**, v. 2, n. 2, p. 157–161, 2012.

ARAÚJO, A. A.; DACHEUX, J.-L.; YVON, G. Insémination Artificielle Ovine: Mise au point d'un dilueur de conservation en milieu liquide pour la semence ovine en vue de l'insémination artificielle. 1. ed. Saarbrucken: AV Akademikerverlag GmbH & Co., 2012. p. 172

- AVDI, M.; LEBOEUF, B.; TERQUI, M. Advanced breeding and "buck effect" in indigenous Greek goats. **Livestock Production Science**, v. 87, n. 2-3, p. 251–257, maio. 2004.
- AZEVEDO, H. C. .; MACHADO, R. .; SIMPLICIO, A. A. Efeito da nuliparidade sobre a fertilidade de cabras moxotó inseminadas artificialmente pela via transcervical Anais da XXXV Reunião da SBZ. Anais...Botucatu SP: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1998
- BALDASSARRE, H.; KARATZAS, C. N. Advanced assisted reproduction technologies (ART) in goats. **Animal reproduction science**, v. 82-83, p. 255–66, jul. 2004.
- BARIL, G. et al. Synchromzation of estrus in goats: The relationship between eCG binding in plasma, time of occurrence of estrus and fertility following artificial insemination. artificial insemination. **Theriogenology**, v. 45, n. 96, p. 1553–1559, 1996.
- BARIL, G.; LEBOEUF, B.; SAUMANDEL, J. Synchronization of estrus in goats: The relationship betwfen time of occurrence of estrus and fertility following artificial. **Theriogenology**, v. 40, p. 621–628, 1993.
- BATISTA, M. et al. Successful artificial insemination using semen frozen and stored by an ultrafreezer in the Majorera goat breed. **Theriogenology**, v. 71, n. 8, p. 1307–15, maio. 2009.
- BEDOS, M. et al. Sexually active bucks are able to stimulate three successive groups of females per day with a 4-hour period of contact. **Physiology & behavior**, v. 106, n. 2, p. 259–63, 15 maio. 2012.
- BEILBY, K. H. et al. The effect of insemination time and sperm dose on pregnancy rate using sex-sorted ram sperm. **Theriogenology**, v. 71, n. 5, p. 829–35, 15 mar. 2009.
- BERG, D. K. et al. Embryo loss in cattle between days 7 and 16 of pregnancy. **Theriogenology**, v. 73, n. 2, p. 250–60, 15 jan. 2010.
- BERRY, D. P.; CROMIE, A R. Artificial insemination increases the probability of a male calf in dairy and beef cattle. **Theriogenology**, v. 67, n. 2, p. 346–52, 15 jan. 2007.
- BIGGERS, B. G. et al. Effect of Heat Stress on Early Embryonic Development in the Beef Cow. **Journal of Animal Science**, v. 64, p. 1512–1518, 1987.
- BOTT, E. M. et al. Detection of morphological changes of the ovine cervix in response to sex steroids using a fluorescence confocal endomicroscope. **American journal of obstetrics and gynecology**, v. 194, n. 1, p. 105–12, jan. 2006.
- BRUCE, H. M. A block to pregnancy in the mouse caused by proximity od strange males. **Journal of reproduction and fertility**, v. I, p. 96–103, 1959.
- BURGUETE, I. et al. Effect of buck, year and season of insemination on prolificacy of Murciano Granadina goats. **Small Ruminant Research**, v. 29, p. 1989–1991, 1998.

CAMP, J. C. et al. Ovarian activity during normal and abnormal length estrous cycles in the goat. **Biology of reproduction**, v. 28, n. 3, p. 673–81, abr. 1983.

CÁRDENAS, H.; WILEY, T. M.; POPE, W. F. Prostaglandin F2alpha-induced estrus in ewes exhibiting estrous cycles of different duration. **Theriogenology**, v. 62, n. 1-2, p. 123–9, jul. 2004.

CARDOSO, D.; PEIRÓ, J. R.; NOGUEIRA, G. P. Concentração de LH em novilhas da raça nelore da desmama à primeira ovulação. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 4, p. 1277–1284, 2009.

CASTAÑEDA, M. DE L. A. et al. Comunicación química en mamíferos domésticos. **Vet. Méx**, v. 38, n. 1, p. 105–123, 2007.

CBRA. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal.** 2. ed. Belo Horizonte: [s.n.]. p. 54

CELI, I. et al. Influence of the male effect on the reproductive performance of female Payoya goats implanted with melatonin at the winter solstice. **Animal reproduction science**, v. 137, n. 3-4, p. 183–8, mar. 2013.

CERBITO, W. A. et al. Evidence of ovulation in goats (Capra hircus) with short estrous cycle and its occurrence in the tropics. **Theriogenology**, v. 43, p. 803–812, 1995.

CHANVALLON, A et al. Sexual experience and temperament affect the response of Merino ewes to the ram effect during the anoestrous season. **Animal reproduction science**, v. 119, n. 3-4, p. 205–11, jun. 2010.

CHEMINEAU, P. Effect on oestrus and ovulation of exposing creole goats to the male at three times of the year. **J. Reprod. Fertil.**, v. 67, p. 65–72, 1983.

CHEMINEAU, P. Effects of a progestagen on buck-induced short ovarian cycles in the creole meat goat. **Animal Reproduction Sicence**, v. 9, p. 87–94, 1985.

CHEMINEAU, P. et al. Induction and persistence of pituitary and ovarian activity in the out-of-season lactating dairy goat after a treatment combining a skeleton photoperiod, melatonin and the male effect. **Journal of reproduction and fertility**, v. 78, n. 2, p. 497–504, nov. 1986.

CHEMINEAU, P. et al. Control of sheep and goat reproduction: Use of light and melatonin. **Animal Reproduction Science**, v. 30, n. 1-3, p. 157–184, nov. 1992.

CHEMINEAU, P. et al. Male-induced short oestrous and ovarian cycles in sheep and goats: a working hypothesis. **Reprod. Nutr. Dev.**, v. 46, p. 417–429, 2006.

CLAUS, R.; OVER, R.; DEHNHARD, M. Effect of Male Odour on LH Secretion and the Induction of Ovulation in Seasonally Anoestrous Goats. **Animal Reproduction Science**, v. 22, p. 27–38, 1990.

- CONTRERAS-SOLIS, I. et al. Efficiency of estrous synchronization in tropical sheep by combining short-interval cloprostenol-based protocols and "male effect". **Theriogenology**, v. 71, n. 6, p. 1018–25, 1 abr. 2009.
- CSEH, S.; FAIGL, V.; AMIRIDIS, G. S. Semen processing and artificial insemination in health management of small ruminants. **Animal reproduction science**, v. 130, n. 3-4, p. 187–92, fev. 2012.
- DAS, G. K. et al. Effect of exogenous administration of buffalo follicular fluid on follicular development, estrus response and luteal function in anoestrous goats (Capra hircus). **Animal reproduction science**, v. 115, n. 1-4, p. 66–75, out. 2009.
- DE GRAAF, S. P. et al. Birth of offspring of pre-determined sex after artificial insemination of frozen-thawed, sex-sorted and re-frozen-thawed ram spermatozoa. **Theriogenology**, v. 67, n. 2, p. 391–8, 15 jan. 2007.
- DE GRAAF, S. P. et al. Successful low dose insemination of flow cytometrically sorted ram spermatozoa in sheep. **Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene**, v. 42, n. 6, p. 648–53, dez. 2007.
- DE SANTIAGO-MIRAMONTES, M. A et al. The ovulation rate in anoestrous female goats managed under grazing conditions and exposed to the male effect is increased by nutritional supplementation. **Animal reproduction science**, v. 105, n. 3-4, p. 409–16, maio. 2008.
- DE SANTIAGO-MIRAMONTES, M. A; MALPAUX, B.; DELGADILLO, J. A. Body condition is associated with a shorter breeding season and reduced ovulation rate in subtropical goats. **Animal reproduction science**, v. 114, n. 1-3, p. 175–82, ago. 2009.
- DELGADILLO, J. A et al. The ovulatory response of anoestrous goats exposed to the male effect in the subtropics is unrelated to their follicular diameter at male exposure. **Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene**, v. 46, n. 4, p. 687–91, ago. 2011.
- DELGADILLO, J. A. et al. Male goat vocalizations stimulate the estrous behavior and LH secretion in anestrous goats that have been previously exposed to bucks. **Hormones and behavior**, p. 6–11, 10 set. 2012.
- DI FRANCESCO, S. et al. Influence of season on corpus luteum structure and function and AI outcome in the Italian Mediterranean buffalo (Bubalus bubalis). **Theriogenology**, v. 78, n. 8, p. 1839–45, nov. 2012.
- DIAS, J. C. et al. Frequência de ciclos estrais curtos em fêmeas caprinas mestiças boer, em estação de monta definida. **Synergismuss cyentifica UTFPR**, v. 07, n. 1, p. 1–3, 2012.
- DÍAZ DELFA, C. et al. **Inducción y sincronización de ovulaciones en cabras de la raza murciano-granadina, mediante la utilización del efecto macho y progesterona.**Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia SEOC. **Anais...**2002Disponível em: http://www.exopol.com/seoc/docs/gxg8p7cw.pdf

- DORADO, J. et al. Assessment of goat semen freezability according to the spermatozoa characteristics from fresh and frozen samples. **Animal reproduction science**, v. 112, n. 1-2, p. 150–7, maio. 2009.
- DURRANT, B. S. The importance and potential of artificial insemination in CANDES (companion animals, non-domestic, endangered species). **Theriogenology**, v. 71, n. 1, p. 113–22, 1 jan. 2009.
- EL-KELAWY, H. M. et al. **Viability and fertilizing ability of extended rabbit semen stored at 5** °C (W. R. S. Association, Ed.)Proceedings10 th World Rabbit Congress. **Anais**...Sharm El- Sheikh Egypt: World Rabbit Science Association, 2012Disponível em: http://world-rabbit-science.com/WRSA-Proceedings/Congress-2012-Egypt/Papers/02-Reproduction/R-El-Kelawy.pdf
- ENDO, N. et al. Comparison between lactating and non-lactating dairy cows on follicular growth and corpus luteum development, and endocrine patterns of ovarian steroids and luteinizing hormone in the estrous cycles. **Animal reproduction science**, v. 134, n. 3-4, p. 112–8, out. 2012.
- ENGLAND, G. C. W.; VERSTEGEM, J. P. Radiographic contrast medium for uterine. **Theriogenology**, n. 96, p. 1233–1241, 1996.
- EVANS, G.; MAXWELL, W. M. C. Salamon inseminación artificial de ovejas y cabras. Zaragoza: Editorial Acribia, 1990. p. 191
- FAIGL, V. et al. Artificial insemination of small ruminants a review. **Acta veterinaria Hungarica**, v. 60, n. 1, p. 115–29, mar. 2012.
- FATET, A.; PELLICER-RUBIO, M.-T.; LEBOEUF, B. Reproductive cycle of goats. **Animal reproduction science**, v. 124, n. 3-4, p. 211–9, abr. 2011.
- FERNÁNDEZ, I. G. et al. Lack of sexual experience does not reduce the responses of LH, estrus or fertility in anestrous goats exposed to sexually active males. **Hormones and Behavior**, v. 60, n. 5, p. 484–488, nov. 2011.
- FIÉNI, F. et al. Study the best hour intrauterin e insemination in young dairy goats after hormonal induction of oestrus. **Theriogenology**, v. 35, n. 1, p. 1991, 1991.
- FIGUEIRÊDO, E. L. DE et al. Inseminação artificial de ovelhas da raça Santa Inês com sêmen diluído em água de coco in natura e em pó. **Rev. Bras. Ci. Veterinária**, v. 14, n. 2, p. 95–97, 2007.
- FITZ-RODRÍGUEZ, G. et al. Nutritional supplementation improves ovulation and pregnancy rates in female goats managed under natural grazing conditions and exposed to the male effect. **Animal reproduction science**, v. 116, n. 1-2, p. 85–94, nov. 2009.
- FLORES, J. A. et al. Male Reproductive Condition Is the Limiting Factor of Efficiency in the Male Effect During Seasonal Anestrus in Female Goats. **Biology of Reproduction**, v. 64, p. 1409–1414, 2000.

- FONSECA, J. F. DA. Biotecnologias da Reprodução em Ovinos e Caprinos. **EMBRAPA.**, v. Doc 64, p. 30, 2006.
- FREDRIKSSON, G.; KINDAHL, H.; EDQVIST, L.-E. 11-ketotetranor pgf metabolites, a suitable indicator for measuring prostaglandin release during the normal oestrous cycle and early pregnancy in the goat. **Animal Reproduction Science**, v. 7, p. 537–545, 1984.
- FREITAS, V. J. F. et al. the influence of ovarian status on response to estrus synchronization treatment in dairy goats during the breeding season. **Theriogenology**, v. 45, p. 1561–1567, 1996.
- FURSTOSS, V. et al. The value of the percentage of motile sperm in predicting a significant portion of the fertility variation of frozen-thawed buck semen. **Theriogenology**, v. 74, n. 7, p. 1197–206, 15 out. 2010.
- GARCÍA-ISPIERTO, I. et al. Relationship between heat stress during the perimplantation period and early fetal loss in dairy cattle. **Theriogenology**, v. 65, n. 4, p. 799–807, 1 mar. 2006.
- GELEZ, H.; FABRE-NYS, C. The "male effect" in sheep and goats: a review of the respective roles of the two olfactory systems. **Hormones and behavior**, v. 46, n. 3, p. 257–71, set. 2004.
- GINTHER, O. J.; BEG, M. A. Stimulation of a pulse of LH and reduction in PRL concentration by a physiologic dose of GnRH before, during, and after luteolysis in heifers. **Animal reproduction science**, v. 133, n. 1-2, p. 52–62, jul. 2012.
- GINTHER, O. J.; KOT, K. FOLLICULAR DYNAMICS DURING THE OVULATORY SEASON IN GOATS. **Theriogenology**, v. 42, p. 987–1001, 1994.
- GOEL, A. K.; AGRAWAL, K. P. Ovulation in Jakhrana goats native to tropical climates. **Small Ruminant Research**, v. 50, n. 1-2, p. 209–212, out. 2003.
- GONZALEZ-BULNES, A. et al. Oestrous behaviour and development of preovulatory follicles in goats induced to ovulate using the male effect with and without progesterone priming. **Reproduction fertility and development**, v. 18, n. 7, p. 745–750, 2006.
- HAHN, G. L. Management and housing of farm animals in hot environments. In: YOUSEF, M. K. (Ed.). **Stress Physiology in Livestock: ungulates**. 2. ed. Boca Raton, Florida: CRC Press, Inc., 1985. p. 151–174.
- HANSEN, P. J. Effects of heat stress on mammalian reproduction. **Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences**, v. 364, n. 1534, p. 3341–50, 27 nov. 2009.
- HAWKEN, P. A R. et al. The introduction of rams induces an increase in pulsatile LH secretion in cyclic ewes during the breeding season. **Theriogenology**, v. 68, n. 1, p. 56–66, 1 jul. 2007.

HAWKEN, P. A. R. et al. Do cyclic female goats respond to males with an increase in LH secretion during the breeding season? **Animal reproduction science**, v. 112, n. 3-4, p. 384–9, jun. 2009.

HOLTZ, W. et al. Ovsynch synchronization and fixed-time insemination in goats. **Theriogenology**, v. 69, n. 7, p. 785–92, 15 abr. 2008.

HOMEIDA, A. M.; COOKE, R. G. Hormonal events at oxytocin- induced estrus in the goat. **Theriogenology**, v. 32, p. 1007–1010, 1989.

HORTA, A.; GONÇALVES, S. C. Bioestimulação pelo efeito macho na indução e sincronização da actividade ovárica em pequenos ruminantes. **XVI Congresso de Zootecnia**, p. 95–108, 2006.

ICHIMARU, T. et al. Exposure to ram wool stimulates gonadotropin-releasing hormone pulse generator activity in the female goat. **Animal Reproduction Sicence**, v. 106, p. 361–368, 2008.

IWATA, E. et al. Testosterone-dependent primer pheromone production in the sebaceous gland of male goat. **Biology of reproduction**, v. 62, n. 3, p. 806–10, mar. 2000.

JORDAN, E. R. Effects of Heat Stress on Reproduction. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. E104–E114, jun. 2003.

KAKUMA, Y. et al. Androgen Induces Production of Male Effect Pheromone in. **Journal of Reproduction and Development**, v. 53, n. 4, p. 829–834, 2007.

KANO, Y.; SAWASAKI, T.; OYAMA, T. Biological characteristics of miniature "Shiba" goats. **Experimental animals**, v. 26, n. 3, p. 239–46, 1 jul. 1977.

KARAGIANNIDIS, A.; VARSAKELI, S.; KARATZAS, G. Characteristics and seasonal variations in the semen of Alpine, Saanen and Damascus goat bucks born and raised in Greece. **Theriogenology**, v. 53, p. 1285–1293, 2000.

KATO, H. et al. Roles of reactive oxygen species in the regulation of luteal function. **Reviews of reproduction**, v. 2, n. 2, p. 81–3, maio. 1997.

KAWATE, N. et al. Roles of pulsatile release of lh in the development and maintenance of corpus luteum function in the goat. **Theriogenology**, v. 54, p. 1133–1143, 2000.

KNIGHT, T. W. Are rams necessary for stimulation of anoestrous ewes with oestrous ewes? **Proc. NZ Soc. Anim. Prod.**, v. 45, p. 49–50, 1985.

KUSINA, N. T. et al. Effect of different dietary energy level intakes on efficiency of estrus synchronization and fertility in Mashona goat does. **Small Ruminant Research**, v. 39, p. 283–288, 2001.

- LASSALA, A et al. The influence of the corpus luteum on ovarian follicular dynamics during estrous synchronization in goats. **Animal reproduction science**, v. 84, n. 3-4, p. 369–75, set. 2004.
- LASSOUED, N. et al. Role of the uterus in early regression of corpora lutea induced by the ram effect in seasonally anoestrous Barbarine ewes. **Reproduction Nutrition and Development**, v. 37, p. 559–571, 1997.
- LEBOEUF, B. et al. Efficacy of two types of vaginal sponges to control onset of oestrus, time of preovulatory LH peak and kidding rate in goats inseminated with variable numbers of spermatozoa. **Theriogenology**, v. 60, n. 7, p. 1371–1378, out. 2003.
- LEBOEUF, B.; RESTALL, B.; SALAMON, S. Production and storage of goat semen for artificial insemination. **Animal reproduction science**, v. 62, n. 1-3, p. 113–41, 18 ago. 2000.
- LEYVA-OCARIZ, H.; MUNROB, C.; STABENFELDT, G. H. Concentrations of oestradiol-17ß in plasma and milk and progesterone in plasma during the oestrus cycle and in early pregnancy in goats. **Animal Reproduction Science**, v. 39, n. 95, p. 49–58, 1995.
- LI, S.; DAVIS, B. Evaluating Rodent Vaginal and Uterine Histology in Toxicity Studies. **Birth Defects Research (Part B)**, v. 80, n. May, p. 246–252, 2007.
- LIMA, S. et al. Efeito de diferentes diluidores para lavagem de sêmen caprino. **Arquivo Ciência Saúde Unipar**, v. 1, n. 1, p. 9–11, 1997.
- LLEWELYN, C. A. et al. Oestrus in the British White Goat: timing of plasma luteinizing hormone surge and changes in behavioural and vaginal traits in relationship to onset of oestrus. **British Veterinary Journal**, v. 149, p. 171–182, 1993.
- LÓPEZ-SEBASTIAN, A. et al. New estrus synchronization and artificial insemination protocol for goats based on male exposure, progesterone and cloprostenol during the non-breeding season. **Theriogenology**, v. 68, n. 8, p. 1081–7, nov. 2007.
- MAIA JÚNIOR, A.; ARAÚJO, A. A. DE; SALLES, M. G. F. Indução e sincronização do estro e da ovulação em cabras leiteiras saanen com uso de dispositivos vaginais associados ou não à ecg ou efeito macho. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 3, n. 4, p. 157–162, 2009.
- MANDIKI, S. N. et al. Pre-ovulatory follicular characteristics and ovulation rates in different breed crosses, carriers or non-carriers of the Booroola or Cambridge fecundity gene. **Animal reproduction science**, v. 63, n. 1-2, p. 77–88, 2 out. 2000.
- MANN, G. E. Corpus luteum size and plasma progesterone concentration in cows. **Animal reproduction science**, v. 115, n. 1-4, p. 296–9, out. 2009.
- MARA, L. et al. Effect of different diluents on goat semen fertility. **Animal reproduction science**, v. 102, n. 1-2, p. 152–7, nov. 2007.

- MARAI, I. F. M. et al. Physiological traits as affected by heat stress in sheep—A review. **Small Ruminant Research**, v. 71, n. 1-3, p. 1–12, ago. 2007.
- MARTIN, G. B. et al. The physiological response of anovulatory ewes to the introduction of rams a review. **Livest. Prod. Sci.**, v. 15, p. 219–247, 1986.
- MARTIN, G. B.; KADOKAWA, H. "Clean, green and ethical" animal production. Case study: reproductive efficiency in small ruminants. **The Journal of reproduction and development**, v. 52, n. 1, p. 145–52, fev. 2006.
- MARTIN, P.; BATESON, P. **Measuring Behaviour An Introductory Guide**. [s.l.] Cambridge University Press., 2009.
- MARTINEZ, F. et al. Effect of the interval between estrus onset and artificial insemination on sex ratio and fertility in cattle: a field study. **Theriogenology**, v. 62, n. 7, p. 1264–70, 1 out. 2004.
- MARTÍNEZ-ÁLVAREZ, L. E. et al. Serum LH peak and ovulation following synchronized estrus in goats. **Small Ruminant Research**, v. 69, n. 1-3, p. 124–128, maio. 2007.
- MARTÍNEZ-ROJERO, R. D. et al. Inseminacion artificial intrauterina en cabras criollas con semen refrigerado. **Revista Agrociencia**, v. 40, n. 1, p. 71–76, 2006.
- MAXWELLL, W. M. C.; JOHNSON, L. A. Physiology of spermatozoa at high dilution the influence of seminal plasma. **Theriogenology**, v. 52, p. 1353–1362, 1999.
- MEDEIROS, C. M. O. et al. Current status of sperm cryopreservation: why isn't it better? **Theriogenology**, v. 57, n. 01, p. 327–344, 2002.
- MELLADO, M.; OLIVAS, R.; RUIZ, F. Effect of buck stimulus on mature and prepubertal norgestomet-treated goats. **Small ruminant research: the journal of the International Goat Association**, v. 36, n. 3, p. 269–274, 1 jun. 2000.
- MELLADO, M.; VERA, A.; LOERA, H. Reproductive performance of crossbred goats in good or poor body condition exposed to bucks before breeding. **Small Ruminant Research**, v. 14, n. 1, p. 45–48, jun. 1994.
- MENDL, M.; ZANELLA, A. J.; BROOM, D. M. Physiological and reproductive correlates of behavioural strategies in female domestic pigs. **Animal Behaviour**, v. 44, n. 6, p. 1107–1121, dez. 1992.
- MENEZES, L. M.; BRAUNER, C. C.; PIMENTEL, M. A. Efeitos da bioestimulação sobre a performance reprodutiva em bovinos de corte. **Archivos De Zootecnia**, v. 59, n. R, p. 1–13, 2010.
- MIAN, A. A. et al. Effect of diluition of fowl semen with normal saline on the fertility of rir hens through artificial insemination. **Pakistan J. Agric. Res.**, v. 11, n. 3, p. 201–204, 1990.

- MOORE, R. W.; HALL, D. R. H. Artificial insemination using the buck effect to partially synchronise cashmere does. **Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production**, v. 51, p. 143–146, 1991.
- MORAIS, D. A. E. F. et al. Manifestação de estro, fertilidade e desempenho reprodutivo de cabras leiteiras de diferentes raças. **Caatinga**, v. 21, n. 2, p. 62–67, 2008.
- MORELLO, H. H.; CHEMINEAU, P. Características anatômicas e funcionais do sistema reprodutor da fêmea. In: AISEN, E. G.; BICUDO, S. D. (Eds.). **Reprodução Ovina e Caprina**. 1. ed. São Paulo: MedVet Livros, 2008. p. 203.
- MURATA, K. et al. Modulation of gonadotrophin-releasing hormone pulse generator activity by the pheromone in small ruminants. **Journal of neuroendocrinology**, v. 21, n. 4, p. 346–50, mar. 2009.
- NASCIMENTO, T. V. C. et al. **Influência do escore de condição corporal e da ordem de parição sobre a fertilidade de cabras Saanen submetidas à inseminação artificial transcervical** (SNPA, Ed.)VI Congresso Nordestino de Produção Animal. **Anais**...Mossoró: SNPA, 2010Disponível em: http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/26104/1/Daniel4.pdf
- NUNES, J. F. Inseminação artificial em caprinos. In: GONÇALVES, P. B. D.; FIGUEIREDO, J. R.; FREITAS, V. J. F. (Eds.). **Biotécnicas aplicadas a reprodução animal.** 1. ed. São Paulo: Varela, 2001. p. 111–125.
- NUNES, J. F.; SALGUEIRO, C. C. M. Strategies to improve the reproductive efficiency of goats in Brazil. **Small Ruminant Research**, v. 98, n. 1-3, p. 176–184, jun. 2011.
- OLIVERA-MUZANTE, J. et al. Comparison of prostaglandin- and progesterone-based protocols for timed artificial insemination in sheep. **Theriogenology**, v. 75, n. 7, p. 1232–8, 15 abr. 2011.
- OZAWA, M. et al. Alterations in follicular dynamics and steroidogenic abilities induced by heat stress during follicular recruitment in goats. **Reproduction** (Cambridge, England), v. 129, n. 5, p. 621–30, maio. 2005.
- PALERMO, R. Differential actions of FSH and LH during folliculogenesis. **Reproductive BioMedicine Online**, v. 15, n. 3, p. 326–337, jan. 2007.
- PATHIRAJA, N. et al. Plasma progesterone levels during oestrous cycle and their relationship with the ovulation rate in Red Sokoto (Maradi) goats. **The British veterinary journal**, v. 147, n. 1, p. 57–62, 1991.
- PAULENZ, H. et al. Effect of cervical and vaginal insemination with liquid semen stored at room temperature on fertility of goats. **Animal reproduction science**, v. 86, n. 1-2, p. 109–17, mar. 2005.
- PELLICER-RUBIO, M.-T. et al. Highly synchronous and fertile reproductive activity induced by the male effect during deep anoestrus in lactating goats subjected to

- treatment with artificially long days followed by a natural photoperiod. **Animal reproduction science**, v. 98, n. 3-4, p. 241–58, abr. 2007.
- PELLICER-RUBIO, M.-T. et al. High fertility using artificial insemination during deep anoestrus after induction and synchronisation of ovulatory activity by the "male effect" in lactating goats subjected to treatment with artificial long days and progestagens. **Animal reproduction science**, v. 109, n. 1-4, p. 172–88, dez. 2008.
- PELLICER-RUBIO, M.-T. et al. The luteal outcome of anoestrus ewes induced to ovulate by the male effect is not related to the population of ovarian antral follicles before male exposure. **Animal reproduction science**, 27 nov. 2012.
- POINDRON, P.; MALPAUX, B.; DELGADILLO, J. A. Stimulation of estrous behavior in grazing female goats by continuous or discontinuous exposure to males. **JOURNAL OF ANIMAL SCIENCE**, v. 85, p. 1257–1263, 2007.
- PURDY, P. A review on goat sperm cryopreservation. **Small Ruminant Research**, v. 63, n. 3, p. 215–225, jun. 2006.
- PUTNEY, 0. J.; OROST, M.; THATCHER, W. W. Influence of summer heat stress on pregnancy rates of lactating dairy cattle following embryo transfer or artificial insemination. **Theriogenology**, v. 31, n. 4, p. 765–778, 1989.
- REKWOT, P. I. et al. The role of pheromones and biostimulation in animal reproduction. **Animal reproduction science**, v. 65, n. 3-4, p. 157–70, 30 mar. 2001.
- RENSIS, F. DE; SCARAMUZZI, R. J. Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow—a review. **Theriogenology**, v. 60, n. 6, p. 1139–1151, out. 2003.
- RESTALL, B. .; RESTALL, H.; WALKDEN-BROWN, S. . The induction of ovulation in anovulatory goats by oestrous females. **Animal Reproduction Science**, v. 40, n. 4, p. 299–303, dez. 1995.
- RESTALL, B. J. The artificial insemination of australian goats stimulated by the "buck effect." v. 17, p. 302–305, 1988.
- ŘEZÁČ, P.; KŘIVÁNEK, I.; PÖSCHL, M. Changes of vaginal and vestibular impedance in dairy goats during the estrous cycle. **Small Ruminant Research**, v. 42, p. 185–190, 2001.
- RITAR, A J.; SALAMON, S. Effects of seminal plasma and of its removal and of egg yolk in the diluent on the survival of fresh and frozen-thawed spermatozoa of the Angora goat. **Australian journal of biological sciences**, v. 35, n. 3, p. 305–12, jan. 1982.
- RITAR, A. J.; SALAMON, S. Fertility of Fresh and Frozen Thawed Semen of the Angora Goat. **Aust. J. Biol. Sci.**, v. 36, p. 49–59, 1983.

- RIVAS-MUÑOZ, R. et al. Effect of body condition score of does and use of bucks subjected to added artificial light on estrus response of Alpine goats. **Tropical animal health and production**, v. 42, n. 6, p. 1285–9, ago. 2010.
- ROCA, J. et al. Variations of semen quality in male goats: Study of sperm abnormalies. **Theriogenology**, v. 38, p. 115–125, 1992.
- ROMANO, J. E. Effect of service on estrus duration in dairy goats. **Theriogenology**, v. 40, p. 77–84, 1993.
- ROMANO, J. E. Effects of different stimuli of service on estrus duration in dairy goats. **Theriogenology**, v. 42, p. 875–879, 1994.
- ROMANO, J. E.; FERNANDEZ ABELLA, D. Effect of service on duration of oestrus and ovulation in dairy goats. **Animal reproduction science**, v. 47, n. 1-2, p. 107–12, maio. 1997.
- ROMERO-R, C. M.; LÓPEZ, G.; LUNA-M, M. Abortion in goats associated with increased maternal cortisol. **Small Ruminant Research**, v. 30, n. 1, p. 7–12, ago. 1998.
- RORIE, R. W. Effect of timing of artificial insmeination on sex ratio. **Theriogenology**, v. 52, p. 1273–1280, 1999.
- ROSA, H. J. D.; BRYANT, M. J. The "ram effect" as a way of modifying the reproductive activity in the ewe. **Small Ruminant Research**, v. 45, p. 1–16, 2002.
- ROSA, H. J. D.; JUNIPER, D. T.; BRYANT, M. J. The effect of exposure to oestrous ewes on rams' sexual behaviour, plasma testosterone concentration and ability to stimulate ovulation in seasonaly anoestrous ewes. **Applied Animal Behavior Science**, v. 67, p. 293–305, 2000.
- ROWELL, J. E.; SOUSA, M. C.; SHIPKA, M. P. The male effect, mounting behavior, and the onset of estrus in farmed muskoxen. **Journal of Animal Science**, v. 81, p. 2669–2674, 2003.
- SAHARREA, A. et al. Premature luteal regression in goats superovulated with pmsg: Effect of hCG OR GnRH administration during the early luteal phase. **Theriogenology**, v. 50, n. 7, p. 1039–1052, nov. 1998.
- SALAMON, S.; MAXWELL, W. M. Storage of ram semen. **Animal reproduction science**, v. 62, n. 1-3, p. 77–111, 18 ago. 2000.
- SALLES, M. G. F. et al. **Produtividade com o uso do efeito macho em rebanho caprino leiteiro no ceará.**CONBRAVET. **Anais**...2008
- SALLES, M. G. F. et al. The male effect to induce and synchronize estrus of dairy goats in a tropical climateINTERNATIONAL CONFERENCE ON GOATS. Anais...Recife: International Goats Association, 2010

- SALLES, M. G. F.; ARAÚJO, A. A. Corpo lúteo cíclico e gestacional: revisão. **Rev. Bras. Reprod. Animal**, v. 34, n. 3, p. 185–194, 2010.
- SALVADOR, I. et al. Effect of solid storage on caprine semen conservation at 5 degrees C. **Theriogenology**, v. 66, n. 4, p. 974–81, 1 set. 2006.
- SAMPAIO, J. A. R. et al. Efeito macho interespécie: Indução de estro em cabras leiteiras pela presença de macho ovino. **Rev. Bras. Hig. San. Anim.**, v. 6, n. 2, p. 1–14, 2012.
- SAMPAIO, J. A. R.; SALLES, M. G. F.; SAMPAIO, V. M. C. **Ação feromonal em cabras púberes**XI SEMANA UNIVERSITÁRIA UECE. **Anais**...Fortaleza: 2006Disponível em: http://www.propgpq.uece.br/semana_universitaria/anais/anais/2006/anais/ic_0001_132 0.htm>
- SÁNCHEZ-PARTIDA, L. G. et al. Fertility and Its Relationship Spermatozoa Intrauterine in Ewes Insemination After to Motility Characteristics of Cervical, Transcervical, With Frozen-Thawed and Ram Semen. **Journal of andrology**, v. 20, n. 2, p. 280–288, 1999.
- SANGHA, G. K.; SHARMA, R. K.; GURAYA, S. S. Biology of corpus luteum in small ruminants. **Small Ruminant Research**, v. 43, n. 1, p. 53–64, jan. 2002.
- SANTIAGO-MORENO, J. et al. Short communication . Synchronization of ovulation and artificial insemination protocol for Spanish ibex (Capra pyrenaica) based in progesterone and cloprostenol. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v. 6, n. 1, p. 39–41, 2008.
- SANTOS, R. **A criação da cabra e da ovelha no Brasil.** Uberaba: Editora Agropecuária Tropical, 2004. p. 496
- SCARAMUZZI, R. J.; MARTIN, G. B. The importance of interactions among nutrition, seasonality and socio-sexual factors in the development of hormone-free methods for controlling fertility. **Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene**, v. 43 Suppl 2, p. 129–36, jul. 2008.
- SCHÄFER-SOMI, S.; AURICH, C. Use of a new computer-assisted sperm analyzer for the assessment of motility and viability of dog spermatozoa and evaluation of four different semen extenders for predilution. **Animal reproduction science**, v. 102, n. 1-2, p. 1–13, nov. 2007.
- SCHWARZ, T.; WIERZCHOŚ, E. The distribution of corpora lutea and ovarian follicular development in pregnant goats. **Reproductive Biology**, v. 10, n. 1, p. 53–66, mar. 2010.
- SELVARAJU, S. et al. Changes in luteal cells distribution, apoptotic rate, lipid peroxidation levels and antioxidant enzyme activities in buffalo (Bubalus bubalis) corpus luteum. **Animal reproduction science**, v. 120, n. 1-4, p. 39–46, jul. 2010.

- SIGNORET, J. P. Effect of the male presence on the reproductive mechanisms in female mammals. **Reproduction, nutrition, development**, v. 20, n. 2, p. 457–68, jan. 1980.
- SIMÕES, J. et al. Time of ovulation in nulliparous and multiparous goats. **Animal: an international journal of animal bioscience**, v. 2, n. 5, p. 761–8, maio. 2008.
- SIMÕES, J.; MASCARENHAS, R.; BARIL, G. Inseminação Artificial em Caprinos. 1. ed. Portugal: ., 2008. p. 44
- SIQUEIRA, A. P. et al. Parâmetros reprodutivos de cabras Toggenburg inseminadas com sêmen resfriado, após diluição em meio à base de gema de ovo. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootecnia**, v. 61, n. 2, p. 299–305, 2009.
- SIQUEIRA, A. P. et al. Taxa de concepção de cabras inseminadas com sêmen caprino resfriado a 5oC, por 12 ou 24 horas, em meio diluidor à base de gema de ovo. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootecnia**, v. 61, n. 1, p. 66–71, 2009.
- SLANINA, T. et al. The effect of different concentration of Trehalose. **Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences**, v. 1, n. 4, p. 573–582, 2012.
- SOHNREY, B.; HOLTZ, W. Technical Note: Transcervical deep cornual insemination of goats. **Journal of Animal Science**, v. 83, p. 1543–1548, 2005.
- SOSA, C. et al. Short-term undernutrition affects final development of ovulatory follicles in sheep synchronized for ovulation. **Reproduction in domestic animals** = **Zuchthygiene**, v. 45, n. 6, p. 1033–8, dez. 2010.
- SOUZA, A. F. DE et al. Avaliação microbiológica do sêmen fresco e congelado de reprodutores caprinos. **Braz. J. vet. Res. anim. Sci.**, v. 43, n. 3, p. 329–336, 2006.
- SOUZA, C. J. H. DE et al. Momento da ovulação em ovelhas corriedale após cio natural e induzido com progestágeno e eCG. **Ciência Rural**, v. 25, n. 2, p. 277–281, 1995.
- SOUZA, P. T. Estresse térmico em cabras saanen nos períodos seco e chuvoso criadas em clima tropical quente e úmido no estado do ceará. [s.l.] Universidade Federal do Ceará, 2010.
- SUTHERLAND, S. R. D. Progesterone concentration and pulsatile LH secretion during normal oestrus cycles in Angora-cross does.4th Proceedings of Animal Science Congress. Anais...Hamilton, New Zealand: 1987
- SYSTAT. Getting Started Systat v. 12. Chicago, IL. SYSTAT Software, Inc., 2007.
- TAMPION, D.; GIBBONS, R. A. Swimming rate of bull spermatozoa in various media and the effect of dilution. **J. Reprod. Fertil.**, v. 5, p. 259–275, 1962.
- TAYA, K. et al. Role of inhibin in the regulation of FSH secretion a&folliculogenesis in cows. **Animal Reproduction Sicence**, v. 42, n. 96, p. 563–570, 1996.

- THA, D. D. Artificial insemination and freezing goat semen new techniques in Vietnam. **Goat and Rabbit Research Center**, p. 85–88, [s.d.].
- THOM, E. C. The disconfort index. Weatherwise, v. 12, p. 57–59, 1959.
- THOMPSON, F. N.; ABRAMS, E.; MILLER, D. M. Reproductive traits in nubian dairy goats. **Animal Reproduction Sicence**, v. 6, n. 1935, p. 59–65, 1983.
- UNGERFELD, R. Combination of the ram effect with PGF2 α estrous synchronization treatments in ewes during the breeding season. **Animal reproduction science**, v. 124, n. 1-2, p. 65–8, mar. 2011.
- UNGERFELD, R.; FORSBERG, M.; RUBIANES, E. Overview of the response of anoestrous ewes to the ram effect. **Reproduction fertility and development**, v. 16, p. 479–490, 2004.
- UNGERFELD, R.; RAMOS, M. A.; GONZÁLEZ-PENSADO, S. P. Ram effect: adult rams induce a greater reproductive response in anestrous ewes than yearling rams. **Animal reproduction science**, v. 103, n. 3-4, p. 271–7, 30 jan. 2008.
- VÉLIZ, F. G. et al. Male effect in seasonally anovulatory lactating goats depends on the presence of sexually active bucks, but not estrous females. **Animal reproduction science**, v. 72, n. 3-4, p. 197–207, 15 ago. 2002.
- VÉLIZ, F. G. et al. Positive correlation between the body weight of anestrous goats and their response to the male effect with sexually active bucks. **Reprod. Nutr. Dev.**, v. 46, p. 657–661, 2006.
- VÉLIZ, F. G. et al. Maintaining contact with bucks does not induce refractoriness to the male effect in seasonally anestrous female goats. **Animal reproduction science**, v. 92, n. 3-4, p. 300–9, maio. 2006.
- VÉLIZ, F. G. et al. Effect of parity and progesterone priming on induction of reproductive function in Saanen goats by buck exposure. **Livestock Science**, v. 125, n. 2-3, p. 261–265, nov. 2009.
- VERBERCKMOES, S.; VAN SOOM, A; DE KRUIF, A. Intra-uterine insemination in farm animals and humans. **Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene**, v. 39, n. 3, p. 195–204, jun. 2004.
- VILARIÑO, M.; RUBIANES, E.; MENCHACA, A. Re-use of intravaginal progesterone devices associated with the Short-term Protocol for timed artificial insemination in goats. **Theriogenology**, v. 75, n. 7, p. 1195–200, 15 abr. 2011.
- VISHWANATH, R. Artificial insemination: the state of the art. **Theriogenology**, v. 59, p. 571–584, 2003.
- VITALIANO, A. B. Avaliação do comportamento reprodutivo caprino e ovino com o uso do efeito macho interespécie. **Universidade Federal do Ceará**, n. Dissertação, p. 94, 2011.

VIUDES-DE-CASTRO, M. P. et al. Effect of oxytocin treatment on artificial insemination with frozen-thawed semen in Murciano-Granadina goats. **Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene**, v. 44, n. 4, p. 576–9, ago. 2009.

WALKDEN-BROWN, S. W.; RESTALL, B. J. The male effect in the Australian cashmere goat. 1. Ovarian and behavioural response of seasonally anovulatory does following the introduction of bucks. **Animal Reproduction Science**, v. 32, n. 1-2, p. 41–53, jul. 1993.

WALKDEN-BROWN, S. W.; RESTALL, B. J.; HENNIAWATI. The male effect in the Australian cashmere goat . 2. Role of olfactory cues from the male. **Animal Reproduction Sicence**, v. 32, n. March 1992, p. 55–67, 1993.

WHITLEY, N. C.; JACKSON, D. J. An update on estrus synchronization in goats: A minor species. **Journal of Animal Science**, v. 82, p. E270–E276, 2004.

WILDEUS, S. Current concepts in synchronization of estrus: Sheep and goatsProceedings of the American Society of Animal Science. Anais...1999

WULSTER-RADCLIFFE, M. C.; WANG, S.; LEWIS, G. S. Transcervical artificial insemination in sheep: effects of a new transcervical artificial insemination instrument and traversing the cervix on pregnancy and lambing rates. **Theriogenology**, v. 62, n. 6, p. 990–1002, 15 set. 2004.

YELLON, S. M. et al. Ontogeny of the pineal melatonin rhythm and implications for reproductive development in domestic ruminants. **Animal Reproduction Science**, v. 30, n. 1-3, p. 91–112, nov. 1992.

ZARAZAGA, L. A et al. Enhancement of the male effect on reproductive performance in female Mediterranean goats with long day and/or melatonin treatment. **Veterinary journal (London, England: 1997)**, v. 192, n. 3, p. 441–4, jun. 2012.