

PAULO SERGIO CERQUEIRA RANGEL

**USO DE hCG EM CABRAS SAANEN FOTOESTIMULADAS SINCRONIZADAS
COM DUAS DOSES DE CLOPROSTENOL**

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

Orientador: Jeferson Ferreira da Fonseca

Coorientadoras:

Bruna Waddington de Freitas

Joanna Maria G. de S. Fabjan

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2023**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

R196u
2023 Rangel, Paulo Sergio Cerqueira, 1985-
Uso de hCG em cabras Saanen fotoestimuladas
sincronizadas com duas doses de cloprostenol / Paulo Sergio
Cerqueira Rangel. – Viçosa, MG, 2023.
1 dissertação eletrônica (47 f.): il.

Texto em português e inglês.

Inclui anexo.

Orientador: Jeferson Ferreira da Fonseca.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Medicina Veterinária, 2023.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2023.594>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Caprinos - Reprodução. 2. Caprinos - Efeito da luz.
3. Cloprostenol. 4. HCG. I. Fonseca, Jeferson Ferreira da, 1972-.
II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Medicina
Veterinária. Programa de Pós-Graduação em Medicina
Veterinária. III. Título.

CDD 22. ed. 636.39

Bibliotecário(a) responsável: Euzébio Luiz Pinto CRB-6/3317


PAULO SERGIO CERQUEIRA RANGEL

**USO DE hCG EM CABRAS SAANEN FOTOESTIMULADAS SINCRONIZADAS
COM DUAS DOSES DE CLOPROSTENOL**


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

APROVADA: 10 de julho de 2023.

Assentimento:

Documento assinado digitalmente
 PAULO SERGIO CERQUEIRA RANGEL
Data: 28/09/2023 17:11:08-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Paulo Sergio Cerqueira Rangel
Autor

Documento assinado digitalmente
 JEFERSON FERREIRA DA FONSECA
Data: 29/09/2023 14:46:08-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Jeferson Ferreira da Fonseca
Orientador

Dedico este trabalho aos meus pais, Dona Elza com sua pureza e abnegação imensuráveis e Sr. Sérgio que fisicamente não está conosco, mas segue imortal pelos ecos do exemplo.

AGRADECIMENTOS

Antes de tudo e de todos, Deus.

À minha mãe que mesmo remotamente esteve mais presente nos meus dias do que qualquer outra pessoa.

Ao meu pai e sua mais recorrente frase que perdura na minha memória: “Quem não vive para servir, não serve para viver”.

À minha irmã Natália Rangel sempre colaborativa.

À Juliana Nascimento Duarte Rodrigues, profissional dedicada e inspiradora, com quem tive a sorte de compartilhar as atividades neste experimento.

Ao Gabriel Brun Vergani sempre solícito do início ao fim das atividades.

Ao professor Felipe Zandonadi Brandão pelo suporte quanto à disponibilização das dosagens de progesterona.

À professora coorientadora Joanna Maria Gonçalves de Souza Fabjan que me incentivou e sempre me estendeu a mão com oportunidades e ações construtivas para minha carreira acadêmica.

Ao meu orientador Jeferson Ferreira da Fonseca que me recebeu de braços abertos e sempre foi compreensivo.

À professora coorientadora Bruna Waddington de Freitas pela mentoria e ter disponibilizados.

À Universidade Federal de Viçosa, desde os envolvidos no processo seletivo, professores e colaboradores que sempre criaram um agradável ambiente para a realização desta Pós-Graduação.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

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

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq (Projetos 303727/2021-7 e 4039092021-0 Embrapa Caprinos e Ovinos, Projeto 20.19.01.004.00.03.001) pelo suporte financeiro.

“Meu único desejo é que no fim de tudo, frente aos portões do paraíso, Jesus me olhe e diga: ande logo, entre enquanto não tem ninguém olhando”.

(Olavo de Carvalho)

RESUMO

RANGEL, Paulo Sergio Cerqueira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2023. **Efeitos da administração de hCG em protocolo de estro sincronizado com duas aplicações de cloprostenol em cabras Saanen acíclicas submetidas a fotoperíodo artificial.** Orientador: Jeferson Ferreira da Fonseca. Coorientadoras: Bruna Waddington de Freitas e Joanna Maria Gonçalves de Souza Fabjan.

Este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da adição de uma dose de hCG no momento da segunda administração de cloprostenol em protocolo de estro sincronizado em cabras Saanen acíclicas submetidas a fotoperíodo artificial [16 h de luz e 8 h de escuridão diariamente por 60 dias (D0 = 30 de junho e D60 = 29 de agosto)]. Setenta e duas cabras foram sincronizadas com duas doses de 125 µg de cloprostenol i.m. com intervalo de 11,5 dias (D130 e D141,5). Na segunda dose, as cabras foram alocadas para receber solução salina (G-Controle; n=36) ou 300 UI de G-hCG (n=36) i.m. Dois machos férteis foram utilizados para detecção de estro de D120 a D152, e, após a segunda dose de cloprostenol foram acasalados naturalmente e a prenhez verificada após 30 dias. Parte das cabras foi monitorada por ultrassonografia (US) transretal a cada 12 h de D141.5 a D145, e uma vez ao dia em intervalos específicos após D145 (d3, d5, d7, d10, d13, d17 e d21) definido como marcador de ovulação esperada. A concentração sérica de progesterona (P_4) foi obtida por meio de sangue coletado no momento das administrações de cloprostenol e também nos respectivos dias após o D145. Com relação à taxa de animais em estro, foi observada diferença ($P < 0,05$) entre antes da primeira dose (devido à fotoestimulação) e após a segunda (efeito adicional do tratamento com cloprostenol), sendo 39% e 71% (78% controle vs 64% hCG; $P > 0,05$). Considerando o período total, 94,4% (68/72) das cabras manifestaram estro. Após a segunda administração (24 a 96 h), o intervalo para o estro e a taxa de concepção foram semelhantes ($P > 0,05$), enquanto o intervalo para a ovulação foi superior ($P < 0,05$; $72,9 \pm 4,8$ vs. $45,0 \pm 5,9$ h) nos animais G-Controle que no G-hCG, respectivamente. O G-hCG apresentou menor taxa de regressão prematura do corpo lúteo (RPCL) [30,6% (11/36) e 11,1% (4/36)] e de prenhez [47,2% (17/36) e 25,0% (9/36)]. A distribuição dos diâmetros foliculares < 5 mm e ≥ 5 mm foi semelhante ($P > 0,05$) no momento da ovulação e na primeira US antes e depois entre tratamentos. A concentração sérica de P_4 (ng/mL) foi maior

($P < 0,05$) para o G-hCG em d13 ($2,3 \pm 0,4$ e $3,9 \pm 0,8$) e d17 ($2,8 \pm 0,4$ vs. $5,2 \pm 0,7$). Diferenças também puderam ser verificadas para a média de corpos lúteos (CL) por cabra em cada mensuração de d7 a d21 a favor do G-hCG, refletindo na maior área luteal por cabra (mm^2) em d10 ($197,1 \pm 28,0$ e $288,4 \pm 24,7$), d13 ($202,7 \pm 35,7$ e $345,3 \pm 27,4$) e d17 ($250,8 \pm 41,8$ e $422,0 \pm 33,8$). Conclui-se que, nas condições do presente estudo, a gonadotrofina afetou adversamente a taxa de prenhez, apesar da eficácia sincrônica do estro e do aumento da concentração sérica de P_4 , resultado de suporte significativo na criação e manutenção de estruturas lúteas.

Palavras-chave: Gonadotrofina coriônica humana. Sincronização de estro. Tratamento por luz.

ABSTRACT

RANGEL, Paulo Sergio Cerqueira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2023. **Effects of hCG in an estrus synchronization protocol with two doses of cloprostenol in acyclic Saanen goats submitted to artificial photoperiod.** Adviser: Jeferson Ferreira da Fonseca. Co-advisers: Bruna Waddington de Freitas e Joanna Maria Gonçalves de Souza Fabjan.

This study aimed to assess the effects of adding an hCG dose at the time of the second cloprostenol administration in a protocol of synchronized estrus in acyclic Saanen goats submitted to artificial photoperiod [16 h of light and 8 h of darkness daily for 60 days (D0 = June 30th and D60 = August 29th)]. Seventy-two goats were synchronized by two doses of 125 µg of cloprostenol i.m. at an interval of 11.5 days (D130 and D141.5). At the second dose, goats were allocated for receiving saline solution (G-Control; n=36) or 300 IU G-hCG (n=36) i.m. Two fertile bucks were used for estrus detection from D120 to D152, and after the second cloprostenol dose, does were naturally mated, and pregnancy was checked after 30 days. A sample of goats was monitored by transrectal ultrasonography (US) each 12 h from D141.5 to D145, and once a day in specific intervals after D145 (d3, d5, d7, d10, d13, d17, and d21) defined as an expected ovulation marker. Serum Progesterone (P₄) concentration was obtained at the moment of cloprostenol administrations and also on those related days after D145. Regarding the rate of animals in estrus, a difference (P<0.05) was observed between before the first dose (due to photostimulation) and after the second (additional effect of cloprostenol treatment), being 39% and 71% (78% control vs 64% hCG; P>0.05). Considering the full period, 94.4% (68/72) of goats manifested estrus. After the second administration (24 to 96 h), no difference was detected for the interval to estrus and conception rates, however, the time to ovulation was superior (P<0,05; 72.9 ± 4.8 vs. 45.0 ± 5.9 h) in the G-Control animals than in the G-hCG. The G-hCG had significantly smaller premature regression of corpus luteum (PRCL) [30.6% (11/36) and 11.1% (4/36)] and pregnancy rates [47.2% (17/36) and 25.0% (9/36)]. The distribution of follicular diameter < 5 mm and ≥ 5 mm was similar (P>0.05) at the moment of ovulation and in the first US before and after that between treatments. The serum P₄ concentrations (ng/mL) were higher (P<0.05) to G-hCG in d13 (2.3 ± 0.4 and 3.9 ± 0.8) and d17 (2.8 ± 0.4 vs. 5.2 ± 0.7). Differences also could be verified for the

mean of corpus luteum (CL) per goat in each measurement from d7 to d21 favoring G-hCG, reflecting its greater luteal area per goat (mm²) on d10 (197.1 ± 28.0 and 288.4 ± 24.7), d13 (202.7 ± 35.7 and 345.3 ± 27.4) and d17 (250.8 ± 41.8 and 422.0 ± 33.8). It is concluded that gonadotropin considering this approach adversely affected the pregnancy rate despite the estrus synchronistic effectiveness and the increase in serum P₄ concentration, resulting in significant support in the creation and maintenance of luteal structures.

Keywords: Estrus synchrony. Human chorionic gonadotropin. Light treatment.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	13
2.1. Caprinocultura Leiteira no Brasil.....	13
2.2. Ciclo estral	14
2.3. Dinâmica folicular e luteogênese.....	15
2.4. Estratégias de controle do ciclo estral	17
2.4.1. Fotoperíodo Artificial.....	17
2.4.2. Sincronização de estro	18
2.4.3. Indução ovulatória com hCG	18
3. HIPÓTESE.....	20
4. OBJETIVOS.....	20
4.1. Geral	20
4.2. Específicos.....	20
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	21
6. CAPÍTULO 1 (Manuscrito)	27
7. ANEXO	47

1. INTRODUÇÃO

A estacionalidade reprodutiva é marcante no Sudeste brasileiro (Balaro et al., 2019), o que impacta negativamente o fornecimento de produtos lácteos na região. Dentre as várias formas de se contornar a estacionalidade reprodutiva, a utilização de protocolos hormonais é a mais rápida e eficiente (Fonseca et al., 2011). A aplicação de fotoperíodo artificial (programa de luz), também muito eficiente, é considerada menos invasiva e vai ao encontro dos princípios de bem-estar animal, além de minimizar possíveis resíduos no leite (Chemineau et al., 2007). Todavia, o estro observado após o programa de luz é assíncrono, o que dificulta o acasalamento natural intensivo e a inseminação artificial (IA).

A sincronia de estros é relevante para ao manejo reprodutivo e conseqüentemente para a cadeia de produção. Elevada sincronia pôde ser observada após o uso de protocolos com duas aplicações de cloprostenol em cabras cíclicas, considerando intervalos de 11,5 e 7,5 dias (Maia et al., 2017; Bonato et al., 2019), apresentando taxas de gestação elevadas após a IA durante a estação reprodutiva, e pautados na ciclicidade e na presença de corpos lúteos (CL) ativos. Resultados encorajadores foram obtidos também com o uso de duas aplicações de cloprostenol em intervalos de 11,5 dias após a indução de estro por programa de luz (Netto et al., 2020), reforçando assim a utilidade da administração de cloprostenol na busca de protocolo que contribua no desuso de dispositivos intravaginais e seus efeitos indesejados sobre o bem-estar animal e potenciais resíduos na carne e leite de animais desafiados (Gonzalez-Bulnes et al., 2020).

Além da sincronia de estro desejada para o acasalamento natural intensivo ou IA, a manutenção de integridade e funcionalidade luteal é também almejada. Com este propósito, demonstrou-se que a gonadotrofina coriônica humana (hCG) promove a ovulação do folículo dominante da primeira onda, contribuindo na formação de corpo lúteo acessório, bem como no incremento da área luteal funcional, elevando os níveis de progesterona (P_4), e de prenhez (Rodrigues et al., 2022). Tal gonadotrofina também já se mostrou efetiva na indução de estro sincronizado (Fonseca et al., 2005a; Fonseca et al., 2017), bem como na sincronia estral em comparação com a gonadotrofina coriônica equina (eCG) (De Faria et al., 2015). Assim, hipotetiza-se que a administração de hCG em cabras Saanen acíclicas submetidas a fotoperíodo

artificial e estro sincronizado com cloprostenol, pode resultar em um protocolo eficiente, sincrônico e com satisfatória taxa de prenhez.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Caprinocultura Leiteira no Brasil

No Brasil, a Região Nordeste foi a que mais fomentou a multiplicação do rebanho caprino leiteiro, majoritariamente no sistema extensivo, com pequenas propriedades e com rebanhos reduzidos não otimizados para tal atividade (Da Silva et al., 2012), o que evidencia o potencial a ser explorado com a especialização da atividade, trazendo consigo desenvolvimento econômico.

De acordo com o censo do IBGE a quantidade de leite comercializado na Região Sudeste aumentou cerca de 9,6% entre 2006 e 2017, enquanto no Nordeste recuou mais de 30% (Embrapa, 2018). No intuito de seguir com o desenvolvimento da atividade, investimentos vêm sendo feitos na melhoria genética do rebanho nacional, uma dessas iniciativas é o programa de melhoramento genético de caprinos leiteiros (CapraGene®), que executa em parceria com produtores que disponibilizam seus animais, avaliações genéticas de características quantitativas e qualitativas, bem como para a capacidade de transmissão e confiabilidade destes elementos para seus descendentes, assim sendo, permitindo o refinamento do rebanho através de cruzamentos que gerem futuros animais mais desenvolvidos, qualificando a produção (Facó et al., 2014).

Atualmente, observando o dia a dia do manejo reprodutivo em propriedades mais especializadas, muitos procedimentos que comprometem o bem-estar animal e a produção sustentável são utilizados indiscriminadamente, tais como a utilização rotineira de hormônios com aplicação intramuscular ou ainda através de dispositivos que a longo prazo impregnam elementos nocivos no organismo do animal e a curto prazo no leite (Fonseca et al., 2011). Considerando que o mercado está cada vez mais exigente quanto aos conceitos de bem-estar animal e de produção sustentável, estudos vem promovendo e desenvolvendo protocolos reprodutivos alternativos (Chemineau et al., 2007; Netto et al., 2020).

2.2. Ciclo estral

A estacionalidade reprodutiva é uma característica da espécie caprina, e tal estacionalidade é regulada pela melatonina, que é produzida em períodos de escuridão pela glândula pineal. O aumento da incidência de luz e consequente redução da melatonina produzida, estimula os neurônios dopaminérgicos a produzirem dopamina A15. Tal dopamina inibe a ação dos neurônios que expressam o peptídeo responsável pela secreção de GnRH e consequentemente de LH, provocando assim o anestro sazonal (Clarke et al., 2009; Goodman et al., 2012).

O ciclo estral em caprinos compreende quatro etapas: proestro, estro, metaestro e diestro. Tais etapas são agrupadas em fase folicular (proestro e estro), com cerca de quatro dias, e fase luteal (metaestro e diestro), com cerca de 17 dias (Menchaca e Rubianes, 2002). A fase luteal é caracterizada após a ovulação quando ocorre o pico de hormônio luteinizante (LH). Dado tal evento, a atividade da progesterona (P_4) passa a ser predominante em comparação com outro hormônio esteroide ovariano, o 17β -estradiol. Este, por sua vez, é secretado em maiores concentrações na fase folicular, a partir das ondas de crescimento folicular (de Castro et al., 1999).

Quando a P_4 diminui no final da fase lútea, a liberação de GnRH se eleva, levando ao desenvolvimento folicular pela ação do hormônio folículo estimulante (FSH) e a secreção de 17β -estradiol. Este aumento de 17β -estradiol, estimula a secreção de GnRH entre pulsos, acarretando também na liberação de LH. Após a ovulação advinda do pico de LH, caso a implantação embrionária ocorra e o nível de P_4 se mantenha pela atividade luteal, o peptídeo dinorfina inibe o pulso de GnRH até que um novo ciclo inicie após o recuo dos níveis de P_4 . Essa sinalização é necessária para modulação da atividade gonadal ao longo do ciclo reprodutivo (Goodman et al., 2002; Wakabayashi et al., 2010).

O ciclo estral está delimitado à estação reprodutiva, pois cabras são poliéstricas estacionais de dias curtos (Chemineau et al., 1992), com atividade em períodos em que se tem menor incidência de luz ao longo do dia em regiões temperadas, fato este que está diretamente ligado a localização geográfica diante dos trópicos e consequente diferenciação de tempo à exposição. No Sudeste brasileiro, o anestro profundo e evidente acontece de setembro a novembro (Balara et al., 2019). A duração da estação reprodutiva está também vinculada a outros fatores, tais como:

clima, raça, latitude, manejo nutricional e reprodutivo (Fatet et al., 2011). Dentre estes, a latitude demonstrou ser de elevada relevância, pois à medida que se aproxima da linha do equador, as variações entre dias luminosos e escuros passam a ser menos impactantes. Registraram-se também as diferenciações entre raças, onde determinadas destas, com um bom manejo nutricional, foram capazes realizar ciclos ao longo do ano sem apresentar o período de anestro (Fonseca, 2005b).

2.3. Dinâmica folicular e luteogênese

O folículo (unidade funcional ovulatória) é originado a partir de células germinativas que migram para as gônadas, onde permanecem armazenadas até a maturidade sexual, especificamente em caprinos por volta dos seis meses de idade (Pineda, 2003). Quando a concentração de hormônio folículo-estimulante (FSH) está em patamares compatíveis, é estimulada a onda pré-ovulatória, de modo que se estabelece uma relação de dominância, com determinados folículos tendo sua forma e atividade incrementadas até a ovulação (Ginther e Kot, 1994; Medan et al., 2005). Gonzalez-Bulnes et al. (1999) relataram que nesse processo de desenvolvimento, $6,2 \pm 0,6$ folículos emergiam com 2 a 3 mm; $1,9 \pm 0,3$ folículos com 4 a 5 mm e $1,0 \pm 0,2$ folículo maior ou igual a 6 mm por dia do ciclo; e que o folículo ovulatório alcança diâmetro de até 9,7 mm (Ginther e Kot, 1994; De Castro et al., 1999; Rubianes e Menchaca, 2003).

Na disposição do tecido folicular, as células da granulosa se apresentam em camadas, variando sua quantidade ao longo de sete estágios. Nos três primeiros destes são identificados folículos pré-antrais, com duas a sete camadas; no quarto, o folículo pré-antral começa a se destacar; no quinto, a cavidade dentro do folículo passa a ficar definida; e no sétimo estágio, já podendo ser denominado de folículo de Graaf, com tal cavidade já maturada para a plena produção de 17β -estradiol (Sharma et al., 2000).

Além da influência do FSH, são identificadas também atuações de fatores ovarianos e de outros hormônios que levam a diferenciação das células da teca e da granulosa, promovendo sua capacidade de produzir estradiol, bem como de adquirir receptores para responder a outros hormônios que serão demandados em etapas posteriores, como o LH por exemplo. Já aquelas células que não se tornaram aptas a

produzir estradiol suficiente ou que não responderam às sinalizações anteriores entram em atresia, devido a incapacidade de manutenção das células granulosas frente às diferenciações demandadas (Hafez e Hafez, 2004). O conhecimento acerca de tal dinâmica evolui continuamente ao longo dos anos graças a ultrassonografia, onde de forma não invasiva é possível coletar e monitorar informações continuamente, a cada etapa do ciclo reprodutivo, mensurando as estruturas e mapeando as mesmas ao longo do tempo (Cruz e Freitas, 2001). No intuito de delinear um padrão, atribui-se à onda folicular a quantidade de dias de entrada dos folículos maiores ou iguais a 6 mm, já a emergência da onda poderia ser considerada como o momento quando tais folículos anteriormente tinham 3 mm. É esperado o desenvolvimento de até 4 ondas, sendo que nas ondas 1 e 4 a dominância folicular é mais frequente, além disso, o diâmetro do folículo tende a ser maior na onda 4, e o tempo de emergência entre ondas varia de 2 e 4 dias (Ginther e Kot, 1994).

Quando a liberação de FSH é inibida ao mesmo tempo que a concentração de LH chega ao seu pico, aqueles folículos diferenciados anteriormente acabam por ovular, e a partir deste momento inicia-se a luteogênese (Baril et al., 1993). Neste processo, fibroblastos, células do sistema imune e células endoteliais se unem às células da teca interna e da granulosa do folículo que ovulou e se transformam em grandes e pequenas células luteais, e a partir de então passam a sofrer diferenciações e capacitações, desmembrando-se em células que possuem maior produção esteroidal (progesterona), e em outras para produção de peptídeos regulatórios.

A formação do corpo lúteo (CL) é originada do folículo ovulatório e esta transição comporta mecanismos similares à cicatrização de feridas. Durante a formação do CL, células sofrem hiperplasia, hipertrofia e/ou migração, além de processo angiogênico. A preparação para a estruturação luteal ocorre ainda antes da ovulação. A vida útil do corpo lúteo é marcada por longa remodelação tecidual e envolve diversos processos celulares: proliferação, migração, diferenciação e apoptose. O desenvolvimento do corpo lúteo é acompanhado por uma extensa remodelação da matriz extracelular. Pós ovulação e ruptura do estigma, as células foliculares remanescentes são então reorganizadas em um corpo lúteo (Smith et al., 2002). No processo de luteinização, os contatos intercelulares granulosa lútea em diferenciação são restabelecidos e o epitélio folicular é reorganizado. O LH atua nesta ação comunicante presentes entre

as pequenas células luteais e as grandes células luteais de cabra (Sharma; Sharma, 1998).

Tendo ocorrida a plena luteinização, uma porção de células sofre hipertrofia e se diferencia em grandes células luteais esteroidogênicas, enquanto outra parte das células permanece menor (pequenas células luteais esteroidogênicas). As células luteais grandes secretam várias vezes mais progesterona basal por célula do que as células luteais pequenas (Weber et al., 1987).

A avaliação via ultrassonografia da dinâmica luteal durante o ciclo estral em cabras leiteiras, Balaro et al. (2017) observou que o volume, diâmetro e área lútea aumentaram ao longo dos dias, e os valores estabilizaram a partir do 9º dia do ciclo ($1,24 \pm 0,38 \text{ cm}^3$; $13,2 \pm 1,5 \text{ mm}$; $160,9 \pm 40,4 \text{ mm}^2$).

2.4. Estratégias de controle do ciclo estral

2.4.1. Fotoperíodo Artificial

O fotoperíodo artificial é um procedimento que busca manter o rebanho em fase reprodutiva com maior regularidade a fim de suprir o mercado continuamente. Trata-se de um procedimento não invasivo que leva em conta aspectos do bem-estar animal. Além disso, não leva à formação de resíduos no leite, (Chemineau et al., 2007).

Ao utilizar esta alternativa, o rebanho é exposto à luz artificial de modo a mimetizar a produção de melatonina em relação aos que vivem mais próximos a linha do equador, onde a caracterização de anestro sazonal não é tão definida. Desta forma, os animais passariam a e estar aptos a iniciar o ciclo estral após a retirada da luz artificial (Chemineau et al., 1992; Netto et al., 2020).

Chemineau et al. (1986) submeteram cabras à luz artificial por 60 dias, e no momento de D130 fez uso de bodes para reforçar a indução a ovulação via efeito macho, e o sucesso foi obtido, com todas as cabras tendo apresentado ovulação, ainda que apenas metade destas tiveram 3 ovulações consecutivas, bem como de modo geral o ciclo deixou de estar ativo após 70 dias aproximadamente.

No contra estação reprodutiva, Netto et al. (2020) fizeram uso unicamente desta alternativa para que os animais fossem induzidos ao estro. Para tanto, utilizaram o padrão de 16h de luz e 8h de escuridão por 60 dias e, após esse período, 45,4% das

cabras manifestaram estro até D129, com as verificações nas cabras iniciando a partir de D120, de modo complementar, para concentrar essas manifestações em um período controlado, foi feito uso também de protocolo de sincronização, com duas aplicações de cloprostenol contendo espaçamento de 11.5 dias entre doses, e com isso constatou-se que 63,6% das fêmeas passaram a apresentar estro de modo sincronizado.

2.4.2. Sincronização de estro

Dentro da logística em uma propriedade rural, é interessante que as atividades dentro do rebanho contemplem a maior quantidade possível de animais no menor intervalo de tempo. Nesse sentido, a sincronização de estro em um período relativamente curto (24 a 72 h) pode ser alcançada com a combinação entre prostaglandinas e gonadotrofinas (Fonseca et al., 2011).

A prostaglandina tem por objetivo lisar o corpo lúteo visando interromper a fase progesterônica para dar início a um novo ciclo de crescimento folicular (Siqueira et al., 2012). Existe a abordagem com duas aplicações de cloprostenol, nesta, os animais que não responderiam na primeira intervenção já estariam com a formação do corpo lúteo responsiva na segunda aplicação, bem como aqueles que responderam positivamente na primeira voltariam a responder também na segunda, uma vez que um novo ciclo já teria iniciado, padronizando a manifestação do estro para as atividades na propriedade (Fonseca et al., 2011).

Bonato et al. (2019) testaram dois diferentes intervalos entre duas aplicações de cloprostenol (7,5 x 11,5 dias) e não observaram diferença em relação à resposta ao estro, que foi de 90% e 84,2%, respectivamente. Entretanto, quanto à dinâmica folicular, foi observada diferença entre o diâmetro do maior folículo no momento da segunda aplicação (7,0 e 5,6 mm respectivamente), enquanto o diâmetro do folículo ovulatório, não diferiu entre os tratamentos

2.4.3. Indução ovulatória com hCG

A gonadotrofina coriônica humana (hCG) apresenta subunidade análoga à do hormônio luteinizante (LH) e por isso é capaz de promover a ovulação do folículo dominante (Farin et al., 1988). Devido sua similaridade com o LH, a hCG age sobre

os folículos antrais presentes com receptores LHR e pode induzir a formação de corpos lúteos acessórios (Cla), efeito observado em cabras (CÔRTEZ et al., 2020; RODRIGUES et al., 2022). Sua aplicação em protocolos como indutor de ovulação tem sido preconizada para evitar a ocorrência de regressão prematura do corpo lúteo (RPCL), visando manter os níveis de progesterona elevados o suficiente para assegurar a manutenção da gestação e desenvolvimento embrionário adequado.

Fonseca (2005b) apresentou estudo onde o hCG elevou a concentração circulante de P_4 em cabras Saanen e Alpina com a administração de 250 UI de hCG no quinto dia após o estro, no entanto a taxa de gestação não retratou diferença significativa. Já Prospero (2006) obteve constatações no mesmo sentido ao administrar o hCG no terceiro dia pós estro. Por sua vez, Côrtes et al. (2020) observaram elevação significativa na taxa de gestação de cabras leiteiras, fazendo uso de 300 UI no sétimo dia após o estro. O mecanismo que explica a ação do hCG nas diferentes formas de administrações e protocolos segue sendo objeto de análise e pesquisa.

3. HIPÓTESE

A administração de hCG em cabras Saanen acíclicas submetidas a fotoperíodo artificial e estro sincronizado com cloprostenol, pode resultar em um protocolo eficiente, sincrônico e com satisfatória taxa de prenhez.

4. OBJETIVOS

4.1. Geral

Estudar os efeitos da administração de 300 UI hCG associado a protocolo de sincronização com duas aplicações de 125 µg de cloprostenol em intervalo de 11,5 dias na eficiência reprodutiva de cabras Saanen previamente submetidas a fotoperíodo artificial.

4.2. Específicos

(1) Caracterizar a dinâmica folicular e luteal bem como a concentração de P₄ ao longo do processo nos grupos delineados;

(2) Mensurar os efeitos do tratamento proposto nos parâmetros comportamentais e reprodutivos (estro, ovulação, concepção e prenhez) dos animais submetidos ao protocolo em questão.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARASHIRO, E.K.N.; SIQUEIRA, L.G.B.; VIANA, J.H.M.; FONSECA, J.F.; BRUSCHI, J.H.; CAMARGO, L.S.; FERNANDES, C.A.C.; BRANDÃO, F.Z. Estudo ultrasonográfico de características luteais no período de luteogênese em cabras da raça Toggenburg. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 35, p. 1291, 2007.
- BALARO, M.F.A.; SANTOS, A.S.; MOURA, L.F.G.M.; FONSECA, J.F.; BRANDÃO, F.Z. Luteal dynamic and functionality assessment in dairy goats by luteal blood flow, luteal biometry, and hormonal assay. **Theriogenology**, v. 95, p. 118–126, 1 jun. 2017.
- BALARO, M.F.A.; DE MELLO, S.G.V.; SANTOS, A.S.; CAVALCANTI, L.M.; ALMOSNY, N,R,P.; FONSECA, J.F.; BRANDÃO, F.Z. Reproductive seasonality in Saanen goats kept under tropical conditions. **Tropical Animal Health and Production**, v. 51, n. 2, p. 345–353, 2019.
- BARIL, G.; BREBION, P.; CHESNÉ, P. Caracteristiques de la reproduction chez les ovins et les caprins. **Manuel de formation pratique pour la transplantation embryonnaire chez la brebis et la chevre**, v. 115, p. 3-12, 1993.
- BONATO, G.C.; MAIA, A.L.R.S.; CÔRTEZ, L.R.; OLIVEIRA, T.A.; ARRAIS, A.M.; FIGUEIRA, L.M.; OLIVEIRA, M.E.F.; SOUZA-FABJAN, J.M.G.; FONSECA, J.F. Effects of d-cloprostenol administrations with 7.5 and 11.5-day intervals between administrations on pregnancy rates after artificial insemination in estrous cyclic dairy goats. **Animal Reproduction Science**, v. 209, n. August, p. 106-172, 2019.
- CHEMINEAU, P.; NORMANT, E. ; RAVAUULT, J.P. ; THIMONIER, J. 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. **Journals of Reproduction & Fertility**, v.78, p.497-504, 1986.
- CHEMINEAU, P., MALPAUX, B., DELGADILLO, J.A., RAVAUULT, J.P., THIMONIER, J., PELLETIER, J. Control of sheep and goat reproduction: Use of light and melatonin. **Animal Reproduction Science**, v. 30, p. 157–184, 1992.
- CHEMINEAU, P.; MALPAUX, B.; BRILLARD, J.P.; FOSTIER, A. Seasonality of reproduction and production in farm fishes, birds and mammals. **Animal**, v. 1, n. 3, p. 419–432, 2007.
- CLARKE, J, I.; SMITH, J, T.; CARATY, A.; GOODMAN, R, L.; LEHMAN, N. M.

Kisspeptin and seasonality in sheep. **Peptides**, v. 30, p. 154–163, 2009.

CÔRTEZ, L. R.; SOUZA-FABJAN, J.M.G.; DIAS, D.S.; MARTINS, B.B.; MAIA, A.L.R.S.; VEIGA, M.O.; ARASHIRO, E.K.N.; BRANDÃO, F.Z.; OLIVEIRA, M.E.F.; BARTLEWSKI, P.M. Administration of a single dose of 300 IU of human chorionic gonadotropin seven days after the onset of estrus improves pregnancy rate in dairy goats by an unknown mechanism. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 66, n. 1, p. 50–62, 2020.

CRUZ J.F.; FREITAS V.J.F. A ultra-sonografia em tempo real na reprodução de caprinos. **Ciência Animal**, v. 11, p. 53-61, 2001.

DE FARIA, N.A.C.; BALARO, M.F.P.; RIBEIRO, A.C.S.; DELGADO, K.F.; FERNANDES, D.A.M.; SANTOS, A.S.; CAVALCANTI, L.M.; GONÇALVES, L.H.S.; SOUZA-FABJAN, J.M.G.; FONSECA, J.F.; BRANDÃO, F.Z. Uso de eCG ou hCG na indução de estro sincronizado em cabras da raça Saanen na contra-estação reprodutiva. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 21., Belo Horizonte, 2015. **Anais**. Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 2015. p.150.

DA SILVA, H.W.; GUIMARÃES, C.R.B.; OLIVEIRA, T.S. Aspectos da Exploração do Caprinocultura Leiteira no Brasil. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v. 2, n. 2, p. 121–125, 2012.

DE CASTRO, T.; RUBIANES, E.; MENCHACA, A.; RIVERO, A. Ovarian dynamics, serum estradiol and progesterone concentrations during the interovulatory interval in goats. **Theriogenology**, v. 52, n. 3, p. 399-411, 1999.

EMBRAPA. **Centro de inteligência e mercados de caprinos e ovinos da Embrapa, com relação à custos de produção e preços de mercado, Análise da cadeia produtiva de caprinos e ovinos à luz dos recentes dados do IBGE**, 2018. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/assuntos/camaras-setoriais-tematicas/documentos/camarassetoriais/caprinos-e-ovinos/2018/copy_of_54aro/analise-da-cadeia-produtiva-de-caprinos-e-ovinos.pdf. Acesso em: 15 jan. 2022

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

FARIN, C.E.; MOELLER, C.L.; MAYAN, H.; GAMBONI, F.; SAWYER, H.R.; NISWENDER, G.D. 1988. Effect of luteinizing hormone and human chorionic gonadotropin on cell populations in the ovine corpus luteum. **Biology of Reproduction**, v. 38, p. 413-421, 1988.

FATET, A., PELLICER-RUBIO, MARIA-TERESA., LEBOEUF, B. Reproductive cycle of goats. **Animal Reproduction Science**, v. 124, p. 211-219, 2011.

FONSECA, J.F.; BRUSCHI, J.H.; ZAMBRINI, F.N.; DEMCZUK, E.; VIANA, J.H.M.; PALHÃO, M.P.; 2005. Induction of synchronized estrus in Dairy goats with different gonadotrophins. **Animal Reproduction**, v. 2, p. 50-53, 2005a.

FONSECA, J.F. Estratégias para controle do ciclo estral e superovulação em ovinos e caprinos. In: **Congresso Brasileiro de Reprodução Animal**, 16, 2005b, Goiânia, GO.

FONSECA, J.F.; MAFFILI, V.V.; RODRIGUES, M.T.; SANTOS, A.D.F.; ROVAY, H.; PINTO NETO, A.; BRANDÃO, F.Z.; TORES, C.A.A. Effects of hCG on progesterone concentrations and fertility in cyclic , lactating Alpine goats. **Animal Reproduction**, p. 410–414, 2006.

FONSECA, J.F.; CRUZ, R.C.; PINTO, P.H.N.; FACÓ, O. Manual de sincronização e indução do estro e ovulação em ovinos e caprinos. Sobral: Embrapa Caprinos e Ovinos. Documentos, 103, p. 59, 2011. (Acesso 15 de Março de 2022).<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/58165/1/DOC-103.pdf>.

FONSECA, J.F.; SOUZA-FABJAN, J.M.G.; OLIVEIRA, M.E.F.; CRUZ, R.C.; ESTEVES, L.V.; DE PAIVA, M.P.S.L.M.; BRANDÃO, F.Z.; MANCIO, A.B. Evaluation of cervical mucus and reproductive efficiency of seasonally anovular dairy goats after short-term progestogen-based estrous induction protocols with different gonadotropins. **Reproductive Biology**, v. 17, n. 4, p. 363–369, 2017.

FONSECA, J.F.; CASTRO, A.C.R.; ARASHIRO, E.K.N.; OLIVEIRA, M.E.F.; ZAMBRINI, F.N.; ESTEVES, L.V.; BRANDÃO, F.Z.; SOUZA-FABJAN, J.M.G. Effects of hCG administration on accessory corpus luteum formation and progesterone production in estrous-induced nulliparous Santa Inês ewes. **Animal Reproduction**, v. 15, n. 2, p. 135–139, 2018.

GINTHER, O.J.; KOT, K. Follicular dynamics during the ovulatory season in

goats. **Theriogenology**, v. 42, n. 6, p. 987-1001, 1994.

GONZALES-BULNES, A.; MENCHACA, A.; MARTIN, G.B.; MARTINEZ-ROS, P. Seventy years of progestagen treatments for management of the sheep oestrous cycle: where we are and where we should go. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 32, p. 441–452, 2020

GOODMAN, R.L.; GIBSON, M.; SKINNER, D.C.; LEHMAN, M.N. Neuroendocrine control of pulsatile GnRH secretion during the ovarian cycle: evidence from the ewe. **Reproduction Supplement**, v. 59, p. 41-56, 2002.

GOODMAN, R. L.; MALTBY, M. L.; MILLAR, R.P.; HILEMAN, S.M.; NESTOR, C. C.; WHITED, B.; TSENG, A. S.; COOLEN, L.M.; LEHMAN, M.N. Evidence That Dopamine Acts via Kisspeptin to Hold GnRH Pulse Frequency in Check in Anestrous Ewes. **Endocrinology**, v. 153, n. 12, p. 5918–5927, 1 dez. 2012.

HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. Foliculogênese, maturação oocitária e ovulação. **Reprodução Animal**, v. 7, p. 69-82, 2004.

MAIA, A.L.R.S.; BRANDÃO, F.Z.; SOUZA-FABJAN, J.M.G.; BALARO, M.F.A.; OLIVEIRA, M.E.F.; FACÓ, O.; FONSECA, J.F. 2017. Reproductive parameters of dairy goats after receiving two doses of d-cloprostenol at different intervals. **Animal Reproduction Science**. v. 181, p. 16–23, 2017

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

MEDAN, M, S.; WATANABE, G.; SASAKI, K.; GROOME, N, P.; SHARAMY, S.; TAYA, L. Follicular and Hormonal Dynamics during the Estrous Cycle in Goats. **Journal of Reproduction and Development**, v. 51, p. 455–463, 2005.

NETTO, M. M.; BALARO, M.F.A.; COSENTINO, I.O.; ESPÍRITO SANTO, C.G.; DE OLIVEIRA, R.V.; SOUZA-FABJAN, J.M.G.; BRANDÃO, F.Z.; FONSECA, J.F. Use of two cloprostenol administrations 11.5 days apart efficiently synchronizes oestrus in photostimulated multiparous dairy goats in the non-breeding season. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 55, n. 8, p. 965–973, 2020.

PROSPERI, C. P.; TORRES, C.A.A.; GUIMARÃES, J.D.; BRUSCHI, J.H.; LEITE, P.A.G.; MAFFILI, V.V. Taxa de gestação em cabras Alpinas e Saanen tratadas com

hCG no terceiro dia após o estro. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 2, p. 190–195, 2006.

RODRIGUES, J.N.D.; GUIMARÃES, J.D.; OLIVEIRA, M.E.F.; DIAS, J.H.; ARRAIS, A.M.; DE SOUZA, M.A.P., BASTOS, R., AHMADI, B.; BARTLEWSKI, P.M.; FONSECA, J.F. Human chorionic gonadotrofin affects original(ovulatory) and induced (accessory) corpora lutea, progesterone concentrations, and pregnancy rates in anestrus dairy goats. **Reproductive Biology**, v. 22, n.1, 2022.

SANGHA, G.K.; SHARMA, R.K.; GURAYA, S.S. Biology of corpus luteum in small ruminants. **Small Ruminant Research**, v. 43, p. 53-64, 2002.

SAHARREA, A.; VALENCIA, J.; BALCÁZAR, A.; MEJÍA, O.; CERBÓN, J.L.; CABALLERO, V.; ZARCO, L. 1998. 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, 1998.

SHARMA, R.; SHARMA, M. Corpus luteum spurium of goat. *Indian J. Anim. Sci.*, v. 68, p. 150–152, 1998.

SHARMA, R.K.; GURAYA, S.S.; SHARMA, M.B. Biology of ovarian follicles the goat: a review. **Indian Journal of Animal Sciences**, v. 70, n. 4, p. 369-385, 2000.

SIQUEIRA, A.P.; OLIVEIRA, R.M.P.; SILVA FILHO, J.M.; PALHARES, M.S.; FONSECA, J.F.; BRUSCHI, M.C.M. Progesterona plasmática e fertilidade de fêmeas caprinas submetidas à sincronização do estro com prostaglandina F2 α . **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, n. 2, p. 305-310, 2012.

SMITH, M. F.; RICKE, W.A.; BAKKE, L.J.; DOW, M.P.D.; SMITH, G.W. Ovarian tissue remodeling: role of matrix metalloproteinases and their inhibitors. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 191, n. 1, p. 45–56, 2002.

WAKABAYASHI, Y.; NAKADA, T.; MURATA, K.; OHKURA, S.; MOGI, K.; NAVARRO, V. M.; CLIFTON, D. K.; MORI, Y.; TSUKAMARA, H.; MAEDA, K.; STEINER, R. A.; OKAMURA, H. Neurokinin B and dynorphin A in kisspeptin neurons of the arcuate nucleus participate in generation of periodic oscillation of neural activity driving pulsatile gonadotropin-releasing hormone secretion in the goat. **Journal of Neuroscience**, v. 30, n. 8, p. 3124–3132, 2010.

WEBER, D. M.; FIELDS, P.A.; ROMRELL, L.J.; TUMWASORN, S.; BALL, B.A.; DROST, M.; FIELDS, M.J. Functional differences between small and large luteal cells of the late-pregnant vs. nonpregnant cow. **Biology of reproduction**, v. 37, n. 3, p. 685–697, 1987.

WILMUT, I.; SALES, D.I.; ASHWORTH, C.J. Maternal and embryonic factors associated with prenatal loss in mammals. **Journal of Reproduction and Development**, v. 76, p. 851–864, 1986.

6. CAPÍTULO 1 (Manuscrito)

Effects of addition of hCG at the time of the second cloprostenol administration in Saanen goats previously submitted to artificial photoperiod during non-breeding season

Abstract

This study aimed to assess the effects of adding a hCG dose at the time of the second cloprostenol administration in a protocol of synchronized estrus in acyclic Saanen goats submitted to artificial photoperiod. Seventy-two goats were synchronized by two doses of 125 µg of cloprostenol i.m. at an interval of 11.5 days (D130 and D141.5) after artificial photoperiod (D0 to D60). At the second dose, goats were allocated for receiving saline solution (G-Control; n=36) or 300 IU G-hCG (n=36), i.m. Part of goats was monitored by transrectal ultrasonography (US) each 12 h from D141.5 to D145, and once a day in specific intervals after D145 (d3, d5, d7, d10, d13, d17 and d21). Serum Progesterone (P₄) concentration was obtained also on those related days. For estrus response, a difference (P<0.05) was observed between before the first dose and after the second. After second administration (24 to 96 h) the time to ovulation was different for the treatments (72.9 ± 4.8 h and 45.0 ± 5.9 h). The G-hCG also had significantly smaller premature regression of corpus luteum [(30.6% (11/36) and 11.1% (4/36)] and pregnancy rates [47.2% (17/36) and 25.0% (9/36)]. P₄ concentration were higher to G-hCG in d13 and d17. Differences could be verified for the mean of CL per goat from d7 to d21, favoring hCG, reflecting it on the luteal area per goat (mm²) on d10, d13 and d17. It is concluded that hCG considering this approach adversely affected the pregnancy rate despite the estrus synchronistic effectiveness and the increase in serum P₄ concentration.

Keywords: Estrus synchrony. Human chorionic gonadotropin. Light treatment.

1. Introduction

Reproductive seasonality is relevant around the different latitudes as on southeastern Brazil (Balaro et al., 2019) and impact negatively the supply of dairy products. The use of hormonal protocols is the fastest and most efficient way to get around seasonality (Fonseca et al., 2011). The application of artificial photoperiod (light program), also very efficient, is considered less invasive, and is associated with the increase trend to consider animal welfare, also minimizing possible residues in milk (Chemineau et al., 2007). However, the estrus observed after the lighting program is asynchronous, which makes intensive natural mating difficult, or even makes the use of artificial insemination (AI) unfeasible. High synchrony could be observed after the use of protocols with two applications of cloprostenol in cyclical goats, considering intervals of 11.5 and 7.5 days (Maia et al., 2017; Bonato et al., 2019), showing high pregnancy rates after AI during the reproductive season, and based on cyclicity and the presence of active corpora lutea (CL). Encouraging results were also obtained with the use of two applications of cloprostenol at intervals of 11.5 days after estrus induction by light program (Netto et al., 2020), thus reinforcing the search for disuse of intravaginal devices and its unwanted effects on animal welfare and potential residues in the meat and milk of challenged animals (Gonzalez-Bulnes et al., 2020).

In addition to the desired estrus synchrony for intensive natural mating or AI, maintenance of luteal integrity and functionality is also important. For this purpose, it was shown that human chorionic gonadotropin (hCG) promotes ovulation of the first-wave dominant follicle, contributing to the formation of an accessory corpus luteum, raising progesterone (P_4) levels, and pregnancy (Rodrigues et al., 2022). This gonadotropin has also been shown to be effective in inducing synchronized estrus (Fonseca et al., 2005a; Fonseca et al., 2017) as well as in estrous synchrony compared to equine chorionic gonadotropin (eCG) (De Faria et al., 2015). It is hypothesized that the addition of hCG with artificial photoperiod and cloprostenol

administration, can build an efficient and synchronous protocol with satisfactory level of pregnancy rate.

2. Materials and Methods

2.1. Ethics, location, and experimental animals

This research was approved by the Animal Care Committee of Universidade Federal Fluminense (register 253808022). The experiment was done during the local non-breeding season, placed on Rancho Chaparral, Santo Antônio do Aventureiro city, Minas Gerais, Brasil (latitude 21°82' S, longitude 42°81' W, altitude 435 m), and utilized clinically healthy 72 Saanen goats, having mean body condition score (BCS: 1=very thin and 5=very fat - Villaquiran et al., 2007) between 2,5 and 3,5. Animals were kept in collective pens and received a diet of corn silage, Napier grass, water *ad libitum* and supplementation according to your nutritional demands (National Research Council, 2007).

2.2. Treatments, estrus induction and synchronization protocol

For estrus induction, all goats were submitted to a daily artificial photoperiod of 16 h of light and 8 h of darkness, starting 10 days after the winter solstice for 60 days (D0 = June 30th and D60 = August 29th). A timer device (FR2Eletro®, Bivolt TM-BV2) was programmed to turn on the light from 4 pm to 8 pm and again from 4 am to 8 am. On D130 (6 am) and on D141.5 (18 pm) (11.5 days apart), all animals received doses of 125 µg of cloprostenol (Estron®, Agener União) intramuscularly (i.m). At day of the second application, the animals were divided into two groups: G-Control (n=36) that received 0.5 mL of saline solution i.m. and G-hCG group (n=36), which received 300 IU of hCG i.m. Two fertile bucks identified onset of estrus and all goats was monitored once daily from D120 to D130 and twice daily from D130

to D151. After the second application of cloprostenol (D141.5), natural mating was performed as soon as estrus was observed.

2.3. Transrectal ultrasonographic and ovarian evaluation

For the activities, a portable device with a 7.4 MHz transrectal transducer (M5 Vet®, Mindray Medical International Limited, Shenzhen, China) adapted for small ruminants was used. All scans were performed by the same technician, and the B-Mode and Color Doppler settings were standardized and kept constant throughout the study period (Frames per second [FPS]: 23, Depth [D]: 6.7 cm, Gain [GN]: 255, CFM frequency: 6.0 MHz, pulse repetition frequency [PRF]: 1.0 KHz; wall filter [WF]: 75 kHz) (Cosentino et al., 2018).

Follicular and luteal dynamics were recorded in a sample of each group: Control (n=17) and hCG (n=18); that also were responsive to estrus induction. This procedure started in the second application, every 12 h, from D141.5 to D145; and once a day on D148 (d3), D150 (d5), D152 (d7), D155 (10), D158 (d13), D162 (d17), D166 (d21) and D173, where D145 was defined as expected ovulation marker (d0). Ovulation time was defined as the moment when the largest follicle previously identified is no longer detected (Souza et al., 2011).

Luteal evaluation performed in B-mode and color Doppler, the follicles were identified and counted that had diameter < 5 mm and ≥ 5 mm. Premature regression of the corpus luteum (PRCL) was considered when structure loss occurred (Cosentino et al., 2018). Luteal area was measured and counted excluding cavity area. Follicular diameter and luteal area were measured using Image J® software.

2.4. Blood collection and plasma progesterone measurement

Blood collection took place at the same time interval as the ultrasound evaluations, always before them, through jugular vein puncture collection and stored in vacuum tubes containing EDTA. After collection, samples were centrifuged at 1000 g for 15 minutes at 5 °C.

Plasma aliquoted in triplicates in 1.5 mL tubes and stored at -20 °C until P4 concentration analysis. Plasma P4 concentration was performed by radioimmunoassay (RIA) using commercial kits (MP Biomedicals, LLC, Orangeburg, NY). The laboratory procedure carried out according to the methodology proposed by the manufacturer. The sensitivity of the test is 0.05 ng/mL. The quality control of the RIA was carried out through the intra-assay coefficient of variation being 2.2%.

2.5. Variables and statistical analysis

The following data were recorded: estrus response (%); ovulation response (%); number of ovulation (n); diameter of the first ovulatory follicle (mm); interval to first ovulation (h); interval to estrus (h); interval from estrus to ovulation (h); PRCL rate (%); conception rate (%); pregnancy rate (%); number of follicles < 5 mm (n); number of follicles \geq 5 mm (n); serum P4 concentration (ng/mL); number of CL (n); luteal area (mm²).

Statistical analysis was performed using the software BioEstat 5.3 (Belém, Brazil). Shapiro Wilk and Barlett tests were used to verify the normality and homoscedasticity of variables, respectively. F test of equality of variances was used to measure difference on variables dispersion. Non-parametric data were analyzed by the Mann-Whitney test and parametric data were analyzed by t-test. Frequencies were assessed by Kappa test, Chi-square or Fisher's exact test. Differences were considered significant when $P < 0.05$.

3. Results

Considering all period since D120 to D151, 94.4% (68/72) presented estrus after induction via artificial photoperiod. Ninety-six hours after second cloprostenol administration, there was a greatest number of goats in estrus (70.8%; 51/72) and there is a significant difference ($P < 0.05$) when compared with obtained before the first administration (D120 to

D130) (39.0%; 28/72). Even after the second dose, no differences ($P>0.05$) were detected for estrus response, ovulation response, number of ovulations and diameter of the first ovulatory follicle between the treatments as shown Table 1.

No difference also for interval to estrus and conception rates, however, the time to ovulation was different for the treatments (72.9 ± 4.8 h and 45.0 ± 5.9 h), reflecting it in the interval from estrus to ovulation ($P<0.05$), those distributions can be observed in Fig.2. The dispersion of time to ovulation for each group were not different ($P>0.05$) after comparing their variances proportionally reflected in the S.E.M. The group hCG also had smaller PRCL (11.1%; 4/36) and pregnancy rates (25.0%;9/36) when compared with control group (30.6%; 11/36 and 47.2%;17/36, respectively). Goats of group hCG that had recorded interval from estrus to ovulation ($n=10$) and were less or equal than 12 h, represented 70.0% of that sample with 43.3% of pregnancy.

Still comparing the groups, the means of follicular diameters < 5 mm and ≥ 5 mm were similar ($P>0.05$) at the moment of ovulation and in the first US before and after ovulation. These measures were different only between intervals as presented on Table 2. Fig. 3. show that serum P_4 concentration (ng/mL) were higher ($P<0.05$) to group hCG in d13 (2.3 ± 0.4 and 3.9 ± 0.8) and d17 (2.8 ± 0.4 vs. 5.2 ± 0.7), considering the sample of 18 goats (10 control group; 8 hCG group) and 10 of them became pregnant (7 control group ;3 hCG group). This different behavior also can be verified for the mean of CL for goat in each measurement from d7 to d21 (Fig. 4.). That difference ($P<0.05$) in group hCG on the CL distribution was extended to Luteal area per goat (mm^2) on d10 (197.1 ± 28.0 and 288.4 ± 24.7), d13 (202.7 ± 35.7 and 345.3 ± 27.4) and d17 (250.8 ± 41.8 and 422.0 ± 33.8) (Fig. 5.).

4 Discussion

The protocol designed with two administrations of 125 µg of cloprostenol i.m. at an interval of 11.5 days (D130 and D141.5) after artificial photoperiod (D0 to D60) reached as overall estrous response of 71%, not the same patamar according to the recognized approach based on progestins related by Pietroski et al. (2013) that shown 97%. However, facing that result and the 64% observed in Netto et al. (2020), also structured by light program, the result here was satisfactory; analyzing only the percentage after (24 to 96 h) second administration, both control and hCG (78% and 64%) achieved a similar level to that. In the present study, the difference shown for estrus rate before first cloprostenol administration and after second (71% vs. 39%) corroborates both Netto et al. (2020) and Bonato et al. (2019) about utility of synchronization with cloprostenol, being a not expensive tool and less problematic than progestins.

The overall conception and pregnancy rates did not follow the same trend of improvement here with 51% and 36% respectively, smaller than found by Netto et al. (2020) (66% and 42%), however, when we compare in our study just the reached by control group after second cloprostenol administration, they get closer (61% and 47%).

The estrous response and interval to estrus were similar between groups ($P>0.05$). Fonseca et al. (2005a) and Fonseca et al. (2017) also did not found difference, but with regard to the comparison between gonadotropins. Dias et al. (2018) in an experiment containing Santa Ines ewes, reported no difference for interval to estrus among their control group and hCG group, in breeding season submitted to TAI, that experiment utilized progesterone device and 30 µg of d-cloprostenol i.m. + 250 IU eCG IU i.m. at the moment to device removal for synchronization, and hCG (500 IU i.m.) 24 h after it. Alvarado-Espino et al. (2016) testing four concentrations of hCG in Alpine goats (300 IU, 100 IU, 50 IU and 0 IU) identified changes in interval to estrus, where intermediate concentrations performed well. Hafez et al. (2016)

pointed that hCG has both LH and FSH effects, predominantly LH, then an adjustment on the dose could solidify the understanding about time to estrus in response to that hormonal concomitant effect.

For the diameter of ovulatory follicle, the same pattern among groups was found, it also was verified on non-breeding season by Alvarado-Espino et al. (2019), that used P₄ priming and 100 IU hCG i.m. 24 h later. When we look to interval to ovulation, the shorter expected time ($P < 0.05$) among groups was here confirmed (Control: 72.9 ± 4.8 h and hCG: 45.0 ± 5.9 h), this finding corroborates with results of Dias et al. (2018) after P₄ removal: Control: 79.9 ± 5.4 h and hCG: 54.7 ± 4.9 h; making clear that hCG tends to work in this regard. The PRCL rate also was favorable for hCG group, reaching a smaller value. It follows the results of Saharrea et al. (1998), with the difference that here the hCG approach happened in a previous period, reinforcing the findings that hCG has a long-term effect, being useful to decrease the PRCL rates flexibly adjusted in a protocol.

The pregnancy rate was negatively affected by hCG treatment in our experiment. The approach done by Dias et al. (2018) also found similar impact, there, the interval between AI (artificial insemination) and ovulation was approximately 20 h in control group and 7 h in hCG group, denoting a disequilibrium about the time for sperm capacitation in female genital tract and the oocyte degeneration, impacting on fertilization. It probably happened in our study according to the difference ($P < 0.05$) on interval from estrus to ovulation shown in table 1. Alvarado-Espino et al. (2019) found better results for pregnancy rate in hCG group, in that case, according to protocol designed, the time observed between hCG administration (100 IU i.m.) and AI was 36 h, and 48 h for the control group.

In mares the effectivity of hCG as ovulation inducer is solidified, where more than 70% of animals have ovulation in the first 36 h (Barbacini et al., 2000; Awan et al., 2016), including the fact that the doses can be effective in a great range, for example, Gastal et al.

(2006) described those 2500 IU and 1500 IU had similar effect while 500 IU was not enough to make ovulation so faster. So, in our findings, a hypothesis for the unexpected behavior in interval from estrus to ovulation in hCG group (-1.2 ± 7 h) is that dosage of 300 IU so early could have been more than enough to sensitize some follicles, even when animals have not reached estrogen level enough to estrus be noticeable, adding it the fact that in non-breeding season the photoperiod approach does not mimic exactly the same melatonin levels as the natural environment, that could reflect on estrogenic dynamics (Chemineau et al., 1986).

The distribution of follicles shown on table 2 where the difference for the groups just was observed along the time are according with expectation that after ovulation a new wave emerge having another profile until a new dominant follicle be established (De Castro et al., 1999). The hCG approach did not change it, however, this gonadotropin impacted on CL distribution along the time as well the luteal area, Fig. 4 and Fig 5 respectively. The moment where those differences on area were detected (d10, d13 and d17) follow the findings of Rodrigues et al. (2022) about the luteotropic effect, as well the potential support to pregnancy. Even though the number of pregnant goats was greater in the control group, the P₄ concentration in the hCG group was higher, corroborating the luteotropic effect. Additionally, analyzing the luteal area by average CL (Fig. 6), quantity and size were inversely proportional, denoting that an ovarian overview are need to understand the gonadotropin impact.

5. Conclusions

It is concluded that hCG considering the designed approach adversely affected the pregnancy rate, despite the estrus synchronistic effectiveness and the increase in serum P₄ concentration, result of significative support in the creation and maintenance of luteal structures.

Declarations of competing interests

All authors declare that they do not have any actual or potential conflict of interest including any financial, personal, or other relationships with other people or organizations.

Credit authorship contribution statement

P.S.C. Rangel: Methodology, Investigation, Statistical analyses, Writing - review & editing

J.N.D. Rodrigues: Methodology, Investigation, Writing - review & editing

G.B. Vergani: Methodology, Investigation, Writing - review & editing

B. Waddington: Methodology, Investigation, Writing - review & editing

J.M.G. Souza-Fabjan: Methodology, Investigation, Writing - review & editing

F.Z. Brandão: Methodology, Investigation.

J.F. Fonseca: Conceptualization, Methodology, Resources, Investigation, Writing - review & editing, Supervision, Project administration, Funding acquisition

Acknowledgments

This study was supported by the CNPq (88887.635440/2021-00), and the EMBRAPA (Projects 303727/2021-7 and 4039092021-0). The authors also thank all the farmers involved. PSCR, JNDR and GBV were supported by CNPq. FZB and JMGS-F are fellows of FAPERJ. Moreover, FZB, JFF and JMGS-F are CNPq fellows.

References

Awan, F. S.; Mehmood, M. U.; Sattar A; Ahmad N. 2016. Comparative efficacy of hCG or GnRH analogue (lecirelin acetate) on follicular dynamics, degree of endometrial edema, sexual behavior, ovulation and pregnancy rate incrossbred broodmares. *J Equine Vet Sci*, v.41, p.71-

72. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2016.04.062>

Alvarado-Espino, A. S.; Meza-herrera, C.A.; Carillo, E.; González-Álvarez, V.H.; Guillen-Muñoz, J.M.; Ángel-García, O.; Mellado, M.; Véliz-Deras, F.G. 2016. Reproductive outcomes of Alpine goats primed with progesterone and treated with human chorionic gonadotropin during the anestrus-to-estrus transition season. *Animal Reproduction Science*, n. 167, p. 133–138. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2016.02.019>

Alvarado-Espino, A. S.; Menchaca, A.; Meza-Herrera, C. A.; Mellado, M.; Allerano, F.; Véliz, F. 2019. Use of injectable progesterone and hCG for fixed-time artificial insemination during the non-breeding season in goats. *Theriogenology*, n. 127, p. 21–25. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.12.035>

Balaro, M. F. A.; De Mello, S.G.V.; Santos, A.S.; Cavalcanti, L.M.; Almosny, N,R,P.; Fonseca, J.F.; Brandão, F.Z. 2019. Reproductive seasonality in Saanen goats kept under tropical conditions. *Tropical Animal Health and Production*, v. 51, n. 2, p. 345–353. <https://doi.org/10.1007/s11250-018-1696-2>

Barbacini S; Zavaglia G; Gulden P; Marchi V; Necchi D. 2000. Retrospective study on the efficacy of hCG in anequine artificial insemination programme using frozen sêmen. *Equine Vet Educ*, v.12, p.312-317. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3292.2000.tb00067.x>

Bonato, G. C.; Maia, A.L.R.S.; Côrtes, L.R.; Oliveira, T.A.; Arrais, A.M.; Figueira, L.M.; Oliveira, M.E.F.; Souza-Fabjan, J.M.G.; Fonseca, J.F. 2019. Effects of d-cloprostenol administrations with 7.5 and 11.5-day intervals between administrations on pregnancy rates after artificial insemination in estrous cyclic dairy goats. *Animal Reproduction Science*, v. 209, n. August, p. 106-172. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.106172>

Chemineau, P.; Normant, E. ; Ravault, J.P. ; Thimonier, J. 1986. 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 m ale effect. *Journals of Reproduction & Fertility*,v.78, p.497-504. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0780497>

Chemineau, P.; Malpaux, B.; Brillard, J.P.; 2007. Fostier, A. Seasonality of reproduction and production in farm fishes, birds and mammals. *Animal*, v. 1, n. 3, p. 419–432. <https://doi.org/10.1017/S1751731107691873>

Cosentino, I. O.; Balaro, M. F.A.; Leal, F.S.C.; Carvalho, A.B.S., De Souza, P.R.C., Arashiro, E.K.N., Brandão, F,Z. 2018. Accuracy of assessment of luteal morphology and luteal blood

flow for prediction of early pregnancy in goats. *Theriogenology*, v. 121, p. 104–111. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.08.007>

De Faria, N.A.C.; Balaro, M.F.P.; Ribeiro, A.C.S.; Delgado, K.F.; Fernandes, D.A.M.; Santos, A.S.; Cavalcanti, L.M.; Gonçalves, L.H.S.; Souza-Fabjan, J.M.G.; Fonseca, J.F.; Brandão, F.Z. 2015. Uso de eCG ou hCG na indução de estro sincronizado em cabras da raça Saanen na contra-estação reprodutiva. In: Congresso Brasileiro De Reprodução Animal, 21., Belo Horizonte. Anais. Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, p.150. (Acesso 15 de Março de 2022). <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/126518/1/cnpc-2015-Uso.pdf>

de Castro, T.; Rubianes, E.; Menchaca, A.; Rivero, A. 1999. Ovarian dynamics, serum estradiol and progesterone concentrations during the interovulatory interval in goats. *Theriogenology*, v. 52, n. 3, p. 399-411. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(99\)00138-7](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(99)00138-7)

Dias, L. M. K.; Sales, J. N. S.; Viau, P.; Barros, M. B. P.; Nicolau, S. S.; Simões, L. M. S.; Oliveira, C. A. 2018. Although it induces synchronized ovulation, hCG reduces the fertility of Santa Ines ewes submitted to TAI. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 70(1), 122–130. <https://doi.org/10.1590/1678-4162-9679>

Fonseca, J.F.; Bruschi, J.H.; Zambrini, F.N.; Demczuk, E.; Viana, J.H.M.; Palhão, M.P.; 2005. Induction of synchronized estrus in Dairy goats with different gonadotrophins. *Animal Reproduction*, v. 2, p. 50-53. (Acesso 15 de Março de 2022). <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/52421/1/API-Induction-of-synchronized.pdf>

Fonseca, J.F.; Cruz, R.C.; Pinto, P.H.N.; Facó, O. Manual de sincronização e indução do estro e ovulação em ovinos e caprinos. Sobral: Embrapa Caprinos e Ovinos. Documentos, 103, p. 59, 2011. (Acesso 15 de Março de 2022). <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/58165/1/DOC-103.pdf>

Fonseca, J. F.; Souza-Fabjan, J. M. G.; Oliveira, M.E.F.; Cruz, R.C.; Esteves, L.V.; de Paiva, M.P.S.L.M.; Brandão, F.Z.; Mancio, A.B. 2017. Evaluation of cervical mucus and reproductive efficiency of seasonally anovular dairy goats after short-term progestogen-based estrous induction protocols with different gonadotropins. *Reproductive Biology*, v. 17, n. 4, p. 363–369. <https://doi.org/10.1016/j.repbio.2017.10.002>

Gastal, E.L.; Silva L.A.; Gastal, M.O.; Evans M.J. 2006. Effect of different doses of hCG on diameter of the preovulatory follicle and interval to ovulation in mares. *Anim Reprod Sci*, v.94,

p.186-190. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2006.04.007>

Gonzales-Bulnes, A.; Menchaca, A.; Martin, G. B.; Martinez-Ros, P. 2020. Seventy years of progestagen treatments for management of the sheep oestrous cycle: where we are and where we should go. *Reproduction, Fertility and Development*, v. 32, p. 441–452.

Hafez, E.S.E; Jainudeem, M.R; Rosina, Y. 2016. Hormones, Growth Factors, and Reproduction. *Reproduction in Farm Animals*, 31–54. <https://doi.org/10.1002/9781119265306.ch3>

Maia, A. L. R. S.; Brandão, F. Z.; Souza-Fabjan, J. M. G.; balaro, M. F. A.; Oliveira, M. E. F.; Facó, O.; Fonseca, J. F. 2017. Reproductive parameters of dairy goats after receiving two doses of d-cloprostenol at different intervals. *Animal Reproduction Science*. v. 181, p. 16–23. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2017.02.013>

National Research Council-NRC. Nutrient requirements of Small Ruminants. Washington, DC: [s.n.]. <https://doi.org/10.17226/11654>

Netto, M. M.; Balaro, M.F.A.; Cosentino, I.O.; Espírito Santo, C.G.; de Oliveira, R.V.; Souza-Fabjan, J.M.G.; Brandão, F.Z.; Fonseca, J.F. 2020. Use of two cloprostenol administrations 11.5 days apart efficiently synchronizes oestrus in photostimulated multiparous dairy goats in the non-breeding season. *Reproduction in Domestic Animals*, v. 55, n. 8, p. 965–973. <https://doi.org/10.1111/rda.13736>

Pietroski, A. C. C. A., Brandão, F. Z., Souza, J. M. G., & Fonseca, J. F. 2013. Short, medium or long-term hormonal treatments for induction of synchronized estrus and ovulation in Saanen goats during the nonbreeding season. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 42, 168–173. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982013000300004>

Rodrigues, J.N.D.; Guimarães, J.D.; Oliveira, M.E.F.; Dias, J.H.; Arrais, A.M.; DE Souza, M.A.P., Bastos, R., Ahmadi, B.; Bartlewski, P.M.; Fonseca, J.F. 2022. Human chorionic gonadotrofin affects original(ovulatory) and induced (accessory) corpora lutea, progesterone concentrations, and pregnancy rates in anestrous dairy goats. *Reproductive Biology*, v. 22, n.1. <https://doi.org/10.1016/j.repbio.2021.100591>

Saharrea, A.; Valencia, J.; Balcázar, A.; Mejía, O.; Cerbón, J.L.; Caballero, V.; Zarco, L. 1998. 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. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(98\)00206-4](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(98)00206-4)

Souza, J.M.G.; Torres, C.A.A.; Maia, A.L.R.S.; Brandão, F.Z.; Bruschi, J.H.; Viana, J.H.M.; Oba, E.; Fonseca, J.F. 2011. Autoclaved, previously used intravaginal progesterone devices induces estrus and ovulation in anestrous Toggenburg goats. *Animal Reproduction Science*, v. 129, p. 50–55. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2011.09.012>

Villaquiran, M.; Gipson, T.; Merkel, R.; Goetsch, A.; Sahlu, T. 2007. Body Condition Scores in Goats. In: 22nd Annual Goat FieldDay. Langston, OK: [s.n.]. p. 125–131.

Table 1. Data (% or mean \pm S.E.M.) of reproductive variables of Saanen goats after (24h to 96 h) receiving hCG or saline solution at the moment of second cloprostenol administration 11.5 days apart (D130 and D141.5) and estrus induced by artificial photoperiod (D0 to D60).

Variables	Control	hCG	Total	P value **
Estrus response (%)	77.8 (28/36)	63.9 (23/36)	70.8 (51/72)	0.30
Ovulation response (%)*	76.5 (13/17)	66.7 (12/18)	71.4 (25/35)	0.71
Number of ovulations (n)*	1.4 \pm 0.3	1.7 \pm 0.4	1.5 \pm 0.2	0.62
Diameter of the first ovulatory follicle (mm)*	8.4 \pm 0.3	8.1 \pm 0.4	8.3 \pm 0.2	0.44
Interval to first ovulation (h)*	72.9 \pm 4.8	45 \pm 5.9	59.5 \pm 4.7	0.01
Interval to estrus (h)	45.9 \pm 2.6	49.8 \pm 4.4	47.5 \pm 2.3	0.16
Interval from estrus to ovulation (h)*	34.2 \pm 3.3	-1.2 \pm 7	18.8 \pm 5.1	0.01
PRCL rate (%)	30.6 (11/36)	11.1 (4/36)	20.9 (15/72)	0.04
Conception rate (%)	60.7 (17/28)	39.1 (9/23)	51.0 (26/51)	0.13
Pregnancy rate (%)	47.2 (17/36)	25.0 (9/36)	36.1 (26/72)	0.0497

* Data of sample submitted to US (Control (n=17) and hCG (n=18));

**P values for difference between treatments.

Table 2. Data (Mean \pm S.E.M.) of follicular distribution of Saanen goats after (24 to 96 h) receiving hCG or saline solution at the moment of second cloprostenol administration 11.5 days apart (D130 and D141.5) and estrus induced by artificial photoperiod (D0 to D60).

Variables	Control	hCG	P value*
Follicles < 5 mm on the first US before ovulation	11.2 \pm 1.5 ^A	9 \pm 0.6 ^A	0.32
Follicles < 5 mm at ovulation time	13.5 \pm 1.6 ^B	12.8 \pm 0.9 ^B	0.85
Follicles < 5 mm on the first US after ovulation	14.5 \pm 1.8 ^B	13.5 \pm 1.1 ^B	0.83
Follicles \geq 5 mm on the first US before ovulation	2 \pm 0.3 ^a	1.8 \pm 0.2 ^a	0.56
Follicles \geq 5 mm at ovulation time	0.5 \pm 0.2 ^b	0.5 \pm 0.2 ^b	1.00
Follicles \geq 5 mm on the first US after ovulation	0.5 \pm 0.2 ^b	0.5 \pm 0.2 ^b	0.86

^{A,B} difference between intervals for follicles < 5 mm (P<0.05);

^{a,b} difference between intervals for follicles \geq 5 mm (P<0.05);

**P values* for difference between treatments.

Figure legends:

Fig. 1. Diagrammatic presentation of estrus synchronization protocol with two doses of 125 µg of cloprostenol i.m. at an interval of 11.5 days (D130 and D141.5) after artificial photoperiod (D0 to D60), containing ultrasound evaluations (US); estrus detection, blood collection and PD (Pregnancy Diagnosis).

Fig. 2. Distribution of time to first ovulation for control and hCG groups after (24 to 96 h) second cloprostenol administration in the estrus synchronization protocol with two doses of 125 µg of cloprostenol i.m. at an interval of 11.5 days (D130 and D141.5) and artificial photoperiod (D0 to D60).

Fig. 3. Mean and S.E.M of serum P₄ concentration (ng/mL) collected for control and hCG groups at the moment of two doses of 125 µg of cloprostenol i.m. at an interval of 11.5 days (D130 and D141.5) and on days 3, 5, 7, 10, 13, 17 e 21 after D145 (expected ovulation marker).

* difference between treatments (P<0.05).

Fig. 4. Mean and S.E.M of number of CL (n) for control and hCG groups on days 3, 5, 7, 10, 13, 17 e 21 after D145 (expected ovulation marker), in the estrus synchronization protocol with two doses of 125 µg of cloprostenol i.m. at an interval of 11.5 days (D130 and D141.5) and artificial photoperiod (D0 to D60).

* difference between treatments (P<0.05).

Fig. 5. Mean and S.E.M of luteal area per goat for control and hCG groups on days 3, 5, 7, 10, 13, 17 e 21 after D145 (expected ovulation marker), in the estrus synchronization protocol with two doses of 125 µg of cloprostenol i.m. at an interval of 11.5 days (D130 and D141.5) and artificial photoperiod (D0 to D60).

* difference between treatments (P<0.05).

Fig. 1

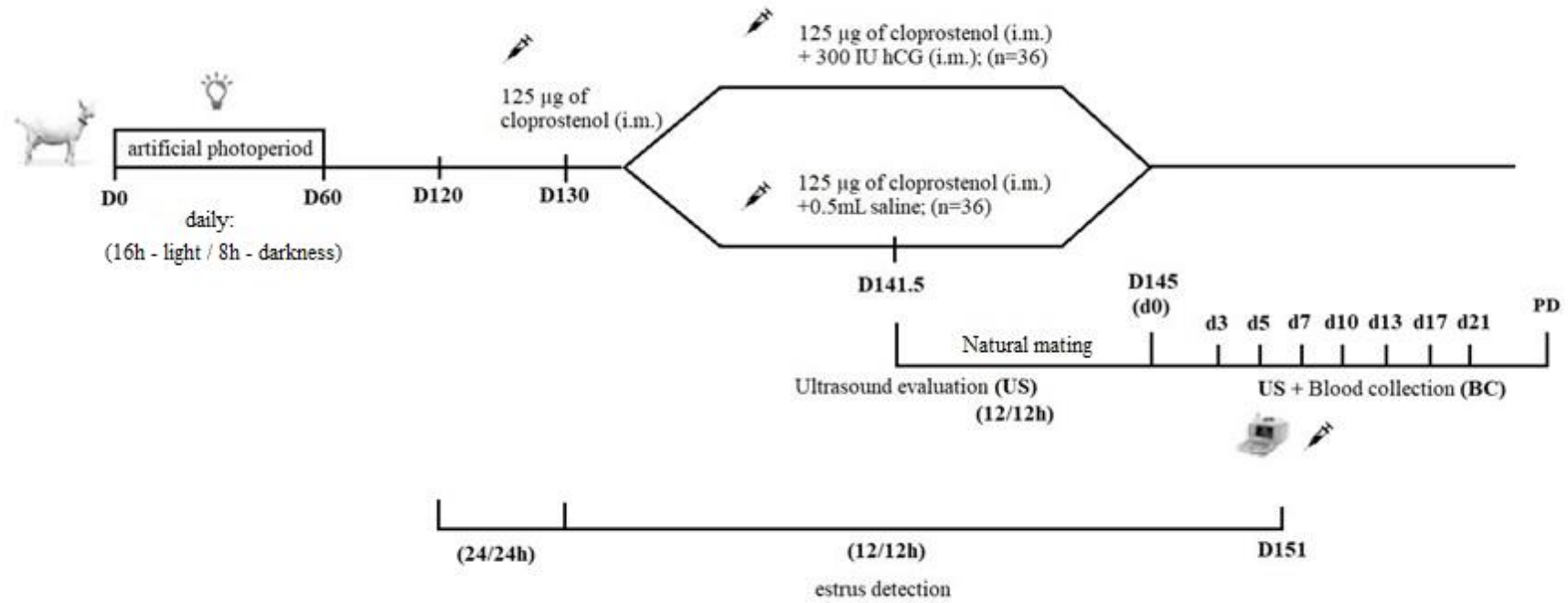


Fig. 2

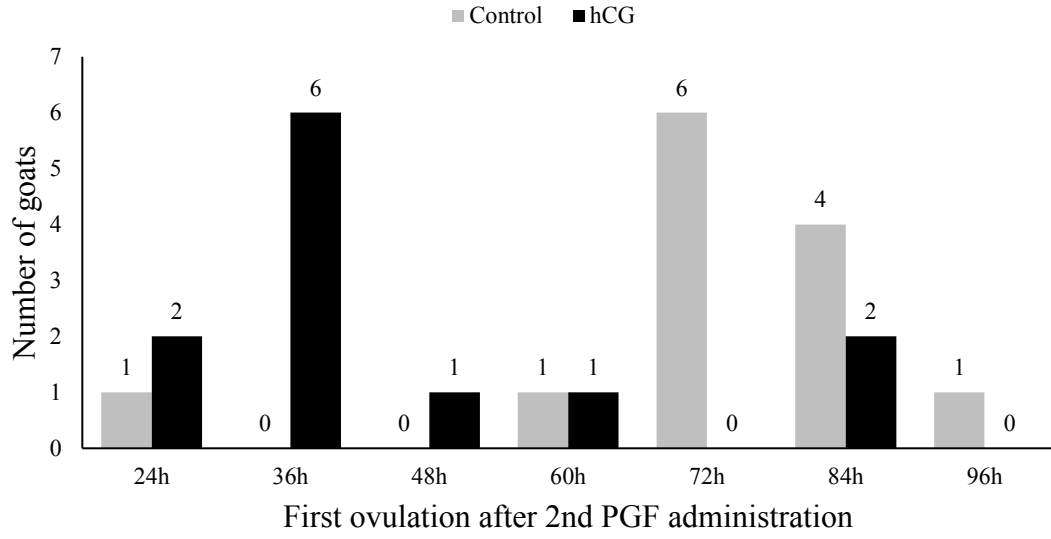


Fig. 3

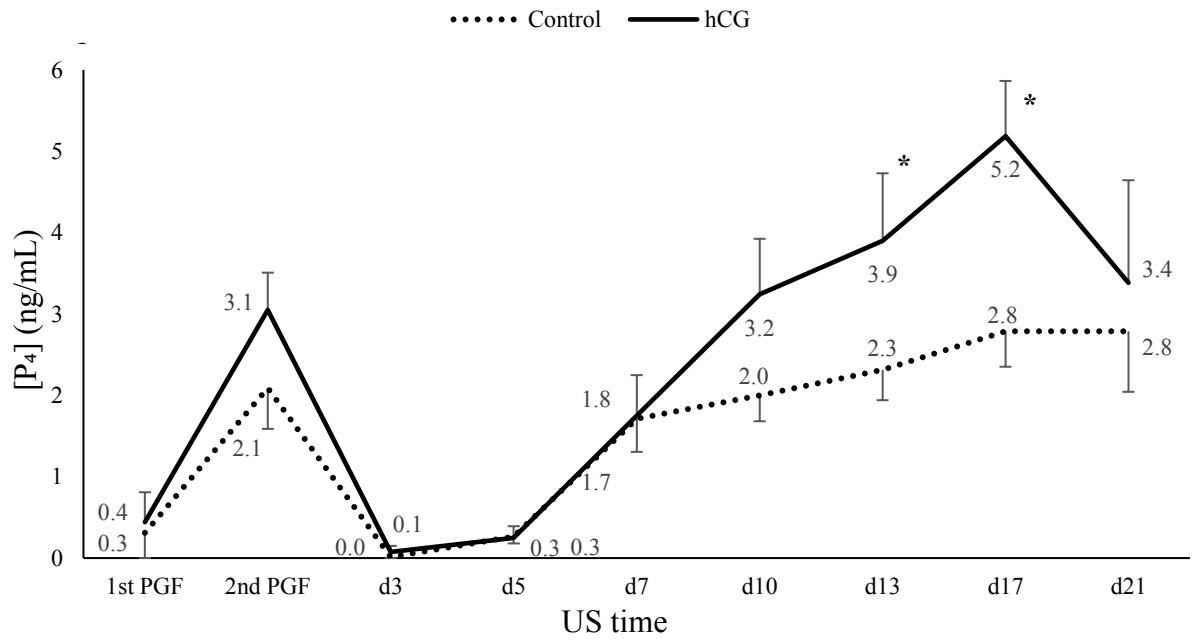


Fig. 4

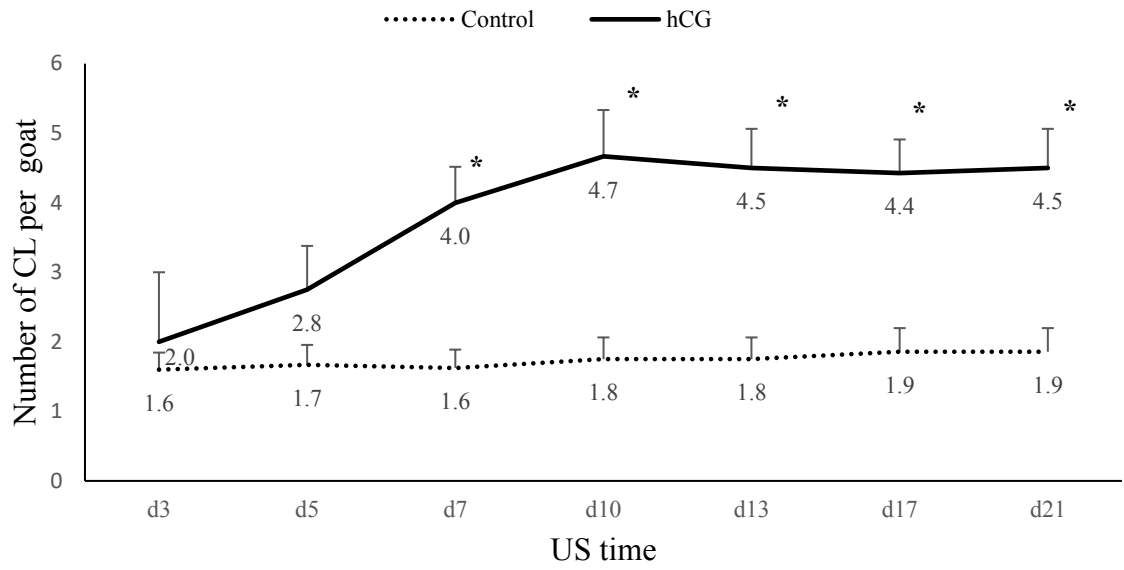
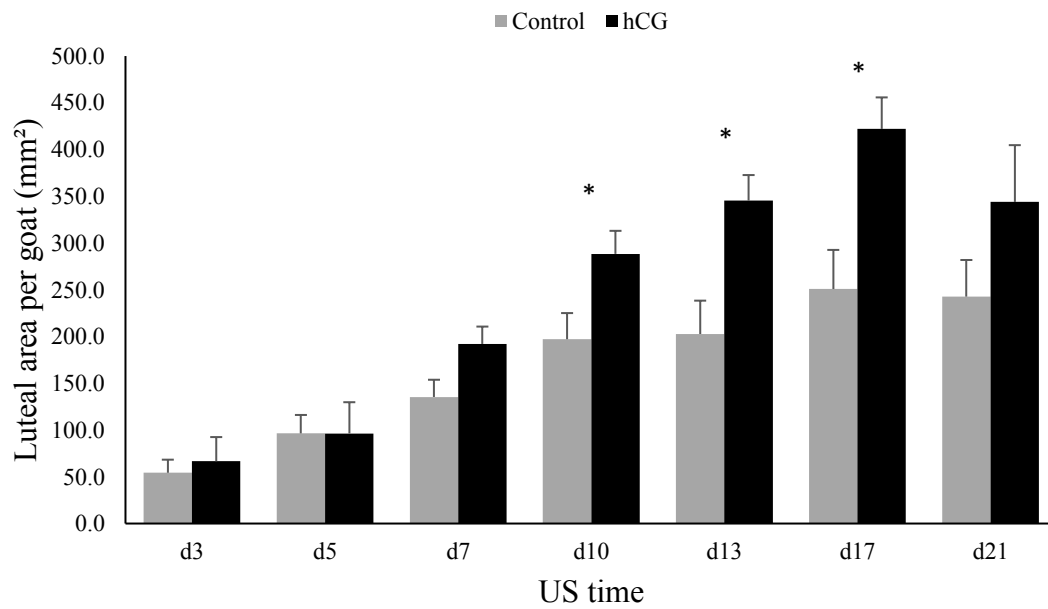


Fig. 5



7. ANEXO



Universidade
Federal
Fluminense

proppi.uff
Protocolo de Pesquisa, Pós-graduação e Inovação

Universidade Federal Fluminense
Comissão de Ética no
Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Estratégias para a elevação da taxa de gestação de cabras durante diferentes estações do ano", protocolada sob o CEUA nº 2538080222 (10.001.359), sob a responsabilidade de **Felipe Zandonadi Brandão e equipe; Jeferson Ferreira da Fonseca** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADA** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal Fluminense (CEUA/UFF) na reunião de 10/03/2022.

We certify that the proposal "Strategies for raising the pregnancy rate of goats during different seasons ", utilizing 1210 Caprines (40 males and 1170 females), protocol number CEUA 2538080222 (10.001.359), under the responsibility of **Felipe Zandonadi Brandão and team; Jeferson Ferreira da Fonseca** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **APPROVED** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University Fluminense (CEUA/UFF) in the meeting of 03/10/2022.

Finalidade da Proposta: Pesquisa (Acadêmica)

Vigência da Proposta: de 05/2022 a 03/2024 Área: Medicina Veterinária

Origem: Animais de proprietários	sexo: Fêmeas	idade: 12 a 60 meses	Quantidade: 1170
Espécie: Caprinos		Peso: 30 a 80 kg	
Linhagem: saanen			
Origem: Animais de proprietários	sexo: Machos	idade: 8 a 60 meses	Quantidade: 40
Espécie: Caprinos		Peso: 50 a 100 kg	
Linhagem: saanen			

Niterói, 27 de outubro de 2022

Carla Eponina P. Pinto
Profª Carla Eponina

Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal Fluminense

Caroline de Souza Barros

Profª Caroline de Souza Barros
Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal Fluminense

